REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES



Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En chimie

Spécialité : Chimie Pharmaceutique

Par :

SAADI Sara
CHABLAOUI Amina

Thème :

Évaluation des capacités d'élimination et de transformation d'un polluant

Soutenue publiquement le : /0 /20 , Devant le jury composé de :

Mr. Mr. BITAM. S	MCB	UYFM	Président
Mme. MIMI. N	MCB	UYFM	Examinateur
Mme. BOUCHERIT. N	MCA	UYFM	Encadreur

Année universitaire 2019/2020

Résumé

Ce travail consiste à appliquer la peroxydase de navet et la méthode Fenton sur des solutions aqueuses de deux antibiotiques appartenant à la famille des tétracyclines : la chlortétracycline (CTC) et la doxycycline (DXC).

Les résultats obtenus montrent que l'activité enzymatique de la peroxydase de navet vis-à-vis les molécules de CTC et de DXC est faible. Pour la CTC, un rendement de transformation de 26.11 % a été atteint à pH 3, à une concentration de H_2O_2 de 8mM et à une activité enzymatique de 14.44 UI/ml. Pour la DXC la transformation n'a pas été détectée.

Avec le traitement Fenton, les rendements de transformation maximaux de la CTC et de la DXC ont atteint les valeurs de 92 % et de 100 % aux concentrations de 10 mg/l de chaque antibiotique, 2.5 mM de H_2O_2 et de 5 mM de Fe^{2+} respectivement.

Mots clés : Antibiotique, Fenton, peroxydase,tétracycline, transformation.

Abstract

This study includes the application of the turnip peroxidase and the Fenton method on two antibiotics aqueous solutions which belong to the family of tetracyclines: chlortetracycline (CTC) and doxycycline (DXC).

Les obtainedresults show that the enzymatic activity of turnip peroxidase towards to CTC and DXC molecules is weak. For CTC, the transformationefficiency estimated to 26.11 % was reached at pH3, at 8 mM of hydrogen peroxidedose and at enzymatic activity of 14.44 IU/ml. For DXC the transformation was not detect.

With the Fenton treatment,the transformation efficiency for CTC and DXCwere reached 92% and 100% at the concentration of 10 mg/l of each antibiotics, 2.5 mM for H_2O_2 and 5Mm for Fe^{2+} respectively.

Keywords: antibiotics, Fenton, peroxidase, tetracycline, transformation.

ملخص

يتكون هذا العمل من تطبيق بيروكسيديز اللفت و طريقة فنتون على المحاليل المائية لمضادات حيوية تنتمي إلى عائلة التتراسيكلين: كلورتتراسيكلين (CTC) و دوكسيسيكلين.(DXC)

تظهر النتائج التي تم الحصول عليها أن النشاط الإنزيمي لبيروكسيديز اللفت لكل من جزيئات CTC و DXC ضعيف. بالنسبة لCTC , تم الوصول إلىمردودية تحويل بنسبة 26.11% عند درجة حموضة 3, بتركيز 8 ميلي مول من بيرو كسيد الهيدروجين و في نشاط إنزيمي قدره 14,44 وحدة دولية/ملل. بالنسبة لDXC لم يتم الكشف عن التحويل.

مع علاج فنتون, وصلت مردودية التحويل القصوى لكل من CTC وDXC على التوالي الى قيم 92% و 100% بتركيزات 10 ميلي جرام على اللتر من كل مضاد حيوي, 2.5 ميلي مول من بيرو كسيد الهيدروجينو 5 ميلي مول من الحديد2.

الكلمات المفتاحية: مضاد حيوي, فنتون, بيروكسيديز, التتراسيكلين, التحويل.

Remerciements

Je souhaite avant toute chose, remercier Dieu le tout puissantpour le courage et la volonté qui ma donné pour terminer ce travail.

Nos remerciements s'adressent àMme. BOUCHERIT.N, d'avoir accepté l'encadrement de ce travail, pourson aide, son soutien, sa générosité, sa compréhension et sesencouragements constants. Nous la remercions également pour la confiancequ'ellenous a toujours témoigné et l'autonomie qu'ellenous a laissé en notretravail.

Nos vifs remerciements vont également s'adresser aux membres du Jury :

Mme MIMI.N et Mr BITAM.S, qui ont accepté d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions et leurs suggestions.

Nous souhaitons remercier chaleureusement toute l'équipe du laboratoire de la faculté des Sciences université Yahi Fares Médéa.

Nos remerciements vont également à tous nos collègues de la promotion et nos amies pour leur sympathie et les bons moments que nous avons passés ensemble.

Que toute personne qui, d'une manière ou d'une autre, nous a aidé etencouragé à l'aboutissement de ce travail, trouve ici l'expressionde nos sincères reconnaissances.



Dédicaces

Je dédie ce travail modeste aux deux personnes que j'aime le plus dans la vie, ma raison de vivre qui méritent tout le respect du monde qu'ils trouvent ici le témoignage de mon profond amour et mon dévouement infini.

- **Ma mère**, source de compassion et de tendresse, l'exemple de patience et de sacrifice, la raison de mon existence et le support de ma vie ;
- **A mon très cher père**, l'homme le plus parfait dans le monde, mon grand exemple et le secret de ma réussite ;

Que Dieu les protège et leur réserve une longue vie pleine de bonheur et de santé.

- A ceux que j'adore et je respecte : Mes frères (**Fethi, Mohamed et Ibrahim**) et ma sœur : **Asmaa**, son mari : **Kamel** et leurs enfants : **Hadjer, Amina, Abd El rahman** et **Abd El rahim**.
- A toute la famille **SAADI** et **KHENDOUKI**
- Sans oublier **Ma grande mère**, **mon grand père**, **mes tantes**, et **oncles** ainsi que toutes **les cousines** et **les cousins** que j'aime le plus.
- Mes chères amies (**Racha, Sabrina, Khaoula, Hayet, Wafaa, Zahra, Siham, Maroua, Khaoula, Meriem, Khadidja, Ilham, Mounira**).
- A toute **mes amies**.
- Mon binôme : **Amina**
- A ceux qui se sont sacrifiés et qui se sont donnés pour les études et dont je rends un vibrant hommage.

Sara,



Dédicaces

Nous dédions cet humble travail à ceux dont personne ne peut remplacer les sacrifices qu'ils ont consentis pour notre bien être.

- **Ma mère**, qui est toujours présente et continue de l'être pour faire mon bonheur. Merci pour être sacrifiée pour que ces enfants grandissent et prospèrent. Que dieu la protège et lui donne bonne santé et qu'elle trouve ici la preuve de ma reconnaissance infinie.
- A l'âme de **mon cher père,** que dieu lui fasse miséricorde.
- A ceux que j'adore et je respecte : Mes frères et sœurs, mes beaux frères et belles sœurs, mes neveux et nièces.
- A toute la famille **CHABLAOUI** et **ARAB.**
- Mes chères amies (**JourG, Hayet, Racha, Sabrina, Siham, Khaoula, Maroua, Khaoula, Khadidja, Anfel.**).
- Mon binôme : **Sara.**
- A tous ceux qui me porte dans son cœur et j'accompagne dans sa pensée.

