DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En Sciences de la nature et de la vie

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Par :

Bensalem Khadidja Kezrane Marwa

Metidji Halla

Thème :

Bio-dépollution séquentiel des polluants organiques en trace par des micro-organismes d'environnement

Soutenue publiquement le : 22 /06 /2023., Devant le jury composé de :

M. Boubakri K.	MCA	Université de Médéa	Président
Mme Bouzidi A	MCA	Université de Médéa	Examinatrice
M. Aines M.	MCA	Université de Médéa	Encadreur
M. Latreche S.	Doctorant	Université de Laghouat	Co-Encadreur

Année universitaire 2022/2023

BIO-DEPOLLUTION SEQUENTIEL DES POLLUANTS ORGANIQUE EN TRACE PAR DES MICRO-ORGANISMES D'ENVIRENEMENT

RESUME. L'objectif de notre étude est de démontrer l'applicabilité de la technique de bioremédiation des polluants émergents issus de l'industrie pharmaceutique en utilisant des microalgues de type *Arthrospira platensis*. Notre travail est élaboré selon une approche scientifique basée sur des données de référence et des expériences réalisées en laboratoire.

Nos recherches se sont déroulées selon les étapes suivantes : tester la faisabilité de la bioremédiation de 5 antibiotiques représentant les polluants émergents étudiés dans notre étude (diclofénac, ampicilline, sulfaméthaxazole, amoxicilline, ibuprofène), en choisissant les médicaments ayant les rendements de dégradation les plus élevés (sulfaméthoxazole, diclofénac, ampicilline), l'étude des facteurs influençant la bioremédiation en fixant plusieurs conditions opératoires et en faisant varier un seul paramètre pour chaque facteur afin de déterminer les valeurs optimales, sachant que le choix de ces valeurs pour chaque facteur est basé sur le taux de rendement constaté, la variation de croissance de biomasse, la variation de morphologie.

Les facteurs étudiés sont : le pourcentage de biomasse, la concentration en polluant, le temps de contact ou la durée du traitement effectué.

Les résultats obtenus à partir des valeurs optimales sont : pourcentage de biomasse=20%, concentration en polluant=50µg/l, durée du traitement=8 jours.

Les médicaments ont été biodégradés dans les conditions optimales de fonctionnement avec un rendement élevé, $R_{Sulphamethaxazole}$ = 87,48%, $R_{Diclofenac}$ = 87.52% et $R_{Ampicilline}$ = 85.04%. Ceci indique que l'algue *Arthrospira platensis* peut contribuer à l'élimination des polluants émergents, ce qui est cohérent avec les résultats trouvés par d'autres chercheurs.

Mots clés : Bioremédiation, polluants émergents, biomasse algale, *Arthrospira platensis*

SEQUENTIAL BIODEPPOLUTION OF TRACE ORGANIC POLLUANTS BU ENVIRENMENTAL MICROORGANISME

ABSTRACT. The aim of our study is to demonstrate the applicability of the emerging pollutant bioremediation technique derived from the pharmaceutical industry using microalgae of the *Arthrospira platensis* type. Our work is organised according to a scientific approach based on reference data and experiments carried out in the laboratory.

Our research was carried out in the following stages: testing the feasibility of bioremediation of 5 antibiotics that represent the emerging pollutants studied in our work (diclofenac, ampicillin, sulphamethaxazole, amoxicillin, ibuprofen), choosing the drugs with the highest degradation yields (sulphamethoxazole, diclofenac,ampicillin), studying the factors influencing bioremediation by setting several operating conditions and varying a single parameter for each factor in order to determine the optimum values, bearing in mind that the choice of these values for each factor is based on the yield rate found, , the variation in biomass growth and the variation in morphology.

The factors studied are: the percentage of biomass, the pollutant concentration, the contact time or the duration of the treatment carried out.

The results obtained from the optimal values are: percentage of biomass=20%, pollutant concentration=50µg/l, treatment duration=8 days). The drugs were biodegraded under the optimum operating conditions with a high yield, $R_{Sulphamethaxazole}$ = 87.48%, $R_{Diclofenac}$ = 87.52% and $R_{Ampicillin}$ = 85.04 %. This indicates that the alga *Arthrospira platensis* can contribute to the elimination of emerging pollutants, which is consistent with the results found by other researchers.

Key words: Bioremediation, emerging pollutants, algal biomass, *Arthrospira platensis*

تنقية بيولوجية متسلسلة للملوثات العضوية بواسطة الكائنات الحية الدقيقة البيئية

خلاصة. الهدف من دراستنا هو إثبات قابلية تطبيق تقنية المعالجة الحيوية للملوثات الناشئة المشتقة من صناعة الأدوية باستخدام الطحالب الدقيقة من نوع *Arthrospira platensis* يتم تنظيم عملنا وفقًا لنهج علمي يعتمد على البيانات المرجعية والتجارب التي أجريت في المختبر.

تم إجراء بحثنا في المراحل التالية: اختبار جدوى المعالجة الحيوية لـ 5 مضادات حيوية تمثل الملوثات الناشئة التي تمت دراستها في عملنا (ديكلوفيناك، أمبيسيلين، سلفاميثاكسازول، أموكسيسيلين، إيبوبروفين)، اختيار الأدوية ذات أعلى غلة تحلل (ديكلوفيناك، أمبيسيلين، سلفاميثاكسازول) ودراسة العوامل التي تؤثر على المعالجة الحيوية عن طريق تحديد عدة شروط تشغيلية وتغيير معامل واحد لكل عامل من أجل تحديد القيم المثلى، مع مراعاة أن اختيار هذه القيم لكل عامل يستند إلى معدل الغلة الموجود، والتباين في نمو الكتلة الأحيائية والتباين في التشكل.

العوامل التي تمت دراستها هي: النسبة المئوية للكتلة الأحيائية، وتركيز الملوثات، ووقت التلامس أو مدة المعالجة التي أجريت.

والنتائج المستخلصة من القيم المثلى هي: النسبة المئوية للكتلة الحيوية = 20 في المائة، وتركيز الملوثات = 50مكروغرام/ل، ومدة المعالجة = 8 أيام). تم تحلل الأدوية بيولوجيًا في ظل ظروف التشغيل المثلى ذات العائد المرتفع، R Sulphamethaxazole = 87.48٪، R Diclofenac = 87.52٪ و R Ampicillin = 85.04٪.

يشير هذا إلى أن *Arthrospira platensis* يمكن أن تساهم في القضاء على الملوثات الناشئة، وهو ما يتوافق مع النتائج التي وجدها باحثون آخرون.

الكلمات المفتاحية: المعالجة الحيوية، الملوثات الناشئة، الكتلة الحيوية للطحالب، *Arthrospira platensis*

Remerciements

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

Tout d'abord, Un remerciement exceptionnel très chaleureusement à Ms. Latreche Sofiane pour ses innombrables conseils et surtout sa patience lors de la réalisation de ce mémoire. Et Ms. Aines Mahfoud pour avoir accepté de nous encadrer et surtout sa gentilesse.

Nos remerciements vont également aux membres du jury **M. Boubakri K. Mm Bouzidi A. Mme Euldji A.** *pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

Nous présentons également nos sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué de prés ou de loin à la réalisation de ce travail surtout Ms. soufien l'ingénieure de laboratoire de notre faculté de science…

Mes vifs remerciements vont aussi à nos parents pour leurs encouragements, amour et soutien. Merci d'être à nos cotés et d'avoir toujours cru à nos réussite.

Dédicaces

Avec l'aide d'Allah "ﷲ", on a réalisé ce modeste travail qui je dédié :

A mes très chères parentes Smain et Djamila

Pour tout l'amour dont vous m'avez entouré, pour tout ce que vous avez fait pour moi et toute l'aide qu'ils m'ont apporté durant mes études, pour leur patience et leur sacrifices. Que ce modeste travail, soit l'exaucement de vos vœux tant formulé de vos prières quotidiennes.

A Mes chères sœurs Fatima, Fouzia, Hassina et Marwa et mes neveux et nièces merci pour votre soutien, pour le courage et l'amour que vous m'avez donné, à mes beau-frère Farid, Amine, Mourad et Adel merci de m'aider et d'être à mes côtés.

A mes collègues Halla et Marwa en souvenir de nos éclats de rire et des bons moments, en souvenir de tout ce qu'on a vécu ensemble, j'espère de tout mon cœur que notre amitié durera éternellement.

A ma famille

A mes chers grands parents, mes Oncles et mes tantes et mes cousines

Merci Imen kezrane pour votre aide et votre gentillesse.

Merci à toutes mes amies Amira, Amel et Meriem, surtout celle qui me donne toujours l'espoir et le courage, merci d'être toujours à nos côtés Khaoula.

A toutes personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'aboutissement de cette étude entre autres, je vous dis merci.

Khadidja

Dédicace

A mes très chers parents Nassima et Mohamed hafed

Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Que Dieu, le tout puissant, vous préserve et vous accorde santé, longue vie et bonheur je vous aime …

A mes très chères sœurs Soumia, Iness, vous êtes toujours dans mon cœur. Je vous souhaite tout le bonheur du monde. Je vous aime.

A mon grand frère Mohamed, Je t'exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite.

A ma grand-mère : Meriem et mon grand-père benaissa segdi.

A tous les membres de ma famille, petits et grands.

A mes collègues et filles adorées Khadidja et Marwa, Ça n'a pas été toujours facile, mais on a réussi.

A mon oncle Youcef merci de m'encourager.

A ceux qui m'ont encouragé et soutenu dans mes moments les plus difficiles surtout Khawla la sublime fille merci d'être à mes côtés merci de m'aider dans les moments de pression au laboratoire.

A mes amis Khawla Amel hmida , Veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection.

Merci Imen kezrane pour votre aide et votre gentillesse.

Mon cousin Sidali… Tu n'es plus là où tu étais, mais tu es partout là où je suis… je ne t'oublie jamais

Et on garde souvent le meilleur pour la fin, cette fois encore ! Merci à vous, maman, papa, de m'avoir toujours soutenu dans mes choix, mes joies et mes peines. Je ne saurai jamais vous remercier assez d'avoir eu la chance de faire ce que j'aimais et je vous dédie ces quelques lignes de mon mémoire.

HALLa.MT

Dédicaces

Du plus fond du cœur et avec l'intensité de mes émotions, je dédie ce travail :

Aux êtres les plus précieux au monde, qui sont le secret de mon succès dans la vie, qui m'ont donné leur amour, leur tendresse et soutien, ce mémoire est le fruit de leur patience : ***Maman et Papa****.*

A mon fiancé ***Ahcen***

A ma très chère sœur ***Manel*** *et mes chères frères* ***Ali*** *et* ***Abdelmounaim****.*

A mon exemple de réussite, ma chère sœur ***Imane*** *et mon beau-frère* ***Fouad,*** *ainsi que mon adorable et agréable nièce* ***Eline.***

A mon oncle ***Aissa*** *et ma tante* ***Fatima Zohra.***

A mes amies, ***Amel*** *et* ***Khaoula***

A mes amies avant d'être mes collègues : ***Halla*** *et* ***Khadidja.***

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

Que Dieu vous réserve bonne santé, bonheur et longue vie

Marwa

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIÈRES	***i***
ABRÉVIATIONS & NOMENCLAUTRES	***iv***
LISTE DES FIGURES	***xi***
LISTE DES TABLEAUX	***xii***
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
CHAPITRE I. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUES	
1 POLLUANTS EMERGENTS	3
1.1 Concept des polluants émergents	3
1.2 L'origine des polluants émergents	3
1.2.1 D'origine industriel	4
1.2.1.1 Industrie pharmaceutique	4
1.2.1.2 D'origine agricole	5
1.2.1.3 D'origine domestique	5
1.3. L'impact des polluants émergents sur l'environnement	6
1.3.1 Effet sur l'écosystème	6
1.3.2 Effets sur santé humaine	7
1.4. Détection et techniques de dosage des PE	8
1.4.1 Méthode directe	8
1.4.1.1 Chromatographie liquide	8

1.4.1.2 Chromatographie en phase gazeuse	9
1.4.1.3 La spectrométrie de masse	9
1.4.2 méthodes indirect	10
1.4.3 Autres techniques	10
1.5. Technique d'élimination des polluants émergents	10
1.5.1 Technique physico-chimique	11
1.4.1.1 Coagulation-floculation	11
1.5.1.2 Adsorption sur charbon actif	11
1.5.1.3 Procédés d'oxydation conventionnels	11
1.5.1.4 La technologie des membranes	12
1.5.2 Technique biologique	12
1.5.3 Traitements avancés et hybrides	12
2 LA PHYCOREMEDIATION DES POLLUANTS EMERGENTS	14
2.1. La bioremédiation	14
2.2 Les Méthodes De Bioremédiation	14
2.2.1 La bioremédiation in-situ	14
2.2.2. La bioremédiation ex -situ	15
2.3 Les avantages de la bioremédiation	16
2.4 Les techniques utilisées en bioremédiation	17
2.4.1 la bioremédiation microbienne	17
2.4.2 La Phytoremédiation	17
2.4.3 La Mycoremédiation	18
2.4.4 La Phycoremédiation	18
2.5 L'utilisation des microalgues dans l'élimination des polluants émergents des eaux polluées	20
2.5.1 Les microalgues	20

2.5.2 Phycoremediatrion au moyen des microalgues	22
3 LA SPIRILUNE ET PETENTIALITES DE BIOREMEDIATION	25
3.1. Généralité sur la spiruline	25
3.1.1 Systématique	25
3.1.2 Taxonomique	26
3.1.3 Cycle Biologique de reproduction	26
3.1.4 Composition et valeurs nutritionnelles	27
3.1.4.1 Protéines	27
3.1.4.2 Les glucides	27
3.1.4.3 Acides gras essentiels	27
3.1.4.4 Acides nucléiques	27
3.1.4.5 Vitamines	28
3.1.4.6 Minéraux	28
3.1.4.7 Lipides	28
3.1.4.8 Pigments photosynthétiques	28
3.2. Principale application de la spiruline	28
3.2.1 En alimentation humain	28
3.2.2 En alimentation animal	29
3.2.3 Application thérapeutique	29
3.2.4 Application biotechnologique	31
3.2.4.1 Les facteurs de spiruline pour la bioremédiation	32
3.2.4.2 La spiruline est un modèle pour la bioremédiation	32
CHAPITRE II. MATERIELS ET METHODES	
1. Matériel	33
2. Méthodes	34

2.1. Organisme et conditions de culture	34
2.1.1. Dispositif expérimentale de culture de la biomasse algale	34
2.1.2. Préparation du milieu de culture	35
2.1.3. Vérification de la culture d'*Arthrospira platensis*	37
2.1.3.1. Suivi morphologique par microscopique optique	37
2.1.3.2. Suivi analytique par spectroscopie UV-Vis	37
2.2. Bioremédiation des polluants émergents	37
2.2.1. Dosage des médicaments (concentration des polluants)	39
2.2.2. Suivi des paramètres de culture d'*Arthrospira platensis*	39
2.2.2.1. Contrôle de la viabilité et de l'état physiologique : (Examen à l'état frais)	39
2.2.2.2. Contrôle de l'évolution de biomasse (suivi de croissance)	39
2.2.3. Optimisation de la Bioremédiation des polluants biodégradables	40
2.2.3.1. Effet de pourcentage de biomasse	41
2.2.3.2 Effet de concentration de polluant	41
2.2.3.3. Effet de duré de traitement de traitement	41
CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSION	
1 vérification de le culture *d'Arthrospira platensis*	42
1.1 Suivi morphologique par microscopique optique	42
1.2 Suivi analytique par spectroscopie UV-VIS	42
2 Faisabilité de dégradation des polluant émergents	43
2.1 Rendement	43
2.2 Détermination du poids sec	44
2.3 Détermination de la teneur en chlorophylle A 2.4 Morphologie	45

2.4.1 Avant Faisabilité	47
2.4.2 Après Faisabilité	48
3 Optimisation de la bioremédiation	49
3.1 Le Pourcentage de la biomasse algale	49
3.2 La concentration de polluant émergent	50
3.3 La Durée de Traitement	51
3.4 La Morphologie de spiruline après l'optimisation	52

LISTE DES ABREVIATIONS & NOMENCLATURES

Abréviation	*Signification*
$(Al_2SO_4)_3$	Le sulfate d'aluminium
A	Absorbance
BRM	Les bioréacteurs à membranes
CE	Certains polluants
CE	Contaminants émergents
CG	Chromatographie en phase gazeuse
COD	Carbone organique dissous
CPE	Composés perturbateurs endocrines
DO	Densité Optique
HPLC	Chromatographie liquide à haute performance
MF	Microfiltration
PE	Polluant émergent
PSP	Produits de soin personnels
R	Rendement
S	Substrat
UF	L'ultrafiltration
UHPLC	Chromatographie liquide à ultra-haute performance
UV	Rayonnement Ultraviolet
VMR	Volume de mélange réactionnel
VPE	Volume de polluant émergent

Nomenclature et Symboles

Lecture	*Désignation*	*Unité*
A	Absorbance	*(-)*
[ ]	Concentration molaire ou massique	*(Mol L^{-1})* ou *(mg L^{-1})*
[ ]$_0$	Concentration initiale molaire ou massique	*(Mol L^{-1})* ou *(mg L^{-1})*
A_f	Absorbance finale	*(-)*
A_i	Absorbance initiale	*(-)*
mg	Milligramme	
R	Rendement de dégradation	*(%)*
T	Température	*(°C)*

Lettres Grecques

Lecture	**Désignation**	**Unité**
λ	Longueur d'onde	*(Nm)*
μ	Micro	*(µ)*

Indices

Lecture	**Désignation**
0	Initiale
F	Final
I	Initial
Max	Maximal
Opt	Optimal
t	Totale

LISTE DES FIGURES

N°	I.SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	Pages
I.1	Les types des polluants émergents.	3
I.2	Diagramme montrant les voies des polluants émergents des sources vers l'environnement.	4
I.3	Impact des polluants émergents.	8
I.4	Processus de l'analyse chimique des micropolluants.	9
I.5	L'utilité des plantes, bactéries et champignons dans la bioremédiation dans le but de protection de la planète de la terre.	14
I.6	Les techniques de la bioremédiation In-situ.	15
I.7	Les catégories de la Bioremédiation.	16
I.8	Morphologie d'une microalgue de type *Chlorella*	20
I.9	Les types les plus connus des microalgues.	21
I.10	Les différentes technologies de dégradation et réduction des polluants émergents des eaux usées.	22
I.11	Aperçu général des facteurs influençant la phycoremédiation des contaminants émergents.	24
I.12	Spirulina (*Arthrospira) platensis.*	25
I.13	Cycle de vie d'*Arthrospira platensis.*	26
I.14	Composition chimique de la spiruline.	27
I.15	Effets biologiques et sanitaires rapportés de la spiruline.	30
	II. MATERIELS & METHODES	
II.1	*Arthrospira platensis* fournie en culture.	33
II.2	Culture de la spiruline dans les conditions expérimentales.	35
II.3	Milieu Zerrouk.	35
II.4	Montage expérimentale de bioremédiation.	37
II.5	Structures chimiques de polluants émergents : (A) Ampicilline, (B) Diclofénac, (C) Sulfamethoxazole, (D) Ibuprofène.	38
II.6	Etapes de détermination de la chlorophylle a.	40
	III. RESULTATS& DISCUSSION	
III.1	*Arthrospira platensis* sous le microscope optique	42
III.2	L'évolution de la densité optique de la biomasse.	43
III.3	Le rendement de la bioremédiation de cinq polluants	44
III.4	Effet des PE sur le poids sec de la biomasse.	45
III.5	Effet des polluants émergents sur le taux de chlorophylle A	46

III. RESULTATS& DISCUSSION		
III.6	Effet des PE sur la morphologie de spiruline.	47
III.7	Effet de PE sur la Biomasse	48
III.8	Effet de pourcentage de biomasse sur le rendement de bioremédiation	49
III.9	L'effet de concentration des polluants émergents sur le rendement de la bioremédiation	50
III.10	La cinétique de dégradation des polluants émergents.	51
III.11	L'effet de PE sur La morphologie de la spiruline après l'optimisation	52

LISTE DES TABLEAUX

Numéros	Titre des tableaux	Pages
	I.SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
1	Classes de polluants émergents	6
2	Les différents types d'algues utilisés dans le traitement des eaux **usées**	18
3	Bioremédiation/biotransformation des polluants par les algues et les cyanobactéries	23
4	Classification de la spiruline.	26
5	Propriétés bioactives de la spiruline	30
	II.MATERIEL ET METHODES	
1	Composition chimique du milieu Zarrouk	36
2	Composition chimique de la solution A5	36
3	Composition chimique de la solution B6	36
	III.RESULTATS ET DISCUSSION	
1	Faisabilité de dégradation de polluants émergents en fonction de rendement	43
2	L'absorbance des PE dans différentes longueurs d'onde.	45

INTRODUCTION GENERALE

L'eau est, après l'oxygène, le deuxième élément essentiel à la vie. C'est la ressource la plus précieuse et le composé le plus abondant à la surface de la Terre, qui couvre plus de 70 % de la planète. Plus de la moitié du poids du corps humain est constitué d'eau.

La pollution de l'eau est devenue un problème mondial. L'évaluation de la politique des ressources en eau est nécessaire pour contrer ce problème. Environ 14 000 personnes meurent chaque jour à cause de la pollution de l'eau **(FN & MF, 2017).**

L'industrie pharmaceutique peut être une source ponctuelle de contamination des milieux aquatiques, Les micropolluants dans l'environnement aquatique sont un problème majeur tant pour la population humaine, Parmi les micropolluants émergents, les produits pharmaceutiques ont attiré l'attention depuis plusieurs années. Les contaminants émergents (CE) attirent une attention considérable en raison de leur risque potentiel pour la santé humaine et l'écosystème **(Sousa *et al.*, 2021)**

Les polluants émergents se retrouvent dans l'environnement à des faible concentrations variables allant de l'ordre du ng/L au µg/L avec activité biologique plus élevé et faible taux d'absorption. Ces derniers entrent dans l'environnement par les effluents des stations d'épuration.

