REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA



Faculté de **T**echnologie

Département **G**énie des **p**rocédés et de l'**e**nvironnement

Mémoire de fin d'études de Master

Filière : Génie des procédés

Spécialité : *Génie Chimique*

Explorer le potentiel des exopolysaccharides dans l'atténuation du stress dû au cadmium et au chrome chez les plants de blé

Présenté par :

MISSOUM Romissa

YAHIAOUI Aya

Proposé et Dirigé par :

Mr. LETTREUCH Hichem

Mr. TOUZOUT Nabil

Promotion Juin 2024

Remerciements

« La connaissance est la seule chose qui s'accroît lorsqu'on la partage »

Nous tenons à remercier en premier lieu'الله 'qui nos donné la force, le courage et la patience pour terminer ce travail.

On remercie notre promoteur **Mr. LETTREUCH Hichem** et notre Co-promoteur **Mr. TOUZOUT Nabil** d'avoir accepté de nous encadrés, et de nous avoir dirigés. Un spécial remerciement à **Mr. Haroun Omar** le directeur de l'Incubateur universitaire Médéa pour toutes les informations qui nous a donné, l'aide et la grande patience avec nous.

Nous tenons à remercier vivement les membres de jury d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail. Nos vifs remerciements s'adressent également à toute l'équipe de laboratoire de l'université de Médéa spécialement les ingénieures **Belarbi Lamia**, **Safar Remali Aicha** et **Ben HAOUA Meriem** pour leurs aide constant et ses précieux conseils et pour faciliter notre travail en laboratoire.

Nous tenons à remercier **CRAPC-Laghouat** de les avoir reçus et de leur coopération avec nous, en particulier le directeur et les ingénieures.

Enfin, Nous tenons à exprimer notre gratitude envers nos *familles* et nos *amis* pour leur soutien indéfectible et leurs encouragements tout au long de ce parcours. Leur présence et leur compréhension ont été essentielles pour mener à bien ce projet.

Nous remerciements sincèrement toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

Paix à ton cœur, ***Moi****. Et je sais que vous ne demandez à ce monde que la paix et la sécurité. J'espère que vous l'obtiendrez. Mais ensuite, c'est un sentiment formidable d'avoir atteint son objectif, alors félicitations à vous…*

Je vous écris à tous :

A mes chers parents ***Ahmed*** *&* ***Zahra****, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.*

A mes chères sœurs ***Faisa****,* ***Kaltoum****,* ***Rokai****,* ***Nawal*** *et* ***Affef*** *et leurs enfants pour leurs encouragements constants et leur soutien moral.*

A mes chers frères ***Bilal****,* ***Yahia****,* ***Aïssa****,* ***Abbas****,* ***Amine****,* ***Yasser*** *et* ***Ayoub*** *pour leur soutien et leurs encouragements.*

Et toute la famille de ***MISSOUM*** *et* ***RAMDANI****.*

A mes amis qui m'ont toujours encouragé ***Feriel****,* ***Insaf****,* ***Fatima Zohra****,* ***Ahlem****,* ***Nessrine****,* ***Hannen*** *et* ***Nour****…*

A mon binôme ***AYA*** *;*

Je vous souhaite plus de succès.

Aux amis de la situation… À ceux dont personne ne se souvient… À toute ma mémoire et non à mes mémoires.

You have all seen the fruit of this humble effort

Romissa

Dédicace

A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

Mes sœurs ***Douâa*** et ***Rimas***,

Mes frères ***Zekraoui*** et ***Abd Elrzek***, et toute la famille de **YAHIAOUI** et **CHIRICHI**

. Et mes très chères amies : ***Feriel, Insaf*** et ***Fatima Zohra***. A mon binôme ***missa.***

Sans oublier les gens qui étaient comme des petite frères, leurs présences a fait une différence dans ma vie :

Rahoum, youcef, chouaibe, dahou, malek, mira et kouki.

Sans oublier tous les professeurs et l'enseignement.



Résumé

L'accumulation excessive de cadmium et/ou chromium pourraient diminuer la croissance et la qualité des cultures, et peu d'informations étaient actuellement disponibles sur le rôle des exopolysaccharides (EPS) de la Spiruline dans la résistance au stress du Cd et/ou Cr chez les plantes. L'objectif principal de ce travail était de purifier et caractériser l'EPS produit par notre Spiruline, et d'évaluer son potentiel de protection du blé contre les stress de Cd et/ou Cr. Dans un premier temps, on a extrait par éthanol (95%) et purifiées par les membranes de dialyses (14KDa) notre EPS. Selon les analyses MEB, FTIR et DRX, il a été observé que l'EPS composés de carbone, oxygène, calcium… avec un rapport molaire de 50.64,39.38 et 2.27, respectivement.

Après la culture pendant 30 jours, 0.06 g/100ml (de surnagent) EPS a été récupéré du milieu de culture. L'EPS récupéré a été caractérisé et son potentiel a été évalué en l'appliquant comme biostimulant dans la culture d'installation hydroponique (notre étude sur le blé) à un seul dosage est 250mg/L. L'étude a révélé que pour le blé, le traitement avec EPS pourrait améliorer leur croissance, la productivité de la biomasse et la teneur en chlorophylle. Les dosages utilisés sont 100µM/L pour le Cd et le Cr. Les résultats de cette étude fournissent des informations importantes sur les mécanismes de phytotoxicité de l'exposition séparée et conjointe au Cd et au Cr, et décrivent également le mécanisme par lequel l'EPS améliore la santé des plantules dans des circonstances de stress de cadmium et de chromium.

En conclusion, cette étude a fourni des preuves de la réduction de la toxicité du cadmium et chromium par EPS dans les plants de blé à des niveaux physiologiques et biochimiques, suggérant que l'EPS pourrait être considéré comme un inducteur immunitaire des plantes nouveau et efficace dans les cultures.

Mots clés : Exopolysaccharides, Biostimulant, Cadmium, Chromium, Spiruline, Blé.

الملخص

يمكن أن يؤدي التراكم المفرط للكادميوم و/أو الكروم إلى تقليل نمو ونوعية المحاصيل، ولا يتوفر حاليًا سوى القليل من المعلومات حول دور عديدات السكاريد الخارجية (EPS) من السبيرولينا في مقاومة إجهاد الكادميوم و/أو الكروم في النباتات. كان الهدف الرئيسي من هذا العمل هو تنقية وتوصيف الـEPS التي تنتجها السبيرولينا لدينا، وتقييم قدرتها على حماية القمح ضد إجهاد الكادميوم و/أو الكروم. أولاً، تم استخراج الـEPS الخاص بنا بواسطة الإيثانول (95٪) وتم تنقيته بواسطة أغشية غسيل الكلى (14 كيلو دالتون). وفقاً لتحليلات SEM وFTIR وXRD، لوحظ أن الـ EPS يتكون من الكربون والأكسجين والكالسيوم... بنسبة مولية 50.64 ,39.38 و2.27 على التوالي.

بعد الاستزراع لمدة 30 يومًا، تم استرداد 0.06 جم/100 مل EPS (طاف) من وسط الاستزراع. تم تشخيص الـ EPS المستعاد وتقييم إمكاناته من خلال تطبيقه كمنشط حيوي في زراعة النباتات المائية (دراستنا على القمح) بجرعة واحدة هي 250 ملجم / لتر. ووجدت الدراسة أنه بالنسبة للقمح، فإن المعالجة باستخدام الـ EPS يمكن أن تحسن نموه وإنتاجية الكتلة الحيوية ومحتوى الكلوروفيل. الجرعات المستخدمة هي 100 ميكرومتر/لتر للكادميوم والكروم. توفر نتائج هذه الدراسة رؤى مهمة حول آليات السمية النباتية للتعرض المنفصل والمشترك للكادميوم والكروم، كما تصف أيضًا الآلية التي يعمل بها الـ EPS على تحسين صحة الشتلات في ظل ظروف إجهاد الكادميوم والكروم.

في الختام، قدمت هذه الدراسة أدلة على تقليل سمية الكادميوم والكروم بواسطة الـ EPS في نباتات القمح على المستويات الفسيولوجية والكيميائية الحيوية، مما يشير إلى أنه يمكن اعتبار الـ EPS محفزًا جديدًا وفعالًا لمناعة النبات في المحاصيل.

الكلمات المفتاحية: عديدات السكاريد الخارجية، المنشط الحيوي، الكادميوم، الكروم، السبيرولينا، القمح.

Abstract

Excessive accumulation of cadmium and/or chromium could reduce the growth and quality of crops, and little information was currently available on the role of exopolysaccharides (EPS) from Spiruline in resistance to Cd and/or Cr stress in plants. The main objective of this work was to purify and characterize the EPS produced by our Spiruline and to evaluate its potential for protecting wheat against Cd and/or Cr stress. Firstly, our EPS was extracted by ethanol (95%) and purified by dialysis membranes (14KDa). According to SEM, FTIR and XRD analyses, it was observed that EPS composed of carbon, oxygen, calcium… with a molar ratio of 50.64,39.38 and 2.27, respectively.

After cultivation for 30 days, 0.06 g/100ml (supernatant) EPS was recovered from the culture medium. The recovered EPS was characterized and its potential was evaluated by applying it as a biostimulantes in hydroponic plant cultivation (our study on wheat) at a single dosage is 250mg/L. The study found that for wheat, treatment with EPS could improve their growth, biomass productivity and chlorophyll content. The dosages used are 100µM/L for Cd and Cr. The results of this study provide important insights into the phytotoxicity mechanisms of separate and joint exposure to Cd and Cr, and also describe the mechanism by which EPS improves seedling health under circumstances of cadmium stress and of chromium.

In conclusion, this study provided evidence for the reduction of cadmium and chromium toxicity by EPS in wheat plants at physiological and biochemical levels, suggesting that EPS could be considered as a novel and effective plant immune inducer in crops.

Keywords: Exopolysaccharides, Biostimulantes, Cadmium, Chromium, Spiruline, Wheat.

LISTES DES FIGURES

Figure I.1: Différents types de microalgues. **5**

Figure I.2 : Analyse nutritionnelle moyenne de 100g de Spiruline. **9**

Figure I.3 : Structure des exopolysaccharides produits par Lactobacillus. **13**

Figure I.4 : La structure chimique de certains exopolysaccharides microbiens. **14**

Figure I.5 : Voie suggérée pour la production simultanée d'EPS, de phycocyanine et d'autres composants précieux de la spiruline pour établir une approche de bioraffinerie. **14**

Figure I.6 : Tableau périodique des éléments chimiques, mettant en évidence les éléments considérés comme des "métaux lourds". **18**

Figure I.7 : Facteurs de stress environnementaux qui affectent les structures de la plante sous terre et en surface. Représentation schématique des facteurs non vivants causant des stress abiotiques (à gauche) et des facteurs vivants causant des stress biotiques (à droite). **24**

Figure I.8 : Différence entre Absorption et Adsorption. **25**

Figure I.9 : Schéma et applications des capteurs HSI dans les facteurs de stress biotiques et abiotiques du blé. **33**

Figure II.1: La culture de spiruline dans des condition expérimentales. **36**

Figure II.2 : Ferme de plants de blé dans la région de EL Omaria, Médéa. **37**

Figure II.3 : Les plants de blé sont immergés dans une solution hydroponique. **42**

Figure II.4 : Photos de semis de blé après 7 jours le traitement. **44**

Figure II.5 : Tubes d'essai contient mélange de feuille+acétone. **44**

Figure II.6 : Tubes d'essai contient mélange surnageant+ TBA. **45**

Figure II.7 : Tubes d'essai contient mélange surnageant +tampon +KI. **46**

Figure II.8 : Tubes d'essai contient mélange surnageant +tampon+H_2O_2. **46**

Figure II.9 : Tubes d'essai contient mélange surnageant +tampon+ acide ascorbique. **47**

Figure II.10 : Tubes d'essai contient mélange surnageant +tampon+ pyrogallol. **47**

Figure II.11 : Tubes d'essai contient mélange surnageant +tampon +CDNB +GSH. **48**

Figure II.12 : Tubes d'essai contient mélange surnageant + Folin-Ciocalteau + carbonate de sodium. **49**

Figure II.13 : Tubes d'essai contient mélange surnageant + $AlCl_3$. **49**

Figure II.14 : Tubes d'essai contient mélange extrait +tampon + DTNB. **50**

Figure II.15 : Tubes d'essai contient mélange extrait + d'acide ninhydrine + d'acide acétique glaciaire+ Toluène. **50**

Figure II.16 : Structure du dichromate de potassium $K_2Cr_2O_7$. **51**

Figure III.1 : Poids frais des pousses (A), hauteur des pousses (B), poids frais des racines (C), et longueur des racines (D) des plants de blé après exposition au EPS et au stress Cd et/ou Cr. **56**

Figure III.2 : Teneur en chlorophylle a (A), teneur en chlorophylle b (B) et teneur en caroténoïdes (C) des plants de blé après exposition au EPS et au stress Cd et/ou Cr. **57**

Figure III.3 : Contenu en biomarqueurs du stress oxydatif du blé après exposition au stress EPS et Cd et/ou Cr. A et B représentent respectivement les niveaux de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et de malondialdéhyde (MDA). **58**

Figure III.4 : Activités enzymatiques antioxydantes et détoxifiante des plants de blé après exposition au stress EPS et Cd et/ou Cr. A-D représentent respectivement les activités CAT, APX, POD et GST. **60**

Figure III.5 : Contenu antioxydant non enzymatique et métabolites secondaires des plants de blé après exposition au stress d'EPS et Cd et/ou Cr. A-D représentent respectivement (TPC), flavonoïdes, glutathion réduit (GSH) et proline (Pro). **61**

Figure III.6 : L'EPS observé par microscope électronique à balayage, (A) L'EPS avec un grossissement de 50 µm, (B) L'EPS avec un grossissement de 20 µm. **62**

Figure III.7 : Spectre infrarouge d'EPS. **63**

Figure III.8 : Composition élémentaire d'EPS par EDAX, APEX. **64**

Figure III.9 : Diagramme de diffraction des rayons X d'EPS. **65**

Figure III.10 : La courbe d'étalonnage de dichromate de potassium. **65**

Figure III.11 : Cinétique de l'adsorption de dichromate de potassium (pH=6.5, V=500 tpm et T_{amb}). **66**

Figure III.12 : Application des modèles cinétiques pour la biosorption de dichromate de potassium sur les exopolysaccharides ((a) pseudo-1er ordre, (b) pseudo-2nd ordre). **67**

Figure III.13 : Modélisation des isothermes d'adsorption de dichromate de potassium sur les EPS ((a) modele de Langmuir, (c) modele de Freundlich). **69**

LISTES DES TABLEAUX

Tableau I.1 : Caractéristiques morphologiques des souches Spiruline et Arthrospira. **8**

Tableau I.2 : Effets des métaux lourds/métalloïdes sur la croissance des plantes. **22**

Tableau II.1 : Composition de milieu Zarrouk dans une 1L d'eau distiller. **38**

Tableau II.2 : Composition de la solution A5 ($g.L^{-1}$). **39**

Tableau II.3 : Composition de la solution B6 ($mg.\ L^{-1}$). **39**

Tableau II.4 : Composition de la macronutriments ($g.L^{-1}$). **42**

Tableau II.5 : Composition de la micronutriments ($mg.\ L^{-1}$). **42**

Tableau II.6 : Principales propriétés du dichromate de potassium. **51**

Tableau III.1 : Groupements fonctionnels de l'IR appliquée sur l'EPS. **63**

Tableau III.2 : Résultats de l'analyse spectrophotométrique des solutions de dichromate de potassium. **65**

Tableau III.3 : Paramètres cinétiques d'adsorption de $K_2Cr_2O_7$ sur les EPS. **67**

Tableau III.4 : Paramètres des isothermes d'adsorption de $K_2Cr_2O_7$ sur les EPS. **68**

LISTES DES ABREVIATIONS

EPS : Exopolysaccharides.

Cd : Cadmium.

Cr : Chromium.

$CdCl_2$: Chlorure de cadmium.

$K_2Cr_2O_7$: Dichromate de potassium.

CO_2 : Dioxyde de carbone.

EFSA : L'Autorité européenne de sécurité des aliments.

FDA : Food and Drug Administration.

A. platensis : Arthrospira platensis.

VIH : Le virus du sida.

ML : Les métaux lourds.

EUT : Les eaux usées traitées.

ETM : Les Éléments Traces Métalliques.

MEB : Microscopie Électronique à Balayage.

DRX/ XRD : Diffraction des Rayons X.

FTIR : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier.

IR : Spectroscopie Infrarouge.

KBr : Bromure de Potassium.

FW : Le poids frais.

Chl *a* : Chlorophylle *a.*

Chl *b* : Chlorophylle *b.*

TCA : Acide trichloroacétique.

MDA : Malondialdéhyde.

TBA : Alcool Butylique Tertiaire.

H_2O_2 : Hydrogène peroxyde.

CAT : Catalase.

POD : Guaiacol peroxidase.

GST : Glutathion-S-transférase.

APX : Ascorbate peroxidase.

H_2SO_4 : Acide Sulfurique.

CDNB : 2,4-dinitrochlorobenzene.

GSH : Glutathione.

TPC : Contenu phénolique total.

$AlCl_3$: Chlorure d'aluminium.

DTNB : Réactif d'Ellman (5,5-dithio-bis-(acide 2-nitrobenzoïque).

Pro : Proline.

UV-Visible : Spectroscopie ultraviolet-visible.

DO : Densité Optique.

Abs : Absorbance.

EDS/EDAX : Analyse des rayons X à dispersion d'énergie.

θ : Angle de diffraction des rayons X.

λ : Longueur d'onde.

μ : Micro.

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Résumé

LISTES DES FIGURES

LISTES DES TABLEAUX

LISTES DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION GENERAL 1

Chapitre I : Etude bibliographique 4

I.1. Généralités sur la spiruline 4

I.1.1. Introduction 4

I.1.2. Généralités sur les microalgues 5

I.1.2.1. Classification des microalgues 5

I.1.3. Présentation de la spiruline 6

I.1.3.1. Historique 7

I.1.3.2. Taxonomie 7

I.1.3.3. Morphologie 8

I.1.3.4. Les compositions chimiques 9

I.1.3.5. Utilisation de la spiruline 10

I.1.5. Les Exopolysaccharides 12

I.1.5.1. Définition 12

I.1.5.2. Structure 13

I.1.5.3. EPS microbiens 13

I.1.5.4. EPS de la spiruline 14

I.1.5.5. Classification des exopolysaccharides 15

I.1.5.6. L'utilisation des exopolysaccharides 15

I.2. Généralité sur les métaux lourds 17

I.2.1. Introduction 17
I.2.2. Les métaux lourds 17
I.2.3. Les sources de métaux lourds dans les sols 18
I.2.4. Le cadmium 19
I.2.4.1. Origine 19
I.2.5. Le chromium 19
I.2.5.1. Origine 20
I.2.6. Toxicités des Eléments Traces Métalliques 20
I.2.7. Impact des métaux lourds sur les plantes 20
I.2.8. Classification des plantes selon leur interaction avec les métaux lourds 22
I.2.9. Mécanisme de tolérance des plantes soumises au stress des métaux lourds 23
I.2.10. Définition du stress 23
I.2.10.1. Catégories de stress 23
I.2.10.1.1. Stress biotique 23
I.2.10.1. 2. Stress abiotique 24
I.3. Généralité sur l'adsorption 25
I.3.1. Introduction 25
I.3.2. L'adsorption 25
I.3.3. Principe de l'adsorption 26
I.3.4. Types d'adsorption 26
I.3.4.1. Adsorption physique (physisorption) 26
I.3.4.2. Adsorption chimique (chimisorption) 27
I.3.5. Facteur influençant l'équilibre d'adsorption 27
I.3.5.1. La température du milieu 27
I.3.5.2. Le pH de la solution 27
I.3.5.3. La masse d'adsorption 27
I.3.5.4. La concentration initiale d'adsorbat 27

I.3.5.5. Le temps d'équilibre 27
I.3.6. Facteurs caractérisant l'adsorbat 28
I.3.7. Facteurs caractérisant l'adsorbant 28
I.3.8. Choix de l'adsorbant 28
I.3.9. Modèles d'isothermes 29
I.3.9.1. Isothermes de Freundlich 29
I.3.9.2. Modèle de Langmuir 30
I.3.9.3. Autre modèle 30
I.3.10. Cinétique d'adsorption 31
I.3.10.1. Modèle cinétique pseudo-première ordre (modèle Lagergren) 31
I.3.10.2. Modèle du cinétique pseudo-deuxième ordre 31
I.3.11. Définition de la biosorption 32
I.3.12. Classification des biosorbants 32
I.3.12.1. Biosorbants d'origine aquatique 32
I.3.12.2. Biosorbants d'origine agro-industrielle 32
I.3.12. Le blé 33
Chapitre II : Matériel et Méthodes 36
II.1. Matériel 36
II.1.1. Matériel biologique 36
II.1.1.1. Souche bactérienne 36
II.1.1.2. Collecte des graines de blé et leur germination 36
II.1.2. Matériel non biologique 37
II.1.2.1. Appareillage 37
II.2. Méthodes 37
II.2.1. Dispositif expérimentale 37
II.2.2. Préculture de spiruline 38
II.2.3. Milieu de culture 38

II.2.4. Extraction des EPS 39
II.2.5. Caractéristiques structurales 41
II.2.5.1. Structure morphologique et analyse élémentaire (MEB) 41
II.2.5.2. Analyse par diffraction des rayons X (DRX) 41
II.2.5.3. Études par spectroscopie infrarouge (IR) 41
II.2.6. Induction de la résistance au stress chez le blé 41
II.2.6.1. Composition de la solution Hoagland 41
II.2.6.2. Sélection de la dose et conception du traitement 42
II.2.7. Analyse morphologique 43
II.2.8. Analyse physiologique 44
II.2.8.1. Pigments photosynthétiques 44
II.2.9. Analyse biochimique 45
II.2.9.1. Indices de dommages oxydatifs 45
II.2.9.1.1. Analyse du malondialdéhyde (MDA) 45
II.2.9.1.2. Hydrogène peroxyde (H_2O_2) 45
II.2.9.2. Enzymes Antioxydants 46
II.2.9.2.1. Catalase (CE 1.11.1.6) 46
II.2.9.2. 2. Ascorbate peroxydase (CE 1.11.1.11) 47
II.2.9.2.3. Guaiacol peroxidase (CE 1.11.1.7) 47
II.2.9.2.4. Glutathion-S-transférase (CE 2.5.1.18) 48
II.2.9.3. Estimation des métabolites secondaires 48
II.2.9.3.1. Contenu phénolique total (TPC) 48
II.2.9.3.2. Flavonoïde 49
II.2.9.4. Détermination de la teneur en métabolites antioxydants 49
II.2.9.4.1. Glutathione 50
II.2.9.4.2. Proline 50
II.2.10. Analyse statistique 51

II.2.11. Etude de la capacité d'adsorption des EPS 51
II.2.11.1. Adsorbats et Adsorbant 51
II.2.11. 2. Dosage de polluant 52
II.2.11.3. Etude de l'adsorption en batch 53
II.2.11.3.1. Cinétique d'adsorption 53
II.2.11.3.2. Isotherme d'adsorption 53
II.2.11.4. Modélisation des isothermes d'adsorption 54
Chapitre III : Résultats et Discussion 56
III.1. Résultats 56
III.1.1. Effet unique et combiné du Cd et/ou du Cr sur la croissance du blé et le rôle d'EPS 56
III.1.2. Effet unique et combiné de Cd et/ou de Cr sur la teneur en pigments photosynthétiques et le rôle d'EPS 57
III.1.3. Effet unique et combiné de Cd et/ou de Cr sur le biomarqueur du stress oxydatif et le rôle d'EPS 58
III.1.4. Effet unique et combiné du Cd et/ou du Cr sur les activités enzymatiques antioxydantes et détoxifiante avec le rôle d'EPS 59
III.1.5. Effet unique et combiné du Cd et/ou du Cr sur la teneur en antioxydants non enzymatiques et les métabolites secondaires avec le rôle d'EPS 60
III.2. Caractéristiques structurales d'adsorbant (EPS) 62
III.2.1. Analyse par microscope électronique à balayage 62
III.2.2. Analyse par spectroscopie Infra-Rouge 62
III.2.3. Analyse par Diffraction de Rayons X 64
III.2.3.1. Composition chimique élémentaire d'EPS par EDAX, APEX 64
III.2.3.2. Composition chimique élémentaire d'EPS par DRX 64
III.3. Résultats d'adsorption 65
III.3.1. La courbe d'étalonnage du $K_2Cr_2O_7$ 65
III.3.2. Le temps de contact 66

III.3.3. La cinétique d'adsorption 66

III.3.4. Modélisation d`adsorption..... 68

III.4. Discussion 69

CONCLUSION GENERALE..... 76

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES..... 78

ANNEXES

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERAL

Les écosystèmes aquatiques sont les plus importants, mais ne sont que partiellement compris en ce qui concerne les composés biologiquement actifs qu'ils abritent.

Parmi les organismes aquatiques dotés de métabolites présentant des capacités biologiques, les algues figurent en premier. Malgré la composition chimique différente de la biomasse – qui est exacerbée par les différences entre les espèces – les composés biologiquement actifs des algues peuvent être classés en plusieurs catégories principales : polysaccharides, polyphénols, pigments, peptides, acides aminés, lipides et stérols. Les algues sont également une riche source de vitamines et de minéraux. Il a été démontré que l'application de la biomasse algale ou de ses fractions affecte positivement les processus de vie d'autres organismes, en particulier dans des conditions stressantes. Bien que la connaissance complémentaire de l'étendue et du mécanisme d'action des métabolites algaux et des interactions entre ces composés, avec un accent particulier sur la synergie, reste incomplète[1].

L'EPS est produit par les microalgues pour se lier à diverses surfaces, se protéger contre différents stress abiotiques (comme les températures extrêmes, le pH ou les situations limitant les nutriments), et agir également comme lieu de stockage de l'énergie et du carbone.

Les caractéristiques structurelles de ces composés leur prêtent un large éventail d'applications dans différents domaines, tels que les produits pharmaceutiques, les aliments, les cosmétiques et l'agriculture, car ils possèdent des propriétés biologiques uniques telles que les anti-inflammatoires, antibactériens, antiviraux, anticoagulants, anti-oxydant, et cicatrisation des plaies et les propriétés liées à la physicochimie. Le secteur agricole est confronté à un défi majeur : produire suffisamment de nourriture pour répondre à la demande mondiale croissante de nourriture. Pour répondre à cette demande, l'utilisation de biostimulants végétaux pour améliorer la croissance des plantes et leur tolérance au stress abiotique est de plus en plus populaire dans l'agriculture, en particulier dans les systèmes d'agriculture durable et biologique. Nouveau, Des approches respectueuses de l'environnement telles que l'utilisation d'exopolysaccharides (EPS) comme biostimulants végétaux pour l'amélioration du rendement et leur stabilité (sous des stress biotiques et abiotiques différents) peuvent être utiles à cet égard[2].

L'étude de la littérature présentée ci-dessus indique que, jusqu'à présent, seule une quantité limitée de travaux de recherche a été effectuée pour évaluer le potentiel de l'EPS dérivé de différentes souches de microalgues, y compris Spiruline comme biostimulant. En outre, il est difficile de trouver des études sur l'extraction et l'utilisation d'EPS libérées dans le milieu de culture pour stimuler la croissance des plantes dans des systèmes hydroponiques. Cela signifie que récupérer les EPSs libérées par la Spiruline et les ajouter à la solution nutritive pour encourager la croissance des plantes dans un système hydroponique représente une nouvelle et innovante approche pour promouvoir la croissance des plantes dans un environnement contrôlé. Si cette approche simple s'avère être si elle réussit à stimuler la croissance des plantes, elle pourrait élargir les possibilités d'établir une bioréfaction durable des microalgues, où la biomasse cultivée des microalgues peut être utilisée pour extraire d'autres composants précieux tels que les bio-pigments (Phycocyanine) et biofertilisant en plus d'EPS d'une manière séquentielle. L'objectif de ce travail est d'extraire l'EPS des milieux de culture usés et d'évaluer son potentiel en tant que biostimulant sur le blé cultivé dans un système hydroponique, dans cette perspective[2].