Amina,

SOMMAIRE

Sommaire

Liste des abréviations et nomenclatures

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale……...…… 1

Chapitre I : Les Antibiotique

I.1. Introduction……... 3

I.2. Définition…….. 3

I.3. Principales familles des antibiotiques……... 4

I.3.1. Les β-lactamines…….. 4

I.3.2.Les aminosides ou les aminoglycosides……... 6

I.3.3. Les quinolones…… 7

I.3.4. Autres antibiotiques…… 7

I.4. Les tétracyclines…… 8

I.4.1. Structure et mode d'action…….. 8

I.2.2. Classification……... 7

I.4.3. Propriétés physico-chimiques…… 10

I.4.4. Utilisation des TC……... 11

I.5. L'industrie des antibiotiques en Algérie……... 11

I.6. Pollution engendrée par les antibiotiques……. 12

I.6.1. Effets sur l'homme…….. 13

I.6.2. Effets potentiels sur l'environnement……. 13

chapitre II : Traitement des effluents d'antibiotique

II.1. Introduction ……. 16

II.2. Méthodes classiques ……... 16

II.2.1. méthodes physiques …….. 16

a. Adsorption…… 16

b. Filtration membranaire…… 17

c. Coagulation/floculation ……... 17

II.2.2. Méthodes biologiques ……. 18

II.2.3. Méthodes chimiques…… 18

II.3. Méthodes d'oxydation avancée…….. 18

II.3.1.Procédés photochimiques…….. 20
a. Photolyse H_2O_2 /UV …… 20
b. Photolyse O_3 /UV…….. 20
II.3.2. Procédés chimiques…….. 21
a. Peroxonation (O_3 /H_2O_2)..... 21
b. Procédé Fenton (Fe^{2+}/H_2O_2)…….. 21
II.3.3. Procédés photocatalytiques…….. 22
a. Photo-Fenton Fe^{2+}/H_2O_2/UV..... 22
b. Photocatalyse avec TiO_2 22
II.3.4.Procédés électrochimiques……..…… 23
a. Oxydation anodique…… 23
b. Procédé électro-Fenton…… 23
II.4. Méthodes enzymatiques……... 24
II.4.1. Peroxydases……... 25

Chapitre III : Matériel & Méthodes

III.1. Objectifs…… 27
III.2. Présentation des matières premières……... 27
III.2.1. Réactifs chimiques…… 27
III.2.2. Les AB…….. 28
a. Chlortétracycline…… 28
b. Doxycyclinehyclate……. 29
III.3. Équipements utilisés……... 29
III.4. Méthodes expérimentales et techniques de caractérisation…… 30
III.4.1. Préparation des solutions tampons……... 30
III.4.2. Caractérisations spectrales des AB utilisés…….. 30
a. Spectrométrie UV-Vis……. 30
b. Caractérisation par FTIR …… 32
III.4.3.Extraction et purification de la peroxydase de navet blanc……... 33
a. Extraction de la peroxydase de navet ……. 33
b. Purification de la peroxydase extraite……. 34
III.4.4.Mesure de l'activité enzymatique de la peroxydase…….. 35
III.4.5. Dosage de la quantité des protéines dans les extraits enzymatiques ……... 36

a. Principe…… 36
b. Mode opératoire……... 37
III.4.6. Détermination de l'activité spécifique et de l'activité totale…… 38
III.4.7.Transformation de la CTC par la peroxydase du navet blanc……... 38
a. Effet du Ph……... 39
b. Effet de température…… 39
c. Cinétique de transformation……... 40
III.4.7.Transformation des AB par la méthode Fenton…… 40
III.4.8. Modélisation de rendement de transformation chimique des AB par la méthode TAGUCHI…… 40

Chapitre IV: Résultats et discussion

IV.1. Introduction……..... 41
IV.2. Caractérisations spectrales des AB utilisés…… 41
IV.2.1.Par UV-Vis…… 41
IV.2.2.Par FTIR…… 43
IV.3.Caractérisation de la peroxydase extraite…… 44
IV.3.1. Dosage de l'activité enzymatique…… 44
IV.2.2. Mesure de l'activité spécifique de la peroxydase de navet…….. 46
IV.3. Transformation de la CTC par la peroxydase du navet blanc…… 46
IV.3.1. Effet du Ph…… 46
IV.4.Étude de la transformation de la TC et de l'OTC par la lignine peroxydase…….. 47
IV.4.1.Cinétique de transformation ……. 47
IV.4.2.Effet de Ph……. 48
IV.4.3.Effet de température…….. 49
IV.4.4.Effet de la concentration de peroxyde d'hydrogène…….. 49
IV.5. Transformation des AB par la méthode Fenton……. 50
Conclusion générale…….. 54
Références bibliographiques

Listes des figures

Chapitre I : Les Antibiotique

Figure I.1. Cibles cellulaires et mode d'action des antibiotiques…….….. 4

Figure I.2. Structures chimiques de base des pénicillines et céphalosporines……. 6

Figure I.3. Différents types de diaminocyclitols rencontrés dans les aminoglycosides…… 6

Figure I.4. Structure de base des quinolones et ciprofloxacine……... 7

Figure I.5. Structure chimique de base des tétracyclines……. 9

Figure I.6. Sources et voies d'accès des médicaments dans l'environnement…… 13

chapitre II : Traitement des effluents d'antibiotique

Figure II.1. Caractéristiques du radical $OH^{\bullet}$…….. 19

Figure II.2. Principaux procédés de production des $OH^{\bullet}$pour la transformation des AB……. 20

Chapitre III : Matériel& Méthodes

Figure III.1. Spectrophotomètre UV visible utilisé…….……. 31

Figure III.2. Principaux composants d'un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier…… 33

Figure III.3. Protocole expérimental d'extraction de la peroxydase de navet……. 34

Figure III.4. Protocol expérimental de purification de la peroxydase de navet…... 35

Figure III.5. Produits colorés formés de la réaction colorimétrique pour différentes concentration de peroxyde d'hydrogène..... 36

Chapitre IV: Résultats et discussion

Figure IV.1. Spectre d'absorption UV-Vis de la molécule CTC (10 mg/l)……. 41

Figure IV.2. Spectre d'absorption UV-Vis de la molécule DXC (10 mg/l)..... 42

Figure IV.3. Courbe d'étalonnage de la CTC..... 42

Figure IV.4. Spectre IR de la CTC…… 43

Figure IV.5. Spectre IR de la DXC……..……. 44

Figure IV.6. Cinétique enzymatique de réaction de transformation de phénol par la peroxydase de navet…… 45

Figure IV.7. Courbe d'étalonnage de peroxyde d'hydrogène, ε=6040 l/mol.cm…. 45

Figure IV.8. Courbe d'étalonnage de sérum d'albumine bovin SAB à λ_{max}=595

nm……. 46
Figure IV.9. Variation du rendement de transformation du CTC en fonction du pH(C_{AB} = 10 mg/l, C_{H2O2} =0.4 mM et AE = 14.44 UI/ml)……... 47
Figure IV.10. Cinétique de transformation de l'OTC et de la TC par la lignine peroxydase…… 48
Figure IV.11. Effet de pH sur la transformation de l'OTC et de la TC par la lignine peroxydase…… 48
Figure IV.12. Effet de pH sur la transformation de l'OTC et de la TC par la lignine peroxydase……. 49
Figure IV.13. Cinétique de transformation de l'OTC et de la TC par la lignine peroxydase……... 50
Figure IV.14. Solutions des AB (10mg/l) avant transformation..…… 51
Figure IV.15. Solutions d'AB (10 mg/l) après transformation…… 51
Figure IV.16. Mécanisme proposé de transformation de la CTC par le procédé Fenton…… 52