Différentes techniques ont été utilisées pour l'élimination de certains polluants solubles dans les effluents industriels ou domestiques. Elles sont différentes les unes par rapport aux autres et peuvent être citées à titre d'illustration l'adsorption, l'électrolyse, la flottation, la précipitation etc., Malheureusement ces techniques n'était pas très efficaces dans le traitement des eaux polluées pas certain contaminants (fausse consommation d'énergie et couteuse…etc.) , en particulier les polluants émergents provenant des industries pharmaceutiques qui nécessitent des techniques avancées et précises pour atteindre un bon seuil de leur élimination des eaux usées

Il est devenu très essentiel de rechercher et de développer des méthodes pour l'élimination des rejets contenant les polluants émergents du milieu naturel. Pour cela des recherches récentes se sont orientées vers l'application de la technique de la bioremédiation. La bioremédiation se définit comme tout processus biotechnologique utilisant des organisme (algue, bactérie, champignon) pour dépolluer un environnement contaminé, qu'il soit terrestre ou aquatique.

Les chercheurs se sont orientés vers l'utilisation de la technique de la bioremédiation et ses différents types à cause de leurs large applicabilité et avantages, la bioremédiation est utile pour la destruction complète d'une grande variété de contaminants, elle peut s'avérer moins coûteuse que d'autres technologies utilisées pour le nettoyage des polluants émergents. Les microalgues offrent une approche peu coûteuse et efficace pour éliminer les excès de nutriments et autres contaminants dans le traitement des eaux usées tertiaires, tout en produisant une biomasse potentiellement précieuse, en raison de leur grande capacité d'absorption des nutriments inorganiques.

Dans notre étude on s'intéresse à l'étude de processus de Phycoremédiation par l'utilisation de la souche spiruline *Arthrosira platensis* , L'utilisation de cette processus dans le traitement des effluents industriels constitue une alternative à la pratique actuelle qui consiste à utiliser des méthodes conventionnelles, y compris des méthodes physiques et chimiques

Spiruline *Arthrosira platensis* est une cyanobactérie, un micro-organisme procaryote de couleur bleu-vert. Elle est reconnue comme l'un des aliments les plus nutritifs de la planète, elle est donc tout naturellement que la spiruline utilisée comme un complément alimentaire. Parmi les micro-organismes utilisés dans les études de bioremédiation, se l'occupe la position de micro-organisme modèle avec une excellente capacité de bio adsorption et de bioaccumulation.

Dans ce contexte on va montrer le pouvoir éliminant des contaminants de la souche *spiruline Arthrosira platensis*) comme microalgue prometteuse utilisée dans l'élimination des polluants émergents des eaux usées.

Notre étude a suivi les étapes suivantes : 5 antibiotiques (diclofénac, ampicilline, sulfaméthoxazole, amoxicilline, ibuprofène) qui représentent des contaminants émergents dans notre étude ont été testés en sélectionnant le médicament ayant la plus grande efficacité de dégradation (sulfaméthoxazole, diclofénac, ampicilline). Faisabilité de la bioremédiation, étudier les facteurs affectant la bioremédiation en définissant plusieurs conditions de fonctionnement et en modifiant les paramètres individuels de chaque facteur pour déterminer la valeur optimale, en les connaissant pour chaque facteur. Les valeurs ont été choisies en fonction des taux de rendement observés, des changements dans la croissance de la biomasse et des changements dans morphologie.

CHAPITRE I. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUES

I. Synthèse bibliographique

1. POLLUANT EMERGENT

1.1 Concept des polluants émergents

Il est bien difficile de trouver une définition précise du terme « polluant émergent ». Ce terme assez générique regroupe les polluants d'origine chimique ou biologique, généralement sans statut réglementaire. Il s'agit bien souvent de molécules pas nécessairement d'usage nouveau mais nouvellement recherchées et pour lesquelles les données sont rares.

Parmi ces polluants émergents sont notamment concernés certains stéroïdes, des médicaments soumis ou non à des prescriptions médicales (antibiotiques, hormones) à usage humain ou vétérinaire, les produits de dégradation de détergents non ioniques (composés du non- et octal-phénol), des désinfectants, des palatales, des retardateurs de flamme, des antioxydants, les nanoparticules etc. La plupart de ces substances identifiées sont connues ou suspectées pour avoir des effets sur les fonctions endocriniennes et posent donc des problèmes vis-à-vis de la santé ou des écosystèmes **(Baran et *al* ,2008)**.

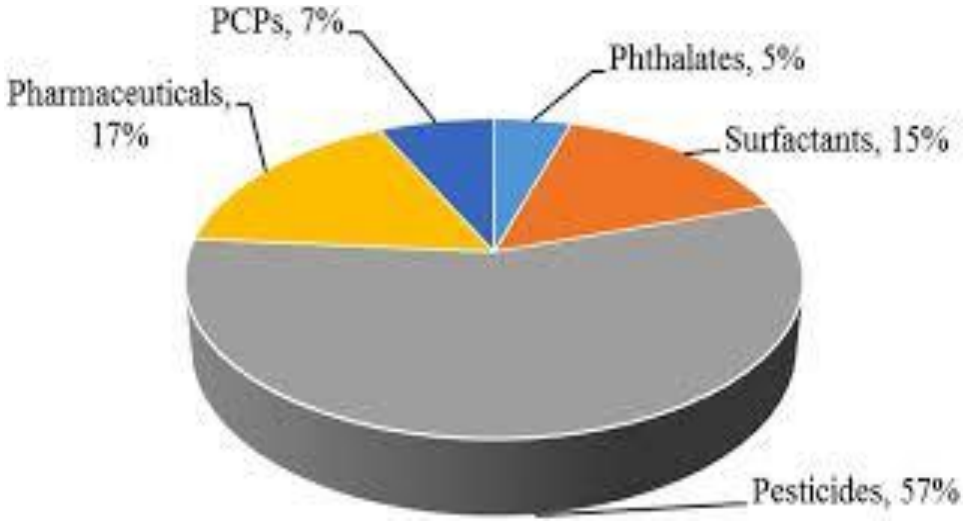


Fig. I.1 Les Types des polluants émergents **(Bleu, 2021).**

1.2 L'origine des polluants émergents

Les sources connues de PE dans l'environnement méditerranéen sont les eaux de ruissellement et les infiltrations issues des décharges, de l'agriculture, de l'aquaculture, des hôpitaux, des eaux usées industrielles et domestiques. De nombreux contaminants émergents sont incorporés dans des produits ingérés par les humains et ensuite rejetés dans l'environnement par le biais des eaux usées **(Bleu, 2021)**.

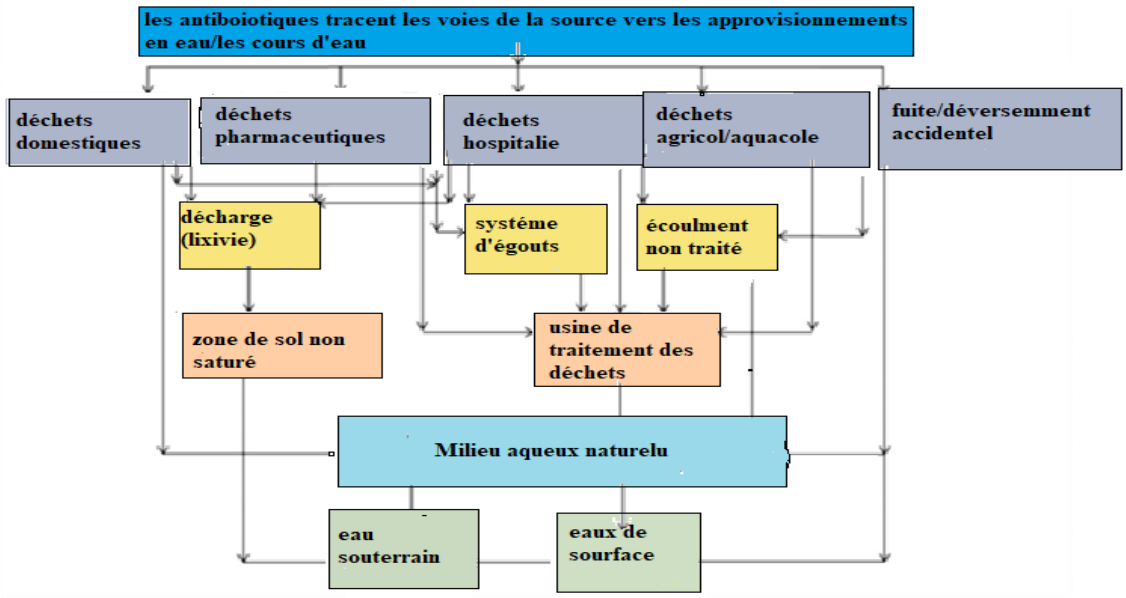


Fig. I.2 Diagramme montrant les voies des polluants émergents des sources vers l'environnement **(Sarp, 2020).**

1.2.1 D'origine industrielle

Certaines industries sont également des sources importantes de contaminants émergents qu'elles rejettent dans la mer Méditerranée ou dans les eaux usées. Ces industries sont : la production de pétrole et de gaz, les raffineries (pétrole et sous-produits des processus de production), la production d'énergie (fluides de forage, nanoparticules, mercure), l'industrie alimentaire (additifs alimentaires, plastifiants), la métallurgie incluant les métaux organiques (métaux), l'industrie pharmaceutique (les antibiotique ;anti inflammatoire Analgésiques …etc.) la production de produits chimiques et de plastique (additifs plastiques, nanoparticules, et…) **(Bleu, 2021)**.

1.2.1.1 Industrie pharmaceutique

Les produits pharmaceutiques, les produits de soins personnels(cosmétique), les hormones stéroïdiennes et les produits agrochimiques font partie des produits synthétiques et indigènes qui constituent les micropolluants, également connus sous le nom de contaminants émergents.

Les produits pharmaceutiques et de soins personnels constituent une classe de micropolluants en développement qui peuvent nuire aux organismes vivants, même à de faibles concentrations. Nombre d'entre eux sont détectés dans les eaux de surface et les eaux usées issues du processus de traitement. **(A.k.priya, 2022)**.

1.2.1.2 D'origine agricole

Les polluants agricoles qui suscitent une vive inquiétude pour la santé humaine sont les agents pathogènes provenant du bétail, des pesticides, du nitrate des eaux souterraines, des traces d'éléments métalliques et des polluants émergents, **(Houille, 2019).**

1.2.1.3 D'origine domestique

Après la pollution d'origine industrielle et agricole ,la pollution d'origine domestique commence de plus en plus à attirer l'attention des chercheurs, des instances législatives et des industriels traiteurs d'eau ..En effet, notre vie quotidienne est source de pollution de l'eau viales eaux usées domestiques : traitements médicaux (antibiotiques, hormones, anticancéreux, analgésiques...), produits d'usage corporel(savons, crèmes...), produits d'entretien (détergents...), composés utilisés dans le traitement des textiles (hydrofuges...) ou dans la fabrication de revêtements antiadhésifs (poêle, emballages)...

Ces produits peuvent poser un problème dans le traitement des eaux usées domestiques parce que, d'une part, les procédés de traitement actuels ne permettent pas leur totale élimination et, d'autre part, certaines molécules peuvent avoir un impact sur la biomasse utilisée en station d'épuration (toxiques, non biodégradables **(Houille, 2019).** Le tableau ci-dessous reprisent les classes des polluants émergent

Tableau I.1 Classes de polluants émergents **(Feraudet, 2009).**

Polluants émergents	Exemples de composé
1.Les produits pharmaceutiques - Antibiotiques - Analgésiques, anti-inflammatoires - Médicaments psychotiques - β- bloquants	 - Triméthoprime, érythromycine, lincomycine, Sulfaméthoxazole - Codéine, ibuproféne, acétaminophène, aspirine, diclofénac, fénoproféne - Diazépam -Métoprolol, propanol, timolol
2.Stéroïdes et hormones	Oestradiol, œstrone, oestriol, diéthylstilbestrol
Parfums Produits solaires Insecticides Antiseptiques	Polycyclique, macrocyclique Benzophénone, méthylbenzylidène N, N-diéthyltoluamide Triclosan, chlorophène
3.Les tensioactifs et leurs métabolites	Ethoxylates d'alkylphénol, 4-nonylphénol, 4-octylphénol, carboxylates d'alkylphénol
4.Additifs industriels	Agents chélatant (EDTA), sulfate aromatique

1.3 L'impact des polluants émergents sur l'environnement

1.3.1 Effet sur l'écosystèmes

Les impacts des polluants émergents sur les organismes et sur les écosystèmes sont étudiés à travers la toxicologie et l'écotoxicologie disciplines essentielle qui doivent être d'avantage développées particulièrement. L'écotoxicologie permet aussi de prendre en compte les effets cumulatifs des polluants émergents dans l'eau **(Feraudet, 2009)** :

- Impact négatif sur les écosystèmes aquatiques, surtout en lien. avec la perturbation endocrinienne et les troubles de la reproduction
- Leur toxicité a un impact sur les animaux, avec des atteintes au Foie, aux reins, aux poumons et à l'appareil reproducteur.
- Effets toxiques sur la faune marine
- Peuvent contaminer le sol, l'eau, les pelouses et d'autres végétaux.

- Toxique pour d'autres organismes y compris les oiseaux, les Poissons, les insectes et les plantes non ciblées **(Bleu, 2021).**

1.3.2 Effets sur santé humaine

Les polluants émergents affectent la santé humaine des manières suivantes :

- Cancérigène et neurotoxique potentiel
- Impacts sur le court terme tels que des maux de Tête et des nausées.
- Impacts chroniques comme le cancer, les Troubles reproductifs et la perturbation endocrinienne.
- Sont liés au cancer du sein chez la femme et au Cancer de la prostate chez l'homme.
- Endommagent le foie, les reins et les poumons.
- Développement de souches de bactérie résistantes Aux antibiotiques, pouvant induire un risque Grave pour la santé humaine **(Bleu, 2021).**

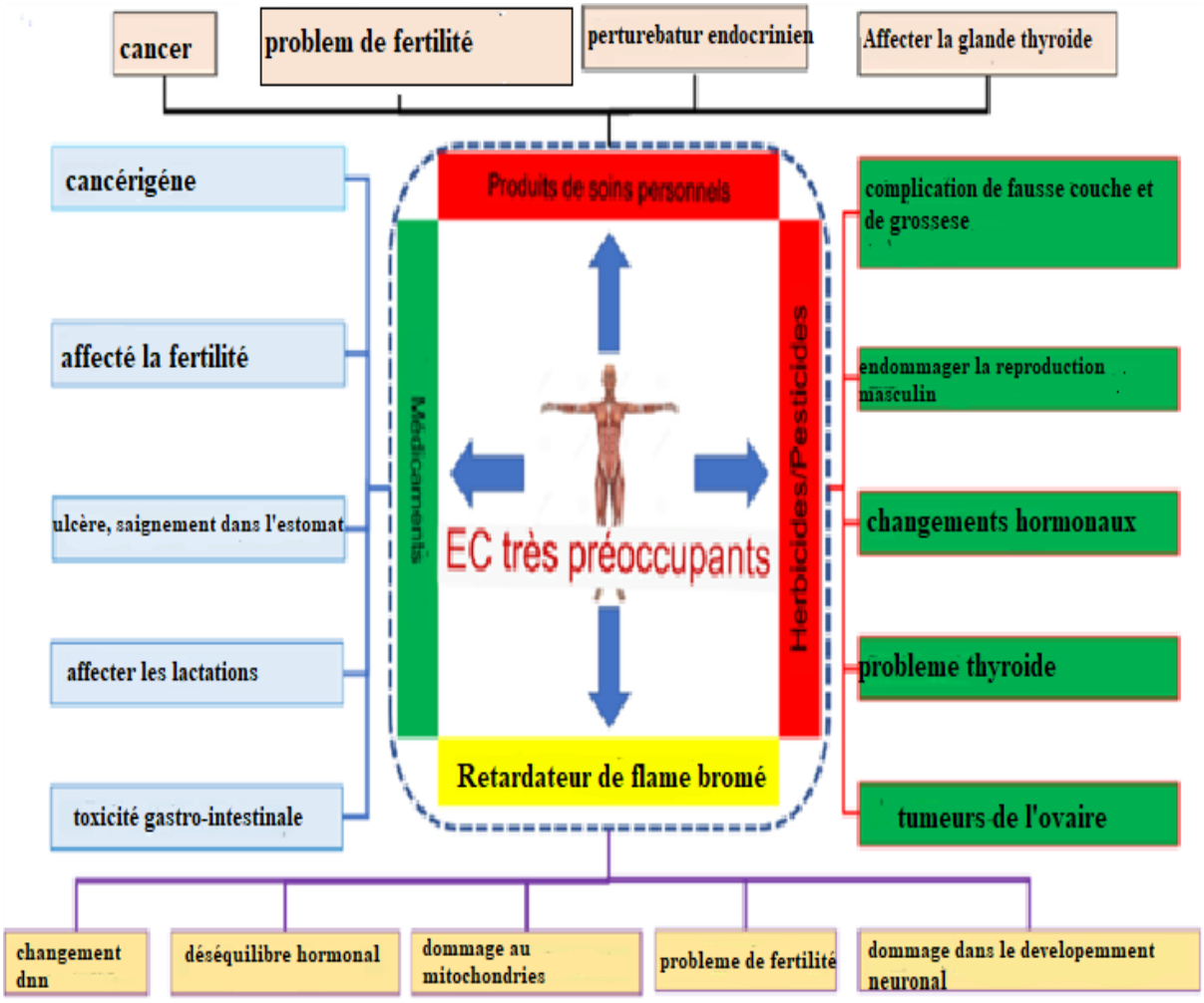


Fig. I.3 Impact des polluants émergents **(Sarp, 2020).**

1.4 Détection et techniques de dosage des PE

1.4.1 Méthode directe

Les méthodes directes mesurent la concentration des substances concernées ou leurs émissions naturelles (radioactivité, fluorescence naturelle par exemple). Ces méthodes sont principalement physico-chimiques et les techniques principales utilisées sont la chromatographie en phase liquide ou gazeuse, la résonance magnétique nucléaire et la spectrométrie de masse. Ces méthodes sont automatisées et permettent de mesurer un grand nombre de substances chimiques connues et d'échantillons.

Actuellement, il est possible de mesurer jusqu'à 3 000 molécules différentes. Elles représentent la grande majorité des techniques d'analyse utilisées à ce jour. D'autres méthodes biologiques permettent aussi de détecter spécifiquement une substance (immuno-chimie), cependant ces techniques ne sont pas encore validées et souvent au stade du développement **(Feraudet, 2009).**

1.4.1.1 Chromatographie liquide

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) ou LC est une méthode d'analyse en or utilisée pour analyser un grand nombre de PE qui sont relativement polaires et non volatiles. Dans divers échantillons, Dans de nombreux cas, la chromatographie liquide à ultra-haute performance (UHPLC) a été choisie au lieu de la HPLC conventionnelle, car ces techniques de CL fournissent une phase stationnaire plus efficace grâce à la réduction de la taille des particules, ce qui a pour effet de réduire le nombre d'échantillons à analyser. La réduction de la taille des particules, ce qui conduit à une meilleure résolution et à un temps plus court L'UHPLC utilise des colonnes dont la taille des particules est <1,7 µm et presque toujours réalisée en mode phase inversée, principalement à l'aide de phases stationnaires C18

En général, pour la séparation en phase inversée des PE, de l'eau acidifiée (avec de petites quantités de formique ou d'acétique) est utilisée, le méthanol ou l'acétonitrile comme solvants organiques (dans certains cas également acidifiés avec de l'acide formique ou acétique). Sont utilisés comme phases mobiles. En outre, comme l'indiquent **(Díaz-Cruz et *al,*)** parmi les modes de CL, la phase inversée avec de l'octadécylique ou de l'acide acétique est utilisée comme phase mobile. Inversée avec un conditionnement de silice à liaison octadécyle C18 ou octyle C8 est la phase stationnaire la plus couramment utilisée pour l'analyse pharmaceutique **(Cheng et *al*, 2016).**

1.4.1.2 Chromatographie en phase gazeuse

La CG est l'une des méthodes analytiques qui peuvent être utilisées pour séparer, analyser et identifier les composés chimiques de n'importe quel échantillon. La CG couplée à la SM est la technique la plus courante et capable de produire des résultats précis. Cependant, la CG est moins souvent utilisée que la LC pour séparer les PE car la majorité des études se sont concentrées sur la détermination de contaminants très polaires, tels que les métaux lourds., les produits pharmaceutiques et de soins produits d'hygiène personnelle **(Cheng et *al*,2016).**

1.4.1.3 La spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse à haute résolution permet d'identifier un grand nombre de molécules. Une chimiothèque de plus de 1000 xénobiotiques a été constituée dont environ une moitié de médicaments, une moitié de pesticides et leurs métabolites. Les spectres de masse, les temps de rétention et les masses exactes de toutes les molécules ont été regroupées dans une base de données.