Ce travail est dirigé vers l'utilisation des EPS extrait à partir la spiruline comme matériau biostimulant dans le traitement des eaux chargés en les métaux lourds. L'EPS choisie pour la réalisation de ce travail possède des caractéristiques physico-chimiques intéressantes en termes de porosités…

Dans cette étude, nous nous sommes proposé d'effectuer une étude sur l'élimination de deux métaux sont le Cadmium et le Chromium. Le rapport de cette étude est articulé autour de trois chapitres et une conclusion

En premier chapitre nous avons initié notre travail par la présentation de quelques généralités sur la spiruline, leurs utilisations, leur taxonomie ainsi que leurs compositions chimiques. Ensuite, on parle sur le cœur de notre travail est les exopolysaccharides, leur structure, la classification el l'utilisation, suivi par généralités sur les métaux lourds leurs sources, toxicités et l'impact sur les plantes, n'oublient pas le stress et leur catégorie. Enfin, une revue bibliographique sur l'adsorption, leur principe, les types, le facteur d'équilibre, les mécanismes et les différentes isothermes et cinétiques influençant l'adsorption. Le deuxième chapitre comporte les techniques expérimentales employées, les protocoles établis et les conditions de préparation de biostimulant, sa caractérisation physicochimique ainsi que son application dans l'eau sur le blé. Nous avons étudié aussi l'adsorption de dichromate de

potassium. Le troisième chapitre est consacré à la présentation des différents résultats expérimentaux obtenus pour l'application de notre biostimulant sur le blé et l'adsorption du $K_2Cr_2O_7$ avec une étude statistique et leur discussion. Afin d'exploiter encore plus résultats obtenus, nous avons effectué des modélisations mathématiques en se basant sur les modèles de Langmuir, Freundlich afin de déterminer les paramètres liés à chaque modèle.

Une conclusion générale récapitule les principaux résultats obtenus au cours de ce travail ainsi que des recommandations futures pour une éventuelle amélioration du matériau utilisé.

Chapitre I :
Etude bibliographique

Chapitre I : Etude bibliographique

I.1. Généralités sur la spiruline

I.1.1. Introduction

L'intérêt pour les microalgues a considérablement augmenté en raison de leur potentiel à fournir une grande variété de molécules de valeur, comme des acides gras, des pigments, des acides aminés, des peptides et des polysaccharides. Cependant, de grandes quantités de résidus algaux ne sont toujours pas valorisées après la récolte. Ils sont rejetés directement dans l'environnement, ce qui peut causer des problèmes environnementaux liés à la présence de matière organique, aux dépenses d'eau et à la valeur nutritionnelle des cultures. La création d'un procédé permettant d'obtenir des substances polymères extracellulaires (EPS) à partir des milieux de culture de cyanobactéries et de microalgues présente un potentiel commercial et environnemental intéressant[3].

Les études précédentes ont montré que les substances polymères extracellulaires (EPS) des microalgues peuvent stimuler la croissance et le développement des plantes. Lorsqu'elles sont incorporées dans le sol, les EPS améliorent la structure du sol et la capacité de rétention d'eau. Les études ont souligné le grand potentiel des microalgues EPS comme source durable de biostimulants végétaux, produits à partir de sources renouvelables sans impact environnemental ou sur la santé humaine. Cependant, la composition et la structure des EPS peuvent varier en fonction de la souche de microalgues et des conditions de croissance[2].

Arthrospira platensis est une cyanobactérie filamenteuse avec des trichomes spiraux, appartenant à la famille des Oscillatoriaceae. C'est l'une des cyanobactéries les mieux étudiées et les plus utilisées en biotechnologie, en raison de sa croissance rapide dans des étangs ouverts en conditions alcalines, excluant ainsi la plupart des organismes contaminants[4].

Les exopolysaccharides (EPS) de Spiruline ont des propriétés biostimulantes. La production d'EPS atteint son maximum pendant la phase stationnaire de croissance et augmente avec le recyclage des milieux de culture. Cependant, l'accumulation d'EPS rend le processus de récolte difficile et réduit la productivité de la biomasse des microalgues. Il est recommandé de séparer ou d'extraire ces EPS pour maintenir la productivité de la culture et

les utiliser comme un biostimulant végétal, générant ainsi des avantages économiques supplémentaires et promouvant l'économie circulaire[2].

I.1.2. Généralités sur les microalgues

Les microalgues, également appelées phytoplancton, sont des organismes microscopiques mesurant entre 1 et 100 µm. Ils sont des microorganismes unicellulaires eucaryotes à la base de la chaine alimentaire dans le milieu marin. Le terme microalgue inclut également les cyanobactéries, des microorganismes photosynthétiques procaryotes, mais ces derniers forment un groupe phylogénétique distinct. Les microalgues et les cyanobactéries se développent par photosynthèse, convertissant l'énergie lumineuse en énergie chimique en utilisant le dioxyde de carbone (CO_2) comme source de carbone. Actuellement, 35 000 espèces de microalgues ont été décrites. Ils peuvent vivre isolées ou en groupes, en filaments ou en colonies, et sont présentes sur l'ensemble des surfaces de la Terre, des océans aux glaces arctiques, en passant par les lacs hypersalées et les murs des maisons[5].



Figure I.1: *Différents types de microalgues*[6].

I.1.2.1. Classification des microalgues

La diversité des algues est estimée à entre 30 000 et plus d'un million d'espèces. Ils se divisent en deux catégories principales, aquatiques (immergées dans l'eau) et subaériennes (développées à l'air libre).

-Les algues aquatiques se trouvent dans les eaux douces et salines, tandis que les algues planctoniques préfèrent les couches supérieures lumineuses des plans d'eau.

-Les algues benthiques colonisent les fonds peu profonds, s'ancrant dans les sédiments, ou peuvent atteindre des profondeurs de jusqu'à 200 mètres dans des eaux claires[7].

La classification des microalgues est dynamique et évolue grâce aux avancées en génétique. Ils peuvent être catégorisées selon leur pigmentation (vertes, rouges, bleu-vert, brun-doré) ou leur structure cellulaire (procaryotes et eucaryotes). Les procaryotes incluent les Cyanobactéries et les Prochlorophytes, qui se divisent en cinq ordres. Les Cyanobactéries sont caractérisées par une absorption efficace de nutriments et de composés, ainsi que par leur capacité à produire des toxines.

En biotechnologie, trois souches de Cyanobactéries sont couramment utilisées : *Arthrospira platensis*, *Nostoc commune* et *Aphanizomenon flos-aquae*[5].

I.1.3. Présentation de la spiruline

Arthrospira platensis est une cyanobactérie planctonique filamenteuse composée de cellules distinctes. Son diamètre varie entre 3 et 12 µm et sa longueur peut atteindre quelques millimètres. Sa forme peut varier en hélicoïdale, en spirale relâchée ou en filament rectiligne en fonction des conditions de culture. Elle est commercialisée sous le nom de spiruline et est utilisée dans divers produits, notamment : Produits cosmétiques, pharmaceutiques et alimentaires. Crème glacée, pâtes, biscuits, crostini au levain, gressins, snacks, kéfir, yogourt, produits laitiers, substituts de viande et smoothies.

La phycocyanine, une phycobiliprotéine dérivée d '*A. platensis*, est largement utilisée pour sa teinte bleue naturelle[7].

Spiruline platensis attire l'attention des scientifiques et des organismes de régulation des aliments (EFSA et FDA) en raison de ses propriétés nutritives et thérapeutiques exceptionnelles. Cette biomasse est utilisée comme supplément diététique en raison de sa richesse en protéines, hydrates de carbone, minéraux, acides gras et vitamines, bénéfique pour les animaux et les humains. Sa forte concentration en phycocyanine et en polysaccharides confère des vertus anti-cancéreuses, la rendant un aliment fonctionnel de premier choix. Cependant, les coûts élevés des ingrédients chimiques du milieu de culture rendent la production économique inefficace. Les microalgues et les cyanobactéries, notamment *A. platensis*, ont des mécanismes de défense spécifiques contre la toxicité des

xénobiotiques, notamment les EPS à charge négative qui se lient aux métaux lourds à charge positive, empêchant leur absorption et protégeant les cellules de leur toxicité[8].

I.1.3.1. Historique

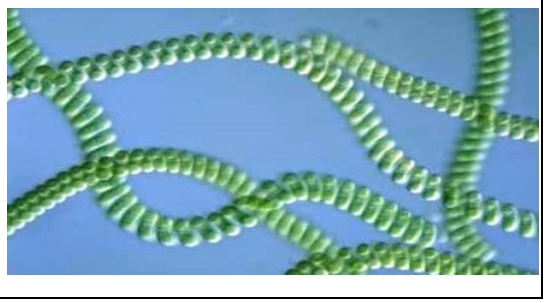
En 1940, le phycologue français Dangeard a signalé que les Kanembus consommaient des algues, connues sous le nom de dihé, vivant près du lac Tchad. En 1964-1965, le botaniste Jean Léonard a découvert des gâteaux verts comestibles vendus sur les marchés locaux au Tchad, qui provenaient des régions avoisinant le lac Tchad. En 1967, l'Association internationale de microbiologie appliquée a reconnu la spiruline comme une source alimentaire future merveilleuse en raison de sa teneur exceptionnelle en protéines et de la qualité de ses protéines. Cela a lancé de nombreux projets de recherche industrielle dans les années 1970. Au même moment, une étude systématique et détaillée des besoins de croissance et de la physiologie de la spiruline a été réalisée suite à une demande d'une entreprise mexicaine pour étudier une prolifération d'algues dans un lac près de Mexico.[9]

I.1.3.2. Taxonomie

La spiruline est une bactérie cyanobactérie filamenteuse du genre *Arthrospira*, qui a émergé sur Terre il y a environ trois milliards et demi d'années. Elle est souvent confondue avec une algue planctonique microscopique mais est en réalité une bactérie[10].

Elle a été isolée et décrite par plusieurs scientifiques. En 1829, J. Turpin l'a baptisée Spiruline jenneri f. platensis. En 1852, Stizenberger a nommé ce genre *Arthrospira* en raison de la présence de structures hélicoïdales. En 1892, Gomont a confirmé ces découvertes. En 1932, Geitler a regroupé des organismes sous le nom de Spiruline, mais cela a entraîné une confusion. En 1989, une classification distincte a été établie, séparant les micro-organismes en deux genres : Spiruline et Arthrospira. Cette classification est toujours acceptée aujourd'hui et place la spiruline dans le royaume des procaryotes, sous-groupe des Oscillatoires[11].

Tableau I.1 : *Caractéristiques morphologiques des souches Spiruline et Arthrospira*[11].

	Arthrospira	**Spirulina**
Trichomes	En hélice ouverte.	En hélice presque fermée.
Paroi cellulaire	Visible si les vacuoles à gaz ne sont pas trop nombreuses.	Difficilement visible.
Taille de cellule	Cellules de 6 à 12 µm de large, Constrictions entre les cellules adjacentes.	Cellules de 2 à 4 µm de large, de forme non fixe et avec peu ou pas de constrictions entre les cellules adjacent.
Mobilité	Par rotation.	Par rotation permanent.
Reproduction	Par scission simple ou multiple, par bourgeonnement ou encore par fragmentation au hasard.	Par rupture transcellulaire du trichome.
Image au microscope	Platensis[12] 	Subsala [13] 

I.1.3.3. Morphologie

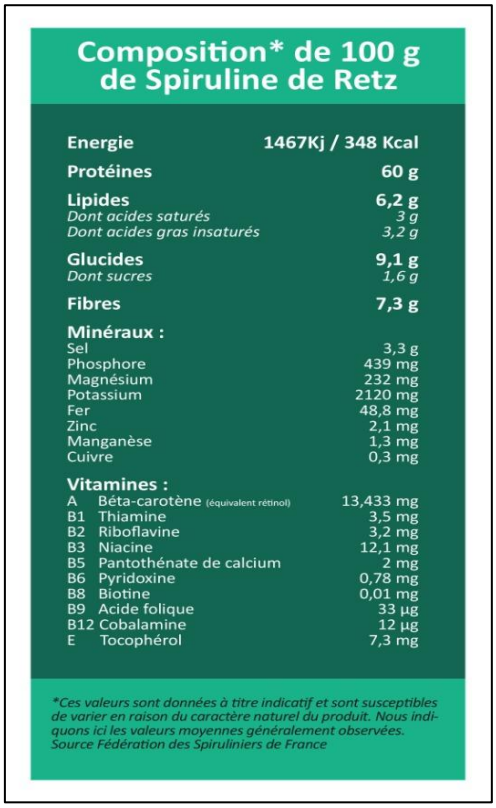
La spiruline est une algue microscopique bleu-vert qui entretient une relation symbiotique avec des bactéries pour fixer l'azote. Elle contient des pigments photosynthétiques tels que la phycocyanine, la chlorophylle a et les caroténoïdes. Elle se reproduit par fission binaire et adopte une forme hélicoïdale dans un milieu liquide. Les trichomes mesurent de 50 à 500 µm de long et de 3 à 4 µm de large. La spiruline est photosynthétique et autotrophe. Elle contient une paroi cellulaire similaire à celle des bactéries Gram négatif et peut être dégradée enzymatiquement pour obtenir des sphaéroplastes ou des protoplastes[9].

I.1.3.4. Les compositions chimiques

Des études ont été menées pour améliorer la production de biomasse et de composés précieux chez les microalgues, notamment *A. platensis*. Ces recherches ont examiné l'impact de facteurs tels que la composition en nutriments, le pH, la lumière et la température sur la croissance cellulaire et la productivité des composés. La lumière et la température sont considérées comme les paramètres les plus importants, influençant la croissance et la composition chimique des microalgues[14].

La Spiruline est riche en nutriments, contenant environ 55-70% de protéines, 15-25% de glucides et 11% de lipides. Elle est également une source de vitamines et de minéraux, ainsi que de chlorophylle et de phycobiliprotéines. Cependant, la composition biochimique peut varier en fonction des conditions de culture[11].

Elle est riche en protéines (55-70%), acides gras essentiels (1,5-2,0%), vitamines (B1, B2, B3, B6, B9, B12, C, D, E) et minéraux (potassium, calcium, chrome, cuivre, fer, magnésium, manganèse, phosphore, sélénium, sodium, zinc). Elle contient également des pigments photosynthétiques, tels que la chlorophylle a, les phycobiliprotéines et divers caroténoïdes.



Composition* de 100 g de Spiruline de Retz

Energie	**1467Kj / 348 Kcal**
Protéines	**60 g**
Lipides	**6,2 g**
Dont acides saturés	*3 g*
Dont acides gras insaturés	*3,2 g*
Glucides	**9,1 g**
Dont sucres	*1,6 g*
Fibres	**7,3 g**
Minéraux :	
Sel	3,3 g
Phosphore	439 mg
Magnésium	232 mg
Potassium	2120 mg
Fer	48,8 mg
Zinc	2,1 mg
Manganèse	1,3 mg
Cuivre	0,3 mg
Vitamines :	
A Béta-carotène (équivalent rétinol)	13,433 mg
B1 Thiamine	3,5 mg
B2 Riboflavine	3,2 mg
B3 Niacine	12,1 mg
B5 Pantothénate de calcium	2 mg
B6 Pyridoxine	0,78 mg
B8 Biotine	0,01 mg
B9 Acide folique	33 µg
B12 Cobalamine	12 µg
E Tocophérol	7,3 mg

**Ces valeurs sont données à titre indicatif et sont susceptibles de varier en raison du caractère naturel du produit. Nous indiquons ici les valeurs moyennes généralement observées. Source Fédération des Spiruliniers de France*

Figure I.2 : *Analyse nutritionnelle moyenne de 100g de Spiruline*[15].

Des études biochimiques ont été menées sur la composition de la spiruline cultivée dans divers environnements. La composition a été observée varier en fonction de la salinité du milieu de culture. Des études ont montré que les cellules de spiruline adaptées à un environnement salin ont une composition biochimique modifiée, avec une diminution des protéines et de la chlorophylle et une augmentation des glucides [9].

I.1.3.5. Utilisation de la spiruline

La spiruline est l'une des microalgues les plus couramment cultivées à l'échelle commerciale, avec une production mondiale annuelle estimée à 70 000 tonnes. Sa forte demande sur le marché, son entretien facile sans contamination et la technique de récolte simple ont contribué à son ascension dans l'industrie des microalgues[2].

A) L'utilisation par l'homme

-Effets sur le cholestérol et le poids.

-Activité antivirale (notamment le VIH, l'herpès simplex, le cytomégalovirus et la rougeole).

-Produits des métabolismes.

-Effets sur le système immunitaire.

-Effets sur la santé (réduit les dommages hépatiques dus à la toxicomanie et aux métaux lourds, la réponse inflammatoire, la dégénérescence des cellules, la réaction anaphylactique, les taches de Bitot et le césium 137 et le strontium 90 chez les enfants de Tchernobyl).

-Effets sur les maladies (les maladies cardiaques, la maladie de Parkinson, la malnutrition, la sclérose et la guérison des plaies).

-Composition nutritionnelle (la vitamine A pour prévenir les maladies oculaires, du fer et de la vitamine B12 pour traiter l'anémie hypoferrique et l'anémie pernicieuse, respectivement, ainsi que de l'acide y-linolénique pour traiter l'eczéma atopique et soulager le syndrome prémenstruel) [16].

B) L'utilisation dans l'agriculture

-Utilisation des algues bleu-vert comme engrais (remplacer les engrais chimiques, reconstituer la structure des sols appauvris, réduire la quantité d'engrais inorganiques nécessaire, limitée par leur faible coût et leur disponibilité).

-Utilisation comme complément alimentaire (augmenté le rendement de tomates, améliorant la fertilité, remplacer partiellement la farine de poisson et le tourteau d'arachide dans l'alimentation des poulets de chair).

-Utilisation comme des pigments (comme colorants alimentaires, cosmétiques et dans l'industrie des glaces…)[17].

C) L'utilisation dans l'aquaculture

-Utilisation dans l'alimentation animale (comme les crevettes, le tilapia, les ormeaux et les poissons de grande valeur) [17].

I.1.4. Généralité sur les polysaccharides

I.4.1. Définition

Les polysaccharides, également connus sous le nom de polyosides, sont des hydrates de carbone polymérisés qui occupent une place prépondérante dans la composition des glucides chez les êtres vivants. Ils sont composés de plusieurs sous-unités, qui peuvent être des sucres simples ou leurs dérivés. Ces sous-unités peuvent se lier pour former des chaînes linéaires, ramifiées ou non, ce qui leur confère des propriétés hydrophiles importantes. Celles-ci permettent aux polysaccharides de modifier les propriétés des systèmes aqueux, comme une viscosité élevée à faibles concentrations, des propriétés gélifiantes, une bonne solubilité dans l'eau et des propriétés adhésives qui facilitent la liaison des bactéries qui les synthétisent à divers supports[18].

I.1.4.2. Classification

Les polysaccharides peuvent être utilisés pour produire des produits variés, en fonction de l'origine et de l'effet souhaité. Les sources végétales fournissent des polymères tels que la cellulose, la pectine et l'amidon. Les algues produisent des polysaccharides tels que l'agar-agar, l'alginate et la carraghénine. Les champignons et les bactéries peuvent également fournir des polymères tels que la gomme gellan, la gomme xanthane et l'alginate

[19]**.** Les microorganismes peuvent synthétiser les polysaccharides qui peuvent être classés en trois groupes selon leur localisation dans la cellule :

-Le 1er groupe de polysaccharides comprend les polysaccharides de stockage intracellulaires, tels que le glycogène, qui sont localisés dans le cytoplasme.

-Le 2éme groupe regroupe les polysaccharides structuraux qui composent la paroi cellulaire, notamment le peptidoglycane et les acides lipotéichoïques chez les bactéries à Gram positif, ainsi que les lipopolysaccharides ancrés dans la membrane externe des bactéries à Gram négatif[20].

-Le 3ème groupe comprend les polysaccharides extracellulaires. Certaines bactéries sont capables de produire une couche de polysaccharides sur leur surface, qui, en association avec quelques glycoprotéines, sont regroupées sous le terme général de glycocalyx. Ce groupe se manifeste sous deux formes de base. D'une part, il peut prendre la forme d'une capsule étroitement liée à la surface de la cellule. D'autre part, il peut se présenter comme des exopolysaccharides (EPS) au sens strict, qui sont sécrétés dans le milieu extérieur et peuvent entourer les cellules dans une gangue muqueuse[21].

I.1.5. Les Exopolysaccharides

I.1.5.1. Définition

Les exopolysaccharides (EPS) sont des biopolymères sécrétés pendant la formation du biofilm et contiennent une diversité de composés de sucre, des sucres neutres (ex, le rhamnose) aux monomères comme le glucose, le galactose et le mannose, et aux sucres aminés (sucres N- acétylamino)[22]. Ces exopolysaccharides sont des composés glucidiques complexes avec divers substituants comme les lipides, les acides aminés, ou des sulfates fixés à leur dorsale linéaire ou ramifiée. Ils sont produits et accumulés à la surface des microalgues pendant la phase de croissance[2]**.** EPSs sont des produits biodégradables et renouvelables avec une grande application en biotechnologie et un large éventail de potentialités de marché[3].Ces biopolymères ont fait l'objet d'études approfondies et systématiques pendant des décennies à la recherche de nouvelles sources industrielles, de nouveaux médicaments anticancéreux, d'immunomodulateurs ou de produits pharmaceutiques bénéfiques pour la santé, avec des coûts de production minimaux. Malgré tous ces efforts, seuls quelques EPS bactériens sont exploitées pour leur valeur commerciale, tels que la cellulose bactérienne, l'alginate, le dextran, la gomme xanthane, etc. La variabilité

naturelle de ces sous-produits détermine leurs propriétés définies par la composition, structure moléculaire, poids moléculaire moyen, liaisons et configurations de glycosyle, etc[22].

I.1.5.2. Structure

Les EPS sont composées d'un nombre restreint de monosaccharides différents ou de leurs dérivés. Ils présentent une grande variété grâce à différentes combinaisons de ces unités de monosaccharides. Ces unités peuvent être disposées en chaînes linéaires ou ramifiées et sont reliées entre elles par des liens glycosidiques[23]. Le nombre de structures chimiques différentes des exopolysaccharides bactériens est très élevé. En général, ces EPS sont des hétéropolysaccharides composés de trois et quatre monomères différents organisés en groupes d'un ensemble de 10 ou moins pour former les unités répétitives. Les monosaccharides qui créent ces EPS peuvent inclure des pentoses, des hexoses, des acides aminés et des acides uroniques[24].

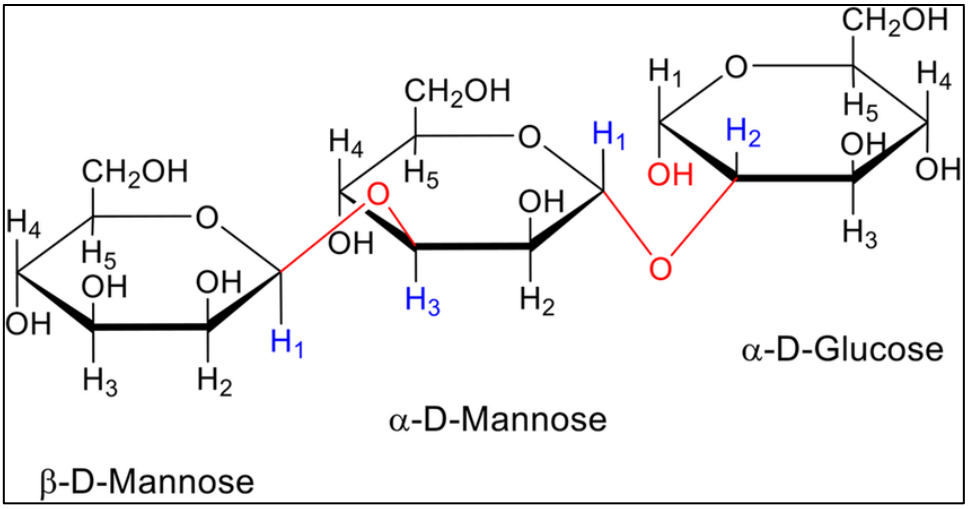


Figure I.3 : *Structure des exopolysaccharides produits par Lactobacillus.*[25]

I.1.5.3. EPS microbiens

Les exopolysaccharides microbiens sont biodégradables et donc moins nocifs que les polymères synthétiques. Bien que les polysaccharides produits par les plantes et les algues soient utilisés dans divers domaines, tels que l'industrie alimentaire, médicale, cosmétique et agricole, la composition et les propriétés des exopolysaccharides microbiens attirent actuellement l'attention de la communauté scientifique[26].

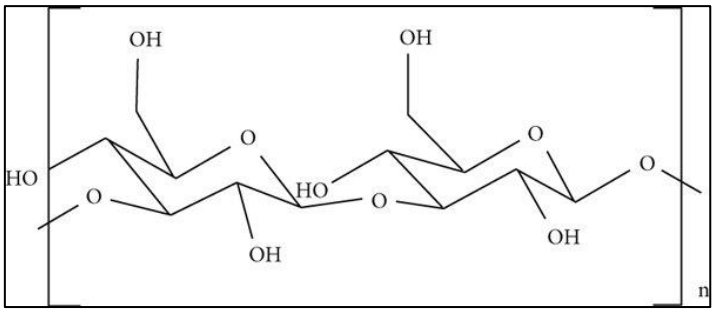


Figure I.4 : *La structure chimique de certains exopolysaccharides microbiens.*[27]

I.1.5.4. EPS de la spiruline

Arthrospira platensis produit une gamme de métabolites distinctifs ou présents à des concentrations plus élevées que dans d'autres organismes, ce qui les rend économiquement viables. Comme c'est courant pour de nombreuses cyanobactéries, *Arthrospira* sécrète diverses EPS (exopolysaccharides) qui peuvent être extraits et utilisés dans divers domaines[4].

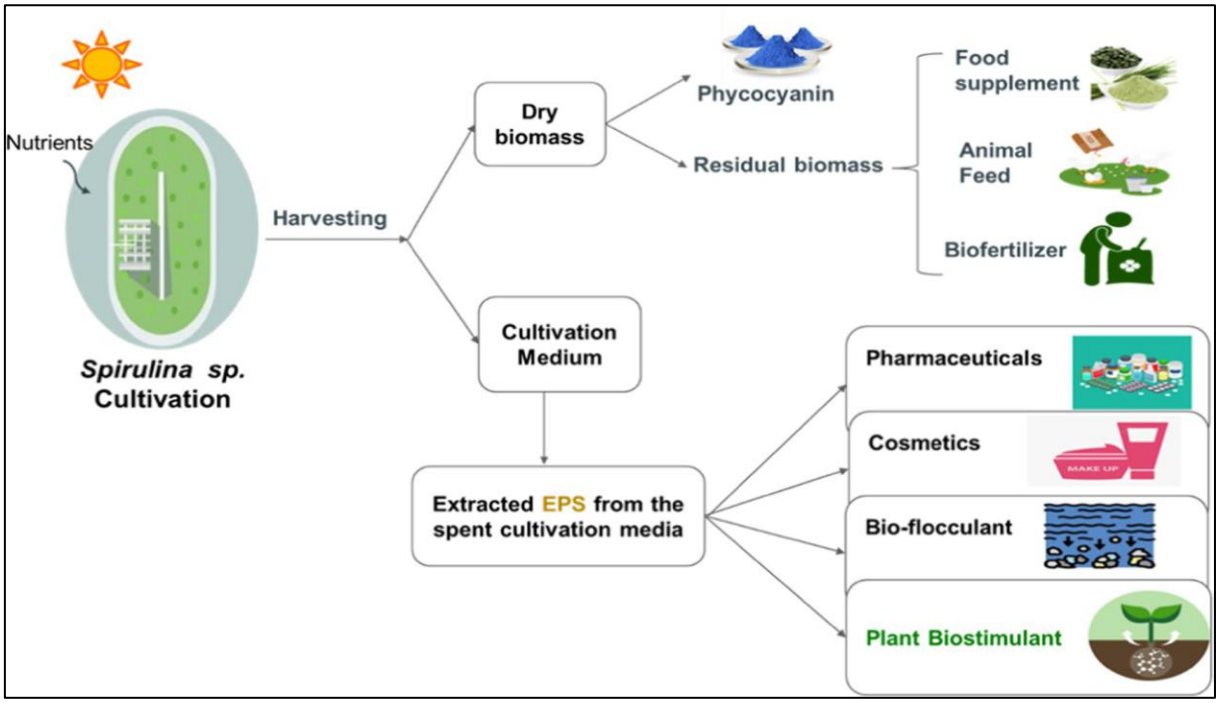


Figure I.5 : *Voie suggérée pour la production simultanée d'EPS, de phycocyanine et d'autres composants précieux de la spiruline pour établir une approche de bioraffinerie.*[2]

Les polysaccharides dérivés de la souche Spiruline possèdent des propriétés biostimulants en raison de la présence de plusieurs composés bioactifs. La production de ces polysaccharides se produit principalement pendant la phase de croissance et atteint son maximum pendant la phase stationnaire. Selon Trabelsi et al., la concentration des polysaccharides libérés dans la culture augmente significativement lors du recyclage des milieux de culture, car ces composés s'accumulent à chaque cycle de récolte. Cependant, cette accumulation de polysaccharides extraits ou de matière organique rend le processus de récolte difficile en augmentant la viscosité du milieu de culture, tout en réduisant la productivité de la biomasse des microalgues. Par conséquent, la séparation ou l'extraction de ces EPS du milieu de culture s'avère essentielle pour maintenir la productivité de la culture et valoriser l'EPS comme un précieux biostimulant végétal, générant ainsi des avantages économiques supplémentaires et promouvant l'économie circulaire[2].

I.1.5.5. Classification des exopolysaccharides

Les EPS sont classées en trois types : les gaines, les capsules et les mucilages, en fonction de leur emplacement, de leur structure et de leur consistance.