Liste des tableaux

Chapitre I : Les Antibiotique

Tableau I.1. Classification des familles d'antibiotiques en fonction de leur mode d'action…… 5

Tableau I.2. Propriétés de certains AB……. 7

Tableau I.3. de molécules de TC……..……. 10

Tableau I.4. Les principaux antibiotiques utilisés en Algérie…… 11

Tableau I.5. Concentrations des antibiotiques détectés dans l'environnement…… 14

Chapitre II : Traitement des effluents d'antibiotique

Tableau II.1. Avantages et inconvénients de diverses méthodes d'élimination des AB et effluents industriels…… 25

Chapitre III : Matériel & Méthodes

Tableau III.1. Réactifs chimiques utilisés et leurs caractéristiques…….. 27

Tableau III.2. physico-chimiques du Chlorhydrate de chlortétracycline utilisé….. 28

Tableau III.3. Caractéristiques physico-chimiques du Doxycycline utilisé……. 29

Tableau III.4. Matériel utilisé……... 29

Tableau III.5. Volumes des réactifs utilisés lors de la détermination de la quantité des protéines…….. 37

Tableau III.6. Composition du mélange réactionnel utilisé pour le traitement du CTC par la peroxydase de navet…… 39

Tableau III.7. Composition du mélange réactionnel utilisé pour le traitement du CTC et de la DXC par la méthode Fenton…… 40

Tableau III.8. Niveaux des trois facteurs choisis……. 41

Chapitre IV: Résultats et discussion

Tableau IV.1. Attribution des bandes de vibration IR de CTC…… 43

Tableau IV.2. Attribution des bandes de vibration IR de la DXC……... 44

Tableau IV.3. Paramètres de purification de l'EEPP……... 46

Listes des abréviations et nomenclatures

	Significations	**Unités**
AB	Antibiotique	
AE	l'activité enzymatique	UI/ml
AS	activité spécifique	UI/mg
AT	activité totale	UI
C	Concentration molaire ou massique	mol/L
CTC	Chlortétreacycline	
DO	Densité optique	A
DXC	Doxycycline	
EEB	Extrait Enzymatique Brut	
EEPP	Extrait Enzymatique Partiellement Purifier	
FTIR	Infra Rouge à Transformé de Fourrier	
I	Intensité de la lumière transmise	Ampère
I_0	Intensité initiale de la lumière traversée	Ampère
l	Largeur de la cuve de mesure de DO	cm
M	Masse molaire	g/mol
OTC	oxytétracycline	
pH	potentiel d'hydrogène	
POA	procédé d'oxydation avancé	
RT	Rendements de transformation	%
SAB	sérum d'albumine bovin	
T	Température	°C
t	Temps	min
TC	Tétracycline	
U.I	Unité Internationale	
UV	Ultra –Violet	
UV-Vis	spectrophotométrie UV-Visible	
Ve	Volume de l'extrait enzymatique	ml
Vm	Volume du mélange réactionnel	ml
V_t	volume total de l'extrait enzymatique purifié, (ml).	ml
Δt	intervalle de temps	min

Symboles

symbole	**Signification**	**Unité**
ε	Coefficient d'extinction massique	l/cm.g
λ_{max}	longueur d'onde de la radiation correspond à l'absorption maximale	nm
υ	Bande caractéristique de l'infrarouge	cm^{-1}

INTRODUCTION

GÉNÉRALE

Quand l'homme détruit la nature, il faut bien qu'il invente des systèmes pour réparer ce qu'il a détruit au risque de transformer sa planète en un désert stérile et malodorant.

Plusieurs milliers de tonnes de médicaments à usage humain ou vétérinaire sont utilisés chaque année dans le monde et rejetés, en nature ou après métabolisation, dans l'environnement **[1].** La contamination environnementale par des résidus des médicaments est aujourd'hui clairement démontrée par de nombreuses études de terrain et font des rejets médicamenteux un problème environnemental émergent. La prise de conscience du problème relatif à la découverte de toutes sortes de résidus médicamenteux dans l'environnement est récente et des mesures doivent être prises pour anticiper les conséquences à long terme sur notre santé et la santé des générations futures.

La complexité du problème est par ailleurs aggravée par la très grande diversité de molécules utilisées, rejetés essentiellement par les individus traités à domicile, les établissements de soins et l'industrie pharmaceutique.

La première détection de médicaments dans les eaux superficielles date de 1976 où il avait été mesuré des concentrations de 1 et 2 µg/l d'acide clofibrique et d'acide salicylique dans un lac du Nevada **[2].**

Les antibiotiques sont considérés comme un problème environnemental émergent à cause de leur introduction continuelle et de leur persistance dans l'écosystème aquatique. Cette pollution provient de la consommation humaine. En effet, après ingestion, les antibiotiques sont excrétés inchangés ou métabolisés, principalement dans les urines et collectés au niveau des eaux usées en milieu urbain. En outre, les antibiotiques vétérinaires concernant à la fois les animaux de compagnie et d'élevage, contribuent à cette contamination **[3, 4].**

La découverte de cette pollution dite émergente, a conduit plusieurs chercheurs à s'intéresser à leur élimination en développant de nouvelles méthodes de plus en plus efficaces pour éliminer les résidus d'antibiotiques présents dans les milieux aquatiques. Cependant cette tâche s'est avérée difficile en raison du caractère réfractaire de ces molécules.

L'objectif de notre travail est d'étudier la transformation de deux antibiotiques, il s'agit de la chlortétracycline et la doxycycline en utilisant deux méthodes différentes.

En premier temps, nous allons appliquer une enzyme extraite d'une source végétale, disponible en Algérie, c'est le navet blanc sur des solutions aqueuses de chlortétracycline et de doxycycline et ceci après avoir optimiser le pH du milieu à traiter.

En deuxième temps, l'oxydation en utilisant les réactifs Fenton sera appliquée, où nous allons étudier l'effet du pH, ensuite, nous allons étudier l'effet des concentrations des réactifs et celle de l'antibiotique.

Le travail réalisé dans le cadre de ce mémoire est dévisé en quatre chapitres:

- Le premier chapitre représente une revue bibliographique sur les antibiotiques (où un aperçu sera concentré sur les tétracyclines), leur classification ainsi que leurs impacts sur l'écosystème aquatique.
- Le deuxième chapitre détaille les principales méthodes de traitement des effluents chargés d'antibiotiques tels que les procédés classiques, procédés d'oxydation avancée et procédés enzymatiques.
- Le troisième chapitre, présente l'ensemble des méthodes expérimentales appliquées, ainsi que les dispositifs expérimentaux utilisés dans cette étude.
- En ce qui concerne le dernier chapitre, qui avait pour objectif d'illustrer les résultats obtenus, il sera consacré (à cause de l'épidémie du Corona virus COVID 19) à présenter quelques résultats obtenus en fonction des expériences qui ont été réalisées avec l'illustration des résultats de certains travaux de recherche réalisés sur les molécules de tétracycline traitées avec la peroxydase et/ou la méthode Fenton.

Enfin, le mémoire s'achève par une conclusion générale synthétisant les principaux résultats obtenus ainsi que les principales perspectives pouvant être envisagées à venir.