La confrontation entre la base de données et les informations obtenues sur les échantillons d'eau a permis l'identification et la semi-quantification de 750 pesticides, médicaments et leurs métabolites en une seule analyse sur un volume initial de 50 ml d'eau **(Houille, 2019).**

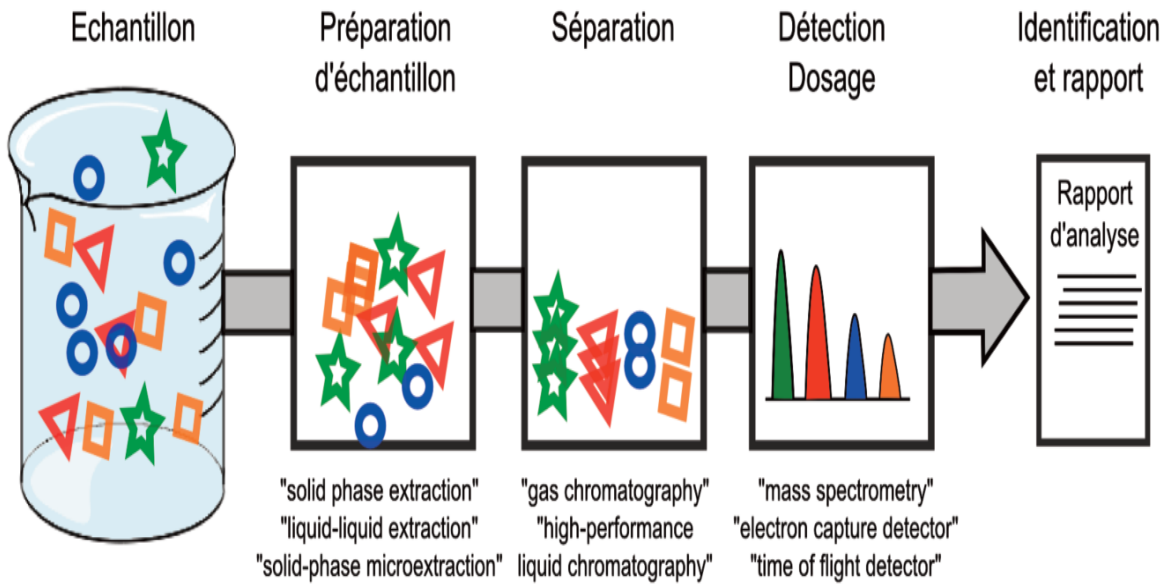


Fig. I.4 Processus de l'analyse chimique des micropolluants**. (Ramseier Gentile et *al*, 2013)**

1.4.2 Méthodes indirect

Les méthodes indirectes mesurent un ou des effets d'une ou plusieurs substances sur un modèle biologique. Celui-ci peut être un animal ou une cellule. Ces méthodes sont dites globales car elles permettent d'évaluer des effets sans connaitre exactement la nature des substances concernées. Elles sont utilisées pour détecter certains types de substances via leurs effets (perturbateurs endocriniens) et pour les études toxicologiques et écotoxicologiques (mesure des effets à court et long terme sur les organismes et les écosystèmes) **(Feraudet, 2009).**

1.4.3 Autre techniques

Récemment, une autre technique a été développée pour surmonter les inconvénients des techniques traditionnelles, qui est la spectroscopie proche infrarouge à transformée de Fourier (FT-NIR). Cette technique n'offre aucune utilisation de réactifs, caractère non destructif, permettant la réutilisation de l'échantillon après mesure, technique rapide, et il y a une possibilité de suivi en ligne. D'après **(Quientelas et *al.* 2018)** la combinaison entre FT-NIR et la chimiométrie a été développée pour déterminer des composés pharmaceutiques, tels que l'ibuprofène, la carbamazépine, le β-estradiol, l'éthinylestradiol et le sulfaméthoxazole dans les eaux usées.

Une approche chimiométrique a été utilisée en utilisant un test de Kolmogorov-Smirnov pour vérifier la normalité des données, une analyse en boîte à moustaches pour l'identification des valeurs aberrantes et une analyse en composantes principales visant à identifier les interrelations des échantillons et à définir les ensembles de données **(Cheng et *al,* 2016).**

1.5 Technique d'élimination des polluants émergents

Les contaminants émergents dans l'environnement aquatique sont devenus un problème mondial. Les procédés conventionnels de traitement des eaux usées sont inefficaces pour éliminer les nouveaux contaminants à des concentrations infimes **(Zhao et *al*, 2018) .**

1.5.1 Technique physico-chimique

1.5.1.1 Coagulation-floculation

La coagulation est un changement chimique dans les particules colloïdales qui fait que les molécules s'agrègent et se déposent dans le temps. Les molécules s'agrègent et se déposent au fil du temps.

Lorsqu'elle est utilisée en conjonction avec la coagulation-floculation associée au filtrage du sable, la méthode Huerta coagulation-floculation associée à un filtrage sur sable, **(Huerta-Fontela et *al)*** ont découvert que le sulfate d'aluminium ($Al_2SO_4)_3$ était efficace pour éliminer les médicaments tels que l'hydrochlorure d'hydrogène. (Produits de soins personnels) ont été éliminés en grandes quantités des eaux usées des hôpitaux, en particulier les composés de musc : le célestolide, le galaxolide et le tonalide, avec des taux d'élimination significatifs **(Sarp, 2020)**.

1.5.1.2 Adsorption sur charbon actif

Il est possible d'éliminer plusieurs médicaments hydrophobes et chargés, les CPE et les PSP en utilisant l'adsorption sur charbon actif comme moyen d'élimination. Et chargés, les CPE et les PSP en utilisant l'adsorption sur charbon actif comme méthode d'adsorption Un système d'adsorption sur charbon actif est utile en ce sens qu'il peut éliminer la plupart des molécules organiques grâce à ses interactions hydrophobes, en particulier les produits chimiques non polaires.

(Schafer et *al*) ont déclaré que plusieurs études ont trouvé que le charbon actif en poudre (est un bon moyen d'éliminer la plupart des molécules organiques. Que le charbon actif en poudre a le potentiel d'éliminer l'PCE jusqu'à 90 %, tandis que Snyder et al. Ont étudié l'efficacité de l'élimination de l'PCE du charbon actif en poudre à une concentration de 5 mg/litre et un temps de contact de 5 heures pour 66 produits pharmaceutiques. Et de soins personnels (PSP) **(Sarp, 2020).**

1.5.1.3 Procédés d'oxydation conventionnels

Les technologies de traitement chimique sont appliquées en remplacement des autres méthodes de traitement pour l'élimination ultérieure des PE. Ces techniques, généralement appelées méthodes d'oxydation en phase aqueuse, dépendent de Ces techniques, hautement réactives en tant qu'intermédiaires dans le processus. Les réactions d'oxydation ont été principalement utilisées pour améliorer le traitement des PE plutôt que pour remplacer les systèmes conventionnels.

L'oxydation est une procédure efficace d'élimination des PE, en particulier en utilisant du chlore ou de l'ozone. L'oxydation dégrade efficacement les EDC/PPCP présents dans un faible taux de carbone organique dissous car l'application du processus d'ozonation a un fort impact sur la qualité de l'eau. **(Noutsopoulos et *al.)*** Ont utilisé 1000 nm/litre de chaque polluant PE pour évaluer l'effet du chlore sur l'élimination de certains polluants CE. Avant d'être éliminée, la première dose de chlore de 11 $mg.L^{-1}$ a été exposée pendant 60 minutes. Comme les taux d'élimination maximaux, le naproxène et le taux d'élimination maximaux, le naproxène et le diclofénac ont eu l'efficacité d'élimination la plus élevée, avec 95 % et 100 % **(Sarp, 2020).**

1.5.1.4 La technologie des membranes

La technologie membranaire est l'une des technologies prometteuses pour l'excellente élimination des micropolluants dans l'eau. Cette technologie utilise à la fois la biologie (membrane bioréacteurs) et procédés non biologiques (osmose inverse, ultrafiltration, et nanofiltration). Les bioréacteurs à membrane (MBR) sont la combinaison de des procédés de filtration basés, tels que la microfiltration (MF) ou l'ultrafiltration (UF) système avec des réacteurs biologiques à croissance suspendue. Les MBR sont les plus importants et des procédés éprouvés de nos jours pour obtenir une eau relativement propre à partir des eaux usées grâce à la combinaison de traitements membranaires et biologiques **(Cheng et *al*, 2016)**.

1.5.2 Technique biologique

Microorganismes (bactéries, algues et champignons) utilisés en biologie le traitement des eaux usées peut émuler la capacité des écosystèmes naturels à réduire les contaminants dans l'eau de manière rentable et justifiée. Une variété une variété de médicaments tels que les bêta-bloquants pharmaceutiques (sotalol, propranolol, et atendol), anticancéreux et gastro-œsophagiens (famotidine, cri-métidine, citalopram, acridoneandranitidine), anti-inflammatoires (acétaminophène, dont le stimulant butalbital) et des antibiotiques (sulfathazole, sulfaméthazime, sulfapyridine, azithromycine et érythromycine) pourrait être éliminée à 100% par des générateurs fongiques.

Quand employé dans un procédé de traitement de bassin de polissage à base d'algues dans un niveau de concentration de 1 g/litre, polluants environnementaux (PE) tels que E1, E2 et EE2 peuvent être supprimés à plus de 95 % **(Sarp, 2020)**.

1.5.3 Traitements avancés et hybrides

Les techniques conventionnelles de traitement des eaux usées ne suffisent pas à supprimer efficacement de nombreux PE. En conséquence, plusieurs systèmes sophistiqués et

des approches thérapeutiques hybrides pour éliminer considérablement les PE ont été rapporté dans la littérature.

Photolyse ultraviolette (UV), échange d'ions, l'irradiation par ultrasons et la filtration sur membrane sont des exemples de formes avancées de traitement. Au cours des dernières années, plusieurs hybrides des méthodes de traitement ont été décrites qui ont entraîné des amélioration de la prévention des rejets d'PE dans l'environnement aquatique via le rejet d'effluents .En général, le traitement hybride la technologie combine des remèdes biologiques avec des traitements physiques ou approches chimiques du traitement **(Sarp, 2020).**

2.LA PHYCOREMEDIATION DES POLLUANTS EMERGENTS

2.1 La bioremédiation

La bioremédiation désigne un ensemble de processus utilisés pour dépolluer un site naturel (sol, sédiments, eaux de surface ou souterraines), mais qui font appel à l'utilisation de micro-organismes, de champignons, de végétaux divers ou d'enzymes qu'ils produisent. Les moyens mis en œuvre sont donc respectueux de l'environnement et de la santé humaine. La technique de bioremédiation comprend la phytoremédiation, la mycoremédiation, la remédiation microbienne et la phycoremédiation **(Gessesse Kebede et *al*, 2021).**

En effet, la bioremédiation peut être réalisée en dehors du site de pollution (ex-situ) ou sur le site de la pollution (in-situ).

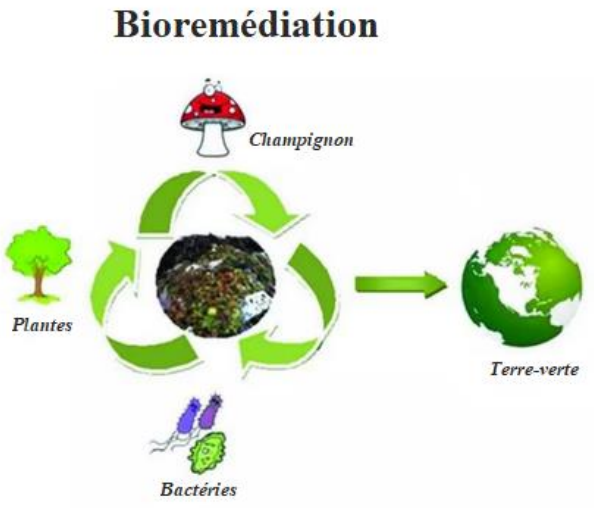


Fig. I.5 L'utilité des plantes, bactéries et champignons dans la bioremédiation dans le but de protection de la planète de la terre **(Gessesse Kebede et *al*, 2021).**

2.2 Les méthodes de bioremédiation

2.2.1 La bioremédiation *in-situ*

La localisation des contaminants dans le sol et les eaux souterraines est le résultat des actions de l'homme qui ont causé la contamination et avec l'augmentation du taux de pollution lié aux activités humaines, plusieurs chercheurs se sont orientés vers le traitement des sites (sols ou eaux souterraines) sur place, ce que l'on appelle la bioremédiation In-Situ c'est le traitement biologique des sols et des eaux souterraines contaminés sans excavation du sol ou sans pompage. Elle repose sur l'utilisation de microbes ou de plantes pour dégrader ou immobiliser les contaminants in situ et la technologie fait appel à une combinaison de sciences microbiologiques, chimiques, géologiques et d'ingénierie **(Rawe.J et *al*, 2006).**

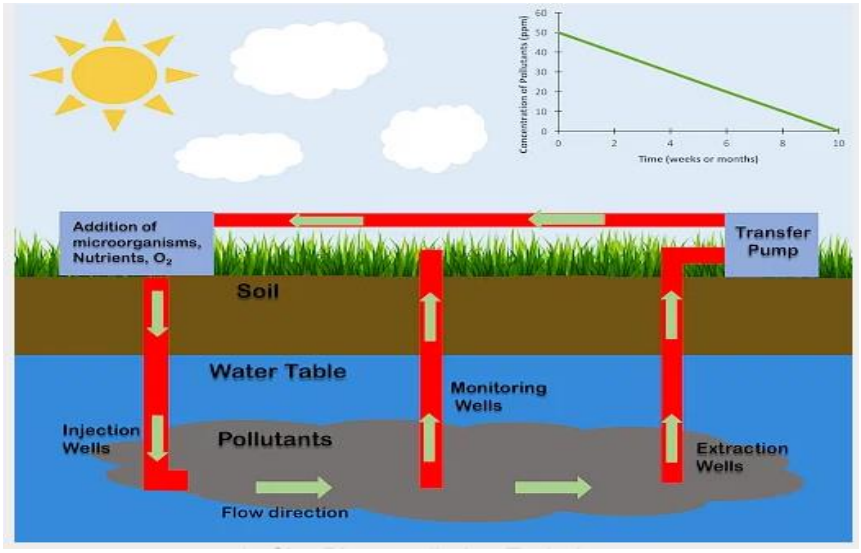


Fig I.6 Les techniques de la bioremédiation *In-situ* **((Gessesse Kebede et *al*, 2021).)**

2.2.2 La bioremédiation *ex-situ*

Les techniques du types Ex-Situ consistent à extraire les polluants des sites pollués et à les transporter ensuite vers un autre site pour les traiter. Cette technique donc nécessite l'enlèvement physique du matériau contaminé et son transport vers une autre zone pour un traitement ultérieur par bioréacteurs, agriculture de terrain ou compostage.

Les techniques de biorestauration ex situ sont généralement envisagées en fonction du coût du traitement, de la profondeur de la pollution, du type de polluant, du degré de pollution, de la situation géographique et de la géologie du site pollué. Des critères de performance, qui déterminent également le choix des techniques de bioremédiation ex situ, ont été décrits **(Santanu Maitra, 2018).**

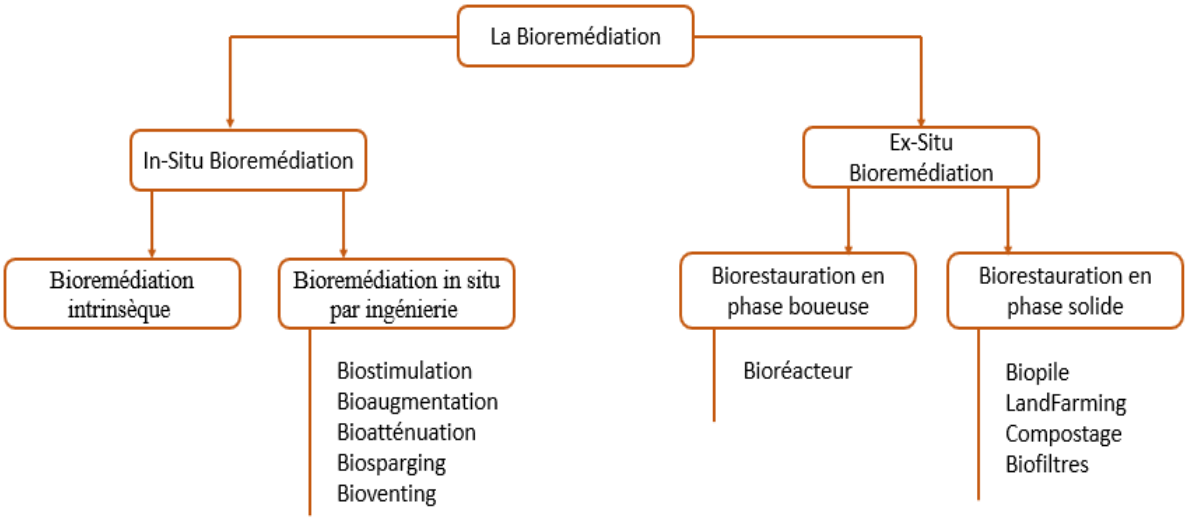


Fig. I.7 Les catégories de la Bioremédiation **(Indu Sharma).**

2.3 Les avantages de la bioremédiation

Les technologies d'assainissement de l'environnement telles que la bioremédiation peuvent fournir des solutions à long terme pour améliorer la qualité de l'air, de l'eau et des sols touchés par des activités industrielles héritées du passé. La bioremédiation et la réduction naturelle sont également considérées comme une solution aux problèmes des contaminants émergents ; les microbes sont très utiles pour assainir l'environnement contaminé.

Un certain nombre de microbes, dont des bactéries aérobies, anaérobies et des champignons, sont impliqués dans le processus de bioremédiation. La biorestauration est fortement impliquée dans la dégradation, l'éradication, l'immobilisation ou la détoxification de divers déchets chimiques et matériaux physiques dangereux dans l'environnement grâce à l'action des micro-organismes **(Indu Sharma, 2020).** On peut généralement représenter les avantages de la bioremédiation dans les points suivants **(Pierre Roger et Vincent Jacq, 2000)** :

1. Elle est souvent applicable sur le site (bioremédiation in situ) ou à proximité immédiate (quand des installations ex situ sont nécessaires), ce qui réduit les coûts de transport et de manutention.
2. Elle perturbe généralement moins le biotope que les méthodes physico-chimiques (sauf pour les sols excavés).
3. Elle élimine le polluant en permanence et, appliquée in situ, rend le biotope apte à relancer un processus d'autoépuration en cas de nouvelle pollution du même genre.
4. Elle élimine les effets à long terme possibles avec les méthodes fondées sur le confinement.

5. On peut associer, dans une chaine de traitement, plusieurs techniques biologiques (exemples : un composteur et un biofitre ; deux ou plusieurs réacteurs en cascade, etc…)
6. Les techniques biologiques peuvent également être couplées aux techniques de dépollution physico-chimiques.

2.4 Les techniques utilisées en bioremédiation

Le choix de la technique de bioremédiation dépend de certains facteurs, dont les suivants : type de polluant, la concentration du polluant, le type d'environnement, le coût de la technique de remédiation, la profondeur du contaminant, et les politiques environnementales ...etc. D'autres facteurs abiotiques/édaphiques tels que les concentrations en oxygène la température, le pH, déterminent le succès des processus de bioremédiation. Et pourraient donc également être pris en compte **(Alori et *al*, 2022).**

2.4.1 La bioremédiation microbienne

Des études ont montré que la bioremédiation microbienne (l'utilisation de micro-organismes : bactéries, champignons et microalgues) est la plus efficace pour transformer les polluants en une forme moins toxique et moins mobile ou pour minéraliser les polluants (H_2O, CO2 et biomasse microbienne), Parmi les différents micro-organismes, les bactéries sont les plus actives et les premières à dégrader une large gamme de polluants organiques **(Gessesse Kebede et *al*, 2021)**. En tant qu'acteurs essentiels de l'assainissement, les microbes ont tendance à décomposer plusieurs contaminants organiques grâce à leur mécanisme métabolique et à leur adaptation à des environnements difficiles.

Néanmoins, leur efficacité dépend de plusieurs dynamiques résultant de la composition chimique et de la quantité des contaminants, de leur accessibilité pour les micro-organismes et des propriétés physico-chimiques des environnements, Les facteurs qui affectent le degré de dégradation des contaminants par les microbes sont associés aux microbes et à leurs besoins nutritionnels (éléments biologiques) ou à leur écosystème (agents environnementaux) **(Adedeji, J.A et *al*, 2022).**

2.4.2 La Phytoremédiation

De nos jours, de plus en plus de sols sont pollués par les activités humaines. Depuis une trentaine d'années, les chercheurs tentent d'exploiter les étonnantes facultés du règne végétal pour dépolluer les sols. Certains projets portent déjà leurs fruits et cette phytotechnologie sera cruciale dans les décennies à venir.