-Les capsules (polysacchas capsulaires) sont considérées comme hautement structurées, strictement délimitées et étroitement attachées à l'organisme.

-Les gaines sont moins structurées, non délimitées, d'épaisseur variable et pas si intimement attachées à l'organisme.

-Le mucilage est déstructuré et vaguement associé à l'organisme ou librement dispersé dans l'environnement[4].

I.1.5.6. L'utilisation des exopolysaccharides

Dans l'ensemble, le rôle de ces polymères semble différer entre les souches, ses propriétés dépendant des caractéristiques physico-chimiques de l'habitat naturel ou du milieu de culture dans lequel l'organisme se développe. Il a été suggéré que le polysaccharide extracellulaire produit par les cyanobactéries pourrait être utilisé dans divers domaines[16], notamment :

-Utiliser comme biostimulant végétal[2].

-Favorisant la croissance des racines et l'absorption des nutriments[2].

-Augmentant l'efficacité photosynthétique[2].

-Améliorant la résilience de la culture face à des conditions environnementales défavorables (comme différents facteurs de stress biotiques et abiotiques) [2].

-L'amélioration de la capacité de rétention d'eau du sol [16]**.**

-La désintoxication des métaux lourds et l'élimination des matériaux solides des réservoirs d'eau[28].

-Adhésif, gélifiant, floculants, et épaississant des agents textiles appliqués au cosmétique et des boissons[3].

-Applications médicales, tels qu'améliorer l'immunité innée humaine[4],l'activité immunomodulatrice, antibactérienne, anticoagulante, antimutagène, radio-protectrice, anti-oxydant, antiulcéreuse, anti-inflammatoire et même anti tumorigène[3].

I.2. Généralité sur les métaux lourds

I.2.1. Introduction

Les métaux lourds font partie des principaux polluants des sols qui limitent la production agricole dans le monde. Les plantes cultivées dans des sols contaminés par les métalloïdes présentent une croissance et un développement réduits, ce qui entraîne une diminution des récoltes.

L'exposition aux métaux induit un stress oxydatif des plantes dû à la formation de radicaux libres, qui altèrent mécanismes morpho physiologiques et biochimiques des plantes aux niveaux cellulaire et tissulaire.

Les activités naturelles et anthropiques émets des quantités importantes de composés toxiques dans l'atmosphère, conduisant à l'augmentation des ML dans les sols. Ces les éléments métalliques s'accumulent dans le sol, s'infiltrent dans la surface du sol et contaminer les eaux souterraines.

Les ML sont stables et non dégradables, ce qui signifie qu'ils ne peuvent pas être éliminés naturellement de l'environnement. Certains ML sont immobiles et ne peuvent pas bouger de l'endroit où ils sont accumulés, tandis que d'autres sont mobiles et peuvent être absorbés par les plantes depuis l'endroit où ils sont accumulés. Sol et eau par diffusion, endocytose ou transporteurs de métaux[29].

I.2.2. Les métaux lourds

Le terme de métaux lourds est imprécis, il recouvre des éléments ayant des propriétés métalliques (ductilité, conductivité, densité, stabilité des cations, spécificité de ligand…) et un numéro atomique >20. Généralement appelés métaux ou métalloïdes ayant une densité plus élevée (5 g cm^{-3}). Certains métaux sont nécessaires en faibles concentrations, car micronutriments provenant des plantes, par exemple molybdène (Mo), cuivre (Cu), nickel (Ni), manganèse (Mn), fer (Fe), bore (B), zinc (Zn) et aluminium. En concentration optimale, leur implication dans les réactions Ox/ Red confère à ces métaux un rôle vital pour le métabolisme des plantes. Or, le plomb (Pb), l'arsenic (As), le cadmium (Cd), mercure (Hg), strontium (Sr), titane (Ti), vanadium (V), lanthane (La), le thallium (Tl) et le chrome (Cr) sont des polluants bien connus[29].

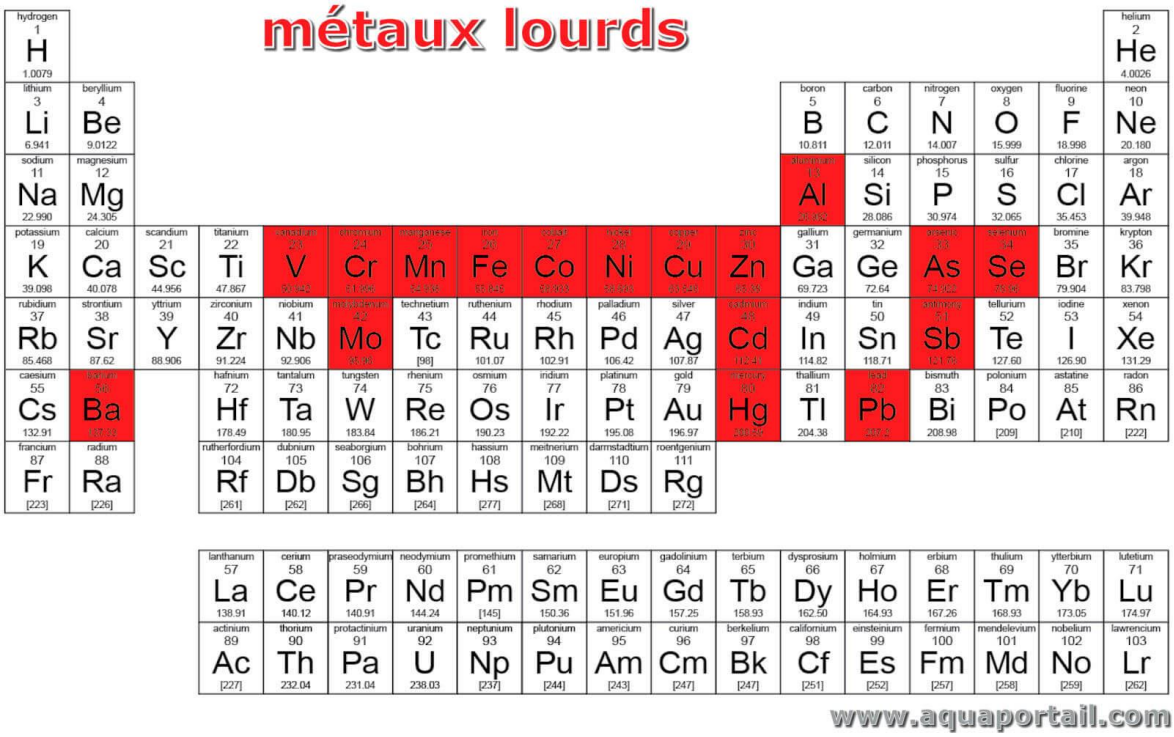


Figure I.6 : *Tableau périodique des éléments chimiques, mettant en évidence les éléments considérés comme des "métaux lourds".*[30]

I.2.3. Les sources de métaux lourds dans les sols

L'altération des minéraux du sol, l'épandage des eaux usées traitées (EUT), les boues d'épuration et les engrais, ainsi que les activités industrielles. Les métaux lourds conduisent non seulement à la contamination des sols, mais affectent également la production, la qualité et la sécurité alimentaire. Certains métaux lourds sont toxiques pour les plantes à de très faibles concentrations, tandis que d'autres peuvent s'accumuler dans les tissus végétaux à des niveaux relativement élevés sans symptômes visibles ni réduction du rendement[29].

Les plantes poussant dans des sites pollués par des métaux lourds peuvent présenter un métabolisme altéré et des processus physiologiques et biochimiques entraînant une réduction de la croissance, une production de biomasse et une accumulation de métaux plus faibles. Les humains exposés à des niveaux élevés de métaux lourds peuvent souffrir de diverses maladies, telles que : des cancers, des problèmes cardiovasculaires, la dépression, une insuffisance hématique, gastro-intestinale et rénale, l'ostéoporose et des dysfonctionnements tubulaires et glomérulaires. Les nourrissons, les enfants et les adolescents sont particulièrement sensibles aux intoxications aux métaux lourds, ce qui entraîne des problèmes de développement et un faible quotient intellectuel.

Pour empêcher la consommation humaine d'aliments empoisonnés par des métaux lourds, la plupart des pays ont des réglementations concernant les niveaux maximaux (ML) d'éléments toxiques ng. g^{-1}. La présente revue se concentre sur les sources et les risques des métaux lourds, principalement dans les champs cultivés de diverses régions, et sur les stratégies visant à réduire leur accumulation dans les cultures horticoles[29].

I.2.4. Le cadmium

Le cadmium est l'un des contaminants les plus importants sur Terre ; il possède une toxicité importante et met en danger le sol, et nuit à la santé humaine et à l'environnement écologique en raison de sa toxicité, de sa persistance et de sa bioaccumulation[31].

Le cadmium est un métal naturel autrefois largement utilisé dans les industries. Il peut pénétrer dans l'environnement à la suite d'activités naturelles et anthropiques et reste intact pendant de longues périodes. A 8 isotopes six sont stables, $_{106}$Cd, $_{108}$Cd, $_{110}$Cd, $_{111}$Cd, $_{112}$Cd et $_{114}$Cd et deux radionucléides primordiaux $_{113}$ Cd et $_{116}$Cd, la concentration de cadmium dans la croûte terrestre est de 0,15 ppm et le minéral de cadmium le plus courant est la Greenock ite (CdS)[32].

I.2.4.1. Origine

Les trois principales sources de cadmium selon un rapport récent sont le plastique, les engrais et les pesticides. La limite admissible pour le Cd dans les sols agricoles est de 100 mg/kg. Les plantes cultivées dans un sol contenant des niveaux plus élevés de Cd présentent des signes évidents de dommages sous forme de retard de croissance, de chlorose, de brûlure des extrémités des racines et de mort. La réduction du taux de Fe^{2+} due au stress du Cd affecte négativement la photosynthèse. L'interférence négative du Cd avec d'autres processus majeurs a également été étudiée, notamment l'absorption d'eau et le transport du calcium, du magnésium, du phosphore et du potassium[32].

I.2.5. Le chromium

Le chrome est un cancérogène pour l'homme à l'état d'oxydation de (-2) à (+ 6), qui est principalement stable sous trois formes, à savoir Cr (0), Cr (III) et Cr (VI). Parmi les trois états, le chrome hexavalent est hautement toxique et mutagène. En revanche, le Cr (0) et le Cr (III) sont peu toxiques par rapport au Cr (VI).

En tant que l'un des contaminants de métaux lourds hautement toxiques, le chrome hexavalent Cr (VI) présente un risque sérieux pour l'environnement et la santé publique en

raison de son excellente solubilité dans un environnement aqueux. Il existe 9 isotopes : $_{38}Cr$, $_{48}Cr$, $_{49}Cr$, $_{50}Cr$, $_{51}Cr$, $_{52}Cr$, $_{53}Cr$, $_{54}Cr$ et $_{55}Cr$; les isotopes $_{49}Cr$,$_{51}Cr$ et $_{55}Cr$ sont radioactifs[33].

I.2.5.1. Origine

Les deux sources les plus courantes de contaminants au chrome comprennent les rejets provenant des processus de galvanoplastie et l'élimination des déchets contenant du Cr. C'est l'un des éléments les moins fréquents et n'apparaît naturellement que dans des composés, et non sous sa forme élémentaire. Le minéral chromite, $FeCr_2O_4$, qui est le minerai le plus important pour le chrome, est extrait.

Le chrome se trouve naturellement à l'état d'oxydation trivalent et hexavalent. On estime que 33 tonnes de Cr total sont rejetées dans l'environnement chaque année. La forme trivalente (Cr^{3+}) est plus dangereuse pour les plantes. Ainsi, lorsque l'hexavalent (Cr^{6+}) est réduit en forme trivalente (Cr^{3+}), il devient plus mortel et modifie le pH du sol. Des concentrations élevées de (Cr^{3+}) peuvent perturber les processus morphologiques, biochimique, métaboliques et physiologiques des plantes[33].

I.2.6. Toxicités des Eléments Traces Métalliques

Avec la croissance économique mondiale rapide, les polluants contenant des métaux lourds peuvent pénétrer dans le sol par diverses méthodes, certains éléments métalliques sont essentiels aux organismes vivants à de faibles concentrations. Ils agissent à de fortes concentrations comme un facteur de stress qui entraîne une modification de la réaction physiologique. Le terme « sensibilité » décrit les effets du stress, qui peuvent aller jusqu'à la mort de la plante. Par opposition, le terme « résistance » fait référence à la réaction de la plante qui lui permet de survivre face au stress métallique. La toxicité des métaux manifester de façons très différentes par exemple le cadmium ne rentre dans aucune fonction biologique connue alors que le Fe et le Cu sont les métaux essentiels au métabolisme cellulaire, pourtant le Cu peut se révéler très nocif malgré son caractère indispensable à faible concentration. Les symptômes de toxicité associés aux métaux lourds sont peu différents de ceux produits par différents types de stress[34].

I.2.7. Impact des métaux lourds sur les plantes

Les plantes sont des formes de vie sessiles qui doivent s'adapter aux différentes compositions des sols en ce qui concerne leur vie et leur reproduction. Les sols sont souvent

confinés avec des niveaux inutiles de substances essentielles et éléments non essentiels, qui peuvent être nocifs à des concentrations élevées en fonction des espèces végétales et des qualités du sol. Nombreux les métaux partagent généralement leurs mécanismes de létalité de base, et les usines gèrent ces métaux en utilisant des voies d'élimination générales. Les effets dus à la toxicité des métaux sont rendus plus complexes par la rivalité, puisque les quantités élevées d'un métal peuvent déséquilibrer l'élimination et mouvement des autres et qui fournit le comportement toxique.

Les plantes se procurent des minéraux du sol essentiellement dans la forme d'ions inorganiques. La racine expansée et sa capacité d'assimilation composés ioniques même à faibles concentrations, ce qui rend l'absorption des minéraux plus efficace. Les composés minéraux peuvent être classés en deux catégories : (i) les nutriments essentiels (macro et micronutriments) et (ii) les nutriments non essentiels. Les macronutriments essentiels (azote, phosphore, potassium, magnésium, calcium, silicium et soufre) et les micronutriments (sodium, manganèse, fer, chlore, bore, molybdène, cuivre, zinc et nickel) sont des éléments importants pour la plante structure et son métabolisme. L'absence ou la carence de ceux-ci les nutriments peuvent diminuer la forme physique et entraver la croissance et le développement[34].

Les métaux lourds interfèrent avec l'homéostasie ionique et l'activité des enzymes, et ces impacts sont évidents dans les procédures physiologiques y compris des organes uniques (par exemple, l'absorption de suppléments par les racines) suivi de procédures plus larges, par exemple la germination, le développement, la photosynthèse, l'équilibre hydrique des plantes, la digestion essentielle, et multiplications. En réalité, les effets secondaires indubitables du métaux lourds la nocivité comprend la chlorose, la sénescence, l'enroulement et la putréfaction des feuilles, une faible génération de biomasse, le flétrissement et un développement entravé, quantités limitées de graines et, à long terme, disparition. La pollution par les métaux lourds dans un sol agricole constitue un problème environnemental grave en raison de la large répartition des métaux lourds dans les sols agricoles. L'environnement et ses effets (aigus et chroniques) sur la croissance dès la plante[29].

La croissance de la plante et ses activités métaboliques ainsi que l'acceptation des dommages oxydatifs chez différentes espèces ont été observées en raison de la phytotoxicité du Cd. L'exposition de l'excès de Cr aux plantes conduit à affecter le processus de photosynthèse en ce qui concerne la fixation du dioxyde de carbone, activités des enzymes,

de la photophosphorylation et du transport des électrons. Les indications de phytotoxicité de l'As comprennent la putréfaction et le rétrécissement des feuilles, suivis par des taches sur les racines et un obstacle au développement des pousses[34].

Tableau I.2 : *Effets des métaux lourds/métalloïdes sur la croissance des plantes.* [29]

Les métaux lourds	**L'effet**
Cadmium (Cd)	-Présente les symptômes d'un retard de croissance, d'un jaunissement de feuilles et brunissement des pointes des racines qui mènent à la plante la mort. -Provoque le jaunissement de l'extrémité de la tige du fruit. -Entrave la Fe (III) réductase dans les racines, ce qui provoque le manque de Fe (II) et affecte la photosynthèse.
Chromium (Cr)	-Diminue le taux de transpiration et le potentiel hydrique. -Réduit l'activité amylase qui affecte les sucres transport. -Altère la synthèse des pigments, ainsi que celle des anthocyanes et la photosynthèse. -Réduit la biomasse végétale.

I.2.8. Classification des plantes selon leur interaction avec les métaux lourds

Parmi les végétaux tolérants, il est possible de caractériser trois grands types basés sur les rapports entre les teneurs en métaux lourds du sol et celles des organes aériens des plantes considérées.

-Les excluantes : ces plantes sont capables de maintenir la concentration des métaux dans leurs parties aériennes à un niveau faible. Le métal est massivement transporté dans les parties aériennes de la plante et provoque des dégâts liés à sa toxicité.

-Les indicatrices : les ETM accumulent dans les tissues de leurs parties aériennes, et les concentrations internes reflètent exactement les concentrations externes (milieu).

-Les accumulatrices : ces plantes sont capables d'accumuler des concentrations élevées des ETM dans leurs tissus aériennes, ces plantes sont largement utilisées dans là selon la concentration des ETM dans les parties aériennes, ont classé les plantes en tant que

des accumulatrices ou hyperaccumulatrices. Le mais cultivé accumule les métaux lourds tels que le plomb et l'or, les légumineuses sont des hyperaccumulateurs de césium, sélénium, et le mercure[34].

I.2.9. Mécanisme de tolérance des plantes soumises au stress des métaux lourds

Lorsque les plantes sont stressées par les ML, les racines libèrent des exsudats pour désamorcer les composés nocifs et les empêcher de pénétrer dans la plante. Racine les exsudats limitent l'entrée des métaux dans la cellule par gonflement de la paroi cellulaire des racines en stimulant l'activité de la peroxydase. L'apoplaste de la racine peut agissent également comme une barrière physique efficace pour limiter l'entrée des ions métalliques dans le symplaste En même temps, la plante a développé différents mécanismes de défense réactifs en produisant hormones, protéines, molécules de signalisation et antioxydants liés au stress vaincre le stress en maintenant l'homéostasie[29].

I.2.10. Définition du stress

Le stress signifie la déviation dans le développement et les fonctions normaux de la physiologie des plantes, causant ainsi des dommages aux plantes. Le stress est défini comme étant une force ou influence hostile qui tend à empêcher un système normal de fonctionner. C'est le dysfonctionnement (rupture d'un équilibre fonctionnel) produit dans un organisme ou dans un système vivant, par exemple par une carence de performance de la physiologie de l'être vivant. On appelle stress toute pression exercée par un paramètre, perturbant le fonctionnement habituel de la plante. Ce concept est trop restrictif pour certains physiologistes qui étudient le stress car il soulève des questions sur les mécanismes adaptatifs qui permettent la croissance de plante dans un environnement stressant[31].

I.2.10.1. Catégories de stress

Le stress est l'ensemble des perturbations physiologiques ou pathologiques provoqués dans un organisme par des agents biotiques ou abiotiques.

I.2.10.1.1. Stress biotique

Le stress abiotique déclenché par d'autres organismes (des champignons, des insectes, des bactéries, des adventices...), afin d'y faire face, la plante met en place un système de défense qui fait intervenir une chaîne de réactions. Les protéines végétales défensives produites font office de rempart contre les agents nuisibles[31].

I.2.10.1. 2. Stress abiotique

Les facteurs abiotiques sont ceux liés à l'action du non-vivant sur le vivant tel que: les inondations, la sécheresse, les basses ou hautes températures, la salinité excessive des sols ou des eaux, la présence d'un minéral inadéquat dans le sol, cas des métaux lourds, l'excès de lumière qui stimule la photo inhibition, le cas de faible éclairement, les facteurs de stress abiotique, naturels ou anthropique, influent négativement sur la performance de la population ou la physiologie des individus[31].

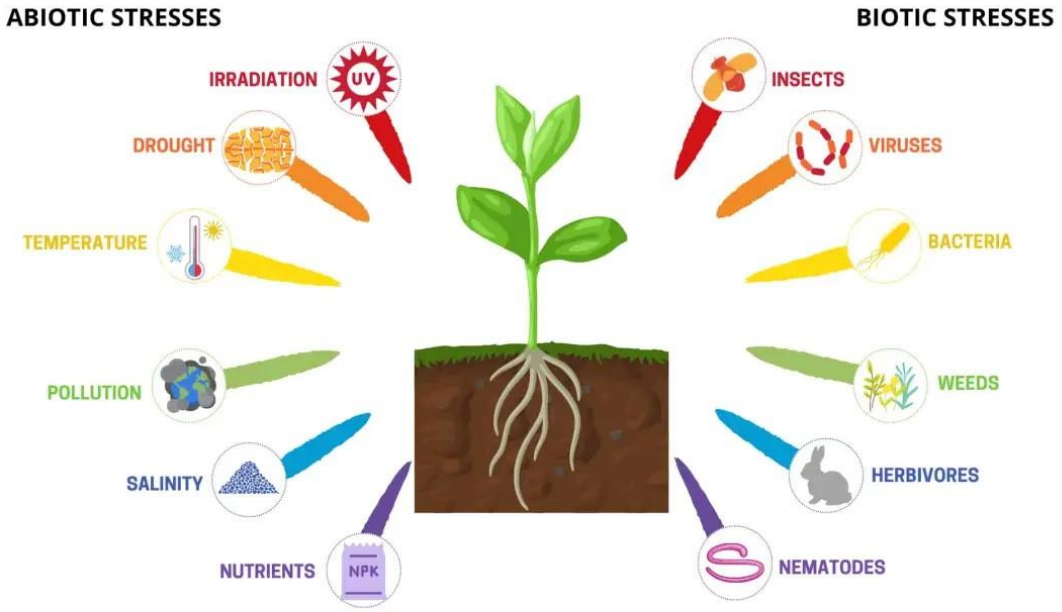


Figure I.7 : *Facteurs de stress environnementaux qui affectent les structures de la plante sous terre et en surface. Représentation schématique des facteurs non vivants causant des stress abiotiques (à gauche) et des facteurs vivants causant des stress biotiques (à droite).*[35]

I.3. Généralité sur l'adsorption

I.3.1. Introduction

L'adsorption est un phénomène physico-chimique se traduisant en particulier par une modification de concentration à l'interface de deux phases non miscibles. L'adsorption c'est un phénomène de surface, à distinguer de l'absorption, phénomène de profondeur.

II existe cinq types d'interfaces selon la nature des deux phases contiguës : (gaz/liquide), (gaz/solide), (liquide/liquide), (liquide/solide), (solide/solide), et pour chacun de ces types d'interfaces, on peut distinguer le cas où ces phases sont pures de celui où elles constituent des mélanges.

Les phénomènes d'adsorption se rapportant aux interfaces liquide/solide, à savoir donc l'adsorption des liquides, purs ou en mélange, par les solides considérés généralement comme des phases pures[36].

I.3.2. L'adsorption

Une des techniques très fréquemment adoptées pour le traitement de l'eau et des effluents industriels est l'adsorption. Son principe repose sur la propriété qu'ont les solides à fixer sur leurs surfaces certains polluants tels que les colorants textiles.

L'adsorption, à ne pas confondre avec l'absorption, est un phénomène de surface par lequel des molécules de gaz ou de liquides se fixent sur les surfaces solides des adsorbants [37].

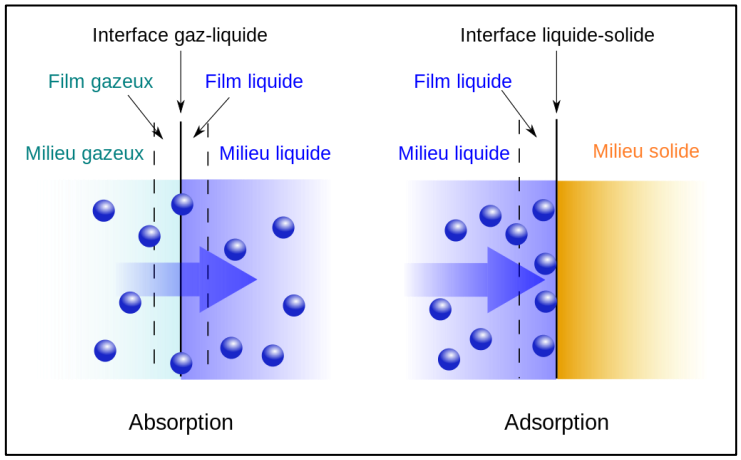


Figure I.8 : *Absorption et Adsorption.*[38]

Plusieurs définitions ont été données pour décrire le phénomène :

-L'adsorption est un phénomène d'interface, pouvant se manifester entre un solide et un liquide.

-L'adsorption est un phénomène physico-chimique se traduisant par une modification de la concentration à l'interface de deux phases non miscibles : liquide/solide ou gaz/solide, on parlera donc du couple adsorbât/adsorbant.

-L'adsorption peut aussi être définie comme étant une opération physique de séparation des mélanges, celle-ci permet l'élimination d'une substance en phase gazeuse ou liquide, par une autre phase[39].

I.3.3. Principe de l'adsorption

Le transfert de masse des molécules se fait de la phase fluide vers le centre de l'adsorbant. Ce processus s'opère au sein d'un grain d'adsorbant. Les matériaux adsorbants disposent de larges surfaces spécifiques, généralement développées sur des matériaux poreux industriels, au cours de l'adsorption d'une espèce chimique comme une molécule de polluante solution aqueuse[40]. Le transfert de la phase liquide vers la phase solide se déroule en plusieurs étapes qu'on peut définir comme suit :

A) Diffusion externe : elle correspond au transfert du soluté (molécules de la phase liquide ou gazeuse) au sein de la solution à la surface externe de l'adsorbant, le transfert de matière dépend de l'écoulement du liquide sur la surface de l'adsorbant.

B) Diffusion interne : les molécules du liquide pénètrent à l'intérieur des pores, la diffusion dépend du gradient de concentration du soluté.

C) Diffusion de surface : elle correspond à la fixation des particules à la surface des pores de l'adsorbant[40].

I.3.4. Types d'adsorption

Il est possible de distinguer deux types d'adsorption :

I.3.4.1. Adsorption physique (physisorption)

Dans l'adsorption physique, les forces intermoléculaires faibles, dites forces de Vander Walls interviennent dans l'attraction et la fixation des espèces dissoutes par le substrat solide. C'est un processus instantané car la vitesse d'adsorption est très rapide, ce

type d'adsorption est favorisé par une diminution de la température car elle se caractérise par une réversibilité rapide[41].

I.3.4.2. Adsorption chimique (chimisorption)

L'adsorption chimique résulte, par contre, de l'établissement de liaisons chimiques souvent de nature covalente ou ionique comme dans le cas de l'échange d'ions (couple de charges opposées). Dans ce type d'adsorption, le phénomène de fixation peut être irréversible et conduit à la modification chimique de l'espèce adsorbée[41].

I.3.5. Facteur influençant l'équilibre d'adsorption

Plusieurs paramètres influent sur l'adsorption, les plus importants sont :

I.3.5.1. La température du milieu

L'adsorption physique s'effectue à des basses températures (phénomène exothermique) alors que l'adsorption chimique demande des températures plus élevées (phénomène endothermique). Ceci nécessite de fixer la température du processus dès le départ[42].

I.3.5.2. Le pH de la solution

Le pH est un facteur important dans toute étude d'adsorption du fait qu'il peut influencer à la fois la structure de l'adsorbant et de l'adsorbât ainsi que le mécanisme d'adsorption[42].

I.3.5.3. La masse d'adsorption

La recherche de la masse minimale nécessaire et suffisante d'un matériau pour adsorber un polluant donné, est une étape primordiale à toute étude sur l'adsorption, car elle joue un rôle très important sur le mécanisme d'adsorption et sur le coût de l'adsorbant[42].

I.3.5.4. La concentration initiale d'adsorbat

La concentration initiale de polluant est un paramètre qui influe sur la capacité d'adsorption[42].

I.3.5.5. Le temps d'équilibre

Le temps d'équilibre est l'un des facteurs les plus importants de point de vue économique pour les systèmes de traitement des eaux polluées[42].

I.3.6. Facteurs caractérisant l'adsorbat

Toutes les substances ne sont pas adsorbables de la même manière. La capacité de rétention d'un polluant est fonction de :

-L'énergie de liaison de la substance à adsorber.

-La structure et la taille des molécules (un haut poids moléculaire réduit la diffusion et par conséquent la fixation de l'adsorbât).

-La solubilité (moins une substance est soluble, mieux elle est adsorbée) [43].

I.3.7. Facteurs caractérisant l'adsorbant

Un solide adsorbant est caractérisé par des propriétés physicochimiques, mécaniques et géométriques, les plus importantes sont les propriétés géométriques.

A) La surface spécifique : plus la surface est grande, plus on aura une meilleure adsorption.