CHAPITRE I :

LES ANTIBIOTIQUES

I.1. Introduction

Les antibiotiques (AB) sont occupés depuis longtemps une étape importante dans l'histoire de la médecine. Leurs usages en médecine humaine et vétérinaire pour des fins thérapeutiques ont constitué, un remède efficace contre de nombreux germes pathogènes. Cependant cette utilisation doit obéir à certains critères tels que : les conditions et les voies d'administration, la posologie et la durée du traitement. Ces critères sont liés directement à la durée de l'élimination du médicament qui doit impérativement être respecté. Par conséquent, elle conduit à l'apparition de résidus d'antibiotiques dans différentes denrées alimentaires d'origines animales et même sous certaines conditions d'origine végétale.

Les antibiotiques sont parmi les molécules les plus utilisées en médecine humaine et vétérinaire pour lutter efficacement contre les infections microbiennes. L'action spécifique de ce groupe de médicament, en traitement curatif ou préventif, est traduite par un pouvoir destructeur sur une classe de micro-organisme ciblée à dose thérapeutique bien déterminée.

I.2. Définition

Les antibiotiques, aussi connus sous les noms : anti-infectieux, antimicrobiens ou antibactériens, sont des substances capables d'inhiber la croissance ou la survie des micro-organismes sans affecter l'hôte. Ces substances montrent alors une toxicité sélective puisqu'elles empêchent le déroulement de certains processus vitaux des microorganismes sans être nocives pour les cellules des micro-organismes **[5].**

De façon plus spécifique, Les antibiotiques sont couramment définis comme des substances biologiques synthétisées par des champignons ou des bactéries, ou synthétiques capables de tuer ou d'inhiber la croissance bactérienne **[6].**

Le mécanisme d'action de la molécule d'antibiotique se résume dans l'action sur une voie métabolique absente ou peu active chez les eucaryotes mais essentielle aux procaryotes, ou atteindre une cible spécifique aux procaryotes (Figure I.1).

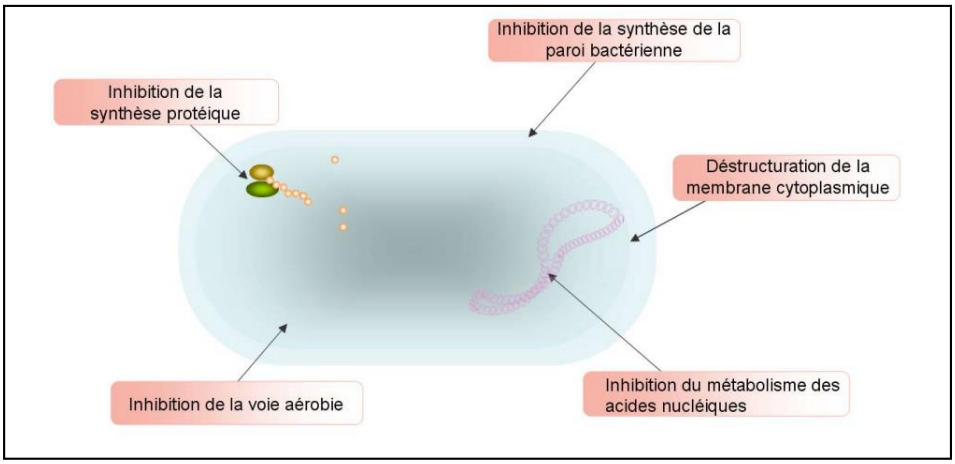


Figure I.1. *Cibles cellulaires et mode d'action des antibiotiques* ***[7]***.

I.3. Principales familles des antibiotiques

Les molécules d'AB peuvent se distinguer sur la base de plusieurs critères. Ces derniers se résume principalement en :

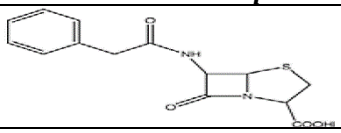
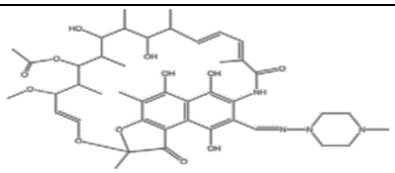
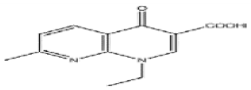
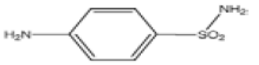
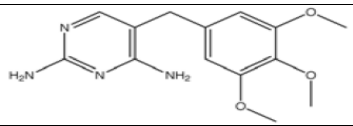
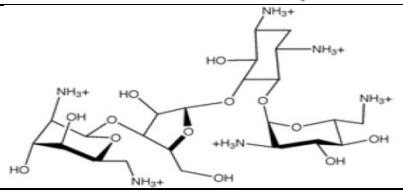
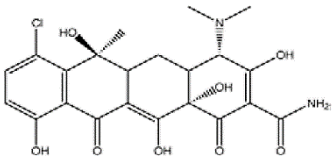
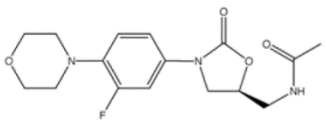
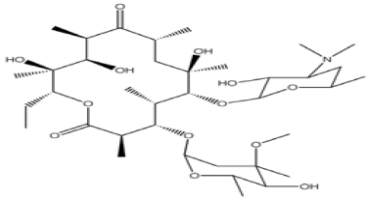
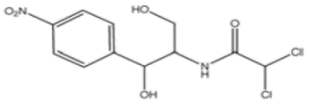
- *Origine* : elles peuvent synthétisés par fermentation des champignons, des bacilles ou des Streptomyces, semi-synthétiques ou synthétiques.
- *Effet d'action*: elles peuvent être des bactériostatiques ou des bactéricides.
- *Mode d'action* : ce critère concerne la cible bactérienne au niveau de laquelle la molécule d'AB agit (figure I.1). Selon le mécanisme d'action, les antibiotiques peuvent être classés en cinq groupes, comme l'indique le tableau I.1.
- *Composition chimique* : les molécules d'AB ont des structures très variables, elles se regroupent selon le noyau de base qui correspond souvent au nom de la famille.

Les différents noyaux qui constituent cette famille sont organisés comme suit :

I.3.1. Les β-lactamines

Les β-lactamines constituent la famille d'antibiotiques la plus utilisée, la plus diversifiée et la moins toxique. Elle est toujours en plein évolution, avec de nouveaux produits paraissant continuellement. Les antibiotiques de cette famille sont des bactéricides, **[6].**

Tableau I.1.*Classification des familles d'antibiotiques en fonction de leur mode d'action,* ***[8]***

Mode d'action	***Classe d'AB***	***Exemple***	***Nature chimique***
Attaque de la paroi	β -lactamine	Pénicilline G	
	Glycopeptide	Vancomycine	Sucres et acides aminés fixés sur unheptapeptide de 5 cyclesaromatiques
Attaque de la membrane	Polymixine	Polymixine B	Polypeptide de 10 acides aminés
Attaque de la synthèse des acides nucléiques	Rifamycine	Rifampicine	
	Quinolone	Acide nalidixique	
Attaque de métabolisme de l'acide folique	Sulfamide	Sulfadiazine	
	Diaminopyridine	Triméthoprime	
Interférences avec la synthèse des protèines	Aminoglycoside	Néomycine	
	Tetracycline	Chlortétracycline	
	Oxazolidinone	Linezolid	
	Macrolide	Erythromycine	
	Phénicolé	Chloramphénicol	

Cette famille, ayant comme dénominateur commun lenoyau β-lactame, qui est associé soit à un cycle thiazolique pour former l'acide 6-amino-pénicillanique (6-APA), soit à cycle dihydrothiazine pour former l'acide 7-amino-céphlosporanique (7-ACA), (figure I.2).