La phytoremédiation est la dépollution des sols, des eaux ou de l'air en utilisant des plantes. L'étymologie provient du grec phyto qui signifie plante et du latin « remedium » signifiant le rétablissement de l'équilibre **(Idris Bensari, 2021)**. Elle compte parmi les méthodes innovantes de dépollution des sols de plus en plus utilisées dans des milieux complexes en fonction de la nature des polluants à traiter **(Nadia Origo et *al*, 2012).**

2.4.3 La Mycoremédiation

La mycoremédiation (fongoremédiation) est une forme de bioremédiation dont le processus utilise des champignons pour dégrader ou diminuer les contaminants dans l'environnement**.** C'est un procédé biologique qui se concentre sur la production des enzymes par des champignons pour transformer les contaminants **(Patrick Dostie, 2017).**

2.4.4 La Phycoremédiation

La phycoremédiation fait référence à l'utilisation d'algues (y compris les cyanobactéries, les microalgues et les macroalgues) dans les processus industriels pour l'élimination des polluants ou pour dériver des produits des eaux usées, par exemple la biomasse algale. Les algues sont utilisées comme source de nourriture, d'énergie, de stabilisant, de compost et de traitement des eaux usées électriques **(Dayana Priyadharshini, S et *al*, 2021).** Le tableau ci-dessous montre les différents types des algues peuvent utilisés dans le traitement des eaux polluées suivant le processus de la phycoremédiation. Le tableau ci-dessous reprisent l**es** différents types d'algues utilisés dans le traitement des eaux usées

Tableau I.2 L**es** différents types d'algues utilisés dans le traitement des eaux usées **(Dayana Priyadharshini, S et *al*, 2021).**

Algue utilisé	Type d'eau usée traitée
Chlorella sp.	Porcherie mixte domestique
Chlorella sorokiniana	Municipalités synthétiques Tannerie
Chlorella variabilis	Tannerie
Chlorella zofingiensis	Porcherie
Chlorella vulgaris	Effluents d'eaux usées station d'épuration Effluents de porcherie traités Eaux usées provenant de divers égouts Traitement du cuir Industrie textile tannerie

Tableau I.2 La suite	
Chlorella pyrenoidosa	Gazéification du charbon usine
Scenedesmus sp	Produits laitiers Alcool égouts + amidon artificiel écoulement domestique
Scenedesmus dimorphus	Traitement des nouilles Traitement primaire des eaux usées drainage domestique Tannerie
Scenedesmus acutus	Municipalités
Scenedesmus obliquus	Municipalités
Scenedesmus quadricauda et Tetraselmis suecica Spirulina sp.	Effluents de porcherie traités Effluents synthétiques de brasserie Alimentation
Spirulina maxima	Produits laitiers
Pseudochlorella pringsheimii	Produits laitiers Aquaculture
Chlamydomonas mexicana	Vinasse de canne à sucre Tannerie
Chlamydomonas reinhardtii	Porcherie
Chlamydomonas debaryana	Eaux usées
Culture algues-bactéries	laiterie communale
Mélange de microalgues	Textile et urbanisme
hlorella sorokiniana, Coelastrella sp. et Acutodesmus nygaardi	Porcherie
Neochloris oleoabundans, Chlorella vulgaris et Scenedesmus obliquus	Agro-zootechnique digestat

2.5 L'utilisation des microalgues dans l'élimination des polluants émergents des eaux polluées

2.5.1 Les Microalgues

Les microalgues ont récemment suscité un intérêt considérable dans le monde entier, en raison de leur vaste potentiel d'application dans les secteurs des énergies renouvelables, de la biopharmacie et de la nutraceutique. Les microalgues sont des sources renouvelables, durables et économiques de biocarburants, de médicaments bioactifs et d'ingrédients alimentaires **(Khan. M.I et *al*, 2018).**

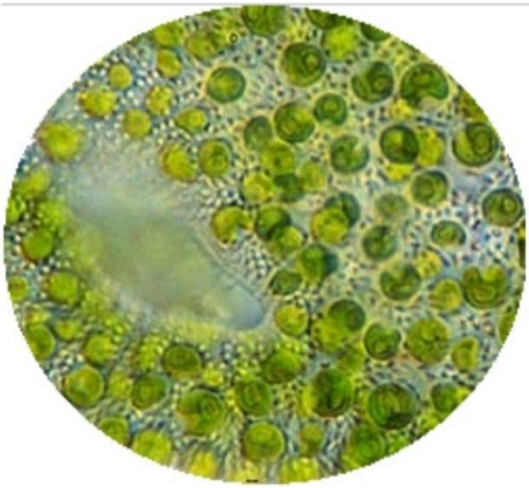


Fig I.8 Morphologie d'une microalgue de type *Chlorella* **(Khan. M.I et *al*, 2018).**

Il existe plusieurs milliers d'espèces de microalgues. Ces microorganismes croissent rapidement et utilisent la lumière du soleil pour fixer le carbone, fabriquer leur nourriture et assurer ainsi leur développement.

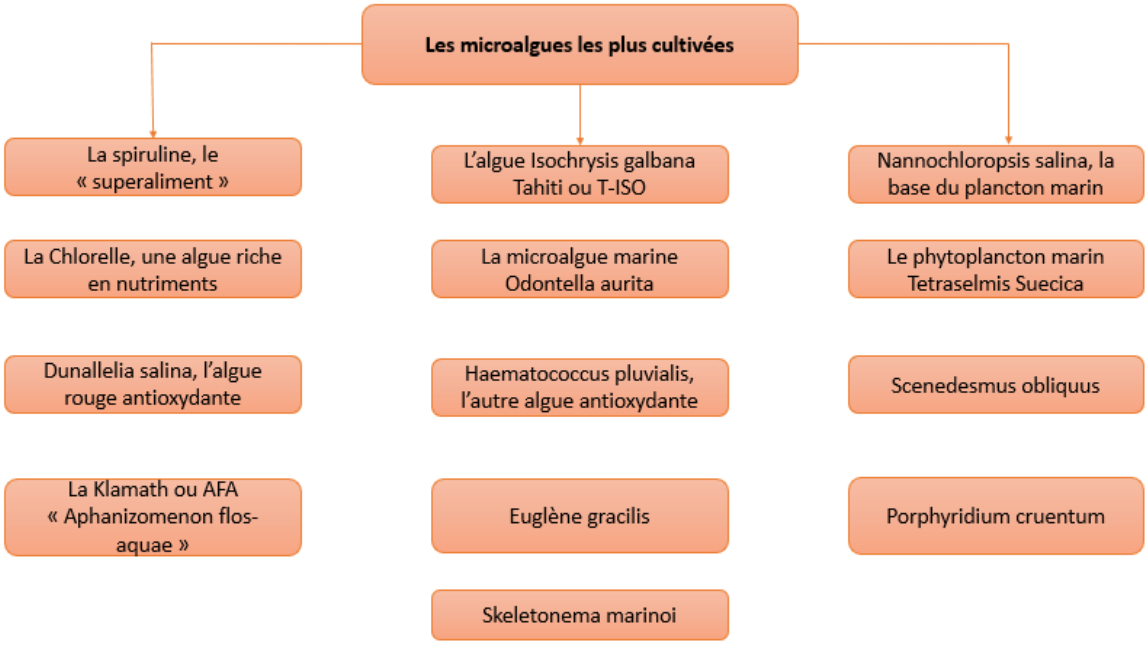


Fig.I.9 L**es** types les plus connus des microalgues **(Khan. M.I et *al*, 2018).**

Ces dernières années l'utilisation des microalgues comme source principale dans le traitement des eaux polluées par des polluants émergents est devenue de plus en plus remarquable. Les contaminants émergents (CE) sont principalement des produits chimiques organiques synthétiques qui font l'objet d'une attention croissante en raison d'une prise de conscience accrue des risques potentiels qu'ils présentent pour l'homme et le biote aquatique, ou qui n'ont été détectés que récemment dans l'environnement aquatique ou les réserves d'eau potable, grâce à des techniques d'analyse améliorées **(Sutherland DL et Ralph PJ, 2019).**

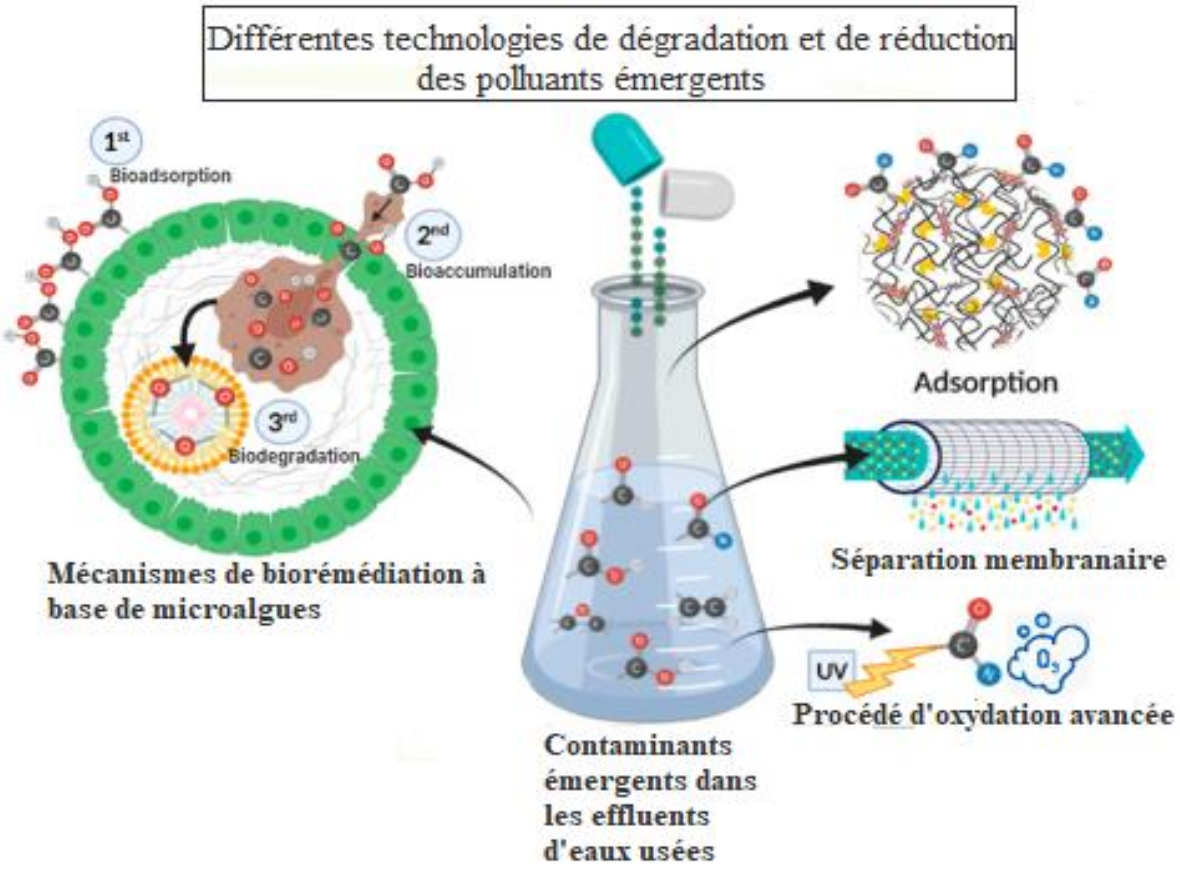


Fig.I.10 Les différents technologies de dégradation des polluants émergents **(Alen. R et *al*, 2021)**

2.5.2 Phycoremédiation au moyen des microalgues

La dépollution des matrices environnementales contaminées par l'application d'algues est appelée phycoremédiation. Historiquement, les algues ont été utilisées pour le traitement des eaux usées domestiques et ont conduit au développement de processus spécifiques. La capacité des algues à se développer sur des eaux usées dans des terres jusqu'ici non cultivables avec une productivité élevée fait de la phycoremédiation un sous-ensemble attrayant de la biorestauration. La biomasse algale à valeur ajoutée peut potentiellement être utilisée pour extraire de nombreux produits utiles, par exemple des lipides, des protéines, des hydrates de carbone, des pigments, etc. **(Gupta.S. K et *al*, 2015).**

Le tableau 03 ci-dessous nous montre l'utilisation de quelques algues et cyanobactéries dans biotransformation de différents composants des polluants émergents. Le tableau ci-dessous reprisent la bioremédiation/biotransformation des polluants par les algues et les cyanobactéries.

Tableau I.3 : Bioremédiation/biotransformation des polluants par les algues et les cyanobactéries **(Gupta.S. K et *al*, 2015).**

Composants	Algue	Remarque
14c Naphthalene	*Agmenellum quadruplicatum*	Catalyse de l'hydroxylation cis des hydrocarbures aromatiques.
R-endosulfan et son produit d'oxydation sulfate d'endosulfan	*Chlorococcum sp*	95-99 % de dégradation en 30 jours.
	Scenedesmus sp.	
BaP benzo[a]pyrène	*Selenastrum capricornutum*	Métabolise le BaP en cis-dihydrodiols à l'aide d'un système enzymatique de dioxygénase en todiols et quinones.
Polyurethane	*Prototheca zopfi i*	Élimination par les cellules immobilisées et libres cellules.
Fluoranthene	*Chlorella vulgaris, Scenedesmus platydiscus, Scenedesmus quadricauda, Selenastrum capricornutum*	Élimination spécifique à l'espèce.
Pyrene		
Phenanthrene	*S. costatum and Nitzschia sp.*	L'élimination du mélange est plus importante que celle d'un seul composé.
Fluoranthene		La présence de tout composé HAP dans la matrice augmente la dégradation des autres composés HAP

La phycoremédiation des contaminants émergents dépend de divers facteurs tels que la physiologie des espèces sélectionnées, leur survie et leur croissance, la densité des espèces, leur potentiel de tolérance et leur antériorité et l'exposition préalable à un composé xénobiotique spécifique. La figure ci-dessous représente les facteurs influençant la phycorémédiation des polluants émergents.

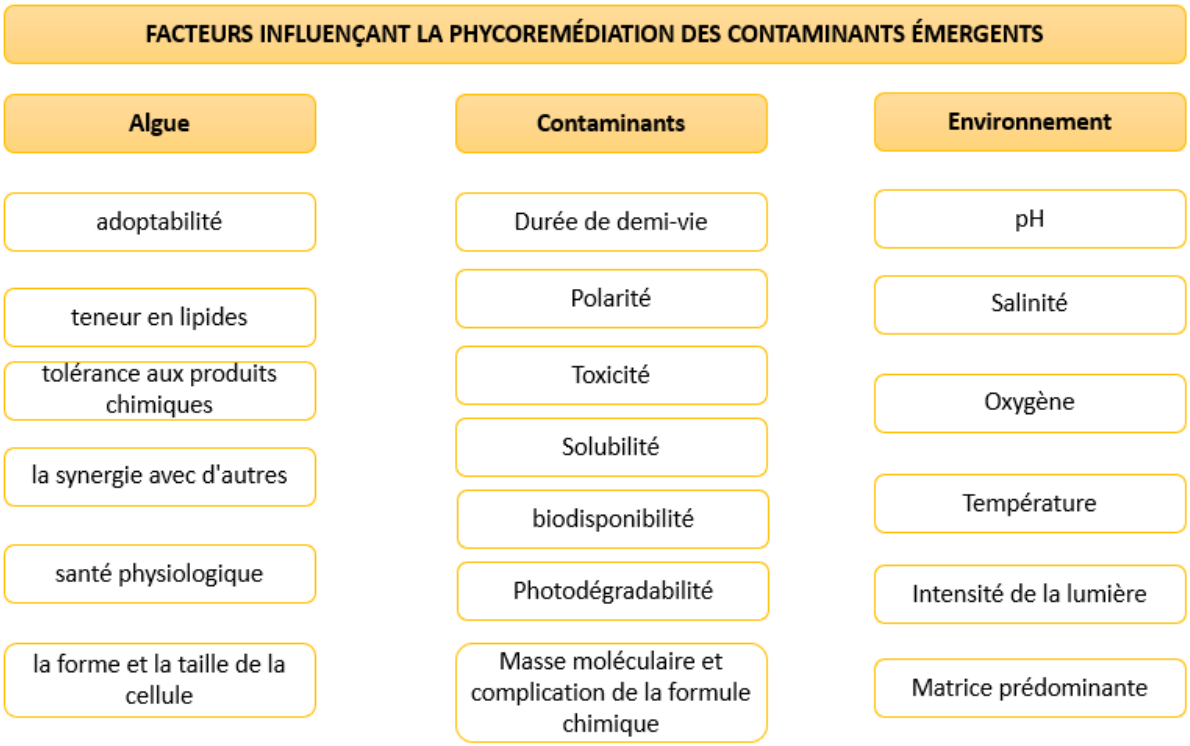


Fig.I.11 : Aperçu général des facteurs influençant la phycoremédiation des contaminants émergents**(Gupta.S. K et *al*, 2015).**

3. SPIRULINES ET POTENTIALITES DE BIOREMEDIATION

3.1. Généralité sur la spiruline :

La microalgue Spiruline, également appelée *Arthrospira,* appartient à la division des cyanobactéries, classe des *cyanophycées*, et famille des *Oscillatoriacées. S. platensis* est l'espèce la plus importante de ce genre, suivie de S. fusiforme et S. maxima.

La spiruline présente des filaments hélicoïdaux d'une longueur de 200 à 300 µm et de 5 à 10 µm de largeur, une tolérance élevée au pH alcalin, une croissance facile et des parois cellulaires molles qui se cassent facilement. De plus, elle a une structure filamenteuse à plusieurs étages, et peut être facilement cultivé dans l'eau, poussant vigoureusement au soleil, à des températures élevées et dans des conditions alcalines.

Arthrospira platensis (spiruline) est prospère dans les environnements d'eau peu profonde mésophiles à forte salinité tels que les lacs alcalins, salins, saumâtres et d'eau douce **(Ragaza et *al.*, 2020).**

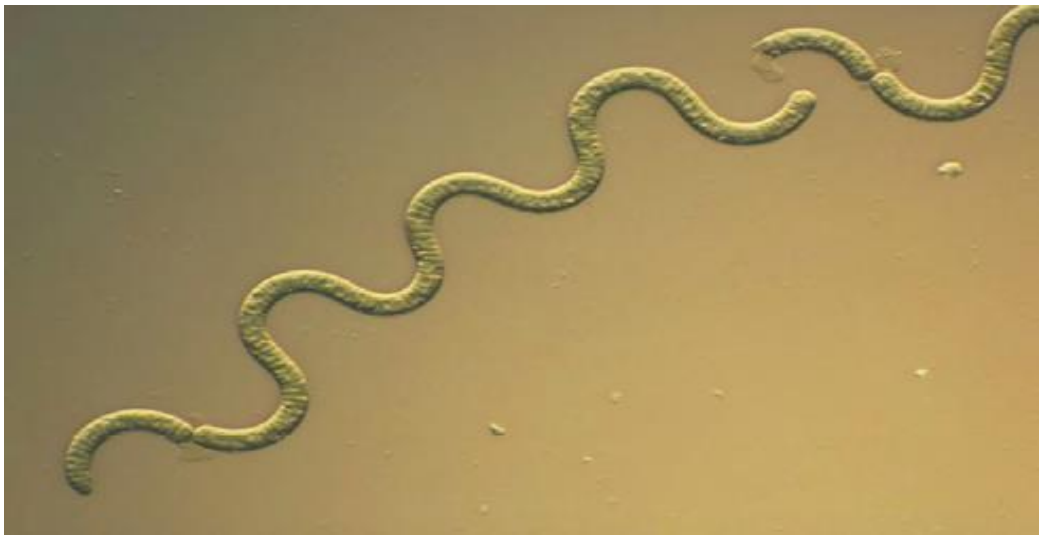


Fig.I.12 *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* **(Id, 2018).**

3.1.1 Systématique :

En 1989, ces micro-organismes ont été classés en deux genres, selon une suggestion de Gomont en 1892. Cette classification est actuellement acceptée, Stanier et Van Neil incorporé des algues bleu-vert dans le royaume procaryote et nommé ces micro-organismes comme cyanobactéries et cela a été accepté et publié pour la première fois en 1974 dans le Bergey`s Manual of Determinative Bacteriology **(Ali & Saleh, 2012).**

3.1.2Taxonomique

D'un point de vue taxonomique, la spiruline s'y vue appartenir par les systématiciens au :

Tableau I.4 : classification de la spiruline **(Charpy et *al* 2008)**.