B) La structure de l'adsorbant : l'adsorption d'une substance croit avec la diminution de la taille des particules et les dimensions des pores de l'adsorbant. Mais si le diamètre des pores est inférieur au diamètre des molécules, l'adsorption de ce composé sera négative, même si la surface de l'adsorbant a une grande affinité pour le composé. La distribution des tailles des pores joue un rôle important dans la cinétique globale du processus d'adsorption.

C) La polarité : les solides polaires adsorbent préférentiellement les corps polaires, et les solides apolaires adsorbent les corps apolaires[43].

I.3.8. Choix de l'adsorbant

La condition nécessaire pour obtenir une séparation entre le solvant et les solutés est de disposer d'un adsorbant vis-à-vis duquel l'adsorbabilité du solvant est inférieure à celle du soluté. Le choix de l'adsorbant peut être difficile et parfois impossible. Pour cette raison l'adsorbant doit avoir certaines propriétés telles que :

-Présenter une surface spécifique assez importante.

-Avoir une grande capacité d'adsorption.

-Être disponible et bon marché.

-Avoir une possibilité de régénération[44].

I.3.9. Modèles d'isothermes

Plusieurs lois ont été proposées pour l'étude de l'adsorption, et de nombreux modèles sont développés pour caractériser les processus impliqués. L'approche la plus fréquemment employée consiste à mesurer les isothermes d'adsorption représentant le partage à l'équilibre d'un soluté entre le solvant et la phase adsorbant. Parmi les modèles les plus répondus, on distingue :

I.3.9.1. Isothermes de Freundlich

Le modèle simple et empirique de Freundlich, est le plus communément utilisé. On considère qu'il s'applique à de nombreux cas, notamment dans le cas de l'adsorption multicouche avec possibilité d'interaction entre les molécules adsorbées suivant l'équation :

$$qe = Kf.Ce.e^{\frac{1}{n}} \qquad (\boldsymbol{I,1})$$

La forme exploitée la plus courante est le tracé en échelle logarithmique des variations de qe en fonction de (Ce) :

$$\ln qe = \ln Kf + \frac{1}{n}\ln Ce \qquad (\boldsymbol{I.2})$$

Tel que :

Kf : la constante de Freundlich (mg $(^{1-(1/n)})$. $L^{-(1/n)}$. g^{-1}).

Ce : la concentration à l'équilibre (mg/L).

qe : la capacité d'adsorption à l'équilibre (mg/g).

La constante 1/n adimensionnelle donne une indication sur l'intensité de l'adsorption.

La relation entre Kf et la capacité maximale d'adsorption qm est :

$$Kf = \frac{qm}{C0^{\frac{1}{n}}} \qquad (\boldsymbol{I.3})$$

Il est généralement admis que des faibles valeurs de 1/n (0,1<1/n<0,5) sont caractéristiques d'une bonne adsorption, alors que des valeurs plus élevées révèlent une

adsorption modérée (0,5<1/n<1) ou faible (1/n>1). Il faut noter que si 1/n tend vers 1, l'isotherme devient linéaire donc de type C[45].

I.3.9.2. Modèle de Langmuir

Le modèle de Langmuir, initialement développé pour l'adsorption en phase gazeuse, s'adapte très bien à la représentation d'isotherme de type I en phase aqueuse. Ce modèle est basé sur plusieurs hypothèses[45]:

_Les sites d'adsorption ont été tous énergiquement équivalents.

_Chacun des sites ne peut fixer qu'une seule molécule.

_L'adsorption se fait en monocouche entre les molécules adsorbées dans ces conditions, les isothermes peuvent être modélisées par l'équation :

$$qe = \frac{qm.d.Ce}{(1 + d.Ce)} \qquad (\boldsymbol{I.4})$$

Avec :

qm : La capacité maximale d'adsorption dépendant des conditions expérimentales ($mg.g^{-1}$).

d : la constante d'adsorption de Langmuir, constante liée à la température et au système adsorbant adsorbat ($d=d_0.e^{E/RT}$).

Ce : concentration de l'adsorbat en phase liquide à l'équilibre ($mg.\ L^{-1}$).

La linéarisation de cette équation nous donnera une droite de pente (1/ qm) et d'ordonnée à l'origine ($1/d.qm$).

$$\frac{Ce}{qe} = \frac{1}{qm}Ce + \frac{1}{d.qm} \qquad (\boldsymbol{I.5})$$

I.3.9.3. Autre modèle

D'autres modèles ont été développés pour décrire les interactions entre les adsorbants et les adsorbats tel que le modèle de Temkin, Dubinin-Radushkevich…. Mais la plupart de ces modèles sont empirique et nécessitent l'identification d'au moins trois paramètres, ce qui rend leur utilisation plus délicate[46].

I.3.10. Cinétique d'adsorption

Il existe deux modèles, pseudo-premier ordre et pseudo-deuxième ordre, sont les plus étudiés afin de modéliser la cinétique d'adsorption et de déterminer certains paramètres cinétiques comme la constante de vitesse et la quantité adsorbée à l'équilibre.

I.3.10.1. Modèle cinétique pseudo-première ordre (modèle Lagergren)

Lagergren a proposé un modèle cinétique de pseudo-premier ordre exprimé par la relation suivante :

$$\frac{dqt}{dt} = K1(qe - qt) \qquad (\boldsymbol{I.6})$$

Avec :

K1 : la constante de vitesse pour une cinétique du pseudo-premier ordre (min^{-1}).

qt: la capacité d'adsorption à l'instant « t » (mg/g).

qe: la capacité d'adsorption à l'équilibre (mg/g).

Après intégration entre t = 0 et t, d'une part, et qt = 0 et qt, l'équation devient :

$$\log(q0 - qt) = \log(qe) - \frac{K1}{2.303}t \qquad (\boldsymbol{I.7})$$

Le tracé de log $(qe - qt)$ on fonction de t, donne la droite avec la pente égale à $-k1/2.303$, et l'ordonnée à l'origine égale à log(qe).[47]

I.3.10.2. Modèle du cinétique pseudo-deuxième ordre

Une expression également très souvent utilisée est celle du pseudo-deuxième ordre. Ce modèle suggère l'existence d'une chimisorption, un échange d'électrons par exemple entre molécule d'adsorbat et l'adsorbant solide. Il est exprimé par la relation suivante :

$$\frac{dqt}{dt} = Ke(qe - qt)^2 \qquad (\boldsymbol{I.8})$$

K2 : la constante de vitesse pour une cinétique du deuxième ordre ($g.mg^{-1}.min^{-1}$).

Après intégration entre t = 0 et t, d'une part, et qt = 0 et qt, on obtient la forme linéaire :

$$\frac{t}{qt} = \frac{1}{K2.qe^2} + \frac{1}{qe}t \qquad (\boldsymbol{I.9})$$

Les constantes peuvent être déterminées en traçant la droite $1/qt$ on fonction de t[47].

I.3.11. Définition de la biosorption

La biosorption correspond à l'utilisation des matériaux biologiques ayant un grand potentiel de fixation des polluants par adsorption. Elle est considérée comme alternative ou complémentaire aux méthodes conventionnelles, utilisées pour le traitement des effluents contenant des ions métalliques ou des colorants qui sont généralement coûteuses.

En effet, la biosorption des métaux lourds, colorants ou autres composés organiques contenus dans des effluents aqueux est un procédé pas très ancien qui a montré une grande efficacité dans l'élimination de ces espèces métalliques ou organiques polluantes, utilisant des matériaux naturels comme adsorbants, tels qu'à titre d'exemple, les dérivés de déchets agricoles[48].

I.3.12. Classification des biosorbants

Les biosorbants peuvent être regroupés en deux catégories ; les biosorbants d'origine aquatique et ceux provenant du secteur agro-industriel.

I.3.12.1. Biosorbants d'origine aquatique

Les biosorbants d'origine aquatique désignent la biomasse, constituée à la fois d'espèces animales et végétales. Il est prouvé que la biomasse (vivante ou morte) possède de très bonnes capacités d'adsorption dues particulièrement à ses caractéristiques physico-chimiques[48].

I.3.12.2. Biosorbants d'origine agro-industrielle

Cette catégorie de biosorbants regroupe les matériaux d'origine végétale, provenant du secteur agricole ou d'une filière industrielle. Ce sont des matériaux riches en tanin qui, grâce aux groupements poly hydroxy-polyphénol, leur confère une grande efficacité dans la rétention des polluants[48].

I.3.12. Le blé

Le blé est la première céréale cultivée dans le monde pour répondre aux besoins alimentaires des humains[49]. Il est la culture céréalière prédominante et une source alimentaire de base pour plus de la moitié de la population mondiale[50].

Le blé est le principale source d'énergie (glucides), de protéines et de fibres alimentaires pour l'humanité. Avec la croissance de la population mondiale et l'augmentation du niveau de vie, l'accent est de plus en plus mis non seulement sur le rendement du blé, mais aussi sur la qualité. Les grains de blé mûrs contiennent principalement des amidons (70 à 75 %), des protéines de stockage (8 à 20 %) et une petite quantité de lipides, de minéraux et de vitamines[51].

Le blé est considéré comme l'aliment de base de plus de 36% de la population mondiale et fournit 20% des calories et 55% des glucides dans le monde. Il domine la plupart des terres arables (38,85 %) avec une teneur relativement élevée en protéines céréalières (12 à 15 %)[49].

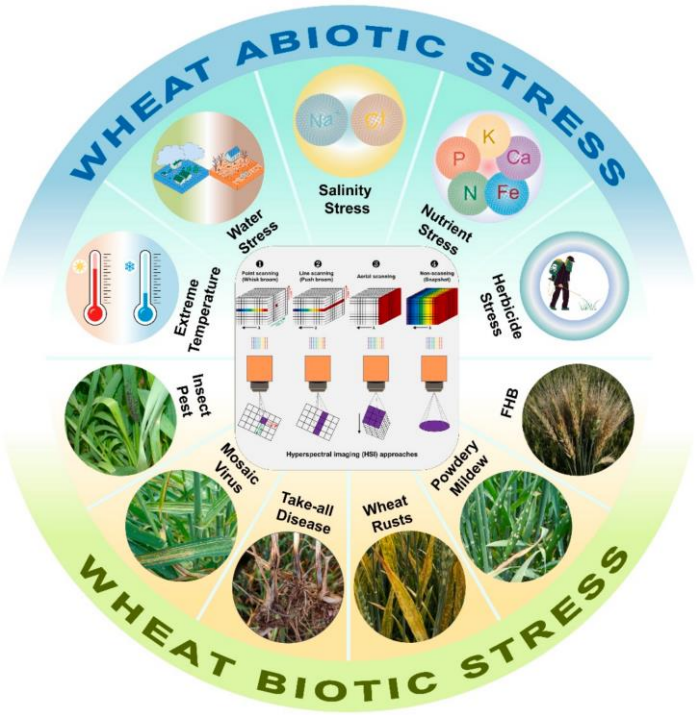


Figure I.9 : *Schéma sur les applications des capteurs HSI dans les facteurs de stress biotiques et abiotiques du blé.*[52]

Pendant la croissance du blé, il est exposé à divers stress dus à des facteurs environnementaux, ce qui a un impact significatif sur son rendement et sa qualité. Selon que le stress est un facteur biotique, il peut être divisé en deux catégories : le stress abiotique (chaleur, froid, sécheresse, sel-alcali et stress nutritif, etc.) et le stress biotique (champignons, virus, ravageurs, etc.). Afin de s'adapter aux environnements dynamiques et inadaptés, le blé a développé une série de mécanismes d'adaptation complexes, y compris les mécanismes biologiques moléculaires des réponses au stress des plantes[52].

Chapitre II :

Matériel et Méthodes

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel biologique

II.1.1.1. Souche bactérienne

Le matériel biologique utilisé dans ce travail est l'algue bleue verte, *Arthrospira platensis*, appartenant à la classe des cyanobactéries. La souche, d'origine algérienne de la wilaya de Tamanrasset, a été aimablement fournie en culture par le laboratoire de biologie (faculté de science) de l'université YAHIA Farès de Médéa. Elle a été cultivée dans un milieu de culture enrichi par les éléments minéraux nécessaires à la croissance dans des flacons de 500 ml, maintenus dans des conditions strictement contrôlées. Un éclairage permanent est assuré par une lumière blanche émise par des lampes fluorescentes. La température est maintenue à une valeur optimale de 32°C (±1°C) à l'aide de thermostats réglables. L'agitation des cultures est assurée par barbotage d'air à l'aide de pompes à air.



Figure II.1: *La culture de spiruline dans des condition expérimentales.*

II.1.1.2. Collecte des graines de blé et leur germination

Pour cette étude, Les grains de blé ont été achetées à la coopérative de céréales sèches et de légumineuses, Berrouaghia. Il a été cultivé sur une ferme à EL Omaria, Médéa.



Figure II.2 : *Ferme de plants de blé dans la région de EL Omaria, Médéa.*

II.1.2. Matériel non biologique

II.1.2.1. Appareillage

Appareillage	**Les marks**
Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier FTIR	BRUKER, TENSOR II
Spectrophotomètre	SHIMADZU, UVmini-1240
Agitateur magnétique chauffant	Heidolph MR 3001 K
Balance	JOANLAB
Autoclave	OTO12
Centrifugeuse	MIKRO 200R
pH mètre	SPECIFICATIONS
Bain-marie, Etuve	Memmert

II.2. Méthodes

II.2.1. Dispositif expérimentale

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire de chimie (Faculté de Technologie) l'université YAHIA Farès de Médéa, durant la période Janvier-Mai 2024.

La culture à l'échelle de laboratoire et semi-industrielle est bien comprise et maîtrisée. Les systèmes fermés, où les cultures n'ont pas ou peu de contact direct avec l'atmosphère, sont connus sous le nom de photobioréacteurs. Ces systèmes fermés sont des réacteurs fabriqués à partir de matériaux transparents en verre.[53]

II.2.2. Préculture de spiruline

Nous avons commencé l'expérimentation avec un volume de 200ml de spiruline souche (inoculum), a quel nous avons ajouté un volume 400ml de milieu de culture Zarrouk afin d'obtenir au moment de la récolte de 600 ml de qui par la suite répartie en 2 flacons de même volume 500 ml. Le milieu synthétique (milieu Zarrouk) est ajusté à pH = 9 ± 0,5 par addition de NaOH.

II.2.3. Milieu de culture

Les cyanobactéries Spiruline a été cultivées dans un milieu culture Zarrouk. Avant l'autoclavage, le pH du milieu a été ajusté à [8,95-9,05]. Ce milieu présente l'intérêt de s'adapter à presque toutes les souches de spiruline et simplifie considérablement le travail de l'algoculteur. Toutefois, ses constituants sont chers et ne sont pas toujours faciles à trouver[54].

Le milieu de culture est composé comme suit :

Tableau II.1 : *Composition de milieu Zarrouk dans une 1L d'eau distiller.*[54]

Composés	**Concentration ($g.L^{-1}$)**
$NaHCO_3$(Hydrogénocarbonate de sodium)	16,8
$NaNO_3$(Nitrates de sodium)	2,5
K_2SO_4(Sulfate de potassium)	1
NaCl (Chlorure de sodium)	1
K_2HPO_4(Phosphate dipotassique)	0,5
$MgSO_4.7H_2O$ (Sulfate de magnésium)	0,2
EDTA (Éthylène di amine tétra acétique)	0,08
$CaCl_2$(Chlorure de calcium)	0,04
$FeSO_4.7H_2O$ (Sulfate de fer)	0,01

A 1L de la composition ci-dessus, on a ajouté 1ml de chacune des solutions d'oligo-éléments A_5 et B_6.

Tableau II.2: *Composition de la solution A_5 ($g.L^{-1}$).*[54]

Oligo-éléments	**Concentration ($g.L^{-1}$)**
H_3BO_3(Acide borique)	2,86
$MnCl_2.4\ H_2O$ (Chlorure de manganése)	1,81
$ZnSO_4.7\ H_2O$ (Sulfate de zinc)	0,22
$CuSO_4.5\ H_2O$ (Sulfate de cuivre)	0,08
MoO_3(Oxyde de molybdéne)	0,015

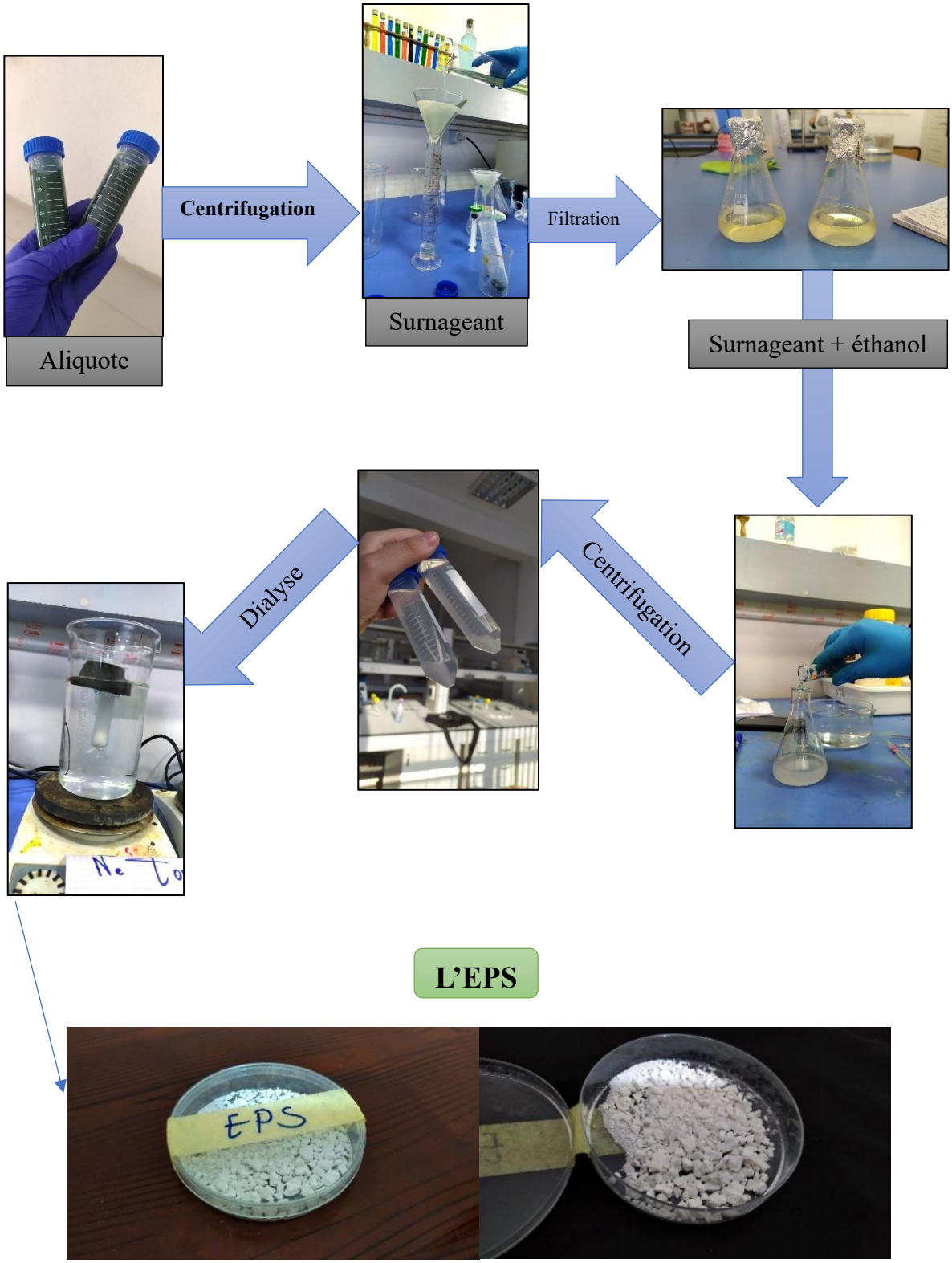
Tableau II.3: *Composition de la solution B_6 (mg. L^{-1}).*[54]

Oligo-éléments	**Concentration (mg. L^{-1})**
NH_4VO_3(Vanadate d'ammonium)	22,9
$K_2Cr_2(SO_4)_4.24\ H_2O$ (Alun de chrome)	96
$NiSO_4.7\ H_2O$ (Sulfate de nickel)	47,8
$Na_2WO_4.2\ H_2O$ (Tungstate de sodium)	17,9
$Ti_2(SO_4)_3$(Sulfate de titanium)	40
$Co\ (NO_3)_2.6\ H_2O$ (Nitrate de cobalt)	44

II.2.4. Extraction des EPS

Les polysaccharides extracellulaires (EPS, également appelés polysaccharides libérés), qui sont sécrétés dans la matrice extracellulaire ou vaguement associés à la surface cellulaire et forment fréquemment une couche de boue (biofilm), ont été au centre de notre étude plutôt que des polysaccharides capsulaires (CPS), qui sont étroitement et covalentement liés à la surface cellulaire et créent une capsule autour de la cellule. Les polysaccharides extracellulaires libérés des cellules d'A. platensis dans le milieu de culture ont été récupérés selon la méthode décrite par Parikh et Madamwar. Brièvement, après 30 jours de culture, une aliquote du milieu de culture a été centrifugée (6000 xg, 20 min) et le surnageant résultant a été filtré à travers un papier filtre Whatman No^2. L'EPS dans le surnageant filtré a été précipité avec 3 volumes d'éthanol refroidi à la glace à 95 % (v/v) pendant 12 h à 4°C. L'EPS précipité a été récupéré par centrifugation (10000 xg,15 min) et le surnageant a été éliminé et sécher à l'air libre [8].

Pour la caractérisation, le précipité a été associé dans de l'eau Milli Q ultrapure suivie d'une dialyse utilisant une membrane de 14 kDa (pour le dessalage) et la lyophilisation. L'EPS brut ainsi obtenu a été stocké dans le réfrigérateur pour une utilisation future[2].



II.2.5. Caractéristiques structurales

La caractérisation a été réalisé eu niveau de centre de recherche (CRAPC-Laghouat).

II.2.5.1. Structure morphologique et analyse élémentaire (MEB)

La surface d'échantillons d'EPS a été caractérisées par une Microscopie Électronique à Balayage (MEB) ; c'est une technique microscopique qui nous permet d'étudier la microstructure et la porosité d'EPS.

II.2.5.2. Analyse par diffraction des rayons X (DRX)

La technique de diffraction des rayons X (DRX ou XRD) est une méthode d'analyse qui utilise la diffraction des rayons X par la matière cristalline pour obtenir des informations sur la structure cristalline et la composition chimique des matériaux.

II.2.5.3. Études par spectroscopie infrarouge (IR)

La spectroscopie est une méthode essentielle pour identifier les groupes fonctionnels présents sur la surface de l'adsorbant. Ces groupes fonctionnels peuvent jouer un rôle clé dans la formation des liaisons entre l'adsorbant et l'adsorbat.

II.2.6. Induction de la résistance au stress chez le blé

II.2.6.1. Composition de la solution Hoagland

Les semis ont été irrigués dans un milieu nutritif à demi-force Hoagland et Arnon (1950) contenant des micronutriments (mg. L^{-1}) et des macronutriments (g. L^{-1}). La composition du milieu nutritif à pleine concentration est indiquée ci-dessous

Tableau II.4 : *Composition de la macronutriments ($g.L^{-1}$).*

Macronutriments	**Concentration (g. L^{-1})**
Nitrate de calcium ($Ca(NO_3)_2$)	0,271
Nitrate de potassium (KNO_3)	0,126
Sulfate de magnésium ($MgSO_4.7H_2O$)	0,123
Dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4)	0,034

Tableau II.5 : *Composition de la micronutriments (mg. L^{-1}).*

Micronutriments	**Concentration (mg. L^{-1})**
Acide borique (H_3BO_3)	1,430
Chlorure de manganèse ($MnCl_2.4H_2O$)	0,910
Sulfate de zinc ($ZnSO_4.7H_2O$)	0,110
Sulfate de cuivre ($CuSO_4.5H_2O$)	0,045
Molybdate de sodium (Na_2MoO_4)	0,045
Chloride de fer ($FeCl_3$)	9,680
Éthylène diamine tétra acétique (EDTA)	30,000

II.2.6.2. Sélection de la dose et conception du traitement

Après 40 jours de germination, Les semis matures avec des feuilles secondaires ont été déracinés et transférés dans des bouteilles de 125 ml (des semis de taille uniforme ont été soigneusement choisis) avec des éponges circulaires ont été utilisées pour les fixer sur l'ouverture et remplis par la solution Hoagland+ eau distillée (30ml Hoagland et 40ml d'eau distiller) pendant 7 jours pour l'acclimatation en culture hydroponique. Elles ont été cultivées avec une source de lumière artificielle et la température ambiante moyenne pendant l'expérience était de 22 ±3 °C.



Figure II.3 : *Les plants de blé sont immergés dans une solution hydroponique.*

Après 7 jours, les plants ont été traité avec $CdCl_2$ et $K_2Cr_2O_7$ respectivement. Après une série d'expériences de dépistage exposées à une seule concentration sont :

C($CdCl_2$) =100µM/L; C($K_2Cr_2O_7$) =100µM/L; C(EPS)=250mg/L

Nous avons 8 stress différents, chaque stress contient 10 répétitions, tel est :

-**CK** : Contient ½ Hoagland+ ½ eau distiller.

-**EPS** : On dissout 250mg d'EPS dans 1L d'eau distiller.

-**Cd** : On dissout 18.3mg de $CdCl_2$ dans 1L d'eau distiller.

-**Cr** : On dissout 29.4mg de $K_2Cr_2O_7$ dans 1L d'eau distiller.

Pour la combinaison on met les mêmes masses dans le même volume (EPS+Cd ; EPS+Cr ; Cd+Cr ; EPS+Cd+Cr).

Après 5 jours de traitement, les semis ont été récoltés et analysés pour divers paramètres : physiques, physiologiques et biochimiques.

II.2.7. Analyse morphologique

Le 7éme jours de traitement, les paramètres de croissance ont été enregistrés. Le poids frais des pousses et des racines (FW) a été déterminé à l'aide d'un bilan analytique, tandis que la longueur des pousses et des racines a été déterminée à l'aide d'une échelle centimétrique.

Le poids frais de pousse et racine (g) : Les feuilles et les racines des plantes ont été pesées séparément pour calculer le poids frais. Les racines ont été arrachées du sable et lavées, puis épongées sur du papier de soie et pesées immédiatement sur la balance. Pour les pousses, Ils étaient pesés directement sur la balance.

Longueur de racine et des pousses (cm) a été mesurée avec une échelle à partir de l'origine de la racine pivotante et de la pointe des feuilles.



Figure II.4 : *Photos de semis de blé après 7 jours le traitement.*

II.2.8. Analyse physiologique

Les expériences ont été répétées trois fois pour les analyses statistiques.

II.2.8.1. Pigments photosynthétiques

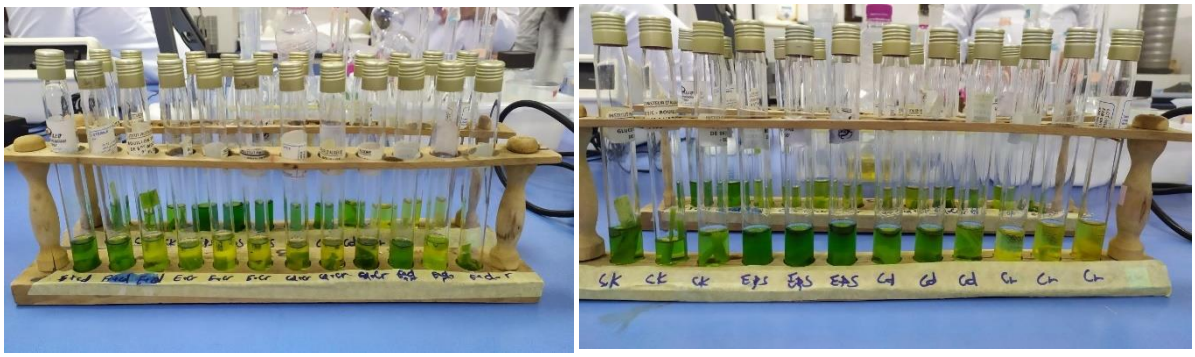


Figure II. 5: *Tubes d'essai contient mélange de feuille+acétone.*

Les pigments de chlorophylle ont été déterminés selon la méthode déjà rapport[55]. Des feuilles fraîches de blé ayant un poids de 0,1 g ont été mises dans 5 ml d'acétone (80% dans de l'eau distillée) et conservées dans un tube à essai pendant 24 h à l'obscurité. L'extrait a été séparé et les absorbances ont été lues à 400 – 700 nm sur le spectrophotomètre UV. L'absorbance maximale de la chlorophylle *a* est de 662 nm, celle de la chlorophylle *b* de 646 nm et celle du caroténoïde total de 470 nm.

II.2.9. Analyse biochimique

II.2.9.1. Indices de dommages oxydatifs

Les feuilles fraîches (100 mg) ont été broyées en homogénéité dans un mortier et un pilon réfrigéré avec 1ml d'acide trichloroacétique (TCA) à 0.1 % froid et glacé et centrifugées à 8000 xg (4° C) pendant 10 min. Pour déterminer la MDA et l'H2O2, nous avons employé le surnageant obtenue[56].