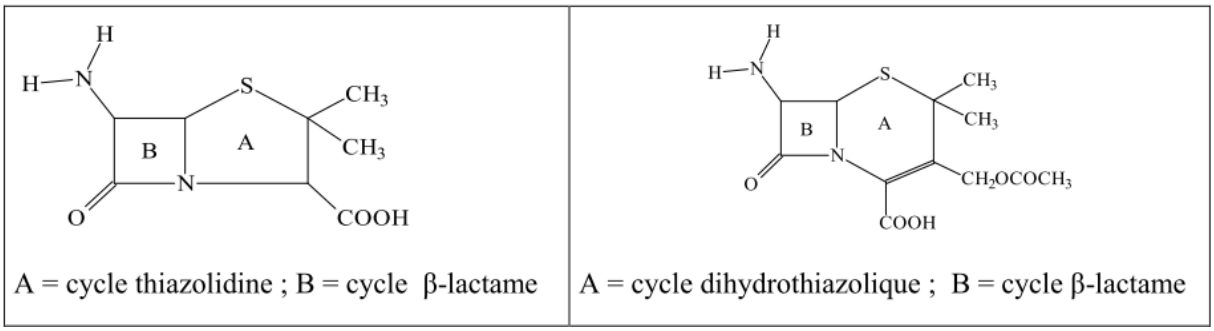


Figure I.2.*Structures chimiques de base des pénicillines et céphalosporines.*

I.3.2.Les aminosides ou les aminoglycosides

Ce sont des molécules contenant un cycle à 6atomes de carbone de type aminocyclitol(2-désoxystreptamine, actinamine, streptidine, fortamine) reliés par des liaisons glycosidiques à un ou plusieurs dérivés de sucres, **[9]** (Figure I.3).

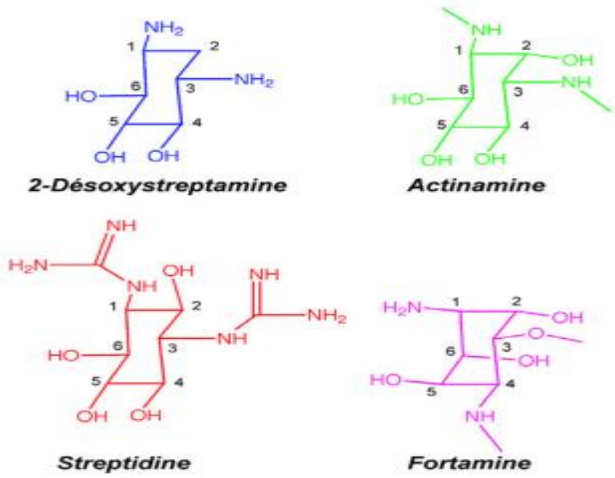


Figure I.3.*Différents types de diaminocyclitols rencontrés dans les aminoglycosides,* ***[10].***

Les aminosides ont un spectre large et ont une activité bactéricide. Les streptocoques et les listeria sont cependant peu sensibles. Les bactéries anaérobies sont résistantes. Agissent sur

la synthèse protéique, soit en inhibant la traduction, soit en induisant des erreurs de lecture du code génétique, **[11].**

I.3.3. Les quinolones

Les quinolones sont obtenues par synthèse chimiques, dérivent de l'acide nalidixique **[12].** Toutes les quinolones actuelles présentent une structure bicyclique, avec un azote en position 1, un carboxylate en position 3 et un carbonyle en position 4 (Figure *I.4*).

Actuellement de nouveaux composés de cette famille d'AB ont été mis au point, dont certains additionnés d'un atome de fluor (norfloxacine, péfloxacine, ciprofloxacine, ofloxacine…) (FigureI.4) possèdent une activité plus étendue et sont indiqués dans le traitement des infections systémiques et tissulaires à bacilles à Gram négatif et à Cocci à Gram positif **[12].**

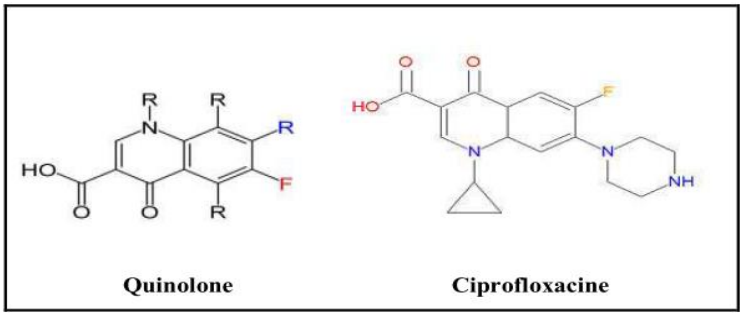


Figure I.4.*Structure de base des quinolones et ciprofloxacine* ***[12].***

I.3.4. Autres antibiotiques

Les familles des autres AB, leurs caractéristiques ainsi que leurs spectre d'action sont récapitulés dans le tableau I.2.

Tableau I.2.*Propriétés de certains AB* ***[13].***

Familles	***Caractéristiques chimiques***	***Sous-famille***	***Spectre d'activité et Effet primaire***
Glyco-peptides	Héptapeptide cyclique liant un sucre	Vancosamine Vancomycine	Etroit (Gram +) -Bactéricide
Macrolides et apparentés	Anneau macrolactonique modifié par un ou plusieurs sucres (mannose, glucosamine ou glucose)	Erythromycine Clindamycine	-Large (Gram+) aérobie et anaérobie et quelques (Gram –) - Bactériostatique
Phénicolés	Dérivés de l'acide dichloroacétique et un phényle substitué	Dérivés de l'acide dichloroacétique et un phényle substitué	-Large (Gram+) et (Gram –), rickettsias, chlamydias -Bactériostatique
Ansamycines	Deux cycles aromatiques liés par une longue chaine constituée d'un aminocyclitol auquel sont lié des oses	Rifamycine Rifabutine	Infection dues à mycobacterium et quelque (Gram–) -Bactéricide
Polymyxine	AB peptidiques cycliques	Polymyxine B et E	-Infections dues à mycobacterium -Bactéricide

I.4. Les tétracyclines

I.4.1. Structure et mode d'action

Les tétracyclines sont des AB produites par la plupart de souches de *Streptomyces*, mais actuellement ils sont produits par semi synthèse.

Comme leur nom indique, les tétracyclines (TC) possèdent une structure chimique commune composée de quatre cycles hexacarbonés fusionnés en ligne (noyau naphtacène-carboxamide) sur laquelle viennent se greffer des substituant en position 5, 6, 7 (figure I.5).

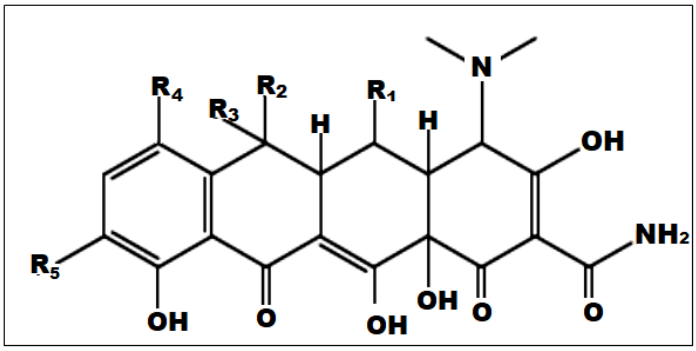


Figure I.5. *Structure chimique de base des tétracyclines,* ***[14].***

Les tétracyclines sont des AB bactériostatiques à très large spectre, elles agissent sur les bactéries Gram positive et d'autres à Gram négative, tels que les atypiques Chlamydiae, les mycoplasmes, les rickettsies, les parasites et les protozoaires.