Règne	*Monera*
Sous Règne	*Procaryotes*
Embranchement	*Cyanophyta*
Classe	*Cyanophyceae*
Ordre	*Nostocales (ou Oscillatoriales)*
Famille	*Oscillatoriaceae*
Genre	*Oscillatoria*
Sous genre	*Spirulina ou Arthrospira*

3.1.3 Cycle Biologique de reproduction

Il existe trois étapes fondamentales : la fragmentation des trichomes, les processus d'élargissement et de maturation des cellules d'hormogonie et l'élongation des trichomes. Ensuite, ces trichomes matures sont divisés en filaments ou hormogonies, les cellules des hormogonies sont augmentées par fission binaire, se développent dans le sens de la longueur et prennent leur forme hélicoïdale **(Ali & Saleh, 2012).**

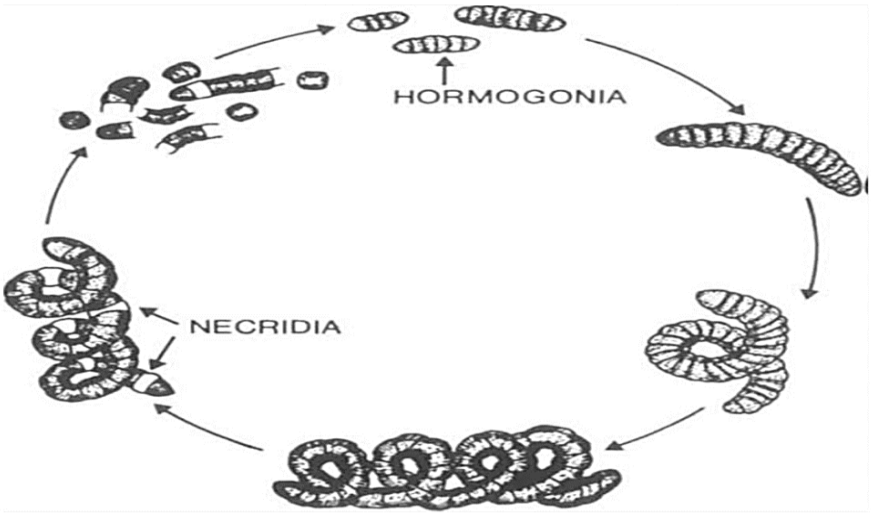


Fig.I.13. Cycle de vie *d'Arthrospira platensis* **(C. H. G. Jung et *al.*, 2021)**

3.1.4 Composition et valeurs nutritionnelles

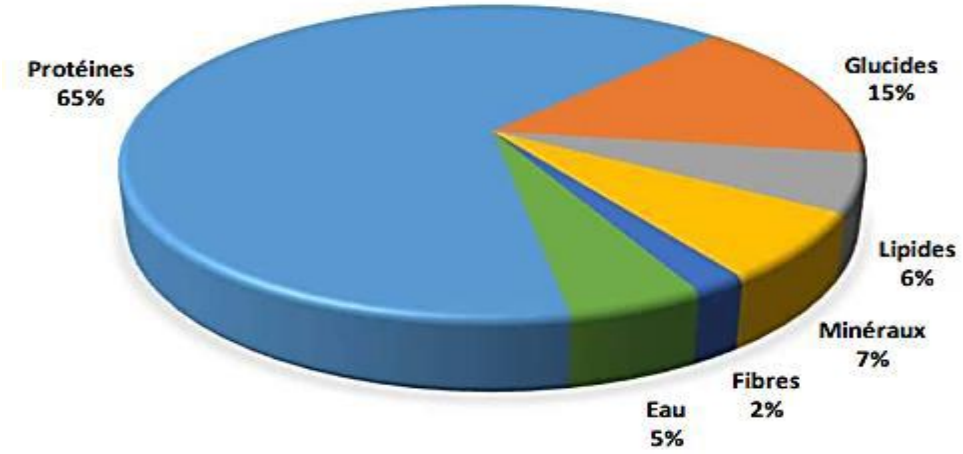


Fig.I.14. Composition chimique de la spiruline **(Lecointre, 2017).**

3.1.4.1 Protéines

La spiruline contient des quantités inhabituellement élevées de protéines, entre 55 et 70 % en poids sec. C'est une protéine complète, contenant tous les acides aminés essentiels **(F. Jung et *al*., 2019).**

3.1.4.2 Les glucides

La spiruline contient environ 13,6 % de glucides, dont du glucose, du rhamnose, du mannose, de la xylose et du galactose et n'a pas de cellulose dans son enveloppe muréine **(Ragaza et *al*.2020).**

3.1.4.3 Acides gras essentiels

La spiruline contient une grande quantité d'acides gras polyinsaturés (AGPI), 1,5 à 2,0 % de5-6 % de lipides totaux. En particulier, la spiruline est riche en acide linolénique (36 % des AGPI totaux), et fournit également de l'acide -linolénique (ALA), de l'acide linoléique (LA, 36 % du total des AGPI), de l'acide stéaridonique (SDA), de l'acide eicosapentaénoïque (EPA), de l'acide docosahexaénoïque (DHA) et de l'acide arachidonique. Acide (AA) **(F. Jung et *al*., 2019).**

3.1.4.4 Acides nucléiques

La teneur en acides nucléiques de la spiruline est d'environ 4 à 6 % de son poids sec ; ces valeurs sont pour beaucoup inférieures à celles d'autres sources de protéines unicellulaires (par exemple, la levure contient environ 20 % de sa matière sèche) et d'autres microalgues comme la Chlorella. **(Gutiérrez-Salmeán et *al*., 2015).**

3.1.4.5 Vitamines

La spiruline a un excellent mélange de vitamines, y compris les vitamines A, Bl, B2, B6, B12, E et H. Elle contient 21 % des apports nutritionnels recommandés **(Nowruzi, Haghighat, Fahimi, & Mohammadi, 2018).**

3.1.4.6 Minéraux

La spiruline est une riche source de potassium et contient également du calcium, du chrome, du cuivre, du fer, du magnésium, du manganèse, du phosphore, du sélénium, du sodium et du zinc **(F. Jung et *al*., 2019).**

3.1.4.7 Lipides

La spiruline présente une fraction lipidique d'environ 5 à 10 % de son poids sec. La chose importante à cet égard est que les graisses qui composent cette fraction sont principalement des lipides essentiels à l'homme **(Gutiérrez-Salmeán et *al.*, 2015).**

3.1.4.8 Pigments photosynthétiques

La spiruline contient de nombreux pigments dont la chlorophylle-a, xanthophylles, β-carotène, échinénone, myxoxanthophylle, etc. et les phycobiliprotéines C-phycocyanine et allophycocyanine **(Saranraj, 2010).**

La chlorophylle a

La plus répandue, est présente dans tous les organismes capables d'effectuer la photosynthèse aérobie. C'est en 1910 que Willstätter **(Willstätter et *al*., 1910)** propose la formule brute de la chlorophylle a. Il faut alors attendre 1940 pour que Fischer révèle sa constitution, et 1960 pour voir apparaître sa première synthèse totale réalisée par Woodward **(Woodward, et *al* 1960)**. La configuration absolue des centres C (17) et C (18) de la chlorophylle a est établie en 1968 par Fleming **(Fleming, I., J. Chem. Soc. (C), 1968)** et Brockmann **(Brockmann.jr et al., 1968)**. La chlorophylle a est présente dans le centre réactionnel ainsi que dans l'antenne captant la lumière.

3.2. Principale application de la spiruline

3.2.1 En alimentation humain

Grace à son excellent profil nutritionnel, la spiruline peut générer plusieurs performances : En enrayant la malnutrition, elle est utilisée par des humanitaires et des médecins sous forme de poudre afin de la mélanger à des céréales ou à de l'eau, pour sauver des enfants atteints de malnutrition sévère. Elle se révèle plus efficace que les médicaments

pour pallier toutes les carences et traiter les effets des maladies qui découlent de la famine comme le marasme ou la kwashiorkor **(Fox, 1999).**

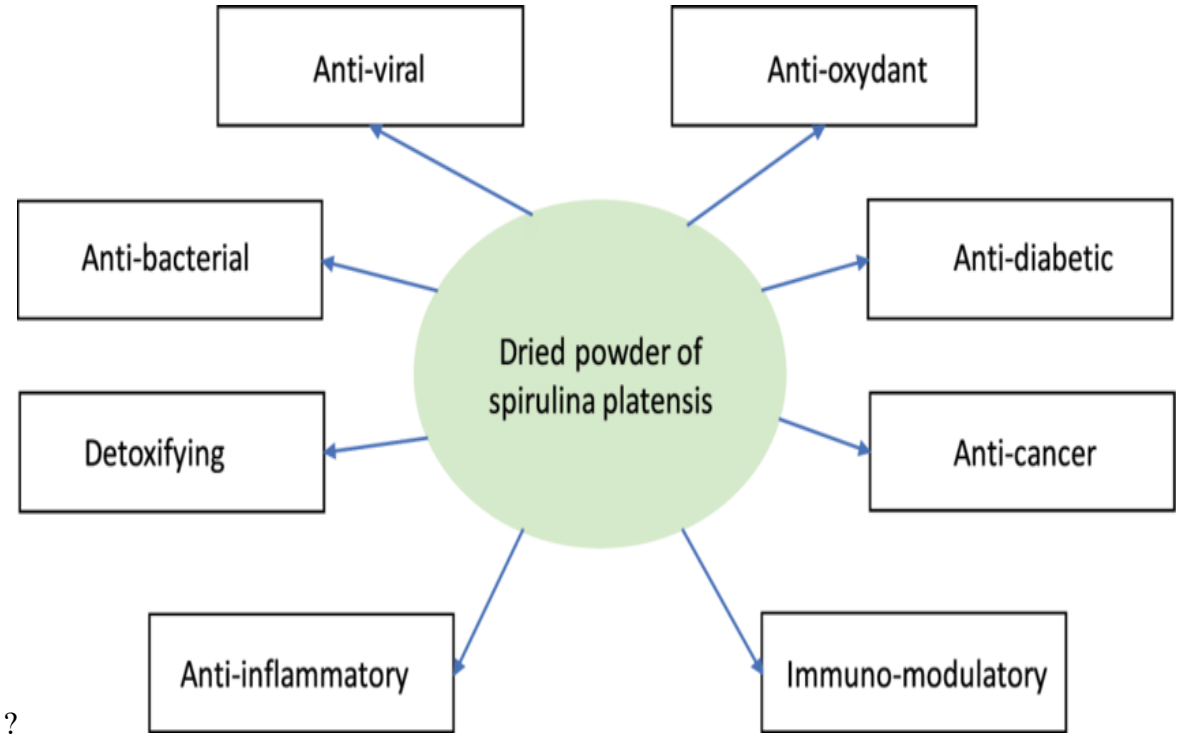
Pour les sportifs, sa consommation facilite l'effort et permet une meilleure récupération ;
Considérer comme une excellente source de vitamines B9 et B12 ainsi que de fer, la spiruline est bien adaptée aux femmes enceintes car elle leur permet d'accéder à tous les nutriments essentiels. Grâce à la phycocyanine qui augmente l'oxygénation des muscles et limite les crampes utérines, ces femmes peuvent mieux se préparer à l'accouchement et mieux récupérer par la suite après avoir pallié la fatigue causée par l'allaitement **(Evoli conseil, 2014).**

3.2.2 En alimentation animal

Comme pour l'homme, la spiruline renforce aussi les défenses naturelles de l'animal. Elle joue un grand rôle dans le maintien de son système immunitaire, lui permet de lutter contre certaines maladies et agit contre son vieillissement et sa fatigue. Les chiens, les chats, les poissons et les chevaux sont les animaux pour lesquels la spiruline et couramment utilisée. Chez les chevaux, sa consommation est très courante pendant la phase de croissance, de compétition ou de convalescence.

Notons aussi que les bons éleveurs de poules n'hésitent pas à ajouter de la spiruline à leur alimentation. C'est une pratique de connaisseur qui participe à la ponte d'œuf d'une qualité nettement supérieure **(Casal, 2019).**

3.2.3 Application thérapeutique



?

Fig.I.15. Effets biologiques et sanitaires rapportés de la spiruline **(F. Jung et *al*., 2019).**

Tableau.I.5 Propriétés bioactives de la spiruline **(Anvar & Nowruzi, 2021).**

Propriétés	Activité
Anti-néphrotoxicité	-Induit par le cisplatine, le cyclophosphamide, le cadmium et le chrome
Anti-génotoxicité	-Améliore la procédure de réparation de l'ADN -Processus de réparation des enzymes du noyau cellulaire -Effets protecteurs contre le cyclophosphamide, le cisplatine et l'uréthane -Diminue le pourcentage de fragmentation de l'ADN
Activité antivirale	-Activité inhibitrice contre les virus tels que le VIH-1, le HSV-1, le HSV-2, le HCMV et la grippe de type A -Minimise la réplication du VIH-I
Propriété anti-inflammatoire	-Réduit l'étendue de la bêta-glucuronidase -Préserve contre la polyarthrite rhumatoïde -Augmente l'activité de l'enzyme anti-oxydant
Anti-obésité et perte de poids	-Inhibe la NADPH oxydase -Induit une résistance à l'insuline

	-Supprime le stress oxydatif adipocytaire
Propriété hypoglycémiante et hypolipémiante Neuroprotecteur	-Réduit le niveau de glucose sanguin -Gère le cholestérol et les triglycérides -Améliore la résistance à l'insuline
Propriété neuroprotectrice	-Diminue le niveau de ROS, d'oxyde nitrique et de peroxydation lipidique -Améliore l'activité locomotrice
Effets anticancéreux	-Améliore l'activité enzymatique du noyau cellulaire -Améliore la synthèse de réparation de l'ADN -Inhibe la croissance des cellules du carcinome du côlon humain -Inhibe les cellules du carcinome hépatocellulaire (HCC) -Inhibe la croissance des cellules du cancer du sein -Activité antiproliférative contre les cellules cancéreuses -Inhibe la croissance des cellules cancéreuses du foie, des hépatomes et des cellules cancéreuses du poumon Active les enzymes d'apoptose
Activité antianémique Probiotique	-Augmente la concentration d'hémoglobine capsulaire moyenne (MCH) ---Augmente la concentration moyenne d'hémoglobine -Augmente le volume corpusculaire moyen (MCV), -Augmente l'hémoglobine corpusculaire moyenne (MCH) -Augmente la concentration corpusculaire moyenne d'hémoglobine (MCHC
Applications immunologiques	-Améliore les effets anti-allergiques -Inhibe la libération d'histamine

3.2.4 Application Biotechnologique

L'utilisation de micro-organismes photosynthétiques dans les processus de bioremédiation, outre la capacité d'éliminer efficacement polluants, offre un avantage supplémentaire en raison de la possibilité d'utilisation contrôlée de la biomasse dans divers domaines.

3.2.4.1 Les facteurs de la spiruline pour la bioremediation

La cyanobactérie filamenteuse *Spirulina platensis* peut être considéré un exemple de microorganisme polyextrêmophile, capable de faire face à plusieurs défis : haute alcalinité, haute température et haute concentration en sel dans le milieu de culture. De plus, la spiruline peut non seulement survivre dans un milieu à forte teneur en métaux lourds et en polluants organiques persistants, mais aussi accumuler une grande quantité de biomasse dans ces conditions **(Kurashvili et *al*., 2018).**

3.2.4.2 La spiruline est un modèle pour la bioremédiation

La *Spiruline* possède des mécanismes qui assurent la survie de cette cyanobactérie dans des conditions essentiellement diffèrent de celles optimales. Les milieux pollués, notamment aquatiques, peuvent être associés à des conditions extrêmes. Par conséquent, les organismes extrêmophiles, en particulier ceux qui possèdent des mécanismes d'élimination des métaux lourds et dès les polluants organiques, sont des objets de perspective en bioremédiation.

Au vu de ce qui précède, *Spirulina platensis* est un objet modèle pour recherches visant à détecter les mécanismes impliqués dans le processus de bioremédiation et élaboration de procédures efficaces pour l'élimination des polluants de divers milieux aquatiques.

La biomasse de spiruline, obtenue dans des conditions contrôlées dans des bioréacteurs fermés, est très précieuse pour l'industrie pharmaceutique, mais assez cher. L'utilisation d'une telle biomasse comme simple sorbant pour les métaux lourds n'est par exemple pas rentable. La situation est complètement différente lorsque la biomasse est cultivée dans des bioréacteurs extérieurs dans des conditions semi-contrôlées. Ce la biomasse est beaucoup moins précieuse pour la production de médicaments, mais plutôt bon marché pour être utilisée dans les processus de bioremédiation. Ainsi, à notre avis *Spirulina platensis* est un objet approprié pour les recherches dans le domaine de la bioremédiation à partir de deux principaux points de vue :

(1) c'est un objet commode pour réaliser des expériences modèles en laboratoire et pour leur transfert sous conditions industrielles dues à ses particularités biotechnologiques.

(2) étant un micro-organisme extrêmophile, évite facilement concurrence avec d'autres espèces en culture de plein air, offrant la possibilité d'avoir une biomasse relativement bon marché pour à la fois la recherche et la mise en œuvre de technologies de bioremédiation *in situ* et *ex situ*. **(Cepoi & Zinicovscaia, 2020)**

CHAPITRE II. MATERIELS & METHODES

II. MATERIELS & METHODES

Le présent travail porte sur l'évaluation de la bioremédiation (élimination) des polluants émergents issus d'une industrie pharmaceutique par la biomasse algale *Arthrospira platensis*.

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

- Tester la faisabilité de bioremédiation de six (05) polluants émergents ;
- Optimiser les paramètres affectant le procédé de bioremédiation de PE biodégradables par la biomasse algale *Arthrospira platensis*

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

1. Matériel

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



Figure II.1 *Arthrospira platensis* fournie en culture.

Les produits chimiques et réactifs utilisés au cours de cette étude sont de pureté supérieure au 98% et de marque BIOCHEM, SCHARLAU, RIEDEL-DE HAEN **voir dans l'Annex (1)**

Les produits pharmaceutiques sont :
Diclofénac (99.46%), Amoxicilline (98.36%), Sulfamethaxazole (99.84%), Ampicilline (97.47 %), Ibuprofène (99.34).

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

Autoclave (OTO12) ; Bec Bunsen ; Etuve (Memmert) ; Microscope optique (Optika microscopesà) ; Réfrigérateur (Liebherr) ; Spectrophotomètre (2005J.Pselecta.sa) ; Agitateur (Agimatic-N); Balance de Kern ; Conductimètre ; Thermomètre à mercure ; Luxmètre (1308SI) **Voir dans l'Annex (2)**.

2. Méthodes

2.1 Organisme et conditions de culture

2.1.1. Dispositif expérimentale de culture de la biomasse algale

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

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

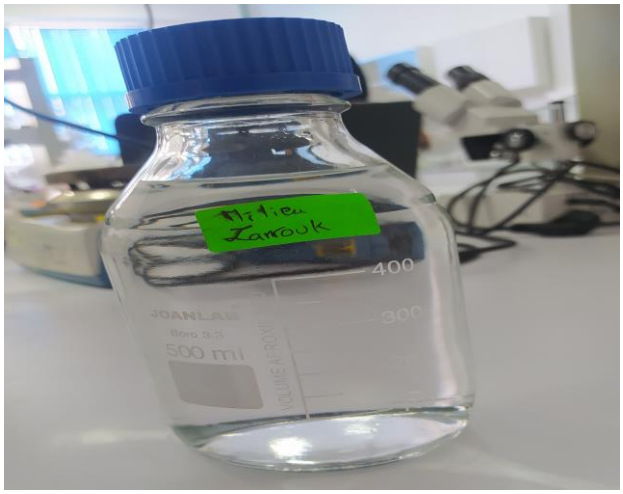
Les échantillons ont été prélevés chaque jour pour mesurer la densité optique (DO), détermination de la productivité et le taux de croissance spécifique.



Figure II.2 Culture de la spiruline dans les conditions expérimentales

2.1.2 Préparation du milieu de culture

Le milieu de culture de référence étant le milieu standard Zarrouk (décrit par Zarrouk en 1966.) Il est composé d'eau et éléments nutritifs essentiels pour la croissance d'*Arthrospira platensis* Les composants de milieu sont pesés et mélangés avec l'eau distillée puis le mélange est agité pendant 20min et par la suite le milieu de culture est ajusté à pH = 9 par addition de NaOH (4N). Il est conservé à l'abri de la lumière à pH égal à 9.5, après stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 20 minutes. Sa composition est donnée dans le tableau 1**.**



FigureII.3 Milieu Zarrouk

Tableau II.1 Composition chimique du milieu Zarrouk **(Zarrouk, C, 1966).**

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

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

Tableau II.2 Composition chimique de la solution A5 **(Zarrouk, C. 1966).**

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

Tableau II.3 Composition chimique de la solution B6 **(Zarrouk, C. 1966).**

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

2.1.3. Vérification de la culture d'*Arthrospira platensis*

2.1.3.1. Suivi morphologique par microscopique optique

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

2.1.3.2. Suivi analytique par spectroscopie UV-Vis

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

2.2. Bioremédiation des polluants émergents

Un test de traitabilité sur l'élimination de cinq (5) substances pharmaceutiques (Ampicilline, Diclofénac, Sulfaméthoxazole, Ibuprofène, Amoxicilline,) à l'aide de *la biomasse algale Arthrospira platensis* a été réalisée en mode discontinu à l'aide des flacons de 125 ml sous des conditions de cultures bien précises (Concentration de biomasse = 50% ; pH = 9.5 ; T = 25 °C ; lumière = 1500 Lux ; concentration de polluant = 50 µg/L ; temps de traitement = 7 Jours ; V_{MR} = 50 ml).

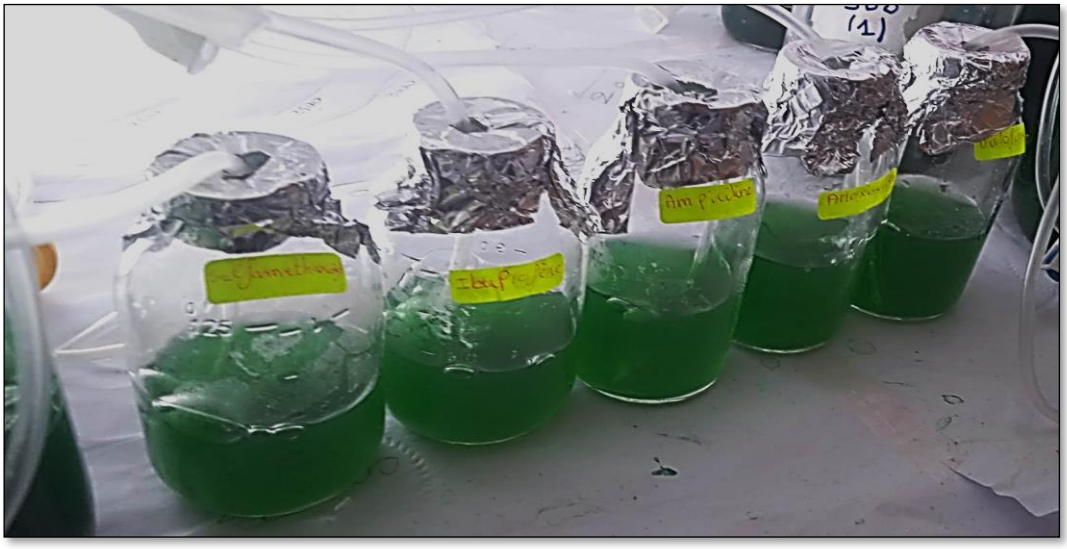
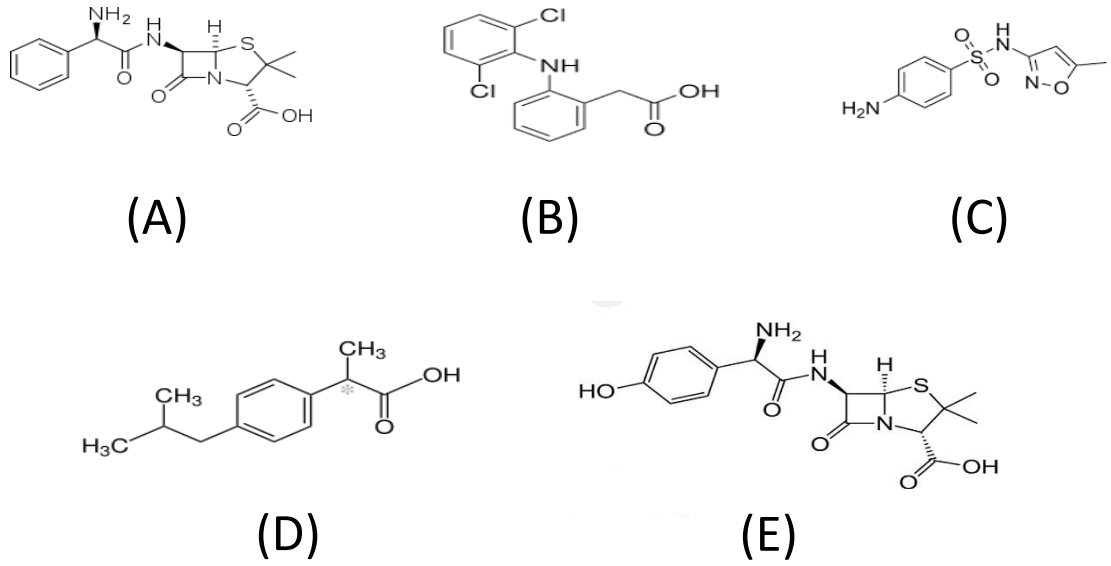


Figure II.4 Montage expérimentale de bioremédiation

Les substances pharmaceutiques ont été fournées par le complexe *Antibiotical* du groupe Saïdal de Médéa avec une pureté ≥ 98 % sous forme déshydraté. Les solutions mères avec une concentration de 10 mg/100 ml ont été fraîchement préparées avant le test de traitabilité.