II.2.9.1.1. Analyse du malondialdéhyde (MDA)

Le surnageant (500 µL) a été mélangé avec 1 ml de solution aqueuse TBA à 0,67 % et incubé pendant 30 minutes dans un bain d'eau chaude à 90 °C. Après l'incubation, il a été refroidi immédiatement dans un bain de glace et centrifugé à 10 000 xg (4 °C) pendant 10 min. L'absorbance du surnageant obtenu a été mesurée à 440, 532 et 600 nm à l'aide d'un spectromètre UV.

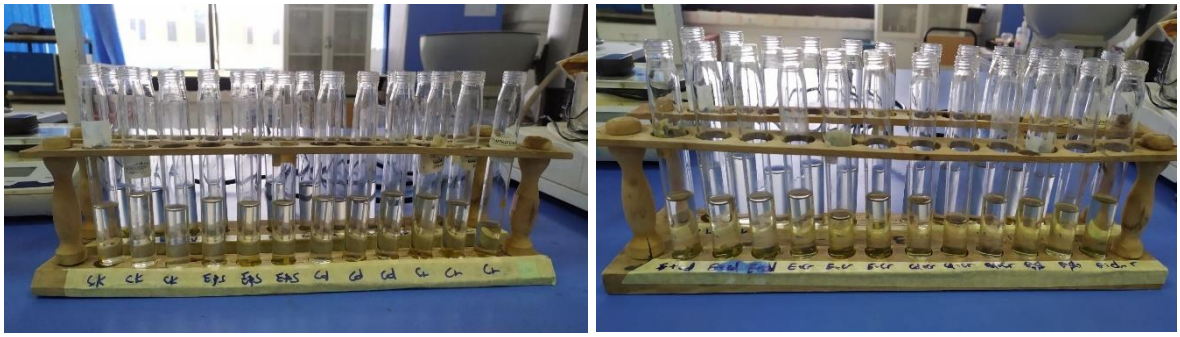


Figure II.6 : *Tubes d'essai contient mélange surnageant+ TBA.*

La concentration de substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) a été exprimée en nmol d'équivalents MDA par gramme de feuilles FW comme suit :

$MDA\ (nmol\ g^{-1}) = [Abs_{532} - Abs_{600} - 0{,}05714\ (Abs_{440} - Abs_{600})] / (0{,}157FW)$.[56]

II.2.9.1.2. Hydrogène peroxyde (H_2O_2)

Le 0,5 ml de surnageant a été mélangé avec 0,5 ml de tampon de phosphate de potassium 10 mM (pH 7,0) et 1 ml d'iodure de potassium 1 M (KI), puis incubé dans l'obscurité pendant 1 h à température ambiante. L'absorbance du surnageant a été mesurée à 390 nm à l'aide d'un spectromètre UV.

La teneur en H_2O_2 a été calculée comme la formule suivante préparée sur une courbe standard :

H_2O_2 (mol. g^{-1} FW) = (Abs_{390} + 0,004) / (3,727 x V x FWv)

Où : V représente le volume d'extrait de feuille (ml), et FWv indique le poids frais de l'échantillon de feuille par unité de volume d'extrait (g. ml^{-1}) [56].



Figure II.7 : *Tubes d'essai contient mélange surnageant +tampon +KI.*

II.2.9.2. Enzymes Antioxydants

Un échantillon de feuilles fraîchement récoltées (200 mg) a été homogénéisé dans un bain de glace avec 1 ml de tampon phosphate de 50 mM (pH 7,0) contenant 0,1 mM d'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) et 2 % de polyvinylpyrrolidone (PVP). Après centrifugation à 12000 xg (4° C) pendant 20 min, le surnageant a été utilisé pour estimer les activités enzymatiques ultérieures [57].

II.2.9.2.1. Catalase (CE 1.11.1.6)



Figure II.8 : *Tubes d'essai contient mélange surnageant +tampon+H_2O_2.*

L'extrait enzymatique de 100 µl a été mélangé avec 300 µl de H_2O_2 (15 mM), et 2600 µl de tampon de phosphate de potassium (50 mM). L'absorbance de la solution obtenue a été mesurée à 240 nm[57].

II.2.9.2. 2. Ascorbate peroxydase (CE 1.11.1.11)



Figure II.9 : *Tubes d'essai contient mélange surnageant +tampon+ acide ascorbique.*

L'extrait enzymatique de 100 µl a été ajouté avec un mélange réactionnel contenant 2300µl de tampon de phosphate de potassium de 50 mM ,300 µl d'acide ascorbique de 0.5 mM et 300 µl d'H_2O_2 (1 mM) a été ajouté en dernier pour initier la réaction. La diminution de l'absorbance a été mesurée à 290 nm pendant 3 min[57].

II.2.9.2.3. Guaiacol peroxidase (CE 1.11.1.7)



Figure II.10 : *Tubes d'essai contient mélange surnageant +tampon+ pyrogallol.*

Le mélange d'essai consistait en 1900 µl de tampon de phosphate de potassium (50 mM), 500 µl de solution pyrogallol(0.1mM) et 500 µl de H2O2(12.3mM) avec100 µl d'aliquote enzymatique. Le mélange est incubé à 25 ºC pendant 5 min. Ensuite, on ajoute 1 ml de H_2SO_4(2,5 N) avec secouant doucement, l'absorbance a été enregistrée à 420 nm[57].

II.2.9.2.4. Glutathion-S-transférase (CE 2.5.1.18)

Le mélange réactionnel contient 300 µl de CDNB (1 mM), 300 µl de GSH (1 mM), 2300 µl de tampon de phosphate de potassium (0,1 M) et 100 µl d'extrait enzymatique. Lorsqu'on ajoute l'extrait enzymatique, la réaction est initiée. L'augmentation de l'absorbance du mélange réactionnel a été étudiée à 340 nm par spectrophotomètre UV-VIS pendant une minute à 25 °C[57].

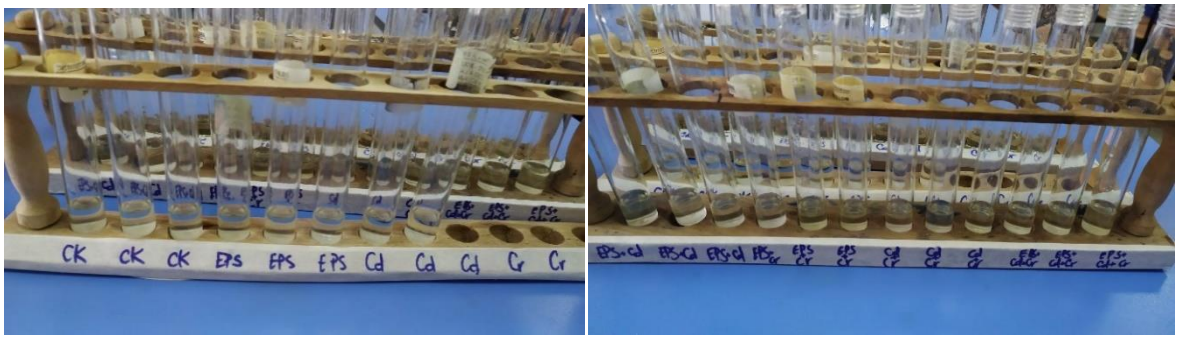


Figure II.11 : *Tubes d'essai contient mélange surnageant +tampon +CDNB +GSH.*

II.2.9.3. Estimation des métabolites secondaires

Les feuilles fraîches (0,1 g) ont été homogénéisées dans 5ml méthanol (80 %) et moulu à l'aide de mortier et de pilon. L'extrait obtenu a été conservé dans un tube à essai pendant la nuit suivi d'une centrifugation à 6000 xg(4°C) pendant 10 min. Le surnageant obtenu a été utilisé pour la détermination des phénols et des flavonoïdes totaux[55].

II.2.9.3.1. Contenu phénolique total (TPC)

Le mélange d'essai était composé de 0,1 ml d'extrait enzymatique, 2,8 ml d'eau distillée et 0,1 ml de réactif Folin-Ciocalteau à 10%. Après l'ajout de 2 ml de carbonate de sodium à 2%, le mélange a été incubé pendant 1 heure à température ambiante et à l'obscurité. L'absorbance du mélange a été mesurée à 765 nm[55].



Figure II.12 : *Tubes d'essai contient mélange surnageant + Folin-Ciocalteau + carbonate de sodium.*

II.2.9.3.2. Flavonoïde

On trouve 0.2ml d'extrait méthanoïque avec 2ml de solution $AlCl_3$ (2%), le mélange a été incubé pendant 15min à température ambiante et à l'obscurité. L'absorbance a été mesurée à 420 nm[55].

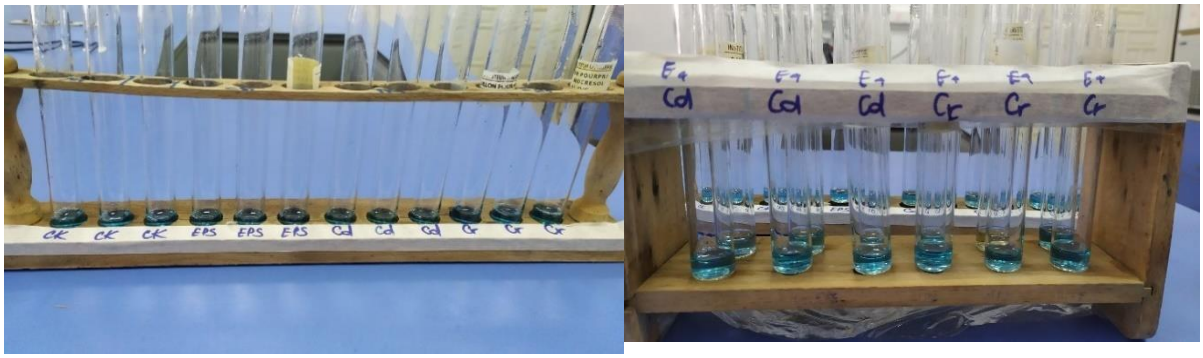


Figure II.13 : *Tubes d'essai contient mélange surnageant + $AlCl_3$.*

II.2.9.4. Détermination de la teneur en métabolites antioxydants

Pour l'estimation de la teneur en proline et en GSH, 100 mg de feuilles fraîches ont été homogénéisées dans 3ml d'acide sulfosalicylique (3%). L'échantillon a été broyé avec un mortier et un pilon et le résultat a été stocké dans un tube à essai pendant la nuit et centrifugé à 10 000 xg (4 °C) pendant 10 min[31].

II.2.9.4.1. Glutathione

On trouve 100µl d'extrais acidique avec 1.8ml de tampon phosphate (50 mM) et 100 µl de DTNB, le mélange a été incubé pendant 5min à l'obscurité. L'absorbance a été mesurée à 412 nm[31].



Figure II.14 : *Tubes d'essai contient mélange extrait +tampon + DTNB.*

II.2.9.4.2. Proline

Un mélange de 1 ml de surnageant, 1 ml d'acide ninhydrine et 1 ml d'acide acétique glaciaire a été préparé. La réaction a été amorcée en chauffant le mélange à 100 °C pendant une heure au bain-marie. La réaction a ensuite été terminée en incubant le mélange à basse température pendant 10 minutes. Pour séparer la proline libre, 2 ml de Toluène ont été ajoutés au tube, le conservant dans la phase organique. La phase organique supérieure a ensuite été séparée et mesurée à 520 nm[31].



Figure II.15 : *Tubes d'essai contient mélange extrait + d'acide ninhydrine + d'acide acétique glaciaire+ Toluène.*

II.2.10. Analyse statistique

Toutes les expériences ont été réalisées en triple et les données ont été présentées sous forme de valeurs moyennes. Une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA) avec le test post-hoc (Duncan) a été utilisée pour analyser les différences significatives entre les groupes témoins et les groupes de traitement à l'aide du logiciel SPSS 22.0. Les différences ont été considérées comme statistiquement significatives (*) et très significatives (**).

II.2.11. Etude de la capacité d'adsorption des EPS

II.2.11.1. Adsorbats et Adsorbant

L'adsorbats étudiés est le dichromate de potassium, également connu sous le nom de bichromate de potassium, est un solide ionique orange de formule $K_2Cr_2O_7$. Il se présente sous forme de cristaux orange à rouges et est un puissant agent oxydant. Il est couramment utilisé dans les réactions d'oxydo-réduction en laboratoire et dans l'industrie. Ça structure chimique et ses caractéristiques sont représentée sur la Figure (II.14) et dans le Tableau (II.6) respectivement [58]:

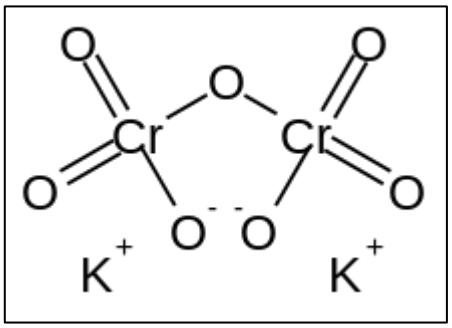


Figure II.16 : *Structure du dichromate de potassium $K_2Cr_2O_7$*[59].

Tableau II.6 : *Principales propriétés du dichromate de potassium.*[58]

Nom UICPA	Dichromate de potassium
Formule	$K_2Cr_2O_7$
Solubilité	4,3 % (eau, 0 °C), 11,7 % (eau, 20 °C)
Masse molaire	294,1846 ± 0,0035 g/mol (Cr 35,35%, K 26,58%, O 38,07%)
Etat Physique	Solide

L'adsorbant utilisé est les exopolysaccharides extraies à partir de la spiruline. (Mentionné précédemment au début de cette chapitre).

II.2.11. 2. Dosage de polluant

Les solutions destinées aux essais sont préparées à partir d'une solution mère obtenue par dissolution de 29.4 mg de $K_2Cr_2O_7$ dans un litre d'eau distillée. En diluant les proportions déterminées de cette solution mère dans un volume d'eau donné, on obtient des solutions à différentes concentrations allant de 25 à 100µM/L.

La méthode d'analyse choisie pour le dosage de ces substances est la spectrophotométrie UV-Visible. Cette méthode est particulièrement adaptée pour ce type de substances car elle est simple, rapide et permet de traiter un grand nombre d'échantillons. La spectrophotométrie UV-Visible est une méthode spectroscopique qui utilise l'interaction entre le rayonnement et la matière. Grâce à la loi de Beer-Lambert, il est possible de déterminer la concentration d'un constituant en fonction de la relation entre l'intensité du rayonnement absorbé et la longueur d'onde.

$$DO = log\left(\frac{I}{I0}\right) = \varepsilon.l.C \qquad (\boldsymbol{II.1})$$

DO : Densité Optique.

I et IO : intensité du faisceau de lumière monochromatique de longueur d'onde λ à l'entrée et à la sortie de la cellule de référence.

C : concentration de de la solution à doser (mol/L).

l : épaisseur de la cuve (cm) ; généralement égale 1cm.

ε: coefficient d'extinction molaire (l/mg cm ou l/mole cm).

Les mesures d'absorbance ont été effectuées à l'aide d'un spectromètre UV−Visible type SHIMAZDU « UV mini-1240 » à un seul faisceau. C'est un appareil qui permet de mesurer directement la densité optique à la longueur d'onde $\lambda = 357.8nm$ pour le $K_2Cr_2O_7$[41].

II.2.11.3. Etude de l'adsorption en batch

II.2.11.3.1. Cinétique d'adsorption

L'étude de la cinétique d'adsorption d'un adsorbat sur un adsorbant permet d'examiner l'impact du temps de contact sur la rétention du colorant à la surface de l'adsorbant. Pour déterminer ce temps d'équilibre, nous avons mesuré la quantité de colorant adsorbée à différents intervalles de temps, ce qui nous a permis de trouver le temps optimal pour les systèmes de traitement des eaux polluées, considéré comme un facteur économique important[60].

Cette étude a été menée de manière à déterminer les quantités retenues de l'adsorbat choisi (dichromate de potassium) depuis sa mise en contact jusqu'à l'obtention de l'équilibre adsorbant-adsorbat. Les concentrations en micropolluant ainsi que les masses de l'adsorbant utilisées sont toutes identiques. Toutes les expériences ont été réalisées dans des béchers avec agitation. Une masse (12.5mg) d'EPS a été utilisée dans une solution aqueuse de dichromate de potassium de concentration différente C0. Après agitation, les échantillons ont été filtrés par un papier filtre et entonnoir puis analysés par spectrophotomètre UV-Visible à température ambiante.

La quantité adsorbée de colorant à l'équilibre ; Qe (mg/g) a été calculé par l'équation :

$$Qe = \frac{(C0 - Ce)V}{ms} \qquad (\boldsymbol{II.2})$$

C0 et Ce : sont les concentrations initiales et en équilibre de colorants (mg/L).

V : le volume de solution (L)

ms : le poids sec des adsorbants ajoutés (g).

II.2.11.3.2. Isotherme d'adsorption

Afin d'évaluer les performances de notre biosorbant EPS, nous avons établi les isothermes d'adsorption de $K_2Cr_2O_7$ sur notre EPS. La réalisation de cette expérience a été faite en batch, nous agitons avec une vitesse de 500tpm, dans un volume de 50ml de solution de $K_2Cr_2O_7$ et une masse de 12.5mg d'EPS à des concentrations initiales allant de 25 à 250µM/L, au pH de la solution égale 6.5 et à températures ambiant.

II.2.11.4. Modélisation des isothermes d'adsorption

La modélisation des isothermes d'adsorption a été effectuées en appliquant deux modèles (Freundlich, Langmuir) présentent dans le chapitre bibliographie. Les résultats ont été obtenus grâce à l'emploi du logiciel EXEL en appliquant les équations analytiques des itérations pour trouver les paramètres de chaque modèle.

Chapitre III :

Résultats et Discussion

Chapitre III : Résultats et Discussion

III.1. Résultats

III.1.1. Effet unique et combiné du Cd et/ou du Cr sur la croissance du blé et le rôle d'EPS

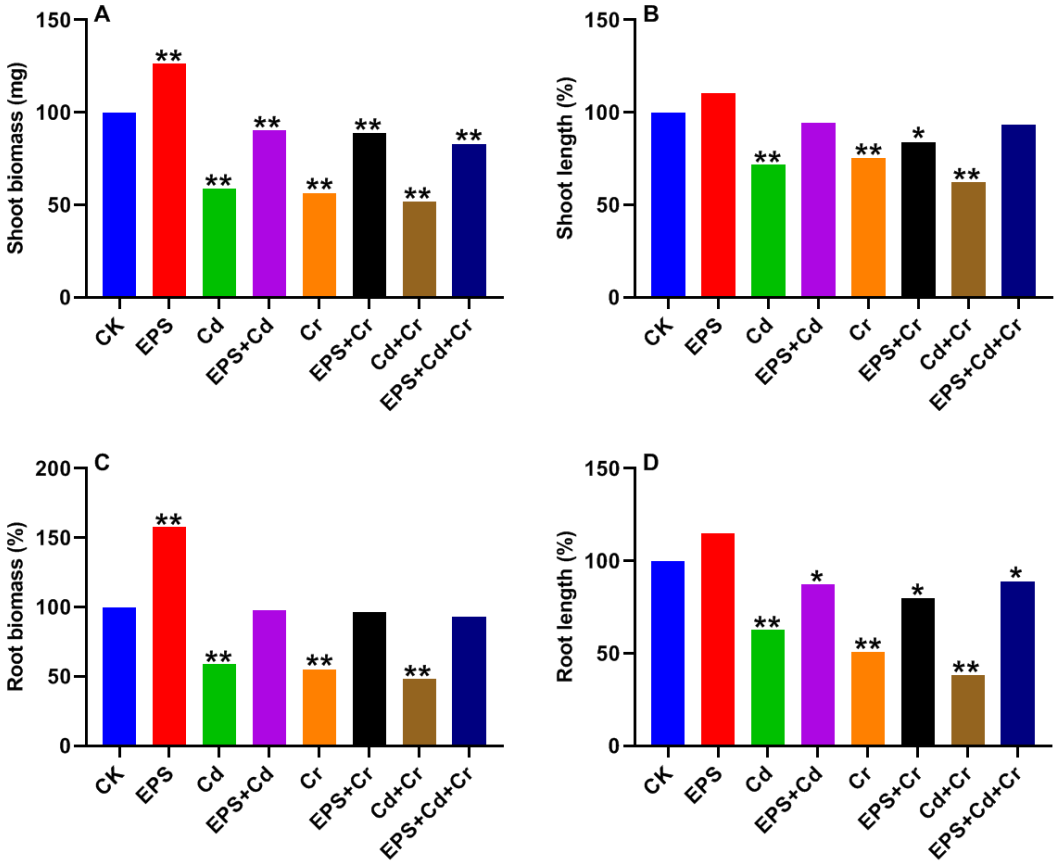


Figure III.1. Poids frais des pousses (A), hauteur des pousses (B), poids frais des racines (C), et longueur des racines (D) des plants de blé après exposition au EPS et au stress Cd et/ou Cr.

Les effets du Cd et/ou du Cr sur la biomasse et la longueur des pousses et des racines de blé sont présentés dans la figure (III.1). Le cadmium et le chromium ont tous deux supprimé la croissance du blé. Par exemple, la biomasse des pousses dans les groupes traités au Cd et au Cr a diminué de manière significative de 41 % et 44 %, respectivement, par rapport au groupe témoin, tandis que la biomasse des pousses dans le groupe combiné a diminué de 48 % par rapport au groupe témoin, soit une diminution que celui du groupe traité par Cr (Fig. III.1A). Nos résultats actuels ont montré que Cr était plus toxique que Cd. Une tendance similaire de la longueur des pousses, la longueur et la biomasse des racines a également été observée (Fig. III.1). La phytotoxicité induite par Cd et/ou Cr a été réduites par l'application d'EPS (Fig. III.1). Par exemple, l'application d'EPS sur des semis stressés

par Cd, Cr et Cd+Cr a permis d'améliorer la biomasse des racines de 66, 74 et 90 %, respectivement, par rapport aux plantes stressées uniquement par Cd, Cr et Cd+Cr (Fig. III.1C). Ces augmentations induites par l'EPS étaient toutes statistiquement significatives (P > 0,05). Une tendance similaire pour la longueur des racines et la biomasse des pousses et des racines a également été observée (Fig. III.1).

III.1.2. Effet unique et combiné de Cd et/ou de Cr sur la teneur en pigments photosynthétiques et le rôle d'EPS

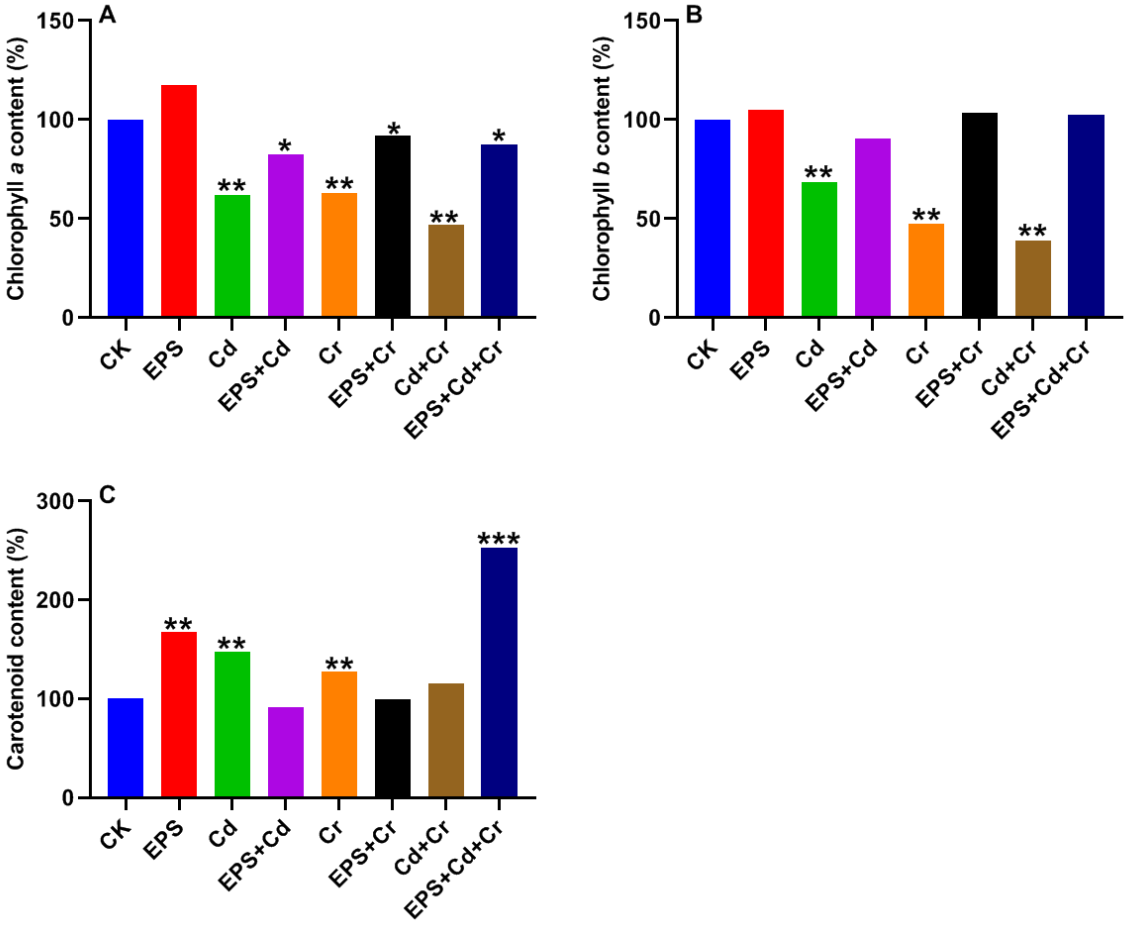


Figure III.2. Teneur en chlorophylle a (A), teneur en chlorophylle b (B) et teneur en caroténoïdes (C) des plants de blé après exposition au EPS et au stress Cd et/ou Cr.

L'application de Cd et de Cr seuls ou en combinaison a réduit de manière significative la teneur en Chl *a* de 30, 37 et 53 %, respectivement, par rapport au contrôle (Fig. III.2). Lorsque les semis du blé ont été exposés à des co-traitements de stress Cd et Cr, l'effet destructeur sur la teneur en (Chl *a*) a augmenté, indiquant que l'effet combiné des polluants sur la chlorophylle *a* était synergique (Fig. III.2A). Une tendance similaire de la teneur en Chl *b* a également été observée (Fig. III.2B). En revanche, l'application d'EPS avec Cd et Cr

a augmenté la teneur en Chl *a* de manière statistiquement significative (P > 0,05) par rapport aux traitements solitaires avec Cd et Cr (Fig. III.2). De manière intéressent, l'application d'EPS a atténué les effets négatifs du stress combiné Cd et Cr en augmentant de manière significative (86 %) la teneur en Chl *a* des semis par rapport aux semis traités au Cd+Cr (Fig. III.2A). Une tendance similaire pour la teneur en Chl *b* et en caroténoïdes a également été observée (Fig. III.2B & C).

III.1.3. Effet unique et combiné de Cd et/ou de Cr sur le biomarqueur du stress oxydatif et le rôle d'EPS

Chez le blé, le cadmium et/ou le chromium ont induit l'accumulation de H_2O_2 dans les feuilles (Fig. III.3A). Le niveau de H_2O_2 était significativement augmenté de 114, 126 et 160% sous Cd, Cr et Cd+Cr, respectivement, par rapport au contrôle (Fig. III.3A). Une augmentation plus importante de la teneur en H_2O_2 a été observée sous le traitement au Cd+Cr. Les applications d'EPS sur des semis stressés par Cd, Cr et Cd+Cr a montré une diminution significative de H_2O_2 par rapport à leurs traitements respectifs sans EPS. La teneur en H_2O_2 a diminué de 71, 65 et 48 % après Cd+EPS, Cr+EPS et Cd+Cr+EPS, respectivement (Fig. III.3A).

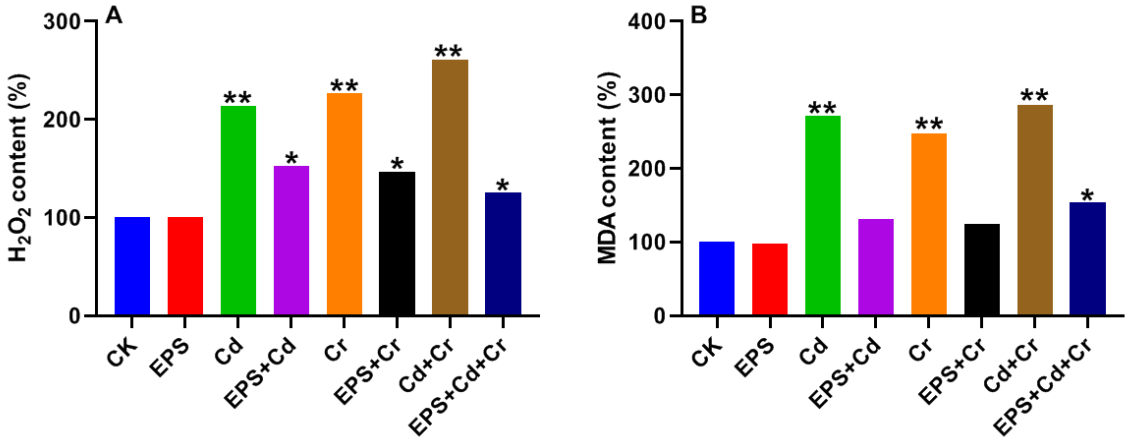


Figure III.3. Contenu en biomarqueurs du stress oxydatif du blé après exposition au stress EPS et Cd et/ou Cr. A et B représentent respectivement les niveaux de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et de malondialdéhyde (MDA).