Elles agissent en empêchant la fixation de l'aminoacyl-ARNt sur l'accepteur constitué par le complexe ARNm-ribosome, ce qui arrête la synthèse protéique, et subséquemment une diminution de leur croissance et de leur multiplication**, [15].**

I.2.2. Classification

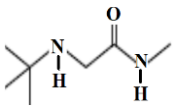
Selon l'origine de la molécule de tétracycline (substituant R_n), on distingue les cyclines naturelles et semi-synthétiques qui se regroupent en 3 générations:

- *1ère génération* : il s'agit des TC naturelles, elles englobent : la chlortétracycline, l'oxytétracycline et la tétracycline. Le spectre d'action de cette classe concerne les bactéries Gram positive.
- *2ème génération :* ce sont des TC hémi-synthétiques, elles sont préparées par modification chimiqueau niveau des substituants R2 et R3, c'est-à-dire la suppression de la fonction alcool en 6 dans le but d'augmenter leur lipophilie et d'augmenter la résorption digestive et diffusion tissulaire. Elle regroupe cette classe : la doxycycline, la minocycline, la lymecycline, la meclocycline, la methacycline et rolitetracycline. Cependant, sur un spectre d'action plus large que les TC naturelles, ce groupe agit outre les bactérie Gram positive certaines bactérie à Gram négative telles que : *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

- *3ème génération :* TC synthétiques, elles sont obtenues par une synthèse chimique, elles comportent la tigecycline, l'omadacycline et l'eravacycline. Cette classe de TC agit sur un large de spectre très large de bactéries Gram positive et Gram négative dont les autres AB y compris les TC sont résistants, telles que : *Streptococcus pneumoniae* et *Klebsiella pneumoniae*.

Le tableau I.3 illustre quelques structures moléculaires des TC.

Tableau I.3. *Exemples de molécules de TC,* ***[14]***

Molécule	***Substituant***				
	R_1	**R_2**	**R_3**	**R_4**	**R_5**
Tétracycline	H	OH	CH_3	H	H
Chlortétracycline	H	OH	CH_3	Cl	H
Oxytétracycline	OH	OH	CH_3	H	H
Doxytétracycline	OH	H	CH_3	H	H
Minotétracycline	H	H	H	$N(CH_3)_2$	H
Tigecycline	H	H		$N(CH_3)_2$	

I.4.3. Propriétés physico-chimiques

Comme toute molécule organique, les TC sont douées des propriétés physico-chimiques suivantes :

- Amphiphilie : par la présence de cycles lipophiles d'une part et des substituants hydrophiles d'autre part. Les TC molécules sont non volatiles **[16].**
- Réactivité chimique : les TC sont stables dans les milieux acides et instables dans les milieux alcalins. Elles forment aussi des sels dans les deux conditions ioniques.

Ainsi, les composés du groupe des TC sont sensibles à l'hydrolyse et aux réactions d'oxydation.

- Réactivité aux agents physiques : les TC sont photosensibles, (sauf l'OTC), par ailleurs, elles ont une certaine stabilité à travers une large gamme de températures **[17].**

I.4.4. Utilisation des TC

L'utilisation classique des TC en médecine humaine réside dans le traitement des ulcères stomacaux et des infections bactériennes pulmonaires, cutanées, génitales et urinaires **[18].**

Cependant, d'autres molécules des TC possèdent d'autres activités thérapeutiques puissantes, elles peuvent agir comme des anti-inflammatoires, des antifongiques et des anti-tumorales.
En médecine vétérinaire, des dérivés d'oxytétracycline et de chlorotétracycline sont administrés aux élevages agricoles pour stimuler la croissance et pour traiter le stress, les allergies, les maladies osseuses, respiratoires et intestinales ainsi que les infections bactériennes entériques et rénales des bétails **[18].**

I.5. L'industrie des antibiotiques en Algérie

Que ce soit sous forme orale, injectable ou autre forme, les AB couvrent la consommation humaines et vétérinaire ceci est dû généralement au partage des mêmes bactéries et que la dissémination de ces dernières ne connait pas de frontière.

En vétérinaire, les ABs utilisés en Algérie sont à la base de l'oxytétracycline, et des pénicillines, (tableau I.4).

Tableau 1.4. Les principaux antibiotiques utilisés en Algérie **[19].**

Principe actif	Nom désposés	laboratoires	Raisons d'utilisation
Oxytetracycline	Oxytetracycline 20%	Laprovet	Affection bénigne
Oxytetracycline	Avicycline 20%	Avico	Affection bénigne
Oxytetracycline	Tenaline 20%	CEVA	Affection bénigne
Oxytetracycline	Terramycine 20%	Pfizer	Affection bénigne
Pénicillines G+ Dhydrostreptomycine	Shotapene	Virbac	Infection pulmonaire
Penikel 15*15	Penikel 15*15	Kela	Affection bénigne
streptomycine			Infection pulmonaire
Sulfamide	Septrotryle		Si très grave

En médecine humaine, l'année 2012, a connu une évolution de consommation d'AB de 19% par rapport à l'année 2011.Mais des statistiques plus récentes (2018) ont montré que l'Algérie vient en position 5ème en consommation des AB à l'échelle mondiale. Ce constat peut être facilement confirmé par la vérification de la facture globale du médicament en Algérie qui pèse trois milliards d'euros par an, divisées entre les AB fabriqués en Algérie (1 milliards d'euros) et celle importée qui constitue l'équivalent de 55% des besoins totaux en médicaments, **[20].**

Le groupe Saidal sous sa filiale Antibiotiques de Médéa constitue un pôle de production des AB en Algérie, il comporte des installations de biosynthèse et de synthèse des AB.

Actuellement, le groupe Saidal produit plus de 18 AB de la famille des pénicillines et non pénicillines sous différentes formes galéniques : comprimés, gélules, injectables, suspensions et solutions buvables, et pommade.

Les principaux AB produit par ce groupe s'englobent dans les familles de pénicillines, nitroimidazoles, macrolides et TC, **[21].**

Par ailleurs, des usines de production des AB ont été installées récemment en Algérie, il s'agit de :

- Hikma pharmaceuticals-Algérie : production des pénicillines et de céphalosporines, **[22].**
- Usine SOPHAL-Oran : production des céphalosporines, avec une production annuelle de 23 millions de boites par an, **[23].**

I.6. Pollution engendrée par les antibiotiques

Les produits pharmaceutiques, sous leur forme d'origine et sous forme de métabolites, sont généralement rejetés dans l'environnement à l'état de traces (de ng/l à µg/l) par les égouts classiques et les usines de traitement à partir des applications humaines et vétérinaires, (figure I.6), **[24].**