FigureII.5 Structures chimiques de polluants émergents : (A) Ampicilline, (B) Diclofénac, (C) Sulfamethaxazole, (D) Ibuprofène. (E) Amoxicilline.

Après une durée de traitement fixe, le mélange biomasse + polluant émergent doit être centrifugé 4300 rpm pendant 20 min et mesuré la DO de surnagent par spectrophotomètre par des longueurs d'ondes spécifiques pour chaque médicaments ($\lambda_{diclofénac}$=244.5 nm, $\lambda_{ampicilline}$= 214.5nm, $\lambda_{amoxicilline}$=272nm, $\lambda_{ibuprofène}$=222nm, $\lambda_{sulfamethaxazole}$=217.5nm), Le rendement de bioremédiation des polluants émergents est calculé par la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{(A_I - A_F)}{A_I} \times 100$$

Où :

A_I : Absorbance initiale (Standard) de polluant émergent

A_F : Absorbance finale de polluant émergent

2.2.1 Dosage des polluants emergents (concentration des polluants)

La quantification des concentrations des SP dans les échantillons a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre (UV-1600PC spectrophotomètre) à la longueur d'onde à absorption maximale (λ max) correspondant.

La concentration des médicaments (solution incolore) dans le milieu est suivie par spectrophotométrie dans le domaine Ultra-violet **(Gratien *et al*, 2008)**. Pour cela, la longueur d'onde pour obtenir le maximum d'absorption (λ max) a été déterminée en faisant un balayage dans la zone UV (190 – 350 nm), sur un échantillon de solution ayant une concentration déterminée mis dans une cuve de quartz.

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

2.2.2.1. Contrôle de la viabilité et de l'état physiologique (Examen à l'état frais)

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

Observations :

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

2.2.2.2. contrôle de suivi de la cinétique de la biomasse algale

Concentration de la biomasse

La biomasse d'*Arthrospira platensis* est évaluée en mesurant la densité optique de la culture chaque jour à λ = 680 nm par un spectrophotomètre **(Mark A. Tedesco. Mark et *al*. ,1989)**. Les DO obtenues ont été converties en concentrations de cellule sèche (Poids sec)

Détermination de poids sec

Dans le but d'avoir l'effet des polluants émergents sur la souche, Le poids sec de biomasse a été déterminé par la loi **(M. Ainas.2018)** suivante :

$$Ps = \frac{\mathrm{DO} - 0.085}{1.1482}$$

Détermination de la teneur en chlorophylle a

Un échantillon de 5 ml de suspension algale additionné avec 5mL de méthanol est centrifugé pendant 5 min à 3500 rpm. Le culot est conservé (le surnageant est rejeté), le culot est remis en suspension dans 5 mL de méthanol et homogénéisé **(Vonshak, 1997).**
Les échantillons sont incubés dans un bain-marie, à 70 °C pendant 2 min. Ensuite, l'échantillon est centrifugé à nouveau pendant 5min à 3500 rpm, et le surnageant est utilisé pour la mesure. La densité optique de ce dernier est lue au spectrophotomètre (UV - Visible) à 665, 645 et 630 nm. La quantité de chlorophylle est calculée selon l'équation suivante **(Vonshak, 1997)**

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

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

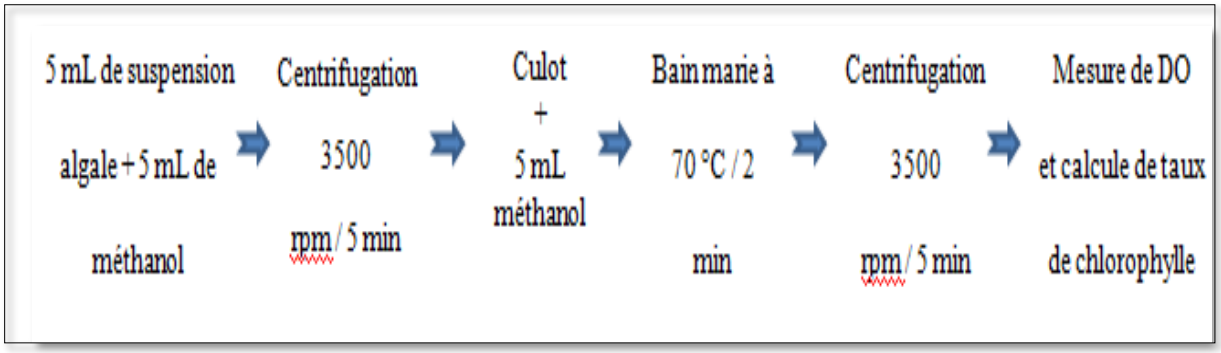


Figure.II.6 Etapes de détermination de la chlorophylle a

2.2.3 L'étude de l'efficacité de la bioremédiation (L'optimisation)

Les polluants émergents ayant un rendement de bioremédiation le plus élevé ont été sélectionnés pour la recherche des conditions de culture optimales pour la biodégradation (les paramètres affectant le procédé de bioremédiation des PEs) par la biomasse algale *Arthrospira platensis*. On a fixé trois paramètres physico-chimiques (le pH initial du milieu de culture, la température d'incubation et l'intensité lumineuse) ; et optimiser la concentration de la biomasse et la concentration en polluant ainsi que la durée de traitement ont été étudiés.
Lors du chaque test d'optimisation de bioremédiation, en plus du rendement d'élimination des polluants émergents on a analysé le paramètre de densité cellulaire.

Le pH a été fixé dans la valeur pH=9 et la considéré comme une valeur optimale selon **(Manet, 2016).**

La température est une condition environnementale, on a fixé la température dans 30°C qui est le degré de vie de la spiruline selon **(Biotechn, 2015)** **Voir Annexe 3.**

On a fait des courbes de lumière entre 1500 Lux et 3500 Lux et fixé au 1500 Lux selon **(Biotechn, 2015.)**

2.2.3.1. Effet du pourcentage de biomasse

Dans le but de voir la valeur optimale de la biomasse algale pendant la bioremédiation on a préparé cinq pourcentages de biomasse :

Biomasse (10%) : Volume mélangé réactionnelle =20ml, V biomasse=2ml, Volume de polluant utilisé =18ml

Biomasse (20%) : Volume mélangé réactionnelle =20ml, V biomasse=4ml, Volume de polluant utilisé =16ml

Biomasse (30%) : Volume mélangé réactionnelle =20ml, V biomasse=6ml, Volume de polluant utilisé =14ml

Biomasse (40%) : Volume mélangé réactionnelle =20ml, V biomasse=8ml, Volume de polluant utilisé =12ml

Biomasse (50%) : Volume mélangé réactionnelle =20ml, V biomasse=10ml, Volume de polluant utilisé =10ml

2.2.3.2 Effet de Concentration de polluant

L'optimisation de la bioremédiation a été fait avec trois concentration des polluants 50mg/l, 50µg/l, 50ng/l, on a préparé ces trois concertations pour chaque PE (diclofénac, ampicilline, sulfamethaxazole) dans le but de voir la concentration la plus dégradée par la biomasse algale.

2.2.3.3 Effet de la durée de traitement

On a suivi l'optimisation de la bioremédiation avec la cinétique de temps (2j_4j_6j_8j_10j) pour voire la durée nécessaire de traitement.

Le mélange biomasse + polluant émergent doit être centrifugé 4300 rpm pendant 20 min chaque deux jours jusqu'à le dernier jour et mesuré la DO de surnagent par spectrophotomètre par des longueurs d'ondes spécifiques pour chaque médicament qui sont déjà citer. **Voir Annexe 4**

CHAPITRE III. RESULTATS & DISCUSSION

III. RESULTATS & DISCUSSION

1 vérification de le culture *d'Arthrospira platensis*

1.1 Suivi morphologique par microscopique optique

La croissance de spiruline est suivie pendant la période de l'expérience et suivi morphologiquement par microscope optique et la figure ci-dessous représenté la souche *Arthrospira Platensis*

A l'aide d'une microscopie optique a grossissement de l'oculaire est de 100X on observe deux formes mobiles, non ramifiées :

Forme Spiralée : désigne les souches dont les filaments on la forme du ressort.

Forme droite : désigne les souches dont les filaments sont tellement étirés qu'il donne l'impression d'être presque rectiligne.

Nous obtenons même observation microscopique de **(Id, 2018)**

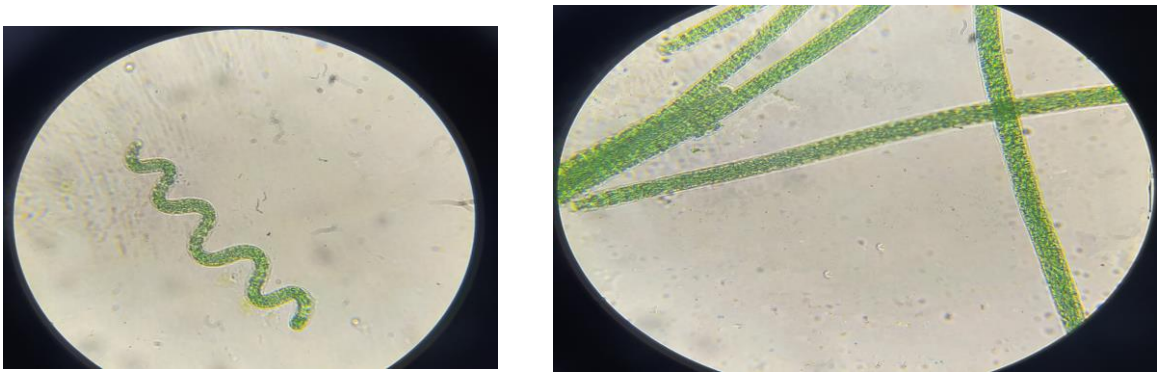


Fig. III.1 *Arthrospira platensis* sous le microscope optique

1.2 Suivi analytique par spectroscopie UV-VIS

La croissance de la spiruline a été fait selon le principe de Fed batch pour garder la culture jeune et la figure ci-dessous représente l'évolution de la densité optique de la biomasse pendant les jours.

Selon les résultats de la figure 2 on remarque une variation des valeurs de la densité optique signifiée qu'il y a une dilution pendant les jours, en raison de l'ajout une quantité de milieu Zarrouk. (Milieu couramment utilisé dans les différents centres de production de biomasse algale riche en sels nutritif) chaque jour.

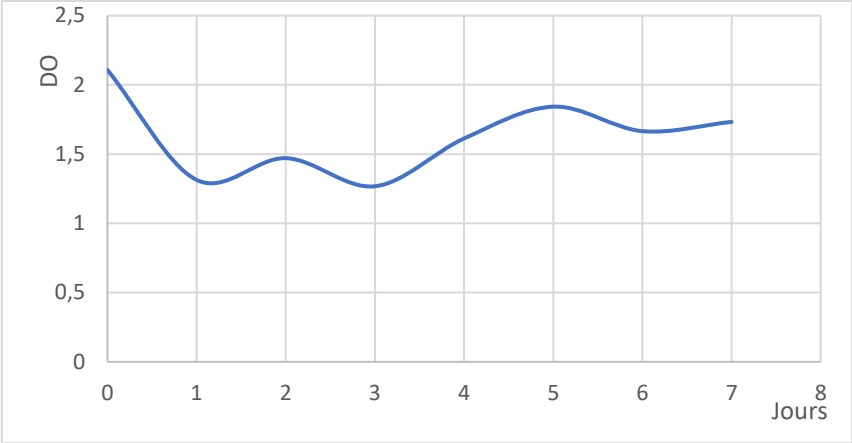


Fig. III.2 l'évolution de la densité optique de la biomasse.

2 Faisabilité de dégradation des polluant émergents

Tester le rendement maximal de bioremédiation de cinq polluants utilisés suivants (Diclofénac, Ampicilline, Amoxicilline, sulfaméthaxazole, Ibuprofène).

Après un traitement de 7 jours sous les conditions opératoires : pourcentage de biomasse=50%, pH=9.5, T=25C, Lumière=1500 Lux, concentration de polluants =50µg/l, Temps de traitement=7 jours V=20 ml.

2.1 Rendement

Tableau III.1 Faisabilité de dégradation de polluants utilisés en fonction de rendement

	Polluants	**AI**	**AF**	**Rendement**
1	Ampicilline	0.930	0.347	62.68%
2	Diclofénac	0.602	0.295	50.99 %
3	Amoxicilline	0.610	0.355	41.80%
4	Ibuprofène	0.495	0.299	39.59%
5	Sulfamethaxazole	0.727	0.237	64.40%

Selon la figure 3 le rendement de la bioremédiation de cinq PE est important tel que la valeur minimale de R est de l'ordre de 39.59% pour l'ibuprofène, et la valeur maximale est de l'ordre de 64.40% pour sulfamethaxazole.

Après **(Sousa et *al.*, 2021)** sulfaméthaxazole a été dégradée par la souche *Haematococcus.pluvialis* avec un rendement 74% dans les conditions expérimentales suivants : T= 25° ; le temps de traitement est 40 jours.

Diclofénac a été dégradé par la souche de *chlorella sorokiniana* avec un rendement de 98% dans les conditions expérimentales suivants : T= 25 ° ; le temps de traitement est 6 jours ; pH= 7,5.

Et l'ibuprofène a été dégradé par Culture mixte de microalgues avec un rendement de 74%.

Diclofénac a été dégradé par la souche *Nannochloropsis. oculata* avec un rendement de 68.8% dans 8 jours selon (**Schez-Sandoval et *al.*, 2021**).

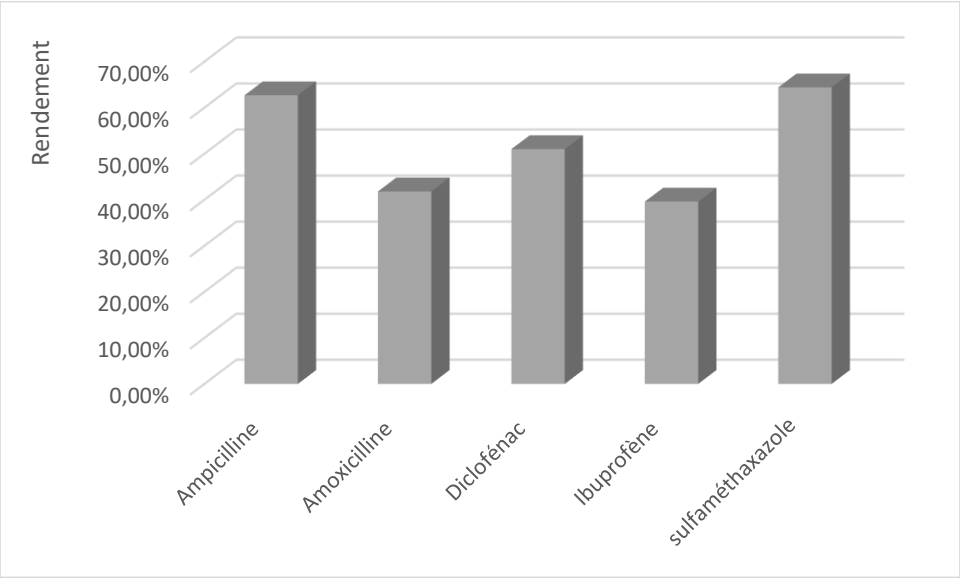


Fig.III.3 Le rendement de la bioremédiation des cinq polluants

2.2 Détermination du poids sec

La détermination de poids sec est représentée par la figure c'est dessous

Selon les résultats de Figure 4 L'augmentation de poids sec signifie que la biomasse algale est tolérante et le PE n'a pas effet néfaste sur la biomasse.

Il y a une légère augmentation de PS de la biomasse mélangée avec les PE car elle est exposée aux ces derniers.

Par ailleurs L'augmentation maximale de PS représente le témoin car il n'est pas exposé au stress des polluants utilisés.

Donc ça confirme que la spiruline est tolérante aux présences de stress des PE.

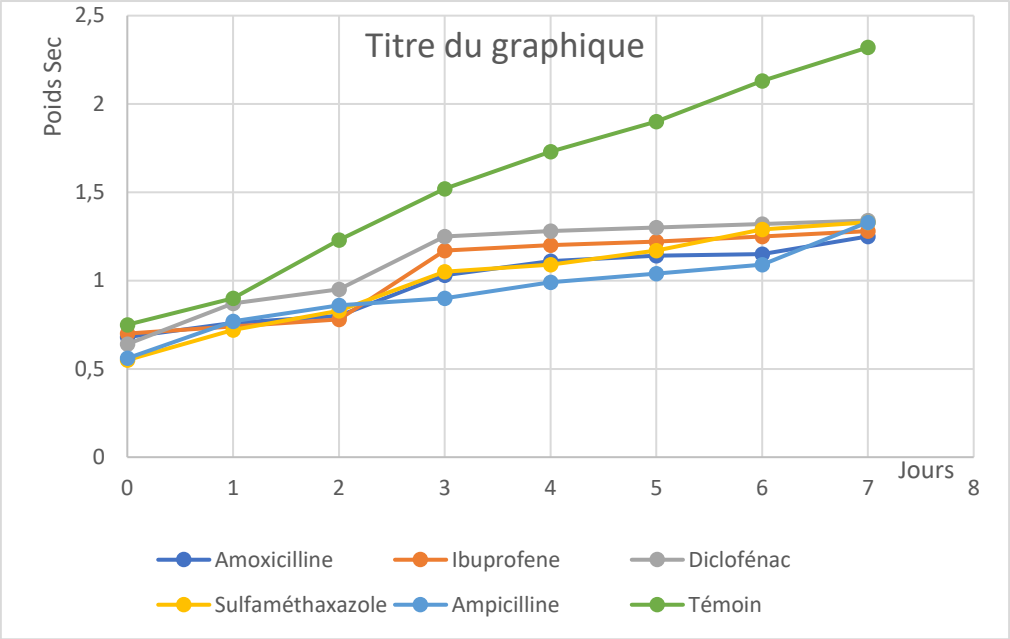


Fig. III.4 Effet des PE sur le poids sec de la biomasse.

2.3 Détermination de la teneur en chlorophylle A

Equation de chlorophylle A

$$(Ch\ A\ )\ =\ 11.6\ (DO\ 665)\ -\ 1.31(DO\ 645)\ -\ 0.145\ (DO\ 630)$$

Tableau III.2 L'absorbance des PE dans différentes longueurs d'onde.

L'Antibiotique	λ =665 nm	λ =645 nm	λ =630 nm
Sulfamethaxazole	1.106	0.648	0.552
Ibuprofène	0.991	0.594	0.507
Amoxicilline	0.940	0.622	0.321
Ampicilline	0.704	0.388	0.342
Diclofénac	0.794	0.510	0.415
Le témoin (la souche)	0.851	0.540	0.418

Par l'application de l'équation de chlorophylle A on obtient les résultats suivants :

$$(\boldsymbol{Cha})\boldsymbol{Sulfamethaxazole}\ =\ 11.6(1.106)\ _1.31(0.648)\ _0.145(0.552)\ =\ \mathbf{11.90}$$

$$(\boldsymbol{Cha})\boldsymbol{Ibuprof}\text{ène}\ =\ 11.6(0.991)\ _1.31(0.594)\ _0.145(0.507)\ =\mathbf{10.643}$$

$$(\boldsymbol{Cha})\boldsymbol{Amoxicilline}\ =\ 11.6(0.940)\ _1.31(0.622)\ _0.145(0.321)\ =\mathbf{10.042}$$

$$(\boldsymbol{Cha})\boldsymbol{Ampicilline}\ =\ 11.6(0.704)\ _1.13(0.388)\ _0.145(0.342)\ =\mathbf{7.608}$$

$$(\boldsymbol{Cha})\boldsymbol{Diclof}\text{énac}\ =\ 11.6(0.794)\ -\ 1.31(0.510)\ _0.145(0.415)\ =\mathbf{8.482}$$

$$(\boldsymbol{Cha})\boldsymbol{T}\text{émoin}\ =\ 11.6(0.851)\ _1.31(0.540)\ _0.145(0.418)\ =\mathbf{9.064}$$

Selon les résultats de la figure 5 : par rapport au témoin on observe une augmentation de la chlorophylle A de la souche mélangée avec PE (sulfaméthaxazole ; ibuprofène ; amoxicilline) et une diminution de chlorophylle A de la souche mélangée avec les autres PE (Ampicilline et Diclofénac).