Le Cd et/ou le Cr ont induit des augmentations de 171 et 148 % des taux de MDA par rapport au contrôle (Fig. III.3B), ce qui indiquait une peroxydation lipidique après le traitement au Cd et/ou Cr. Cependant, l'effet des combinaisons était supérieur (187%) que la somme des effets des groupes traités séparément, ce qui indique que l'effet combiné du Cr et/ou du Cr sur la peroxydation lipidique était antagoniste (Fig. III.3B). Nos résultats ont

montré que la teneur en MDA n'était pas significativement différente entre les plants témoins et les plants traités en l'absence de stress (Fig. III.3B). Cependant, l'application exogène d'EPS a atténué les effets néfastes du stress unique et conjoint du Cd et/ou du Cr en abaissant la peroxydation lipidique dans les feuilles des semis, mais elle n'a pas atteint un niveau significatif (Fig. III.3B).

III.1.4. Effet unique et combiné du Cd et/ou du Cr sur les activités enzymatiques antioxydantes et détoxifiante avec le rôle d'EPS

Les activités enzymatiques antioxydantes dans les feuilles de blé ont montré des changements significatifs sous des stress de Cd et/ou de Cr. L'activité de CAT était significativement augmentée par Cd et/ou Cr par rapport au contrôle. CAT a augmenté de 126, 178 et 173 % après Cd, Cr et Cd+Cr, respectivement, par rapport au contrôle (Fig. III.4). L'application exogène de combinaison EPS avec Cd a encore diminué la CAT par rapport à leurs traitements respectifs au Cd seul, mais lorsque les semis ont été traités avec EPS+Cd+Cr, l'activité CAT a augmenté de manière significative de 78% par rapport au Cr en combinaison avec des traitements au Cd (Fig. III.4A). De même, l'activité APX a été augmentée de 56, 36 et 26 % par rapport au contrôle suivant Cd, Cr et Cd+Cr, respectivement (Fig. III.4B). La supplémentation en EPS avec Cr et Cd+Cr a encore augmenté l'APX de 82 et 93% par rapport à leurs traitements respectifs Cr et Cd+Cr (Fig. III.4B). Dans l'ensemble, cette étude suggère que Cd et/ou Cr et leur combinaison pourraient entraîner des altérations significatives de la réponse des enzymes antioxydantes.

D'autre parte, les enzymes de détoxification telles que POD et GST ont été augmentées par Cd et/ou Cr par rapport au contrôle (Fig. III.4C & D). L'activité de la GST a été augmentée de 62 et 46 % après Cr et Cd+Cr, respectivement, tandis que les augmentations de le POD étaient de 21 et 30% après Cd et Cr respectives par rapport au contrôle (Fig. III.4C & D). Lorsque l'EPS était appliquée avec des polluants, il n'y avait pas de différence significative dans l'activité de la GST par rapport à leurs traitements respectifs sans EPS sauf l'application EPS+Cd+Cr a augmenté de 126% par rapport au traitement Cd+Cr (Fig. III.4D). La même chose pour l'application EPS+Cd+Cr a augmenté l'activité POD de 126 % par rapport au traitement Cd+Cr uniquement (Fig. III.4C).

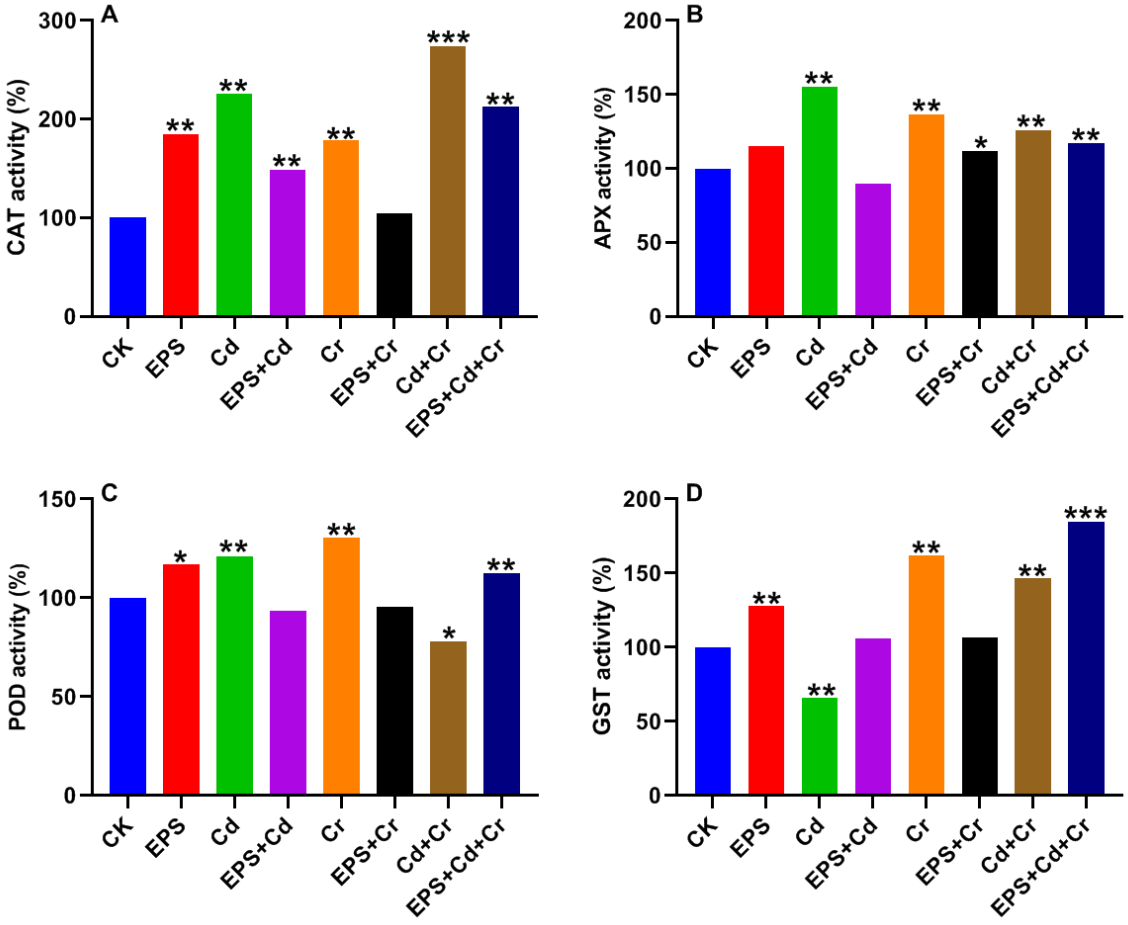


Figure III.4. Activités enzymatiques antioxydantes et détoxifiante des plants de blé après exposition au stress EPS et Cd et/ou Cr. A-D représentent respectivement les activités CAT, APX, POD et GST.

III.1.5. Effet unique et combiné du Cd et/ou du Cr sur la teneur en antioxydants non enzymatiques et les métabolites secondaires avec le rôle d'EPS

La teneur en GSH a été augmentée de 51 % et 129 % sous Cr et Cd+Cr, respectivement, mais a été diminuée de 41 % par Cd seul par rapport au contrôle (Fig. III.5C). L'application d'EPS sur des semis stressés par Cd+Cr a diminué de manière significative la teneur en GSH de 72 % par rapport au traitement par Cd+Cr seul (Fig. III.5B). Le traitement séparé par Cd et/ou Cr a induit une augmentation significative de la teneur en proline de 72 et 116 %, respectivement, par rapport au contrôle (Fig. III.5D). L'effet des combinaisons était supérieur (197 %) à la somme des effets des groupes traités séparément, ce qui indique que l'effet combiné du Cd et/ou du Cr sur la teneur en proline était synergique (Fig. III.5D). En revanche, par rapport au stress de Cd et à l'exposition au Cr seuls ou en combinaison, l'application d'EPS a réduit de manière significative la teneur

en proline de 77 et 59 % par rapport au traitement par Cr et Cd+Cr respectivement (Fig. III.5D).

La teneur en flavonoïdes a augmenté de 115, 131 et 156 % après les traitements Cd, Cr et Cd+Cr, respectivement, par rapport au contrôle (Fig. III.5B). La teneur en flavonoïdes la plus élevée a été enregistrée sous traitement combiné (Fig. III.5B). L'application d'EPS sur des semis stressés par Cr et Cd+Cr a encore diminué de manière significative la teneur en flavonoïdes de 87 et 72 % après les traitements EPS+Cr et EPS+Cd+Cr, respectivement (Fig. III.5A). La teneur totale en phénols a augmenté de 126, 86 et 340 % sous Cd, Cr et Cd+Cr, respectivement, par rapport au contrôle (Fig. III.5A). En revanche, l'application d'EPS avec Cd et Cr a pu augmenter la teneur en TPC de manière significative de 117 et 128 %, respectivement, par rapport aux traitements Cd et Cr, mais EPS+Cd+Cr a diminué sa teneur de 46 % par rapport au Cd+Cr traitement seul (Fig. III.5A).

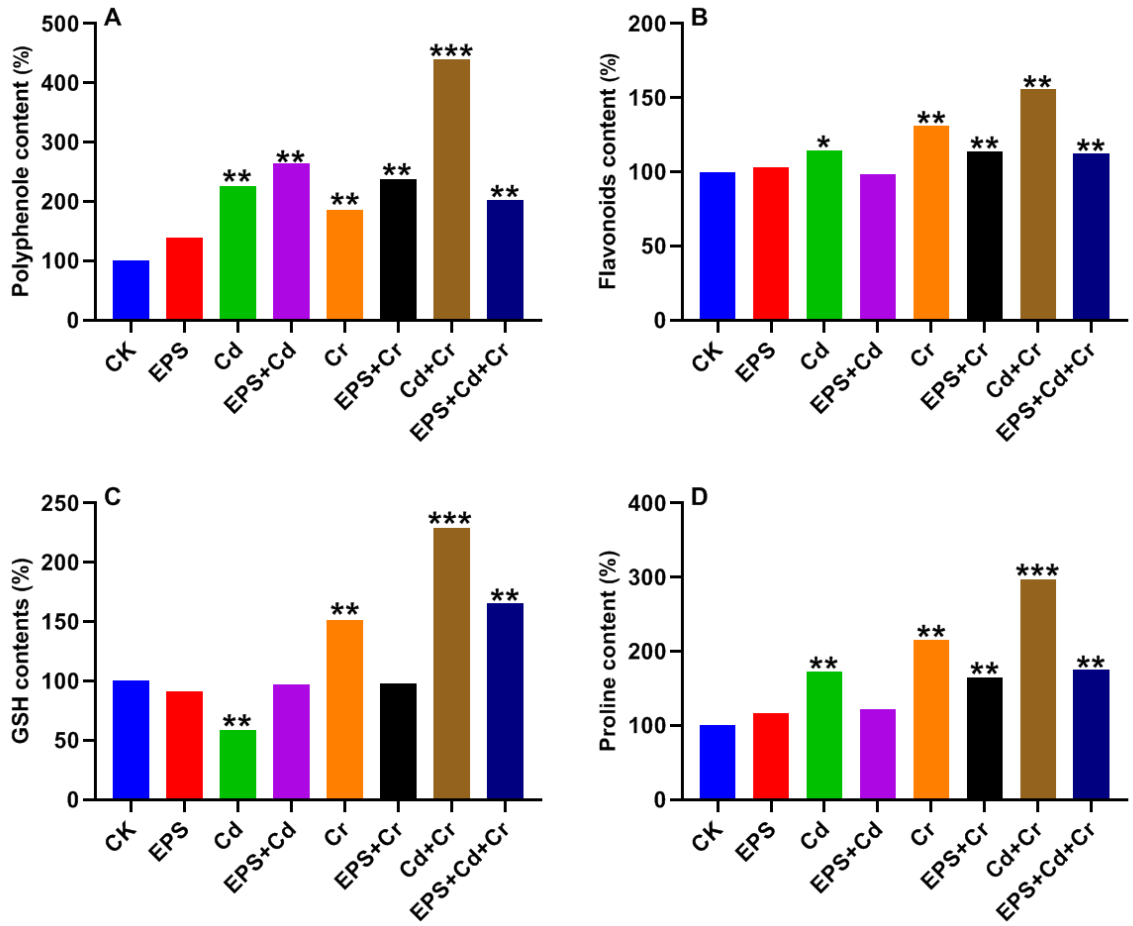
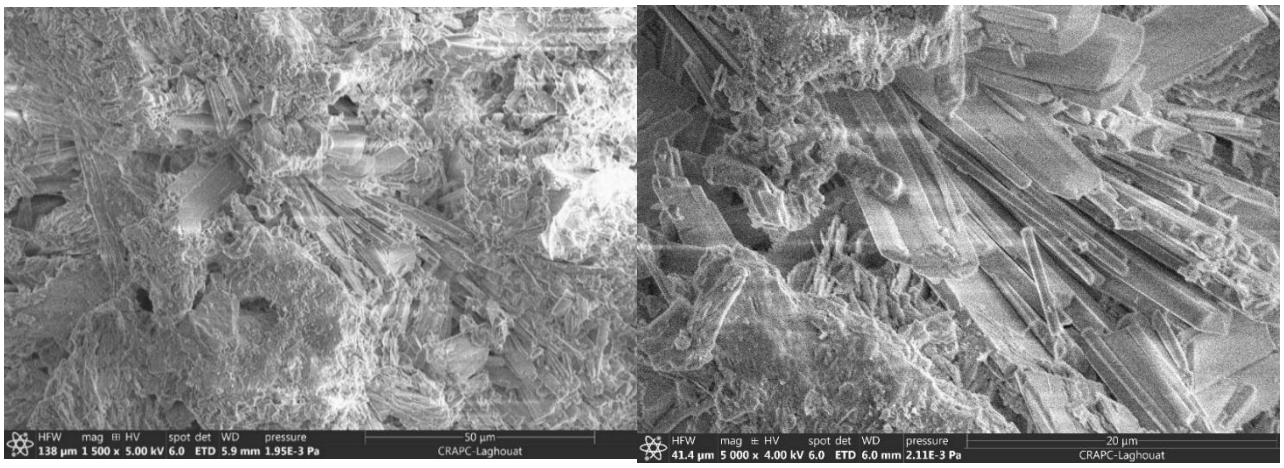


Figure III.5. Contenu antioxydant non enzymatique et métabolites secondaires des plants de blé après exposition au stress d'EPS et Cd et/ou Cr. A-D représentent respectivement (TPC), flavonoïdes, glutathion réduit (GSH) et proline (Pro).

III.2. Caractéristiques structurales d'adsorbant (EPS)

III.2.1. Analyse par microscope électronique à balayage

Le microscope électronique à balayage donne des informations morphologiques indispensables de la surface. Dès lors, un examen par microscopie électronique constitue fréquemment la première étape de l'étude de la surface d'un solide. La figure (III.6.A) représente image au microscope électronique à balayage (MEB) de l'EPS brute avec un grossissement de 50 µm. La figure (III.6.B) représente l'EPS brute avec un grossissement de 20 µm, elle montre la structure fibreuse d'EPS, tel que on voir la présence de grands pores de taille différente irrégulière, rugueuse et hétérogène. Les cordons des fibres, quelque soient leurs localisations sont constitués de plus d'une centaine des fibres allongées à parois épaisses et lignifiées, à large lumen, avec des formes droites et irrégulières.



(A) (B)

Figure III.6 : *L'EPS observé par microscope électronique à balayage, (A) L'EPS avec un grossissement de 50 µm, (B) L'EPS avec un grossissement de 20 µm.*

III.2.2. Analyse par spectroscopie Infra-Rouge

L'analyse FTIR a été réalisée dans cette étude pour fournir des informations sur la structure moléculaire d'adsorbant utilisé. Les résultats d'enregistrement du spectre infrarouge appliqué à l'échantillon d'EPS brute est donné dans Tableau (III.1), (Fig. III.7). De cette figure, on détermine la transmittance en % en fonction de la fréquence (cm^{-1}).

Pour l'EPS, les bandes les plus intense sont reportés dans la large bande d'adsorption vers 3394 cm^{-1} qui représente les vibrations d'étirement de groupement O-H ou N-H. Le groupement O-H : On trouve sur le spectre une seule bande qui se situent dans l'intervalle (1350 – 1450) cm^{-1} ; elles sont dues aux liaisons d'acide carboxylique avec une seul bande supplémentaire entre 850 et 950 est présenté vers 864 cm^{-1}.

Tableau III.1 : *Groupements fonctionnels de l'IR appliquée sur l'EPS.*

La fréquence cm^{-1}	**Groupements fonctionnels**	**EPS**
[600 ;700]	≡C-H, Halogénure	Existe
[1000 ;1080]	C-OH (alcool primaire), C-N(ester), C-O (étherphynolique)	Existe
[1040 ;1175]	C=O(anhydride)	Existe
1450,52	O-H (acide carboxylique)	Existe
[2240 ;2646]	C=N, C≡C, -COOH	Existe
[3000 ;3400]	N-H (amide, amine), O-H (alcool)	Existe

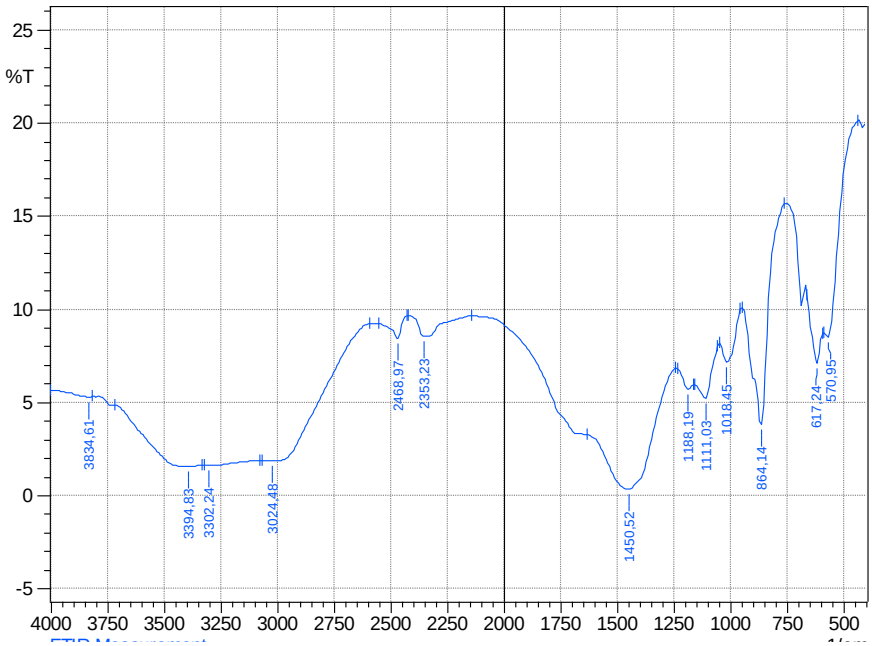


Figure III.7 : *Spectre infrarouge d'EPS.*

III.2.3. Analyse par Diffraction de Rayons X

III.2.3.1. Composition chimique élémentaire d'EPS par EDAX, APEX

On a tenté d'avoir une idée sur les éléments constituants l'EPS. Pour cette raison, nous avons effectué des analyses par EDAX, APEX sur ce matériau. D'après la figure (III.8), on a trouvé que l'EPS est constituée de carbone, oxygène, calcium, barium et des traces de S, Na, Cl, Al, K.… et autres substances minérales avec des très petites pourcentages.

L'analyse par rayons X à dispersion d'énergie, également appelée EDS ou EDAX, est une technique de rayons X utilisée pour identifier la composition élémentaire des matériaux. Les applications comprennent la recherche de matériaux et de produits, le dépannage, la déformation et plus encore.

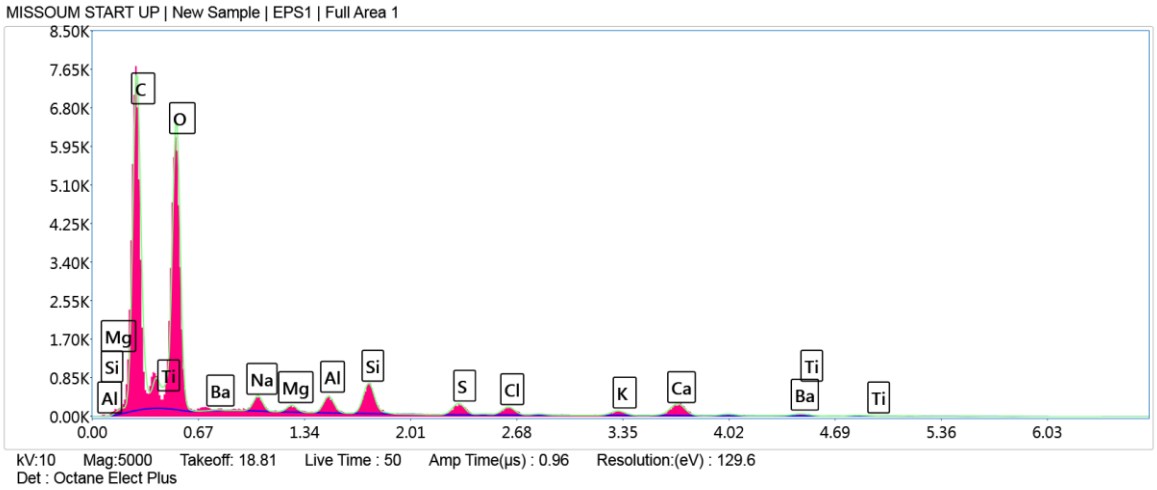


Figure III.8: *Composition élémentaire d'EPS par EDAX, APEX.*

III.2.3.2. Composition chimique élémentaire d'EPS par DRX

La figure (III.9) représente le diagramme DRX d'EPS, l'identification de la structure cristalline de support par DRX apparue sous forme des pics qui sont plus étroits et plus intenses dans l'intervalle $2\Theta = [30° ;47°]$ qui peuvent être correspond à la présence de cellulose.

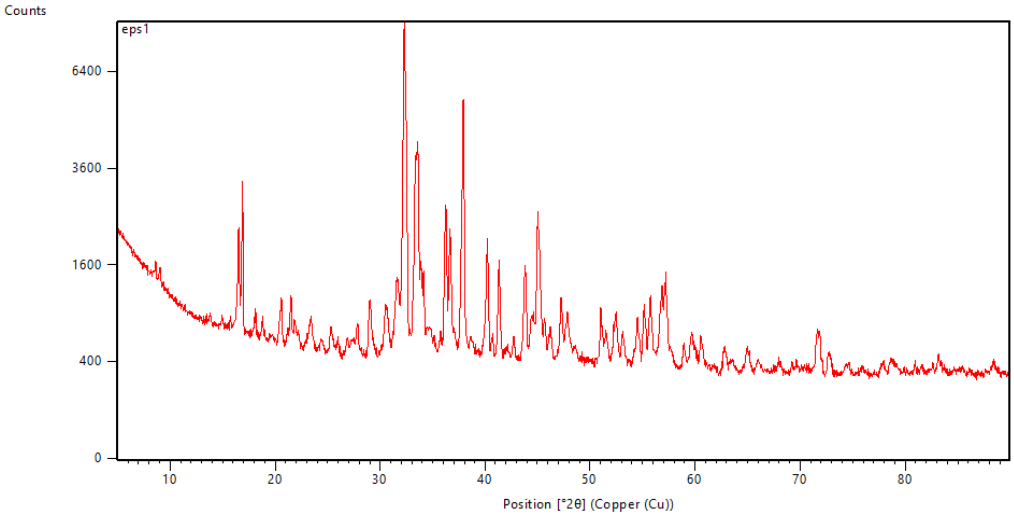


Figure III.9 : *Diagramme de diffraction des rayons X d'EPS.*

III.3. Résultats d'adsorption

III.3.1. La courbe d'étalonnage du $K_2Cr_2O_7$

Les densités optiques des solutions de dichromate de potassium précédemment préparées sont mesurées à 357.8nm. Le tableau (III.2) illustre les résultats de cette mesure qui permet de tracer la courbe d'étalonnage montrée dans la figure (III.10).

Tableau III.2 : *Résultats de l'analyse spectrophotométrique des solutions de dichromate de potassium.*

C(mg/l)	7,35	14,7	22	29,4
DO	0,29	0,426	0,634	0,788

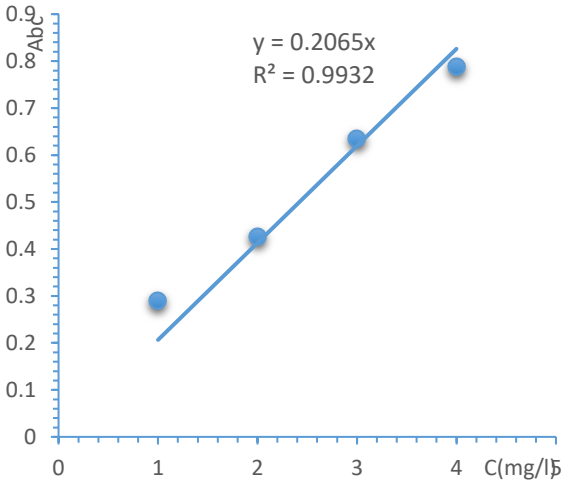


Figure III.10 : *La courbe d'étalonnage de dichromate de potassium.*

III.3.2. Le temps de contact

Dans le but de déterminer le temps de contact nécessaire à l'établissement de l'équilibre d'adsorption, nous mesurons la quantité de soluté absorbé sur l'EPS au cours du temps. Le temps de contact correspondant à l'équilibre de l'adsorption servira à la planification temporaire des expériences d'adsorption sur l'adsorbant.

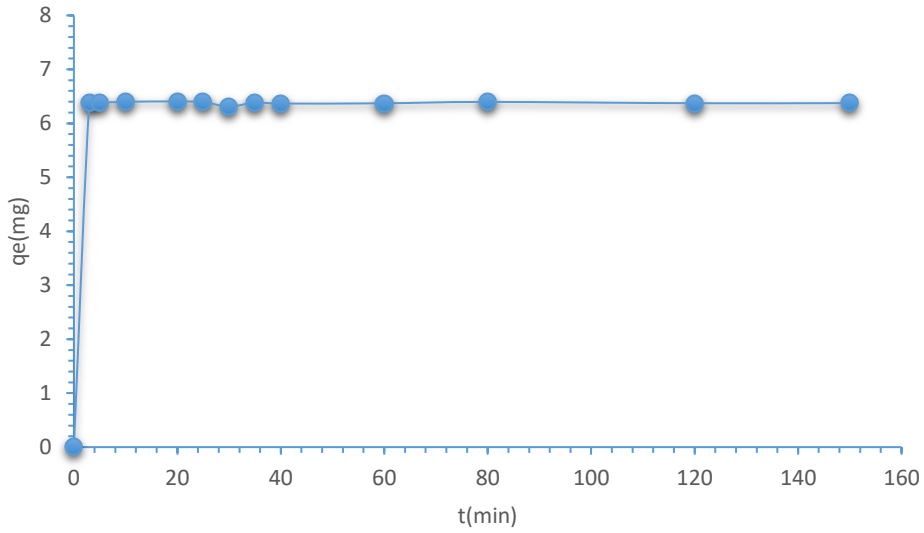


Figure III.11 : *Cinétique de l'adsorption de dichromate de potassium (pH=6.5, V=500 tpm et T_{amb}).*

La figure (III.11) représente la variation de la quantité adsorbée de $K_2Cr_2O_7$ sur l'EPS en fonction du temps. Les résultats montrent que la cinétique d'adsorption de $K_2Cr_2O_7$ est subdivisée en deux phases : la première est très rapide qui s'étend de [0_3] min. La seconde phase est lente, elle exprime l'équilibre de la réaction, d'où ce dernier est atteint au bout de 60 min avec qe =6.40mg.

III.3.3. La cinétique d'adsorption

Deux équations cinétiques simplifiées sont largement utilisées comme modèle de connaissance du processus ou de phénomène d'adsorption de système.

Les paramètres des deux équations pour le dichromate de potassium a été déterminé et présenté dans le tableau (III.3), ces résultats nous ont permis de calculer la quantité adsorbée théorique. La figure (III.12) met en évidence les résultats de l'application des deux modèles cinétiques à notre système. Il montre que l'adsorption de dichromate de potassium

soit bien représentée par le modèle cinétique de pseudo second ordre, de plus, les valeurs obtenues des coefficients de corrélations et R^2 sont significatives (R^2 est proche de l'unité).