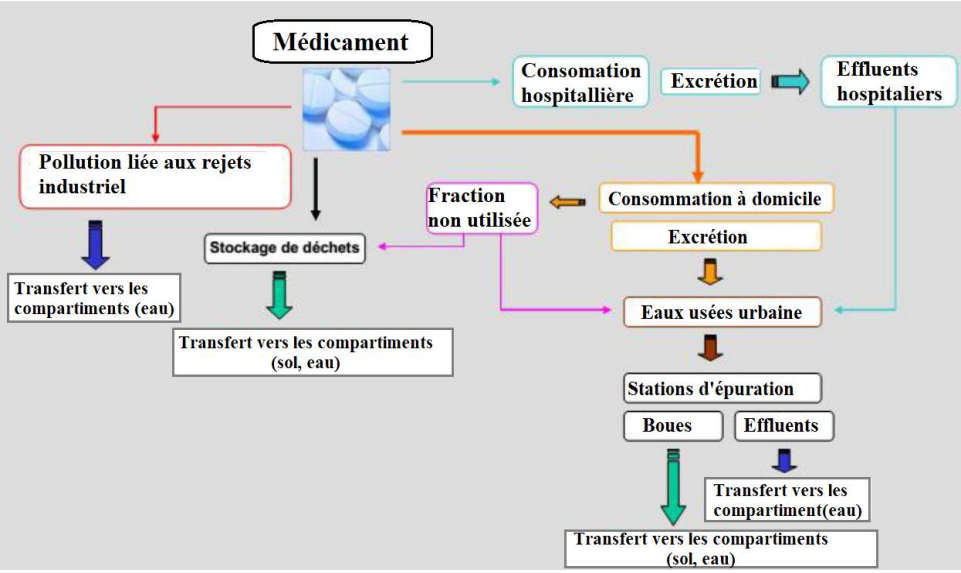


Figure I.6. *Sources et voies d'accès des médicaments dans l'environnement,* ***[25].***

I.6.1. Effets sur l'homme

Dans le cadre de l'autorisation de médicaments, un principe actif ne sera pas seulement analysé sur son efficacité thérapeutique, mais aussi sur un grand nombre d'effets secondaires non souhaités. Plusieurs experts ont déclaré que tout danger aigu est exclu pour la santé de voir apparaitre des effets secondaires des principes actifs médicamenteux contenus dans l'eau potable, ceci est dû à la faible dose de ces molécules présents les eaux de surface ou souterraines (<100ng/l) et dans les eaux traitées (<50ng/l), **[24].**

Des études ont montré que les valeurs toxicologiques disponibles sont définies sur la base d'une exposition aigüe à une seule molécule alors que l'exposition s'étale sur un long terme a beaucoup de médicaments et polluants en même temps. Les effets d'une exposition de 18 jours à certains principes médicamenteux (antiépileptiques et d'antidépresseurs)et à de très faibles doses provoquent des effets nocifs pour l'homme, par la probabilité de modification de quelques centaines gènes associés à l'autisme humain. Un autre risque pour l'homme vient de la contamination des milieux aquatiques, qui s'exprime par l'existence des résidus d'AB dans les poissons ce qui provoque le risque de perturber la flore intestinale normale. Cette ingestion concerne aussi les viandes et peut aussi générer des problèmes d'allergie et de toxicité qui sont difficiles à diagnostiquer, **[25].**

I.6.2. Effets potentiels sur l'environnement

Le devenir des principes médicamenteux dans l'écosystème et leur action présentent des caractéristiques qui leur confèrent un caractère un peu particulier au sein de l'ensemble des xénobiotiques qui peuplent les différents milieux. De ce fait, ces molécules sont nombreuses dans l'environnement et elles ne sont pas seules, elles rejoignent d'autres polluants organiques persistants, où elles peuvent agir sur les mêmes cibles que les médicaments comme c'est le cas par exemple pour les hormones et toutes les substances perturbatrices endocriniennes.

La bibliographie mis en évidence la contamination du milieu aquatique par les AB, cette contamination pose un certain nombre de problèmes, **[26]** :

- Perturbations dans le processus de traitement de l'eau, qui sont basés sur les activités bactériennes.
- La toxicité potentielle de ces composés par rapport aux organismes aquatiques et aux êtres humains via l'eau potable.
- La possibilité d'apparition et de transmission de résistance chez des bactéries pathogènes.

La charge des AB dans l'environnement est forte dans les effluents des hôpitaux et parfois élevée dans certaines eaux usées urbaines, (environ 30 à 90 % des doses administrées par les êtres humains et les animaux sont rejetées sous forme de substances actives). Les résultats des travaux concernant la présence des AB d'origines humaine et vétérinaire dans l'environnement sont présentés dans le tableau I.5.

Tableau I.5. *Concentrations des antibiotiques détectés dans l'environnement*, ***[27].***

Classe	Substance	Concentration (mg/L)	Source
Sulphonamides	Sulphadiazine	4,130	Eaux de surface
	Sulphamethazine	240	Eaux souterraines
	Sulphamethoxazole	52-1900	Eaux de surface
		Jusqu'à 2000	Effluents des eaux usées
		Jusqu'à 470	Eaux souterraines
		66	Eaux potables
Sulfamethazine	Sulfamethizol	Jusqu'à 220	Eaux de surface
	Sulfadiazine	Jusqu'à 17	Eaux souterraines
	Sulfadimidine	Jusqu'à 23	Eaux souterraines
Chinolones	Fluorchinolone	Jusqu'à 100	Effluents des eaux usées
		Jusqu'à 5	Eaux de surface
	Fluorchinolone	Jusqu'à 106	Effluent eaux usées
	(ciprofloxacine,	Jusqu'à 19	Eaux de surface
	norfloxacine)	Jusqu'à 30	Eaux de surface
	Ciprofloxacine	200-1400	Effluents des eaux usées
Tetracyclines	Tetracycline	400	Eaux souterraines
		61-1100	Effluents des eaux usées
	Chlortetracycline	Jusqu'à 690	Eaux de surface
	Oxytetracycline	32.000	Eaux de surface
Macrolides	Lincomycine	21.100	Eaux de surface
	Azithromycine	Jusqu'à 3	Eaux de surface
	Erythromycine-H_2O	Jusqu'à 6000	Effluents des eaux usées
Penicillines	Penicilline	Jusqu'à 200	Effluents des eaux usées
	Flucloxacilline	7	Eaux de surface
	Piperacilline	48	Eaux de surface

CHAPITRE II :

TRAITEMENT DES EFFLUENTS D'ANTIBIOTIQUES

II.1. Introduction

Afin de protéger l'environnement, le traitement des eaux usées urbaines, industrielles et agricoles est indispensable. Au cours des dernières années Les molécules d'AB à usage humain ou vétérinaire sont des polluants émergents qui menacent la santé publique, les ressources en eau voire le milieu naturel **[28].**

Leur présence dans les eaux peut s'expliquer par **[29]** :

i. L'excrétion des médicaments et de leurs métabolites après utilisation par les patients.

ii. Les rejets des établissements de soins.

iii. Les rejets des médicaments non utilisés et périmés.

iv. Les effluents des industries pharmaceutiques.

Afin de délimiter leur nuisance, une transformation voire une élimination appropriée est apparue comme nécessaire. Diverses techniques de traitement ont été élaborées et peuvent être destructives ou non destructives.

Avant tout traitement, il est nécessaire de connaitre les sources de l'effluent, en se basant sur ses caractéristiques physico-chimiques, biologiques ainsi que la concentration des AB afin d'optimiser les résultats et assurer une eau potable de qualité satisfaisante.

II.2. Méthodes classiques

Elles englobent les méthodes physiques telles que l'adsorption, la filtration, la coagulation/floculation/sédimentation et les méthodes biologiques.