Les PE suivants : sulfaméthaxazole ; Ibuprofène ; Amoxicilline causent une stimulation de production de chlorophylle A de la souche

Les PE suivants : Ampicilline et Diclofénac causent une inhibition de production de chlorophylle A de la souche.

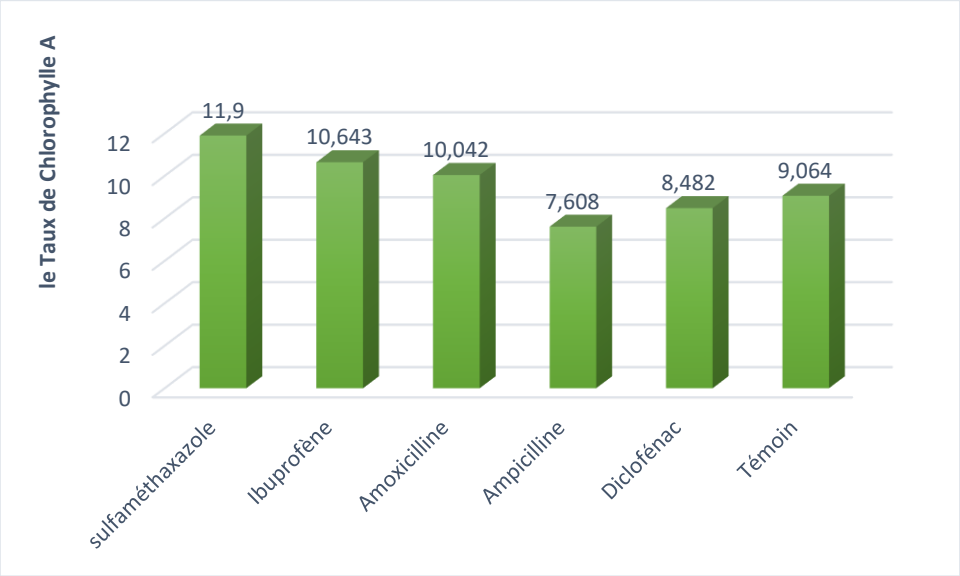


Fig. III.5 Effet des polluants émergents sur le taux de chlorophylle A

2.4 Morphologie

La morphologie de la spiruline est suivie par observation au microscope optique dans le but de suivi leur état.

2.4.1 Avant Faisabilité

Selon les résultats morphologiques représentés par la figure 6 on observe que la spiruline est en bon état : Une gaine épaisse, une importante pigmentation.

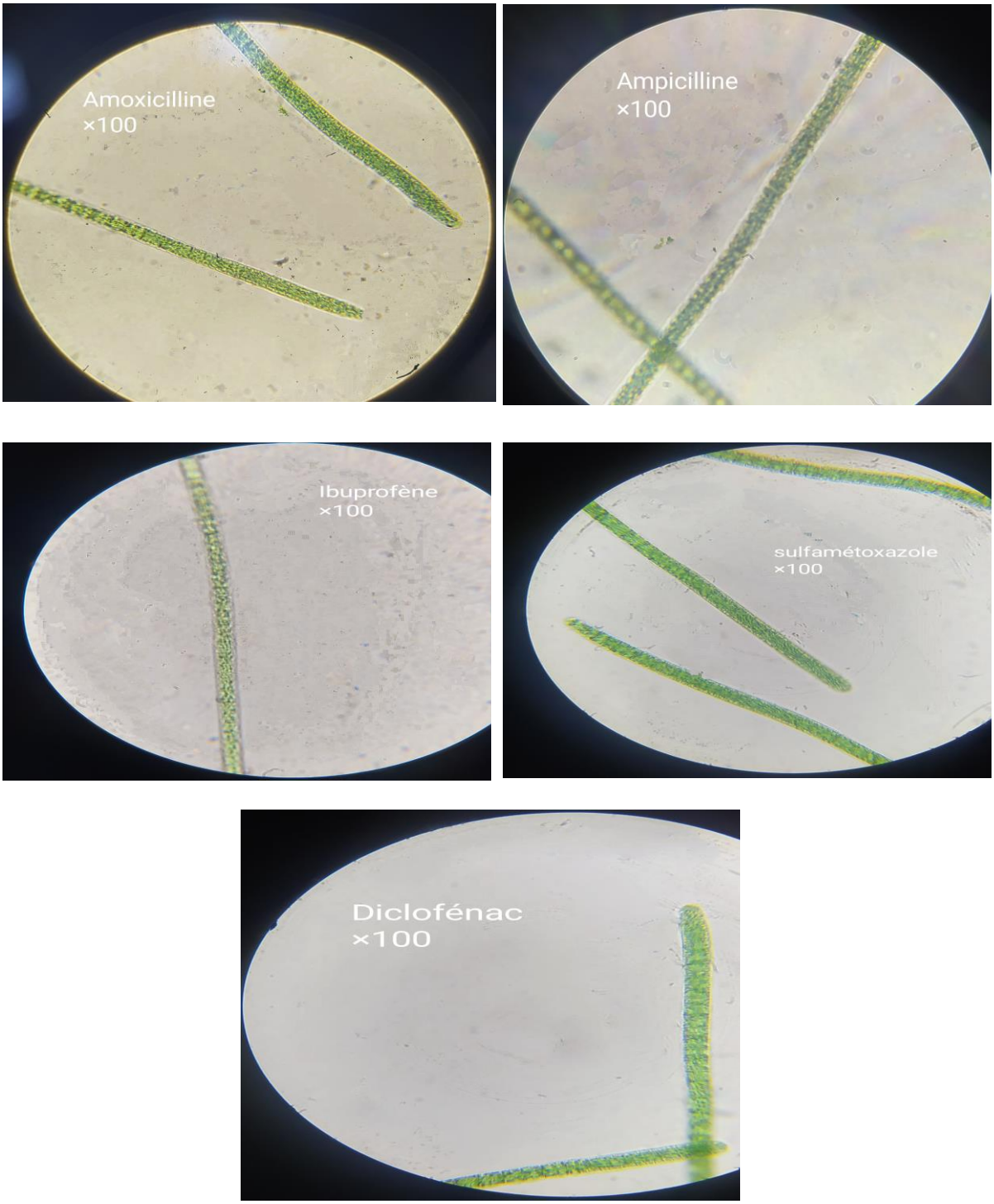


Fig III.6 Effet des PE sur la morphologie de spiruline.

2.4.2 Après Faisabilité

Selon le résultat de la figure 7, après la bioremédiation on observe un changement dans l'état de spiruline et une disparition de paroi et libération du contenue cellulaire pour les deux polluants sulfamethaxazole et l'ampicilline.

Donc ces dernies polluants ont un effet néfaste sur la morphologie de la spiruline.

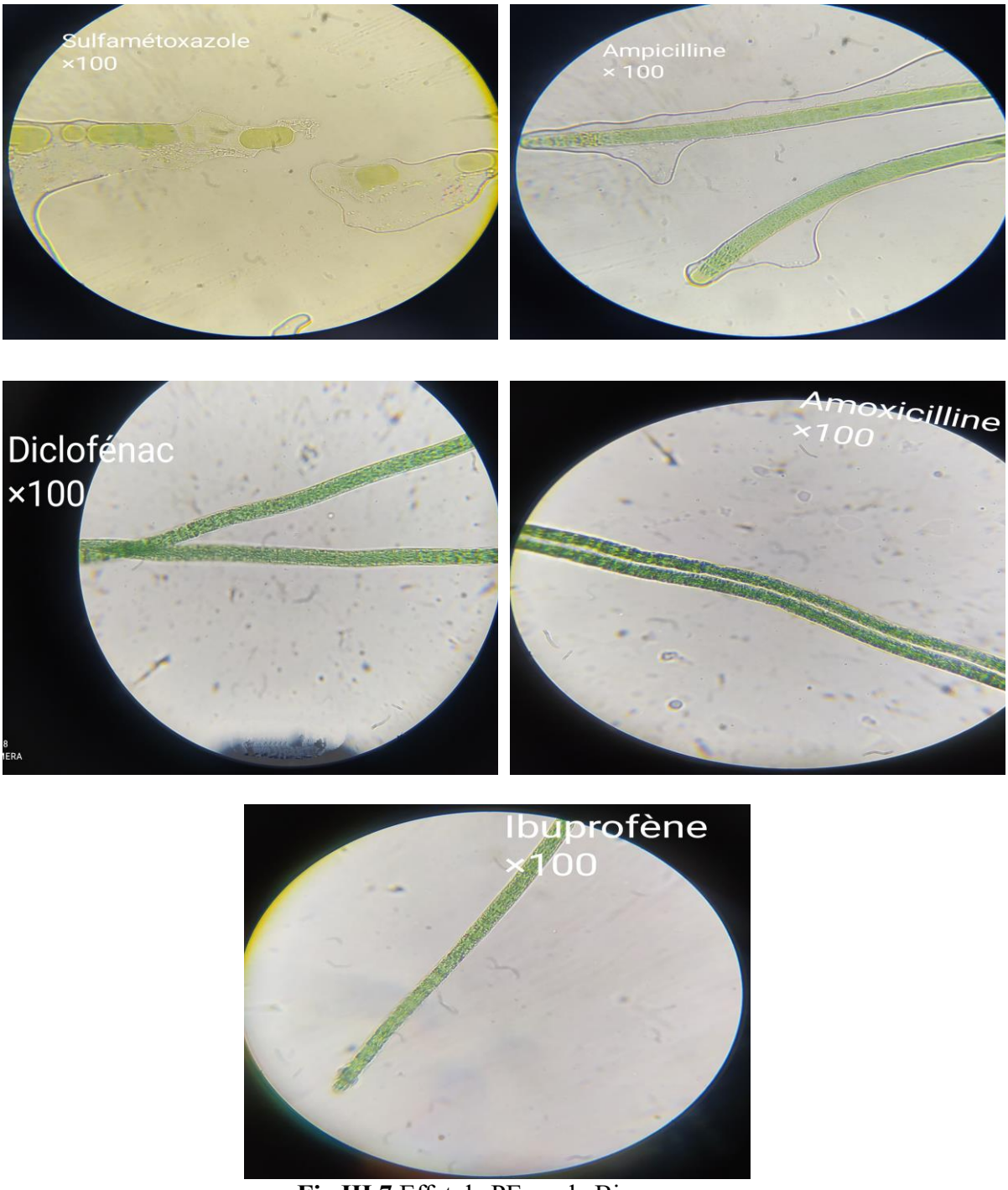


Fig III.7 Effet de PE sur la Biomasse

3 Optimisation de la bioremédiation

On a fixé trois paramètres et optimisé trois autres paramètres affectant le procédé de la bioremédiation de trois polluants émergents qui sont : Diclofénac, Ampicilline Sulphamethaxazole par la biomasse algale *Arthrospira platensis*

Les paramètres fixés sont les paramètres environnementaux : la Température, le pH et la Lumière.

Les paramètres optimisés sont : le pourcentage de biomasse, la concentration de polluant, la durée de traitement. Le choix de paramètre optimal basé sur deux critères quantitatifs : le rendement de bioremédiation R et la variation de croissance de biomasse algale et un critère qualitatif : la variation de morphologie de biomasse algale.

3.1 Le Pourcentage de la biomasse algale

On a varié le pourcentage de la biomasse algale (10% 20% 30% 40% 50%) et fixé tous les autres conditions opératoires (pH=9, T=30°C, lumière=1500lux, concentration de polluant = 50µg/l).

Selon les résultats indiqués par de la figure 8 le rendement maximal des trois polluants est obtenu par le pourcentage de biomasse algale 50%, Le polluant le plus dégradé est le Sulfamethaxazole avec un rendement de dégradation 96.01%.

Le rendement de dégradation des trois PE obtenu par le pourcentage de biomasse algale 20% est pris à celle de 50%

Alors pour éviter le gaspillage de biomasse algale, on considère le pourcentage 20% comme une valeur optimale pour la biodégradation des polluants émergents.

C'est pour ça on continue le reste de travaille avec le pourcentage de biomasse 20%.

Après **(Zinicovscaia** et *al*.**, 2019)** sulfamethaxazole a été dégradé par la souche *Nnochlorisis.sp* dans un pourcentage optimal de 30% dans 14 jours.

Par ailleurs le diclofénac a été dégradé par la souche *chlorella vulgaris* dans un pourcentage optimal de 20% dans 9jours.

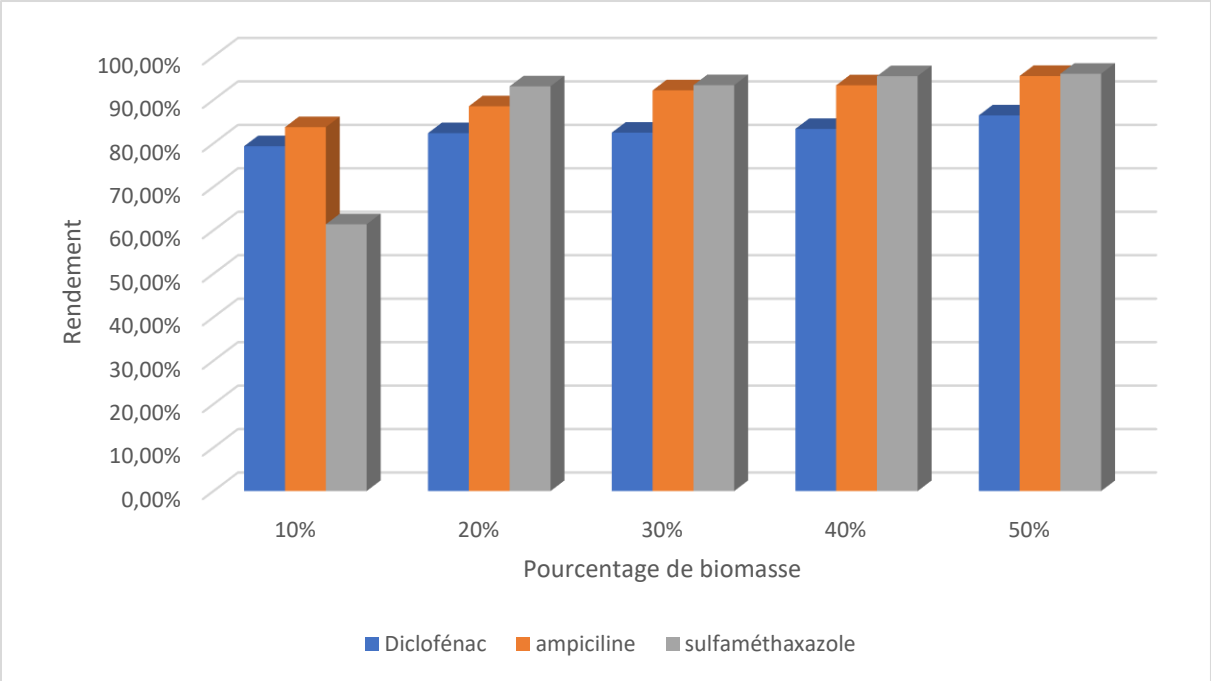


Fig. III.8 Effet de pourcentage de biomasse sur le rendement de bioremédiation

3.2 La concentration de polluant émergent

L'optimisation de ce facteur a été faite par fixer tous les conditions opératoires (pH=9) T=30°C, lumière=1500lux, et varie la concentration des trois polluants avec trois concentration (50mg/l, 50 µg/l, 50ng/l).

Selon les résultats indiqués par de la figure 9 la souche *Arthrospira Platensis* a la capacite de dégrader les polluants en concentration de 50µg/l plus que les autres concentrations (50 µg/l, 50mg/l). Alor on va terminer le reste d'étude avec la concentration de 50µg/l.

Le médicament le plus dégradé dans les trois concentration (50mg/l, 50µg/l, 50ng/l) est le sulfamethaxazole.

Par contre *Chlorella vulgaris* a un peu plus grande capacité à éliminer les PE dans 16 jours, mais à des concentrations plus élevées,0.4mg/l, cette concentration est l'optimal pour la degradation avec un rendement de 99.25% **(Yazdi et *al*., 2018).**

Après **(Hena et *al*., 2021)** sulfamethaxazole a été dégradé par *chlorella pyrenoidosa* a une concentration optimal 200µg/l dans 20 jours.

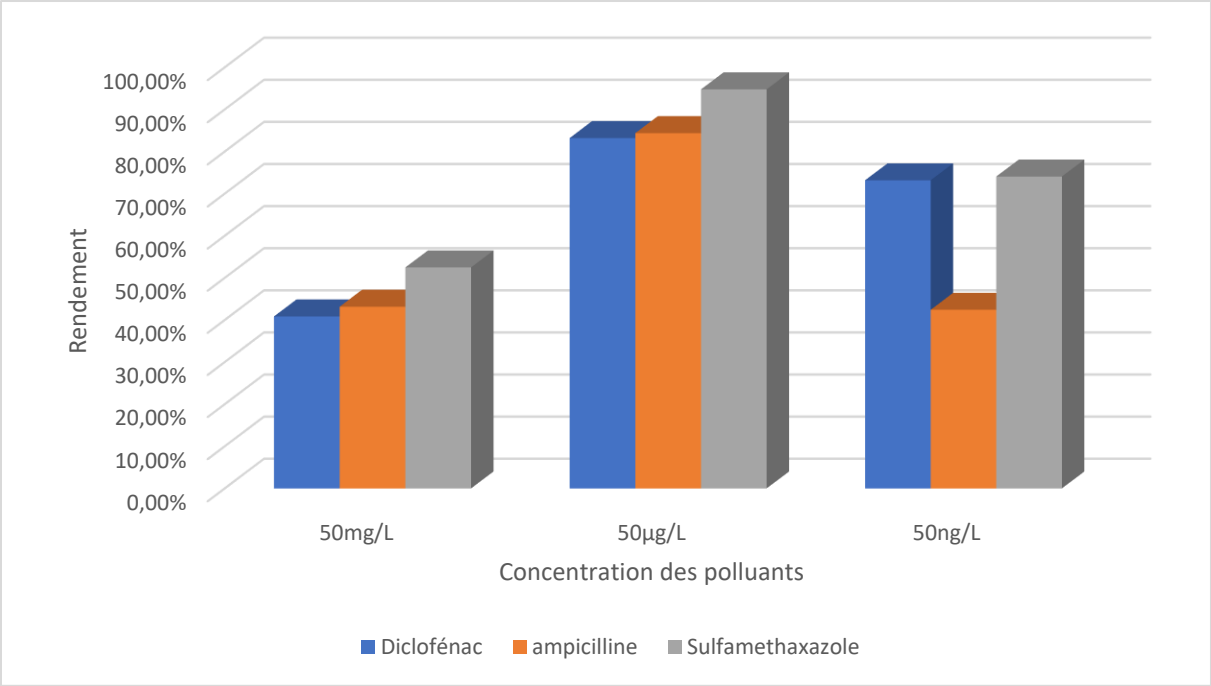


Fig.III.9 L'effet de concentration des polluants émergents sur le rendement de la bioremédiation

3.3 La Durée de Traitement

On a fixé tous les conditions opératoires (ph=9, T=30°C, lumière=1500lux, concentration de polluant=50µg/l) et suivi la bioremédiation avec la cinétique de temps (2jours,4jours,6jours,8jours,10jours) pour avoir la durée optimale pour la biodégradation des PE.

Selon les résultats indiqués par de la figure10, L'antibiotiques le plus dégradé est sulfamethaxazole avec un rendement 87.48% dans le huitième jour.
Le rendement de la biodégradation des PE augment avec la durée de traitement, le rendement le plus élevé pour les trois polluants est dans le dixième jour, mais il n'y a pas vraiment une différence entre le rendement de dégradation dans le huitième jour et le dixième jour.

Par contre les résultats de **(Yazdi et *al*., 2018)** indique que le tempe optimal pour la dégradation des antibiotiques par *Chlorella vulgaris* est 16 jours avec un rendement 99.52%

Alors on concéder la durée de 8 jour comme une valeur optimale de bioremédiation pour éviter le perdre du temps.