Le modèle de pseudo-second ordre indique que l'adsorption impliquant des forces de valence par échange ou partage d'électrons contrôle le taux d'adsorption et que l'adsorption est rapide et intense dans les premiers temps de la réaction de fixation des molécules de $K_2Cr_2O_7$ sur la surface d'EPS, ce qui confirme l'étude précédente du temps d'équilibre.

Tableau III.3 : *Paramètres cinétiques d'adsorption de $K_2Cr_2O_7$ sur les EPS.*

1er ordre		**2éme ordre**	
K1 (min^{-1})	0,036	K2 (min^{-1})	0,41
qe_{ex} (mg/g)	6,40	qe_{ex} (mg/g)	6,40
qe_{the} (mg/g)	1,11	qe_{the} (mg/g)	6,48
R^2	0,86	R^2	0,99

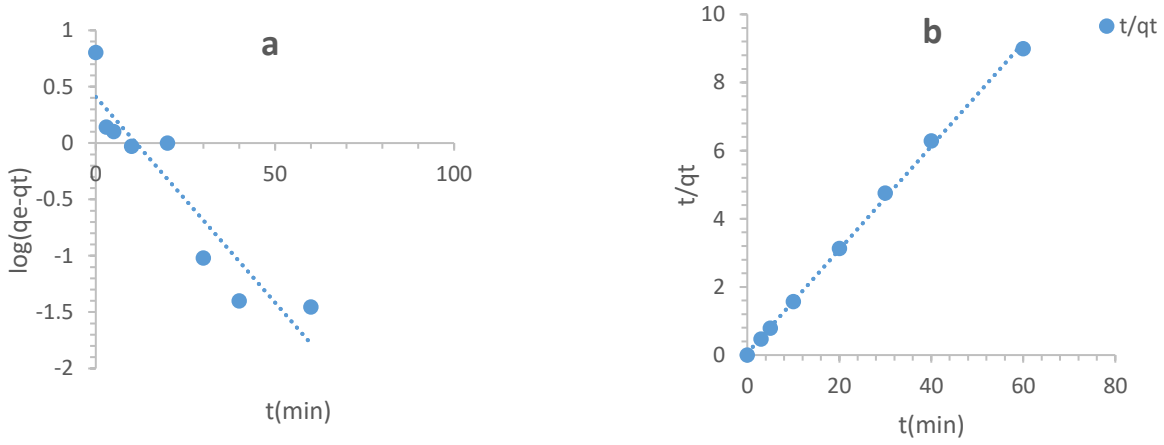


Figure III.12 : *Application des modèles cinétiques pour la biosorption de dichromate de potassium sur les exopolysaccharides ((a) pseudo-premier ordre, (b) pseudo-second ordre).*

III.3.4. Modélisation d`adsorption

D'après le tableau III.4, les valeurs des constantes de modèle de Langmuir et Freundlich, indiquent que ces modèles représentent bien le processus d'adsorption de dichromate de potassium, avec de coefficients de corrélation proche de l'unité (0,99). La valeur de facteur de séparation (RL) de modèle de Langmuir appartiennent au domaine de validité (entre 0 et 1) où l'adsorption est favorable. Le facteur d'hétérogénéité n est inférieur à 1 à la température ambiante, indique que les sites sont homogènes et qu'il n'y a pas d'interaction entre les espèces adsorbées. Alors en peut dire que l'adsorption de dichromate de potassium par les exopolysaccharides est favorable à ces conditions.

Tableau III.4 : *Paramètres des isothermes d'adsorption de $K_2Cr_2O_7$ sur les EPS.*

Adsorbant	**Isotherme**	**Paramètres**	
Expolysaccharide	Langmuir	qm (mg/g) KL (L/mg) R_L R^2	30 0,044 0,9996 0,95
	Freundlich	Kf (mg g-1) 1/n R^2	0,051 1,22 0,98

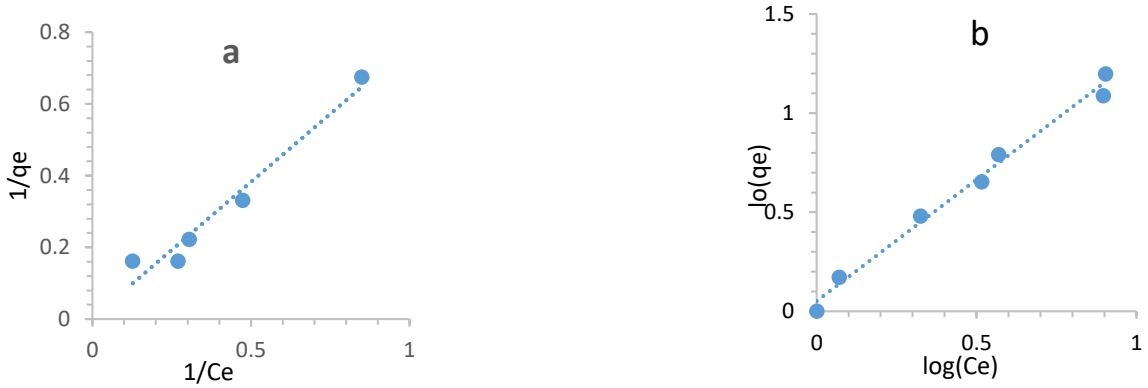


Figure III.13 : *Modélisation des isothermes d'adsorption de dichromate de potassium sur les EPS ((a) modele de Langmuir, (c) modele de Freundlich).*

III.4. Discussion

La dégradation des sols par les métaux lourds constitue des menaces potentielles pour la croissance et le développement des plantes. Récemment, de plus en plus de recherches ont démontré que les exopolysaccharides (EPS) induisaient une tolérance des plantes à diverses conditions de stress. Cependant, le rôle de ses EPS dans l'atténuation du Cd et/ou du Cr chez les plantes non ciblées n'a pas été étudié. Ici, le potentiel d'EPS à surmonter la co-exposition au Cd et/au Cr chez le blé a été étudié. Dans la présente étude, le stress cadmique et l'exposition au Cr ont tous deux affecté la croissance du blé. Les effets inhibiteurs du Cd et/ou Cr sur l'accumulation de biomasse est identique. Après 7 jours de traitements cadmique, la dose de 100 µmol a montré une réponse inhibitrice sur la croissance des plants de blé. Les attributs ont montré une tendance à la baisse de la longueur des pousses et des racines, ainsi que de la croissance globale sous la forme d'une diminution du poids frais. Dans l'ensemble, les métaux lourds inhibent la croissance des pousses et des racines, l'inhibition de l'élongation des racines est considérée comme la première preuve de la toxicité du Cd et/ou Cr chez les plantes. La réduction de la croissance des semis dans des conditions de stress Cd et/ou Cr a été attribuée à la production excédentaire de ROS (stress oxydatif), au stress ionique et au stress osmotique. De même, Cr inhibe également le développement des pousses et des racines. Le même schéma a déjà été observé pour les blés et d'autres espèces végétales cultivées sous stress insecticide. Les effets phytotoxiques du Cd et/ou Cr sur le blé sont probablement dus au mode d'action systémique des métaux lourds qui arrête les activités physiologiques et métaboliques vitales de la plante. Les attributs de croissance des semis ont également montré une tendance à la baisse avec la co-application du stress Cd et/ou Cr.

Il est intéressant de noter que les effets combinés de Cd et/ou de Cr sur la réduction de la croissance étaient supérieurs à ceux induits par un traitement à un seul contaminant, ce qui suggère que la contamination par Cd et/ou Cr a provoqué une phytotoxicité plus que le traitement unique. Ce résultat est souvent attribué au fait que Cd et/ou le Cr sont considérés comme des facteurs entravant le processus physiologique normal, affectant la croissance et le développement des plantes. Cela est cohérent avec nos résultats. Cependant, ces observations étaient cohérentes avec celles observées dans les études de Touzout et al [55]. Ces résultats indiquent que la sensibilité des cultures aux effets néfastes des polluants est affectée par plusieurs facteurs tels que la méthode d'application, la concentration d'exposition et les conditions expérimentales. À l'inverse, l'application d'EPS sur les plants

de blé stressés par le Cd et/ou le Cr a entraîné des effets améliorateurs sur le stress du Cd et la phytotoxicité induite par l'exposition au Cr. L'ajout d'EPS atténué l'effet indésirable du Cd sur le poids frais des pousses et des racines du blé. Des études antérieures ont indiqué que l'application d'EPS améliorait les attributs de croissance sous des stress abiotiques, ce qui signifie que l'EPS a des effets bénéfiques sur la tolérance au stress abiotique chez de nombreuses plantes, améliorant ainsi leur croissance et leurs rendements. L'effet atténuant d'EPS sur le stress abiotique a été lié à l'amélioration de l'absorption des nutriments à l'ajustement osmotique et au déclenchement du système de défense antioxydant.

Les pigments photosynthétiques (chlorophylle) sont souvent utilisés comme marqueurs de dommages oxydatifs et indicateurs de l'état de photosynthèse d'une plante soumise à des stress abiotiques. Dans la présente étude, la teneur en chlorophylle (Chl *a*) des semis a été affectée de manière significative par Cd et/ou Cr et leur mélange, ce qui indique que la photosynthèse est sensible aux métaux lourds[61] , ce qui est cohérent avec les résultats de l'étude précédente. Études rapportées fait intéressant, les résultats ont indiqué que l'exposition à un stress simultané de Cd et/ou de Cr était plus dommageable pour le pigment des plantules (Chl *a*) que le stress séparé. Plusieurs études ont rapporté que l'exposition aux Cd et/ou Cr réduisaient considérablement la teneur en pigments photosynthétiques des plantes, ce qui peut être attribué à une diminution de la biosynthèse de la chlorophylle, à une activité accrue de l'enzyme chlorophyllase, à une diminution de l'absorption des Mg^{2+} qui sont nécessaires à la synthèse de Chl et à la surproduction de H_2O_2 dans les feuilles de blé , ce qui entraîne de graves lésions de la membrane cellulaire, ce qui conduit à l'inhibition de la synthèse de chlorophylle [61]. Les modifications des pigments de la chlorophylle sous le stress du Cd et/ou du Cr suggèrent que Chl *a* et Chl *b* être sensible aux polluants cibles. L'effet destructeur du Cd et/ou du Cr sur les pigments photosynthétiques était considérablement amélioré lorsque les facteurs de stress étaient appliqués en combinaison avec les EPS (Fig. III.2). Des études similaires ont montré que les EPS pouvaient augmenter la teneur en chlorophylle en cas de stress et d'exposition aux xénobiotiques [18]. L'amélioration de la teneur en chlorophylle *a* en réponse aux traitements au EPS pourrait être due à une diminution de la concentration de Cd et de Cr dans les plantes et au fait que les EPS protègent la machinerie photosynthétique des plantes soumises à un stress abiotique [61].

En réponse au stress de Cd et à l'exposition aux Cr, les espèces réactives de l'oxygène (ROS) se sont accumulées de manière excessive, entraînant des dommages irréversibles à plusieurs biomolécules telles que les lipides, les protéines et l'ADN [62]. Dans cette étude, l'accumulation de H_2O_2 dans les feuilles du blé a augmenté de manière significative après les traitements au Cd et/ou Cr, Cd+Cr induisant grande accumulation de H_2O_2 que les traitements au Cd et/ou Cr seuls (Fig. III. 3A). Nos résultats corroborent ceux de découvertes antérieures, qui avaient montré entraînaient une surproduction de H_2O_2 dans les feuilles de blé. Aussi, Touzout et al [55] ont signalé que la co-contamination par le DM et le Cd augmentait le niveau de H_2O_2 dans les feuilles de blé. Dans la présente enquête, les résultats ont clairement démontré que Cd et/ou Cr, appliqués individuellement et en mélange, induisaient la teneur en MDA dans les feuilles de blé indiquant que les plantules souffraient de dommages oxydatifs (Fig. III. 3B). Mais les combinaisons de Cd et de Cr entraine une légère augmentation les dommages causés aux lipides dans les feuilles par rapport aux traitements avec un seul polluant (Fig. III. 3B). L'augmentation de la teneur en MDA peut être due à cette accumulation excessive de H_2O_2, conduisant à une peroxydation lipidique accrue, entraînant ainsi un déclin de la croissance des semis testés (Fig. III. 3B). De même, il a été démontré que le Cd et/ou le Cr induit une peroxydation lipidique dans les feuilles de blé. Par conséquent, nos résultats indiquent que le Cd et/ou le Cr a le potentiel de perturber de nombreuses fonctions morpho physiologiques en induisant un stress oxydatif. Cependant, l'application d'EPS a diminué la production de H_2O_2 et la teneur en MDA (peroxydation lipidique) (Fig. III. 3), ce qui signifie que les EPS protègent le blé contre les dommages oxydatifs en cas de toxicité de Cr. Nous suggérons donc que les EPS pourraient être bénéfique pour atténuer les effets néfastes du Cd et/ou du Cr en régulant le métabolisme du stress oxydatif. L'effet atténuant des EPS est généralement attribué à une défense antioxydante améliorée, au fait que les EPS agissent comme antioxydant sous exposition aux xénobiotiques [18].

En effet, le système antioxydant des plantes est activé pour empêcher les dommages oxydatifs induits par le Cd et/ou le Cr (Fig. III. 4). APX et CAT protègent les plantes des dommages oxydatifs en éliminant le H_2O_2. Dans cette étude, CAT et APX étaient régulés positivement par Cd et/ou Cr. De même, une étude antérieure a également montré que le stress de Cd induisait l'activité CAT et APX dans les plants de blé, ce qui concordait avec notre étude. Dans la présente étude, la co-exposition au Cd et/ou Cr a produit un effet positif sur l'activité de la CAT, une activité beaucoup plus élevée étant observée sous Cd+Cr que

Cd et Cr uniquement. De même, la contamination par le Cd et/ou le Cr a un effet synergique sur l'activité CAT du blé. L'activité de l'APX a été augmentée par Cd et/ou Cr (Fig. III. 4B). Cependant, l'effet du stress combiné était inférieur à l'effet du chrome et /ou de cadmium séparément sur l'activité APX. La présente étude a montré que l'apport externe d'EPS pourrait encore augmenter l'activité de l'APX sous traitements Cr et Cd+Cr et l'activité de CAT sous contrainte de Cd et Cd+Cr (Fig. III. 4A, B), ce qui est conforme à une étude précédente[57]. De telles tolérances au stress oxydatif suite à l'application d'EPS étaient associées à une expression favorisée des gènes des enzymes antioxydantes [63]. Dans la présente étude, nous avons observé que l'apport externe d'EPS réduisait considérablement l'activité CAT dans le blé sous traitement Cr et Cd +Cr par rapport à leurs traitements respectifs sans EPS (Fig. III. 4B). Une telle activité réduite de CAT dans les semis traités au EPS sous un stress polluant indique une production moindre de H_2O_2 (Fig. III. 4A).

Les GST ont favorisé le GSH pour conjuguer les xénobiotiques dans la phase II du métabolisme des polluantes [63]. Dans la présente étude, l'activité de la GST a été induite par les deux polluants et leur combinaison, ce qui implique l'amélioration de la capacité de détoxification (phase II) du blé (Fig. III. 4C). La régulation positive de la GST peut conduire à une conjugaison du thiol (GSH) avec des polluants, ce qui a contribué à la résistance aux métaux (Fig. III. 4C). Il a été constaté que l'activité de la GST était accrue chez le blé exposé au stress Cd et/ou Cr. L'activité de la GST n'a pas été affectée par l'application d'EPS, ce qui suggère qu'elle est maintenue à un niveau optimal pour catalyser la conjugaison des métaux. De plus, une activité POD améliorée chez les semis exposés à Cd+ Cr pourrait jouer un rôle clé dans la détoxification des polluants, une partie du processus de détoxification. Dans la recherche actuelle, l'application d'EPS a considérablement amélioré l'activité du POD dans les semis exposés au Cd et/ou Cr (Fig. III. 4D), ce qui suggère que l'application d'EPS est essentielle à l'induction du métabolisme du Cd et/ Cr.

Il est bien connu que le GSH joue un rôle essentiel dans la tolérance au stress abiotique et comme agent de conjugaison pour la détoxification des xénobiotiques [18]. Dans cette étude, la teneur en GSH a augmenté sous Cr seul et avec des traitements Cd+Cr dans les plants de feuilles (Fig. III. 4B). Il a été rapporté que le GSH était induit par le Cr, ce qui est en accord avec la présente observation. En revanche, l'exposition au Cd a diminué la teneur en GSH dans les feuilles, probablement en raison de leur utilisation par la GST comme substrat pour le métabolisme du Cd. Il a été démontré que l'EPS améliore la détoxification de Cr en augmentant l'accumulation de GSH [63]. Conformément à une étude antérieure, il

a été montré ici que l'atténuation de la toxicité du Cd induite par l'EPS pourrait être liée à une amélioration du niveau de GSH (Fig. III. 4B).

Les solutés compatibles tels que la proline jouent un rôle indispensable dans des conditions de stress [64]. Un nombre croissant d'études indiquent l'accumulation de proline dans le blé lorsque les plants sont exposés au Cd et/ou Cr [65]. Dans cette enquête, l'accumulation de proline se produit sous des contraintes de Cd et/ou de Cr avec des teneurs plus élevées sous une contrainte articulaire (Fig. III. 5D). Ces études ont indiqué que Cd et Cr pouvaient induire une accumulation de proline. Cela pourrait s'expliquer par le fait que la proline était indispensable pour que les semis résistent aux stress liés au Cd et/ou au Cr. Les résultats sont conformes à ceux de Touzout et al [55], qui ont démontré le rôle protecteur de l'augmentation de la proline contre la co-exposition au NaCl et/au VOL dans la tomate, suggérant son potentiel osmoprotecteur et sa molécule signal de stress chez La tomate. Il est intéressant de noter que l'accumulation de Pro diminuait lorsque d'EPS exogène était appliqué à des semis cultivés dans des conditions de Cd et/ou de Cr (Fig. III. 5D). Cela peut être attribué au fait que l'ajout d'EPS peut déclencher un ajustement métabolique (enzymes biosynthétiques et de dégradation de la proline) pour maintenir des niveaux adéquats de Pro dans les tissus des feuilles[49]. Des quantités moindres de proline induites par l'ajout d'EPS peuvent indiquer ici un soulagement partiel. De même, ont découvert que les augmentations de la teneur en proline induites par des polluants étaient efficacement contrecarrées par l'application exogène d'EPS [65]. Nos résultats sont différents de ceux d'une étude précédente dans laquelle l'ajout d'EPS s'est avéré activer les transporteurs de proline pour l'homéostase de la proline chez palmier dattier sous un stress combiné de salinité et de Cd. L'écart entre ces études peut être dû aux différentes espèces végétales, à la durée d'exposition, aux conditions de croissance et aux concentrations utilisées.

Les métabolites secondaires tels que les flavonoïdes et les polyphénols sont des antioxydants non enzymatiques essentiels qui améliorent la tolérance des plantes aux stress abiotiques [49]. Les flavonoïdes sont des antioxydants bien connus agissant comme de puissants piégeurs de ROS [55]. Dans la présente étude, la teneur en flavonoïdes était significativement augmentée dans les feuilles de blé avec le traitement individuel au Cd et au Cr (Fig. III. 5B). De plus, par rapport au traitement témoin, la teneur en flavonoïdes des feuilles de blé dans le traitement combiné s'est avérée plus élevée que dans le traitement aux polluants seuls (Fig. III. 5B). Par conséquent, cette teneur améliorée en flavonoïdes pourrait probablement constituer un mécanisme potentiel par lequel le blé serait capable de diminuer

les dommages oxydatifs déclenchés par le Cd et/ou le Cr [49]. L'application d'EPS n'a pas montré d'effet significatif sur la teneur en flavonoïdes (Fig. III. 5B), ce qui suggère qu'elle est maintenue à un niveau optimal pour éliminer la production de ROS provoquée par le stress Cd et/ou Cr. Dans cette étude, le traitement au Cd et /ou Cr a amélioré l'accumulation de polyphénols dans les feuilles de blé (Fig. III. 5A). De plus, une augmentation de la teneur en polyphénols en réponse à le Cd a été signalée dans plusieurs plantes. La teneur en polyphénols dans les feuilles de blé augmente dans le groupe de traitement Cd et Cr unique et dans le groupe combiné (Fig. III.5A). L'application d'EPS a considérablement amélioré l'accumulation de polyphénols impliqués dans la capture des ROS, qui protègent les plantes des dommages oxydatifs en cas de stress, reflétant l'effet favorable d'EPS dans la biosynthèse de ces métabolites. De même, des teneurs en polyphénols améliorées en EPS ont été signalées dans le blé soumis à un stress des métaux lourds. Auparavant, différentes études physiologiques ont rapporté le rôle d'EPS dans le renforcement de la tolérance au stress abiotique grâce à la modulation du métabolisme secondaire [49] .

-POINTS FORTS

• La toxicité du Cd et/ou du Cr a diminué la croissance, la photosynthèse et les antioxydants par rapport au contrôle.

• La toxicité combinée du Cd + Cr a encore réduit la croissance du blé par rapport au Cd et au Cr seuls.

• Les exopolysaccharides (EPS) favorisent la croissance du blé, les antioxydants et le profil nutritionnel sous stress Cd et/ou Cr.

• L'EPS a minimisé les dommages oxydatifs en réduisant le stress oxydatif et l'absorption des métaux.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Les recherches actuelles ont révélé l'effet synergique de la coexistence du Cd et du Cr sur la croissance du blé et la diminution des paramètres de développement, des pigments photosynthétiques et de la qualité des nutriments. La plupart des industries au Algérie rejette des effluents sans traitement. Cette étude met donc en évidence l'excès de Cd combiné au Cr et diminue considérablement la croissance et le rendement du blé. Il a également été découvert que la nocivité du Cd et du Cr diminuait les activités des enzymes antioxydantes et augmentait le stress oxydatif en générant des espèces de ROS, ainsi que l'absorption totale du Cd et du Cr dans les racines, les pousses et les grains. Cependant, l'application exogène des EPS a indiqué la croissance la plus élevée du blé et a amélioré la biochimie sous un stress conjoint Cd + Cr par rapport au contrôle. L'application exogène des EPS a probablement diminué l'absorption totale de Cd et Cr et a augmenté l'absorption de Zn, Fe, Mn, Mg et K dans les racines. Ainsi, il peut être établi que l'application exogène des EPS doit être encouragée pour améliorer la croissance et le rendement du blé dans des sols multicontaminés afin de garantir une production alimentaire sûre.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1] A. Dmytryk, M. Samoraj, K. Moustakas, A. Witek-Krowiak, and K. Chojnacka, “Bioactive fatty acids and compounds from Spirulina (Arthrospira) platensis: Potential as biostimulants for plant growth,” *Sustain Chem Pharm*, vol. 30, 2022, doi: 10.1016/j.scp.2022.100899.

[2] R. Chaudhuri and P. Balasubramanian, “Evaluating the potential of exopolysaccharide extracted from the spent cultivation media of Spirulina sp. as plant biostimulant,” *Biomass Convers Biorefin*, 2023, doi: 10.1007/s13399-023-04865-8.

[3] C. S. de Jesus *et al.*, “Pilot-scale isolation and characterization of extracellular polymeric substances (EPS) from cell-free medium of Spirulina sp. LEB-18 cultures under outdoor conditions,” *Int J Biol Macromol*, vol. 124, 2019, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.016.

[4] M. Ahmed, T. C. W. Moerdijk-Poortvliet, A. Wijnholds, L. J. Stal, and S. Hasnain, “Isolation, characterization and localization of extracellular polymeric substances from the cyanobacterium arthrospira platensis strain MMG-9,” *Eur J Phycol*, vol. 49, no. 2, 2014, doi: 10.1080/09670262.2014.895048.

[5] C. Toucheteau, “Evaluation du potentiel anti-âge d’exopolysaccharides issus de microalgues.” [Online]. Available: https://theses.hal.science/tel-03934558

[6] Claudia Vorbeck, “Les microalgues: Perspectives pour l’agriculture allemande,” Portail pour la Science et la Technologie.

[7] C. Aoude, “Concentration of the microalgae Arthrospira Platensis and Chlorella vulgaris by electrofiltration.” [Online]. Available: https://theses.hal.science/tel-04142457

[8] Z. A. Mohamed, R. O. Elnour, S. Alamri, and M. Hashem, “Increased production of extracellular polysaccharides in Arthrospira platensis as a protective response against saxitoxin: Implications to outdoor mass production,” *Algal Res*, vol. 74, Jul. 2023, doi: 10.1016/j.algal.2023.103184.

[9] “A REVIEW ON CULTURE, PRODUCTION AND USE OF SPIRULINA AS FOOD FOR HUMANS AND FEEDS FOR DOMESTIC ANIMALS AND FISH”, [Online]. Available: http://www.fao.org

[10] Girardin-Andréani C, *Spiruline :système sanguin, système immunitaire et cancer.*, vol. 4. 2005.

[11] R. Laifa, “Performances techniques et environnementales d’un photobioréacteur solaire pour la production de la Spiruline.” [Online]. Available: https://theses.hal.science/tel-04213576

[12] Farmer on Mars, “A single Spirulina (Arthrospira platensis) colony, a filamentous, edible form of cyanobacteria(‘blue-green algae’),” Wikipedia.

[13] ESA, “The cyanobacteria Arthrospira platensis,” ESA.

[14] I. A. Mohammed, M. Ruengjitchatchawalya, and K. Paithoonrangsarid, “Cultivation manipulating zeaxanthin-carotenoid production in Arthrospira (Spirulina) platensis under light and temperature stress,” *Algal Res*, vol. 76, 2023, doi: 10.1016/j.algal.2023.103315.

[15] Harvé Alriquet, “COMPODITION MOYENNE POUR 100G DE SPIRULINE,” Spiruline du Mas de Fraysse.

[16] P. Universidad Javeriana, M. Sáncbez, J. Bernal-Castillo, C. Rozo, and gnacio Rodríguez, “Esta Revista está indexada y referenciada en Chemical Abstracts (CA) SP/RULINA (ARTHROSPIRA): AN EDIBLE MICROORGANISM: A REVIEW,” *N°*, vol. 8, no. 1, 2003.

[17] M. A. B. Habib, M. Parvin, T. C. Huntington, and M. R. Hasan, “A review of culture, production and use of Spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish,” 2008.

[18] Selim L Sanin, F.Dilek Sanin, and James D Bryers, “Effect of starvation on the adhesive properties of xenobiotic degrading bacteria,” *Process Biochemistry*, vol. 38, no. 6, pp. 909–914, Jan. 2003.

[19] Duboc P and Mollet B, “Applications of exopolysaccharides in the dairy industry,” *Int Dairy J*, vol. 11, no. 9, pp. 759–768, 2001.

[20] Ruas-Madiedo P and de los Reyes-Gavilàn CG, “Invited Review: Methods for the Screening Isolation, and Characterization of Exopolysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria ,” *J Dairy Sci*, vol. 88, no. 3, pp. 843–856, 2005.

[21] Cerning J, “Exocellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria,” *FEMS Microbiol Lett*, vol. 87, no. 1, pp. 113–130, 1990.

[22] I. Brezeștean *et al.*, “Spectroscopic investigation of exopolysaccharides purified from Arthrospira plantensis cultures as potential bioresources,” *J Mol Struct*, vol. 1246, 2021, doi: 10.1016/j.molstruc.2021.131228.

[23] Nicolaus B, Kambourova M, and Oner ET, “Exopolysaccharides from extremophiles: from fundamentals to biotechnology,” *Environ Technol*, vol. 31, no. 10, pp. 1145–1158, 2010.

[24] Suresh Kumar A, Mondy K, and Jha B, “Bacterial exopolysaccharides - a perception,” *J Basic Microbiol*, vol. 47, no. 2, pp. 103–117, 2007.

[25] U. Tukenmez, B. Aktas, B. Aslim, and S. Yavuz, “The relationship between the structural characteristics of lactobacilli-EPS and its ability to induce apoptosis in colon cancer cells in vitro,” *Sci Rep*, vol. 9, no. 1, Dec. 2019, doi: 10.1038/s41598-019-44753-8.

[26] S. Rana and L. S. B. Upadhyay, “Microbial exopolysaccharides: Synthesis pathways, types and their commercial applications,” *Int J Biol Macromol*, vol. 157, 2020, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.04.084.

[27] C. E. Escárcega-González, J. A. Garza-Cervantes, A. Vázquez-Rodríguez, and J. R. Morones-Ramírez, “Bacterial Exopolysaccharides as Reducing and/or Stabilizing Agents during Synthesis of Metal Nanoparticles with Biomedical Applications,” *Int J Polym Sci*, vol. 2018, 2018, doi: 10.1155/2018/7045852.

[28] L. Trabelsi, N. H. M’sakni, H. Ben Ouada, H. Bacha, and S. Roudesli, “Partial characterization of extracellular polysaccharides produced by cyanobacterium Arthrospira platensis,” *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, vol. 14, no. 1, 2009, doi: 10.1007/s12257-008-0102-8.