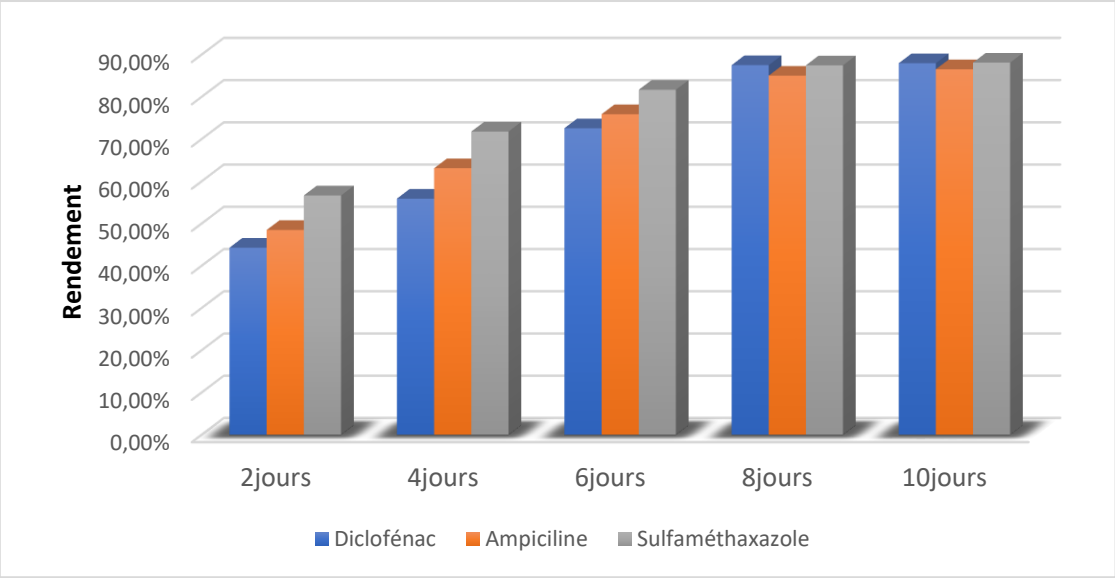
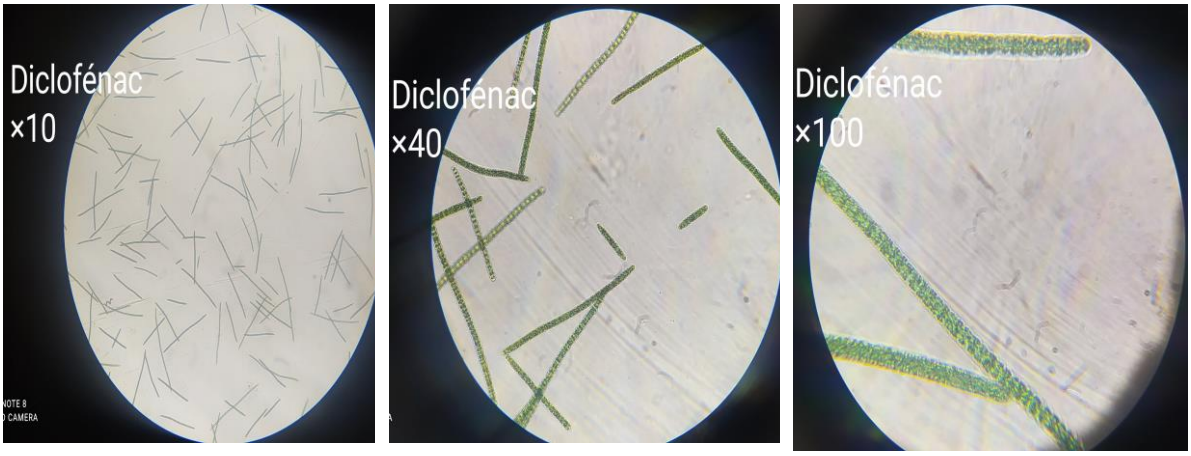


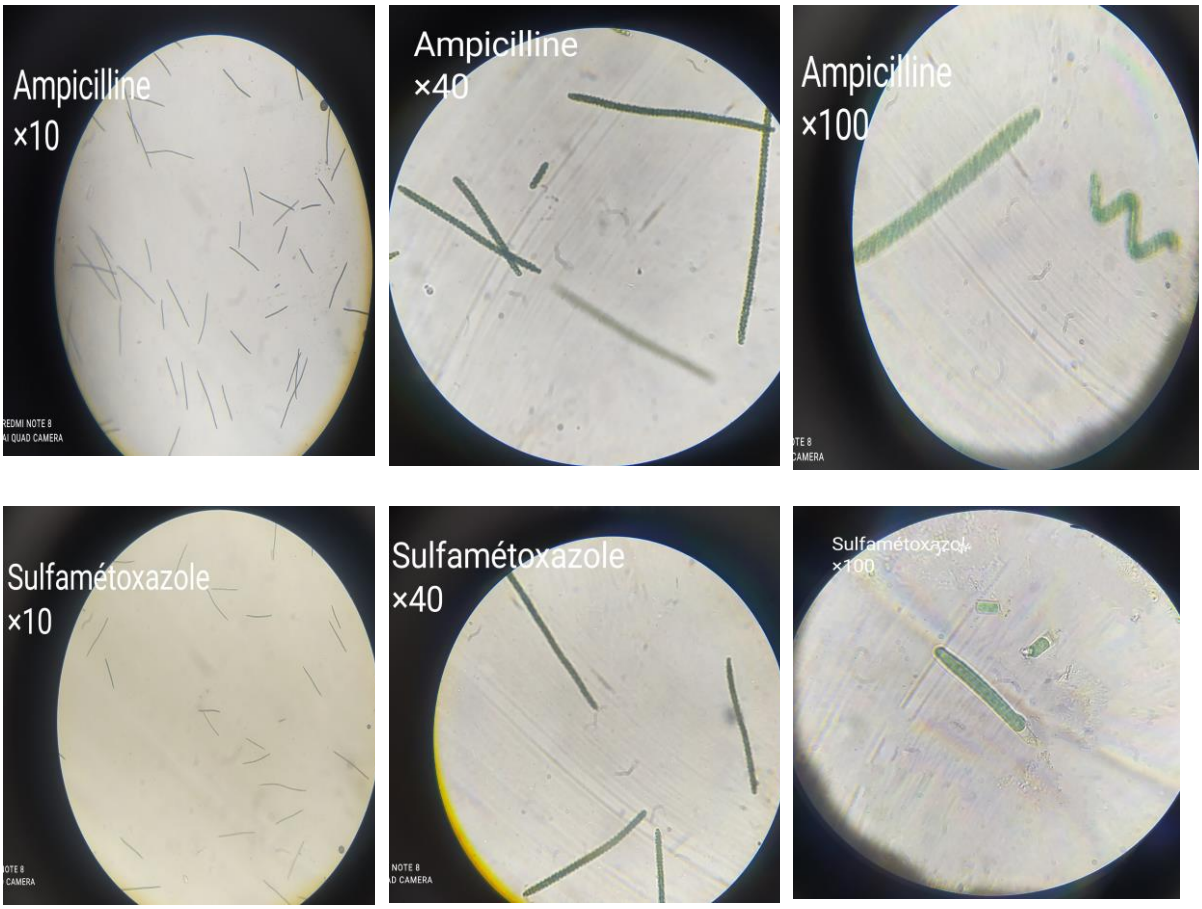
Fig.III.10 La cinétique de dégradation des polluants émergents.

3.4 La Morphologie de spiruline après l'optimisation

La morphologie de la spiruline est observée au microscope optique a différente grossissement X 10, X 40, X 100 pour les trois polluants émergents (sulfaméthaxazole, Ampicilline, Diclofénac).

Selon la figure 11 on observe que les deux PE diclofénac el l'ampicilline n'ont pas un effet sur la morphologie de la spiruline par contre le sulfamethaxazole qui a causé une perturbation de morphologie.





FigIII.11 L'effet de PE sur La morphologie de la spiruline après l'optimisation

CONCLUSION GENERALE

L'objectif principale de ce travail consiste en l'étude de possibilités d'utiliser les propriétés fonctionnelles de la souche algale *Arthrospira Platensis* vis-à-vis la biodégradation de cinq types de polluants émergents (PE) issus de l'industrie pharmaceutique qui sont : Diclofénac, Amoxicilline, Ampicilline, Sulfamethaxazol, Ibuprofène.

A la lumière des résultats obtenus, des conclusions importantes peuvent être tirées :

La souche *Arthrospira Platensis* a montré son efficacité en termes de pouvoir dégradant des polluants étudiés avec des rendements de bioremédiation (R%) remarquables à l'ordre de 64.40%, 62.68%,50.99%, 41.80%, 39.59% pour Sulfamethaxazol, :, Ampicilline, Diclofénac, Amoxicilline, Ibuprofène, respectivement. A base de ces résultats nous avons choisi les trois premiers polluants qui ont un taux de rendement élevé comme polluants étudiés pour le reste de travail, ces antibiotiques sont Diclofénac, Ampicilline, Sulfamethaxazole.

Dans le but de déterminer le poids sec de la souche utilisée durant le processus de la bioremédiation lors de suivi de la cultivation de la souche *Arthrospira Platensis* par l'utilisation de la technique spectrophotométrie UV-Visible on a montré que la souche assure bioremédiation des polluants émergents sans être affectée par ces derniers.

En ce qui concerne la production de chlorophylle A, dans le cas de Sulfametaxazole et l'ibuprofène et l'amoxicilline on a remarqué une augmentation de taux de chlorophylle A par rapport de valeur de témoin [(CHa)=9.064], par contre, Dans le cas de l'ampicilline et le diclofénac il y avait une légère diminution.

L'observation de la morphologie de la souche algale après la bioremédiation avec les valeurs optimisées a montré un changement dans l'état de la souche a l'échelle microscopique

Les conditions optimales des manipulations réalisées sont les suivants : Le pourcentage de la biomasse = 20% ; [Sulfamethaxazol]=[Diclofénac]=[Ampicilline]= 50 µg/L ; La durée de traitement = 8 jours.

En conclusion on peut confirmer l'utilité et la fiabilité de la souche algale *Arthrospira Platensis* dans la bioremédiation des eaux polluées par des polluants émergents, cette espèce qui fait partie de la catégorie des cyanobactéries est largement disponible en Algérie, facilement obtenable et manipulable et la préparation de son milieu de culture idéal est peu couteuse ce qui lui confère des critères excellentes pour son application à l'échelle industriel sur d'autres types de polluants et sur des effluents réels.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1	**Adyasari, D., Pratama, M. A., Teguh, N. A., Sabdaningsih, A., Kusumaningtyas, M. A., & Dimova, N. (2021).** Anthropogenic impact on Indonesian coastal water and ecosystems: Current status and future opportunities. *Marine Pollution Bulletin*, *171*(June), 112689. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112689.
2	**Ali, S. K., & Saleh, A. M. (2012).** Spirulina - An overview. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *4*(SUPPL.3), 9–15. https://doi.org/10.1201/9780203025901.ch14
3	**Anvar, A. A., & Nowruzi, B. (2021)**. Bioactive Properties of Spirulina: A Review. *Microbial Bioactives*, *4*(1), 134–142. https://doi.org/10.25163/microbbioacts.412117b0719110521
4	**Baran, N., Togola, A., & Amalric, L. (2008)**. Polluants émergents : un risque pour les eaux souterraines ? *Géologue*, *162*, 108.
5	**Bleu, D. U. P. (2021)**. *Les contaminants émergents dans la mer méditerranée*.
6	**CHARPY L., LANGLADE M. J., ALLIOD R., 2008** : La Spiruline peut-elle être un Atout pour la Santé et le Développement en Afrique ? Institut de recherche pour le développement, Marseille, p 6, 16
7	**Cheng, Y.-L., Lee, C.-Y., Huang, Y.-L., Buckner, C. A., Lafrenie, R. M., Dénommée, J. A., Caswell, J. M., Want, D. A., Gan, G. G., Leong, Y. C., Bee, P. C., Chin, E., Teh, A. K. H., Picco, S., Villegas, L., Tonelli, F., Merlo, M., Rigau, J., Diaz, D., …**
8	**Feraudet, A. (2009).** *Biotechnologies et Eau Détection des polluants émergents dans l'eau : état des lieux Etude réalisée par Anne Feraudet (Sup'Biotech) Sous la direction d'Emmanuel Trouvé (Véolia Eau) et la coordination de Danielle Lando (Adebiotech)*.
9	**FN, C., & MF, M. (2017).** Factors Affecting Water Pollution: A Review. Journal of Ecosystem & Ecography, 07(01), 5–8https://doi.org/10.4172/2157-7625.1000225
10	**Gutiérrez-Salmeán, G., Fabila-Castillo, L., & Chamorro-Cevallos, G. (2015).** Nutritional and toxicological aspects of Spirulina (Arthrospira). *Nutricion Hospitalaria*, *32*(1), 34–40. https://doi.org/10.3305/nh.2015.32.1.9001
11	**Houille, L. (2019).** *Les polluants émergents*. 1–9.
12	**Id, H. A. L. (2018).** *Spirulina platensis et ses constituants : intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques Sébastien Sguera To cite this version : HAL Id : hal-01732214 soutenance et mis à disposition de l ' ensemble de la Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr*.
13	**Jung, C. H. G., Braune, S., Waldeck, P., Küpper, J. H., Petrick, I., & Jung, F. (2021).** Morphology and growth of arthrospira platensis during cultivation in a flat-type bioreactor.

	Life, *11*(6). https://doi.org/10.3390/life11060536
14	**Mathijssen, R. H. J. (2016).** We are IntechOpen , the world ' s leading publisher of Open Access books Built by scientists , for scientists TOP 1 %. *Intech*, *11*(tourism), https://www.intechopen.com/books/advanced-biometric-technologies/liveness-detection-in-biometrics
15	**Projet de coopération européenne PILLS. (2010**). Les residus pharmaceutiques dans le système aquatique : un défi pour l'avenir. Panorama et activités du projet. *Recherche*, 1–24.
16	**Ragaza, J. A., Hossain, M. S., Meiler, K. A., Velasquez, S. F., & Kumar, V. (2020).** A review on Spirulina: alternative media for cultivation and nutritive value as an aquafeed. *Reviews in Aquaculture*, *12*(4), 2371–2395. https://doi.org/10.1111/raq.12439
17	**Saranraj, P. (2010).** *Spirulina Cultivation: A Review Related papers*. *3*(6), 1327–1341. www.ijpba.info
18	**Sarp, S. (2020).** Case studies in Chemical and Environmental Engineering (CSCEE), editorial. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, *1*, 100002. https://doi.org/10.1016/j.cscee.2019.100002
19	**Zhao, L., Deng, J., Sun, P., Liu, J., Ji, Y., Nakada, N., Qiao, Z., Tanaka, H., & Yang, Y. (2018).** Nanomaterials for treating emerging contaminants in water by adsorption and photocatalysis: Systematic review and bibliometric analysis. *Science of the Total Environment*, *627*, 1253–1263. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.006
20	**Dayana Priyadharshini, S., Suresh Babu, P., Manikandan, S., Subbaiya, R., Govarthanan, M., & Karmegam, N. (2021).** Phycoremediation of wastewater for pollutant removal: A green approach to environmental protection and long-term remediation. Environmental Pollution**,** 290, 117989. doi:10.1016/j.envpol.2021.117989
21	**Akhtar, N., & Amin-ul Mannan, M. (2020).** Mycoremediation: expunging environmental pollutants. Biotechnology Reports, e00452. doi:10.1016/j.btre.2020.e00452
22	Patrick Dostie. Réhabilitation de sols industriels contaminés aux hydrocarbures par mycoremédiation. Mémoire présenté à l'école de technologie supérieure comme exigence partielle à l'obtention de la maîtrise avec mémoire en génie de l'environnement. Montréal, Le **20 Juillet 2017**
23	https://www.aquaportail.com/definition-13516-mycoremediation.html
24	**Idris Bensari. La phytoremédiation comme alliée de la dépollution. Mis en ligne le 15/10/2021** : https://blog.defi-ecologique.com/phytoremediation-depollution/

25	Nadia Origo, Stanislas Wicherek et Micheline Hotyat, « Réhabilitation des sites pollués par phytoremédiation », VertigO - la revue électronique en sciences de l'environnement [En ligne], Volume 12 Numéro 2 **| septembre 2012, mis en ligne le 20 septembre 2012, consulté le 28 mars 2023.** URL : http://journals.openedition.org/vertigo/12633 ; DOI : https://doi.org/10.4000/vertigo.12633
26	Nishita Ojhaa, Rama Karn, Sadiqa Abbas, Sonal Bhugra. Bioremediation of Industrial Wastewater: A Review. IOP Conf. Ser.: **Earth Environ. Sci. 2021;796:012012**
27	Alori ET, Gabasawa AI, Elenwo CE and Agbeyegbe OO. Bioremediation techniques as affected by limiting factors in soil environment. Front. Soil Sci. 2022 ; 2:937186. doi: 10.3389/fsoil.2022.937186.
28	**Jørgensen, K. S. In Situ Bioremediation. Advances in Applied Microbiology. (2007);**61: 285–305. doi:10.1016/s0065-2164(06)61008-3.
29	**Rawe. J., V. hodge, C.M. Acheson, C. Lutes, and D. Liles. In situ and ex situ biodegradation technologies for remediation of contaminated sites (engineering issue).2006: epa/625/r-06/015, 2006).**
30	Hooker, B. S., & Skeen, R. S. Intrinsic bioremediation: an environmental restoration technology. Current Opinion in Biotechnology. 1996;7(3), 317–320. doi:10.1016/s0958-1669(96)80037-1
31	**Sharma I. Bioremediation Techniques for Polluted Environment: Concept, Advantages, Limitations, and Prospects. Trace Metals in the Environment - New Approaches and Recent Advances [Internet]. 2021**. http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.90453
32	**Santanu Maitra. EX SITU BIOREMEDIATION - AN OVERVIEW. Research Journal of Life science, Bioinformatics, Pharmaceutical and Chemical Sciences. 2018;4(6):422.**
33	**Leahy, J.G.; Colwell, R.R. Microbial Degradation of hydrocarbons in the environment. Microbial Reviews. 1990**;53(3):305-315.
34	**Godleads Omokhagbor Adams, Prekeyi Tawari Fufeyin, Samson Eruke Okoro, and Igelenyah Ehinomen, "Bioremediation, Biostimulation and Bioaugmention: A Review. International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation. 2015**;3(1):28-39. doi: 10.12691/ijebb-3-1-5
35	**Ijoma, G.N., Selvarajan, R., Oyourou, JN. et al. Exploring the application of biostimulation strategy for bacteria in the bioremediation of industrial effluent. Ann Microbiol. 2019**;69 :541–551. https://doi.org/10.1007/s13213-019-1443-6

36	**S. A. Banwart, S. Thornton, H. Rees, D. Lerner, R. Wilson, and M. Romero-Gonzalez. In Situ Bioremediation by Natural Attenuation: from Lab to Field Scale. AIP Conference Proceedings. 2007** ;898, 207 https://doi.org/10.1063/1.2721282
37	**M.D Siegel and C.R Bryan. 9.06 - Environmental Geochemistry of Radioactive Contamination. Treatise on Geochemistry. 2003;9:205-262.**
38	**A. Kouzuma, K. Watanabe. 6.09 Molecular Approaches for the Analysis of Natural Attenuation and Bioremediation. Comprehensive Biotechnology (Third Edition). 2011;6:107-118.**
39	**Piere Roger et Vincent Jacq. Introduction à la bioremédiation des sols, des eaux et de l'air. Laboratoire de Microbiologie IRD Institut de Recherche pour le Développement IRD (ex ORSTOM). 2000.** From : http://www.pierre-armandroger.fr/publications/pdf/198_bioremed.pdf
40	**Sharma I. Bioremediation Techniques for Polluted Environment: Concept, Advantages, Limitations, and Prospects [Internet]. Trace Metals in the Environment - New Approaches and Recent Advances. IntechOpen; 2021.** Available from: http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.90453
41	Source internet deCEA : https://www.google.com/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=0CAMQw7AJahcKEwiIz6_nmYv-AhUAAAAAHQAAAAAQAw&url=https%3A%2F%2Fwww.cea.fr%2Fmultimedia%2FDocuments%2Finfographies%2Fposters%2Fdefis-du-CEA-infograhie-phytoremediation.pdf&psig=AOvVaw0skm0GwCTXzDz-bs4OCh3F&ust=1680525012567501
42	**Ramseier Gentile, S., Edder, P., & Loizeau, J. L. (2013**). Polluants émergents; stratégie de surveillance de la contamination des eaux de surface et implications pour le traitement des eaux potables Cas du Léman. *Archives Des Sciences*, *66*(2), 173–188.
43	**C., & MF, M. (2017). Factors Affecting Water Pollution:** A Review. *Journal of Ecosystem & Ecography*, *07*(01), 5–8. https://doi.org/10.4172/2157-7625.1000225
44	**Biotechn, S. (n.d.).** *Spiru ulina plat tensis*.
45	**Hena, S., Gutierrez, L., & Croué, J. P. (2021).** Removal of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) from wastewater using microalgae: A review. *Journal of Hazardous Materials*, *403*(August 2020). https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124041
46	**Manet, A. (2016).** *La spiruline : indications thérapeutiques, risques sanitaires et conseils à l'officine*. 104.

47	**Yazdi, M., Sayadi, M. H., & Farsad, F. (2018**). Removal of penicillin in aqueous solution using chlorella vulgaris and spirulina platensis from hospital wastewater. *Desalination and Water Treatment*, *123*(January), 315–320. https://doi.org/10.5004/dwt.2018.22772
48	**Zinicovscaia, I., Safonov, A., Ostalkevich, S., Gundorina, S., Nekhoroshkov, P., & Grozdov, D. (2019).** Metal ions removal from different type of industrial effluents using Spirulina platensis biomass. *International Journal of Phytoremediation*, *21*(14), 1442–1448. https://doi.org/10.1080/15226514.2019.1633264

ANNEXES

ANNEXES

ANNEXE 1. LES PRODUITS CHIMIQUES UTILISES

$NaHCO_3$, K_2HPO_4, $NaNO_3$, K_2SO_4, Na Cl, $MgSO_4$, $7H_2O$, $CaCl_2$, $FeSO_4$, $7H_2O$, EDTA, H_3BO_4, MnCl12. $4H_2O$, $ZnSO_4$. 7 H_2O, $CuSO_4$. $7H_2O$, MoO_3, $K_2Cr\ (SO_4)_2$, $4H_2O$, $NiSO_4.7H_2O$, Ti $(SO_4)_3$, NH_4VO_3, Co $(NO_3)_2.6H_2O$, NaOH; Diclofénac (99.46%),

ANNEXE 2.LES APPAREILLES UTILISES



ANNEXE 3. PROTOCOLE EXPERIMENTALE DE BIOREMEDIATION.



ANNEXE 4. CENTRIFUGATION