[29] I. Noor *et al.*, "Heavy metal and metalloid toxicity in horticultural plants: Tolerance mechanism and remediation strategies," *Chemosphere*, vol. 303. Elsevier Ltd, Sep. 01, 2022. doi: 10.1016/j.chemosphere.2022.135196.

[30] l'Equipe AquaPortail, "Tableau périodique des éléments chimiques, mettant en évidence les éléments considérés comme des 'métaux lourds,'" AquaPortail.

[31] H. yu Wei *et al.*, "Exploring the mechanism of exopolysaccharides in mitigating cadmium toxicity in rice through analyzing the changes of antioxidant system," *J Hazard Mater*, vol. 461, 2024, doi: 10.1016/j.jhazmat.2023.132678.

[32] W. Li *et al.*, "Transporters and phytohormones analysis reveals differential regulation of ryegrass (Lolium perenne L.) in response to cadmium and arsenic stresses," *J Hazard Mater*, vol. 470, May 2024, doi: 10.1016/j.jhazmat.2024.134228.

[33] S. kumar Singh, M. Suhel, T. Husain, S. M. Prasad, and V. P. Singh, "Hydrogen sulfide manages hexavalent chromium toxicity in wheat and rice seedlings: The role of sulfur assimilation and ascorbate-glutathione cycle," *Environmental Pollution*, vol. 307, Aug. 2022, doi: 10.1016/j.envpol.2022.119509.

[34] K. H. Vardhan, P. S. Kumar, and R. C. Panda, "A review on heavy metal pollution, toxicity and remedial measures: Current trends and future perspectives," *Journal of Molecular Liquids*, vol. 290. Elsevier B.V., Sep. 15, 2019. doi: 10.1016/j.molliq.2019.111197.

[35] Michela Osnato, "Plants under pressure:activation ot stress hormones".

[36] M. Owlad, M. K. Aroua, and W. M. A. Wan Daud, "Hexavalent chromium adsorption on impregnated palm shell activated carbon with polyethyleneimine," *Bioresour Technol*, vol. 101, no. 14, pp. 5098–5103, Jul. 2010, doi: 10.1016/j.biortech.2010.01.135.

[37] A. Aarfane *et al.*, "Etude cinétique et thermodynamique de l'adsorption des colorants Red195 et Bleu de méthylène en milieu aqueux sur les cendres volantes et les mâchefers (Kinetic and thermodynamic study of the adsorption of Red195 and Methylene blue dyes on fly ash and bottom ash in aqueous medium)," *J. Mater. Environ. Sci*, vol. 5, no. 6, pp. 1927–1939, 2014.

[38] Daniele Pugliesi, "Illustration ce deux phénomènes de sorption: absorption et adsorption," Wikipédia.

[39] A. Mellah, D. Harik, and O. Haouchine, "Etude de l'effet de la concentration sur l'adsorption de deux produits pharmaceutiques (le phenobarbital et l'ibuprofene) sur le charbon actif en poudre le F400 (Study of the effect of concentration on the adsorption of two drugs (phenobarbital and ibuprofen) on powdered activated carbon F400)," *J. Mater. Environ. Sci*, vol. 5, no. S2, pp. 2413–2417, 2014.

[40] M. Doğan, M. Alkan, A. Türkyilmaz, and Y. Özdemir, "Kinetics and mechanism of removal of methylene blue by adsorption onto perlite," *J Hazard Mater*, vol. 109, no. 1–3, pp. 141–148, Jun. 2004, doi: 10.1016/j.jhazmat.2004.03.003.

[41] N. Salgado-Gómez, M. G. Macedo-Miranda, and M. T. Olguín, "Chromium VI adsorption from sodium chromate and potassium dichromate aqueous systems by hexadecyltrimethylammonium-modified zeolite-rich tuff," *Appl Clay Sci*, vol. 95, pp. 197–204, 2014, doi: 10.1016/j.clay.2014.04.013.

[42] P. P. Samal *et al.*, "Acacia auriculiformis leaf extract mediated green synthesis of goethite and boehmite embedded activated sawdust for Cr(VI) adsorption," *Journal of Hazardous Materials Advances*, vol. 13, Feb. 2024, doi: 10.1016/j.hazadv.2024.100405.

[43] A. Kifuani Kia Mayeko *et al.*, "Adsorption de la quinine bichlorhydrate sur un charbon actif peu coûteux à base de la Bagasse de canne à sucre imprégnée de l'acide phosphorique," *Int J Biol Chem Sci*, vol. 6, no. 3, Sep. 2012, doi: 10.4314/ijbcs.v6i3.36.

[44] D. Ben Salem *et al.*, "Easy separable, floatable, and recyclable magnetic-biochar/alginate bead as super-adsorbent for adsorbing copper ions in water media," *Bioresour Technol*, vol. 383, Sep. 2023, doi: 10.1016/j.biortech.2023.129225.

[45] Z. Zaafouri, "Modelling surfactant adsorption and transport in porous media : influence of adsorption thermodynamics and kinetics." [Online]. Available: https://theses.hal.science/tel-03187740

[46] M. El-habacha *et al.*, "General overview to understand the adsorption mechanism of textile dyes and heavy metals on the surface of different clay materials," *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 16, no. 11. Elsevier B.V., Nov. 01, 2023. doi: 10.1016/j.arabjc.2023.105248.

[47] Y. Jeganathan, T. Asharp, and K. Nadarajah, "Adsorptive behavior of engineered biochar /hydrochar for tetracycline removal from synthetic wastewater," *Environmental Pollution*, vol. 345, Mar. 2024, doi: 10.1016/j.envpol.2024.123452.

[48] O. Patricia, O. Cancino, and J. Castillo Professeur -Ucv, "DOCTEUR ETUDE EXPERIMENTALE DE L'ADSORPTION DU METHANE DANS DES GAZ DE SCHISTE COLOMBIENS ET DE LA SEPARATION METHANE/DIOXYDE CARBONE."

[49] M. M. Khan *et al.*, "Assessment of the salt tolerance of diverse bread wheat (Triticum aestivum L.) genotypes during the early growth stage under hydroponic culture conditions," *Heliyon*, vol. 10, no. 7, Apr. 2024, doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e29042.

[50] Y. Bao, C. Pan, D. Li, A. Guo, and F. Dai, "Stress response to oxytetracycline and microplastic-polyethylene in wheat (Triticum aestivum L.) during seed germination and seedling growth stages," *Science of the Total Environment*, vol. 806, Feb. 2022, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.150553.

[51] F. Li *et al.*, "Cytology, metabolomics, and proteomics reveal the grain filling process and quality difference of wheat," *Food Chem*, p. 140130, Jun. 2024, doi: 10.1016/j.foodchem.2024.140130.

[52] K. Zhang, F. Yan, and P. Liu, "The application of hyperspectral imaging for wheat biotic and abiotic stress analysis: A review," *Computers and Electronics in Agriculture*, vol. 221. Elsevier B.V., Jun. 01, 2024. doi: 10.1016/j.compag.2024.109008.

[53] Johan U.Grobbelaar and N. Kurano, "Use of photoacclimation in the design of a noval photobioreactor to achieve high yields in algal mass cultivation," *J Appl Phycol*, vol. 15, pp. 121–126, Mar. 2003.

[54] Zarrouk and C, *Contribution a L'étude D'une Cyanobacterie: Influence de Divers Facteurs Physiques et Chimiques sur la Croissance et la Photosynthese de Spirulina maxima (Setchell et Gardner) Geitler*. 1966.

[55] N. Touzout, “Efficacy of Silicon in Mitigating the Combined Phytotoxic Effects of Salt and Insecticide in Solanum lycopersicum L,” *J Soil Sci Plant Nutr*, vol. 23, no. 4, pp. 5048–5059, Dec. 2023, doi: 10.1007/s42729-023-01381-6.

[56] W. ping Zhang, Y. jie Zhao, Z. wen Zhao, X. Cheng, and K. tai Li, “Structural characterization and induced copper stress resistance in rice of exopolysaccharides from Lactobacillus plantarum LPC-1,” *Int J Biol Macromol*, vol. 152, 2020, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.10.195.

[57] Lidia S. Pascual, Maria F. Lopez-Climent, Clara Segarra-Medina, Aurelio Gomez-Cadenas, and Sara I. Zandalinas, “Exogenous spermine alleviates the negative effects of combined salinity and paraquat in tomato plants by decreasing stressinduced oxidative damage,” *Front Plant Sci*, May 2023.

[58] “Base de données FICHES TOXICOLOGIQUES Chromates et dichromates de sodium et de potassium.” [Online]. Available: www.inrs.fr/fichetox

[59] Ununnilium, “Structure du dichromate de potassium,” Wikipédia.

[60] M. Ghaedi *et al.*, “A novel acorn based adsorbent for the removal of brilliant green,” *Desalination*, vol. 281, pp. 226–233, Nov. 2011.

[61] C. Cheng, X. Zhao, H. Yang, T. E. Coldea, and H. Zhao, “Mechanism of selenite tolerance during barley germination: A combination of tissue selenium metabolism alterations and ascorbate-glutathione cycle modulation,” *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 205, Dec. 2023, doi: 10.1016/j.plaphy.2023.108189.

[62] R. A. Hamouda, M. A. Shehawy, S. M. Mohy El Din, F. M. Albalwe, H. M. R. Albalawi, and M. H. Hussein, “Protective role of Spirulina platensis liquid extract against salinity stress effects on Triticum aestivum L.,” *Green Processing and Synthesis*, vol. 11, no. 1, pp. 648–658, Jan. 2022, doi: 10.1515/gps-2022-0065.

[63] G. J. Ahammed *et al.*, “Role of brassinosteroids in alleviation of phenanthrene-cadmium co-contamination-induced photosynthetic inhibition and oxidative stress in tomato,” *J Exp Bot*, vol. 64, no. 1, pp. 199–213, Jan. 2013, doi: 10.1093/jxb/ers323.

[64] Y. Q. Liu *et al.*, “Plant growth-promoting bacteria modulate gene expression and induce antioxidant tolerance to alleviate synergistic toxicity from combined microplastic and Cd pollution in sorghum,” *Ecotoxicol Environ Saf*, vol. 264, Oct. 2023, doi: 10.1016/j.ecoenv.2023.115439.

[65] A. G. Nascimento, U. Nunes Da Rocha, and M. Totola, “Nitrogen starvation affects bacterial adhesion to soil,” 2008. [Online]. Available: https://www.researchgate.net/publication/258386361

ANNEXES

Guide du projet

Pour obtenir un diplôme/startup
Dans le cadre de l'Arrêté Ministériel 1275

Décembre
2022

CNCSIIU — MHESR — ALGERIA

Carte d'information

À propos de l'équipe d'encadrement du groupe de travail

1-Équipe d'encadrement :

Équipe d'encadrement (à titre indicatif)	
Encadrant principal :Dr. Lettreuch Hicham	**Spécialité : Génie des procédés**
Co-encadrant :Dr. Touzout Nabil	**Spécialité :**

2-Équipe de projet :

Équipe de projet (à titre indicatif)	**Faculté**	**Spécialité**
Missoum Romissa	Technologie	Génie des procédés
Yahiaoui Aya	Technologie	Génie des procédés

Index

Contenu

Table des matières

Premier axe : Présentation du projet .....

1. L'idée de projet (la solution proposée) .....

2. Les Valeurs suggérées.....

3. L'équipe.....

4. Les Objectifs du projet..... .....

5. Le planning de réalisation du projet.....

Deuxième axe : Aspects innovants.....

1. La nature des innovations.....

2. Les domaines d'innovation.....

Troisième axe : Analyse stratégique du marché .....

1. Le segment du marché.....

2. La mesure de l'intensité de la concurrence.....

3. La stratégie marketing .....

Quatrième axe : Plan de production et organisation.....

1. Le processus de production.....

2. L'approvisionnement.....

3. La main d'œuvre..... .....

4. Les principaux partenaires.....

Cinquième axe : Plan financier.....

1. Les coûts et les charges.....

Sixième axe : Prototype expérimental.....

Introduction

Afin de permettre aux étudiants porteurs de projets innovants d'élaborer leur travail, et afin de faciliter la conception et la rédaction de leurs brevets et de leur permettre de passer de la simple idée à une invention intégrale complète avec des détails et des informations qui clarifient les aspects innovants du projet, son attractivité et l'intégrité de la séquence logique des idées, la commission nationale de coordination, de suivi de l'innovation et des incubateurs universitaires élabore ce document qui sert de guide à l'étudiant pour rédiger son mémoire conformément au dispositif de l'arrêté ministériel n° 1275 Diplôme – Startup.

Les présentations et explications nécessaires du guide sont illustrées à travers un exemple très simple afin de faciliter la compréhension des différentes étapes. Cet exemple est lié à un projet de production de jus naturel à partir de fruits qui n'ont pas été soumis à des pesticides ou à des engrais chimiques.

Premier axe

Présentation du projet



Premier axe : Présentation du projet

1. L'idée de projet (solution proposée) :

- Alors que les pays cherchent à atteindre l'autosuffisance dans le domaine agricole, de nombreux obstacles s'opposent à la réalisation de cet objectif. La pollution par les métaux lourds, que ce soit dans le sol ou même dans l'eau d'irrigation, constitue un problème majeur. Leurs niveaux élevés affectent négativement les humains, l'environnement et la croissance des plantes elles-mêmes. Ces résultats indiquent la nécessité de produire un biostimulant ayant une grande capacité à absorber les polluants et à aider les plantes à bien pousser.
- Nous avons produit ce composé sur la base des dernières technologies et méthodes disponibles et en utilisant des algues comme matériau principal et de base pour ce produit.

2. Les valeurs proposées :

Les valeurs proposées peuvent être les suivantes :

- Utilisation de matières premières naturelles et renouvelables.
- Produit 100% algérien, contribue à éliminer les importations.
- Son prix est acceptable par rapport aux biostimulants commercialisés sur le marché algérien.
- Facilité d'application et d'utilisation.
- Il n'a aucun effet secondaire, que ce soit à court ou à long terme.
- Utiliser les algues comme matière première, ce qui est actuellement une richesse en soi car elles se reproduisent rapidement et sont faciles à fabriquer.
- Améliorer et accélérer la croissance des plantes naturellement sans réduire sa valeur nutritionnelle.
- Réduire les risques potentiels liés à l'utilisation de produits chimiques pour traiter les sols, qui peuvent à leur tour être transmis aux humains.

3. Équipe de travail :

L'équipe du projet est composée des membres suivants :

- Étudiant 01 : MISSOUM Romissa, •Étudiant 02 : YAHIAOUI Aya.

Rechercher diverses méthodes et informations nécessaires à la réussite du projet, que ce soit en termes de fabrication et d'application en laboratoire ou en termes de marketing, d'étude de marché et même de publicité.

4. Objectifs du projet :

Notre objectif est de devenir l'entreprise leader dans la production de stimulants biologiques d'ici les six premières années et d'atteindre une part de marché estimée à 30% de la production totale en Algérie de stimulants biologiques agricoles.

5. Calendrier de réalisation du projet :

	TRAVAUX	le temps par semaine	1	2	3	4	5	6	7
1		Études préalables : choix de l'implantation de l'unité de production, préparation des documents nécessaires	✓	✓					
2		Commande des équipements			✓	✓			
3		Construction d'un siège de production (usine)				✓	✓		
4		Installation des équipements		✓					
5		Achat de matières premières						✓	
6		Réalisation du prototype						✓	✓

Deuxième axe

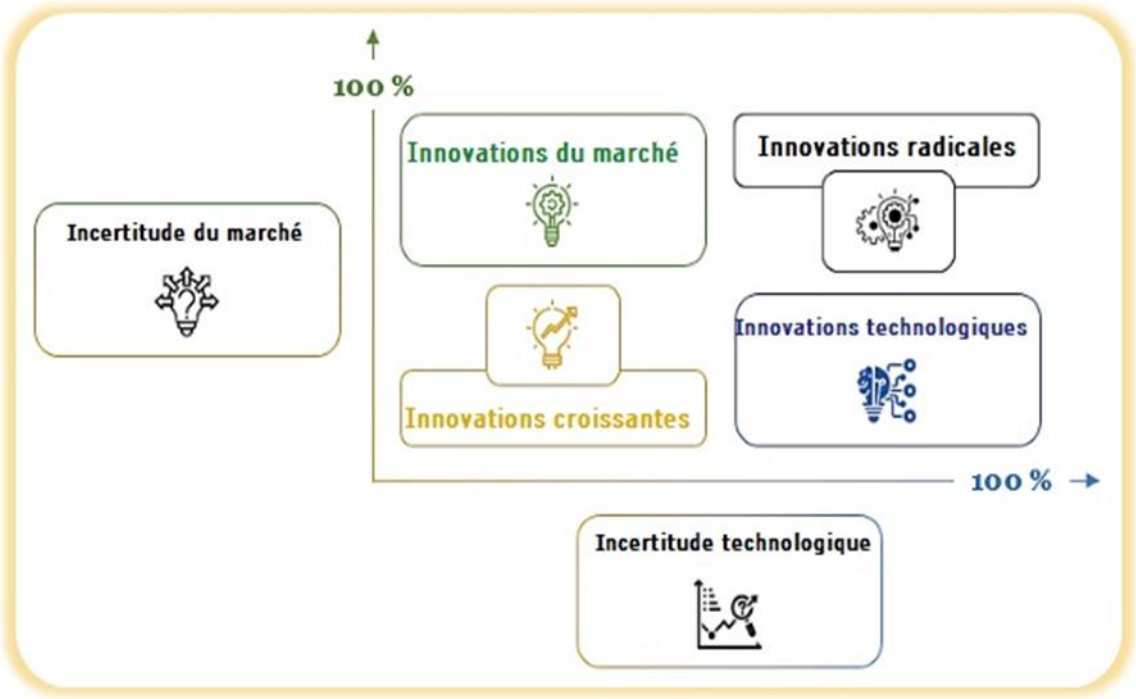
Aspects innovants



Deuxième axe : Aspects innovants

1.Nature des innovations :

La nature des innovations adoptées dans le projet doit être précisée selon les propositions données dans le schéma suivant :



2.Domaines d'innovation :

Les aspects innovants de l'exemple présenté sont :

- Le premier projet en Algérie qui extrait un biostimulant d'algues.
- Tous les matériaux utilisés dans sa fabrication sont non polluants et non toxiques.

Troisième axe

Analyse stratégique du marché



Troisième axe : Analyse stratégique du marché

1.Le segment du marché :

Marché potentiel : C'est toute personne qui souhaite consommer du biostimulant.

Marché cible : Nous cherchons à fournir des biostimulants aux paysans et agriculteurs qui souffrent de problèmes de manque de rendement et de production.

2.Mesure de l'intensité de la concurrence :

- Les concurrents les plus importants sur le marché algérien, produisent, pour la plupart, des biostimulants avec conservateurs, et ils sont classés selon leur part de marché comme suit : Agrostock Group, Barcelonesa et Académie des Biostimulants.
- Parmi leurs atouts, citons leur ancienneté sur le marché algérien et la force de leur marque.
- Parmi leurs faiblesses, on peut citer la qualité des produits, ainsi que leur recours aux produits chimiques.

3.La stratégie marketing :

Dans la commercialisation de nos produits, nous nous appuyons sur une stratégie de commercialisation à des prix compétitifs grâce à notre contrôle de la réduction des coûts, avec l’utilisation d'une technologie de pointe, en plus de notre recours à une application numérique pour distribuer les produits et gérer les commandes. Accompagner les consommateurs et assurer leur suivi en assurant le service après-vente.

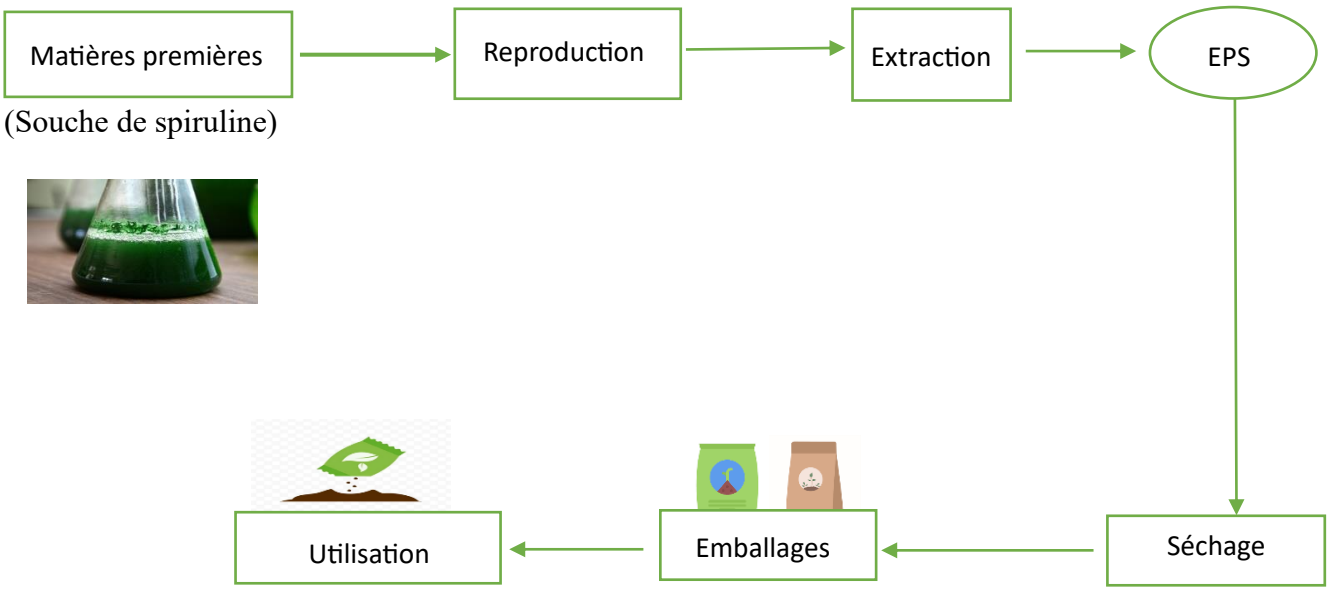
Quatrième axe

Plan de production



Quatrième axe : Pl an de production et d'organisation.

1.Le Processus de production



2. L'Approvisionnement :

Nous achetons la matière première, qui est une souche de spiruline, puis nous Élevés, et c'est un avantage compétitif dans notre projet. Quant aux matériaux utilisés dans la production, nous traiterons directement avec les fournisseurs.

3. La main d'œuvre :

Notre projet crée environ 10 emplois directs et près de 15 emplois indirects.

Notre projet ne nécessite pas de spécialisations précises sauf pour les ingénieurs et techniciens travaillant sur des équipements de pointe (02 ingénieurs et 04 techniciens).

4. Les Principaux partenaires :

Les partenariats les plus importants dans notre cas sont les fournisseurs, au regard de l'importance de leurs prestations pour la réussite du projet. Les incubateurs universitaires aussi fournissent une aide précieuse aux projets. Sans oublier le poids des structures de financement.

Cinquième axe

Plan financier



Cinquième axe : Plan financier

1. Les Coûts et charges :

Les coûts financiers nécessaires pour produire du produit final :

Les produites	Le prix(DA)
Souche de spiruline	**40000**
Milieu de culture	**50000**

Équipement permanent qui doit être disponible pour que la production puisse démarrer :

Les Équipement	Le prix(DA)
Etangs agricoles	**10000**
Les pompes à air	**15000**
Les lampes	**15000**
Une source d'eau	**1500**
Les tuyaux de raccordement	**20000**
البيوت البلاستيكية	**100000**

Cotisation qui doit être payée mensuellement :5

Les frais	Le prix(DA)
Facture d'électricité et d'eau.	**30000**
Agents de surveillance.	**50000**
Employés.	**60000**
Techniciens.	**5000**
Frais d'assurance.	**4000**
Les taxes et les frais.	**20000**
Les Frais d'entretien.	**5000**

- La principale source de financement est l'emprunt auprès la Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche scientifique.

Sixième axe

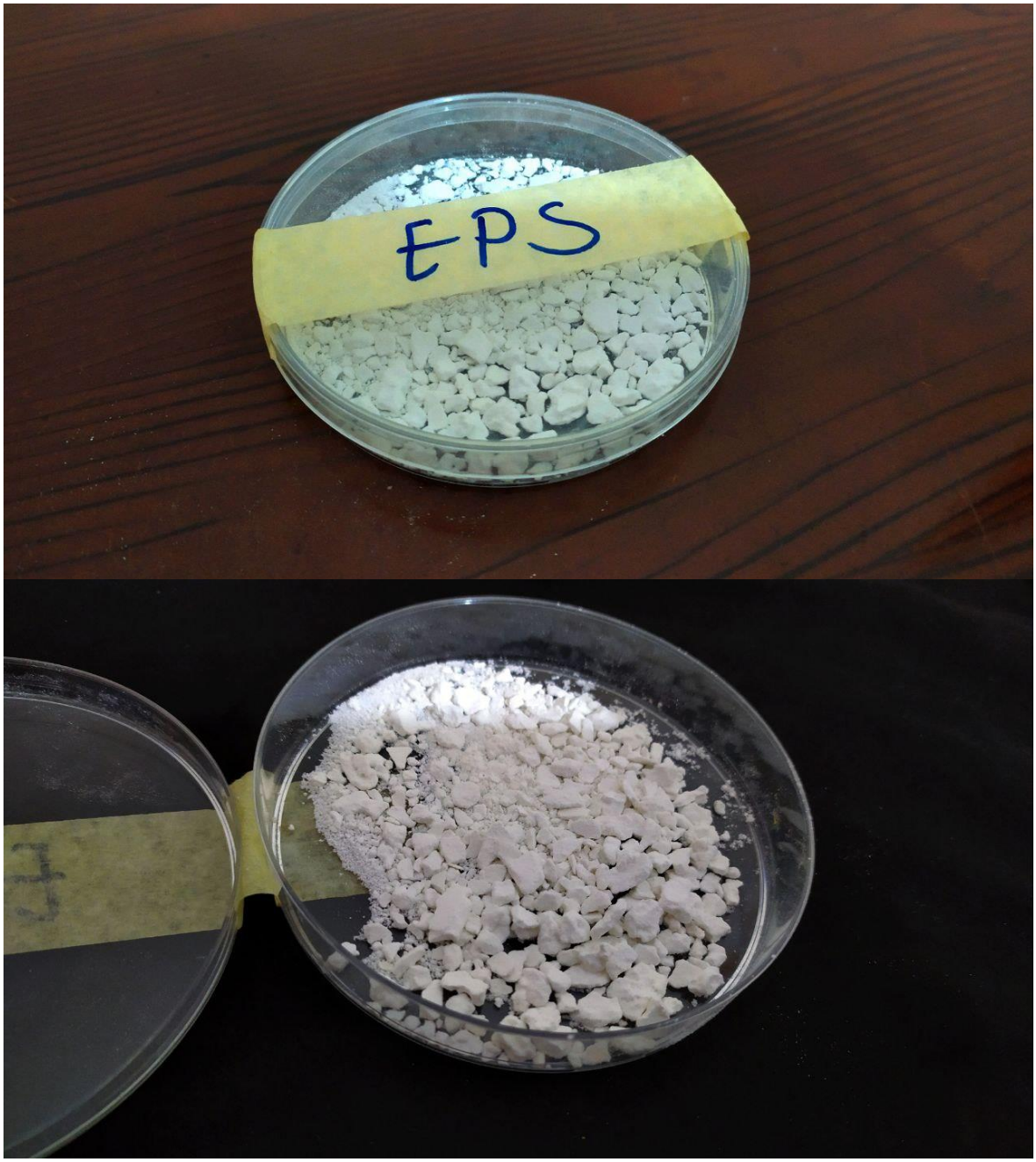
Prototype expérimental





Sixième axe

Prototype expérimental



Liste des annexes



Modèle d'affaires

-Sigma Aldrich

-les fournisseurs

- les distributeur

-les distributeur

Recherche constante des dernières méthodes et techniques afin de les appliquer, que ce soit dans le processus d'élevage d'algues ou même dans l'étape d'extraction des EPS

Les partenaires :

-Les fournisseurs.

-Les personnes qui achètent le produit.

-Les distributeur.

Nous fournirons des sacs contenant 100 g de biostimulants qui améliorent l'efficacité de l'utilisation des nutriments et résistent aux stress abiotiques, augmentant ainsi la productivité et la qualité des cultures

-Assurer le service après-vente.

- Pages sur les sites de réseaux sociaux.
-Dépliants papier.

Publicité de toute nature et affichage des résultats obtenus après utilisation du produit par rapport à ceux sur lesquels ce produit n'a pas été appliqué.

-Les agriculteurs

-Paysans

-Toute personne souhaitant traiter le sol des métaux lourds pour améliorer la production

Il y a des dépenses fixes comme les salaires des travailleurs, les assurances, etc., au contraire, il y a des dépenses variables comme les prix des matières premières et autres. Toutes les dépenses seront calculées afin de déterminer le prix du produit final.

La Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche scientifique.