II.2.1. méthodes physiques

d. Adsorption

L'adsorption est un processus de séparation au cours duquel des molécules d'un fluide (liquide ou gaz) viennent se fixer sur la surface d'un matériau solide, appelé adsorbant. En particulier, l'adsorption liquide-solide est l'un des traitements les plus répandus dans la

dépollution des eaux. La séparation par adsorption est basée sur une adsorption sélective des polluants par un adsorbant grâce à des interactions spécifiques entre la surface du matériau adsorbant et les polluants adsorbés **[29]**.

Les adsorbats les plus étudiés dans la recherche d'élimination des AB sont : la ciprofloxacine, la norfloxacine, l'amoxicilline, la tétracycline, la chlorotétracycline et l'oxytétracycline et ceci sur le charbon actif, la bentonite, et l'oxyde d'aluminium. L'ensemble des études effectuées montrent que l'adsorption demeure une méthode efficace pour le traitement des effluents contenant les AB **[30-33].**

e. Filtration membranaire

La filtration sur membrane pilotée par pression hydraulique se décline microfiltration, ultrafiltration, nano filtration et osmose inverse. L'effluent passe à travers une membrane semi-perméable qui retient en amont les contaminants de taille supérieure audiamètre des pores, pour former un perméat purifié et un concentrât qui reçoit les impuretés. L'osmose inverse et la nanofiltration sont les plus adaptées à la réduction quasi-totale des AB (>90%), sauf les TC (50-80%) et les sulfonalides (11-20%) **[34].**

f. Coagulation/floculation

La coagulation-floculation est un processus physico-chimique par lequel les particules colloïdales ou solides en fine suspension sont transformées, à l'aide de coagulants ou des floculants chimiques en espèces plus visibles et séparables (flocs)**.** Les particules colloïdales sont d'abord déstabilisées avec des sels et les floculant facilitent l'agglomération des particules déstabilisées conduisant à la formation de flocs. Ces derniers sont ensuite séparés par décantation et filtration. La technique de coagulation-floculation ne peut pas être appliquée aux molécules organiques fortement solubles dans l'eau **[35].**

Ces méthodes ont montré leur inefficacité sur la transformation des macrolides, des sulfonamides, les quinones et les dérivés de quinoxaline et triméthoprime où un taux d'élimination de moins de 30% a été atteint **[36-38].**

II.2.2. Méthodes biologiques

Les procédés d'épuration par voie biologique sont communément utilisés pour le traitement des produits pharmaceutiques. Ces procédés ne sont pas toujours applicables sur les effluents industriels en raison des fortes concentrations de polluants, de la toxicité ou de la très faible biodégradabilité. Très peu d'études ont été lancées par l'utilisation de boues activées (l'acide nalidixique) où un rendement d'élimination de 62 % a été atteint **[34].**

Dans le cas des produits pharmaceutiques non favorables au traitement biologique, il est nécessaire d'utiliser des systèmes réactifs beaucoup plus efficaces que ceux adoptés dans les procédés de purification conventionnels. De plus, ces procédés biologiques génèrent des quantités importantes de boues biologiques à traiter **[39].**

II.2.3. Méthodes chimiques

Les procédés classiques d'oxydation chimique sont basés sur l'ajout d'un agent oxydant dans la solution à traiter. Les principaux agents oxydants sont : HClO, Cl2, ClO_2 O_3, O_2, H_2O_2, l'utilisation d'oxydant seul n'est pas efficace pour la plupart des produits organiques. Il a été observé que l'oxydation chimique avec l'un de ces oxydants n'est pas toujours efficace pour le traitement des polluants organiques persistants.

Très peu d'études ont été publiées en utilisant ces techniques, il s'agit de l'ozonation de la lévofloxacine, de tétracycline et de la chloration des béta-lactames, des sulfonamides, de trimethoprim et de carbadox **[36, 40,41].**

D'après les recherches bibliographiques effectuées, les auteurs concluent que ces méthodes semblent efficaces dans la dégradation des AB présents dans les effluents mais avec de faibles charges en matières organiques. Ces techniques d'oxydation ont été remplacées par d'autres plus avancées afin d'éviter la formation des espèces halogénés potentiellement cancérigènes **[34].**

II.3. Méthodes d'oxydation avancée

Les procédés d'oxydation avancée (POA) sont définis comme tous les types de traitement qui peuvent générer des radicaux hydroxyles ($OH^{\bullet}$). Ces derniers sont des

entités très réactives et non sélectives caractérisés par une propriété électrophile marquée (figure II.1). Les radicaux hydroxyles transforment les substances les plus réfractaires en molécules biodégradables ou en composés minéraux tels queCO_2 et H_2O **[42].**

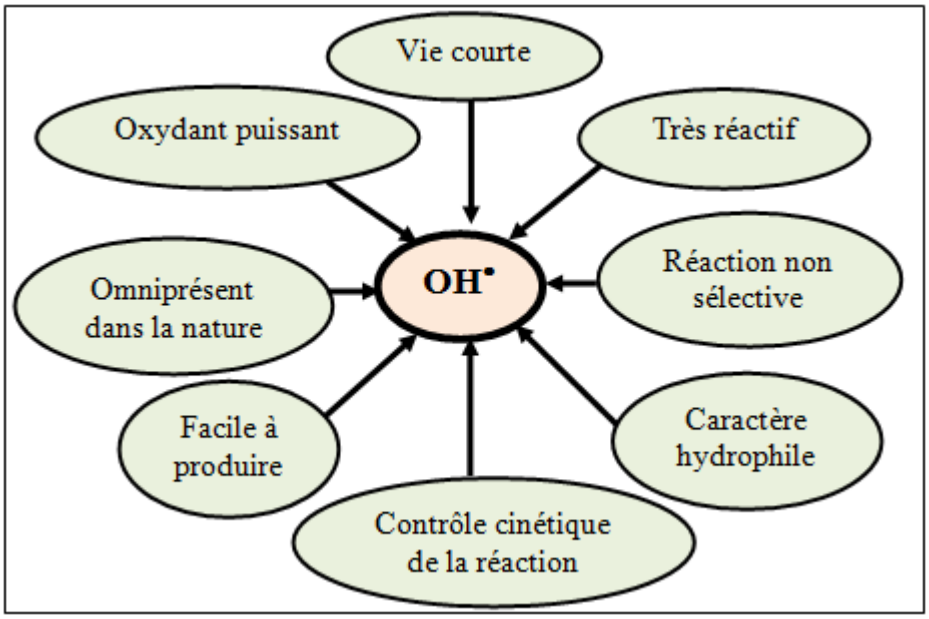


Figure II.1.*Caractéristiques du radical OH•* ***[43]***

La classification des types de l'oxydation avancée est basée sur les facteurs suivants **[42]** :

- La nature de l'activation de la formation des radicaux hydroxyles qui peut être catalytique, électrochimique ou photochimique ;
- Type d'oxydant utilisé (ozone et/ou peroxyde d'hydrogène) ;
- La présence ou l'absence de catalyseur (homogène comme l'ion fer ferreux ou le fer ferrique ou hétérogène comme le dioxyde de titane) ;

- La présence ou l'absence d'un apport d'énergie (rayonnement ultraviolet, ultrasons, énergie électrique).

D'où leur génération en vue de transformation des AB est assurée par de nombreuses technologies ou par plusieurs combinaisons (figure II.2).

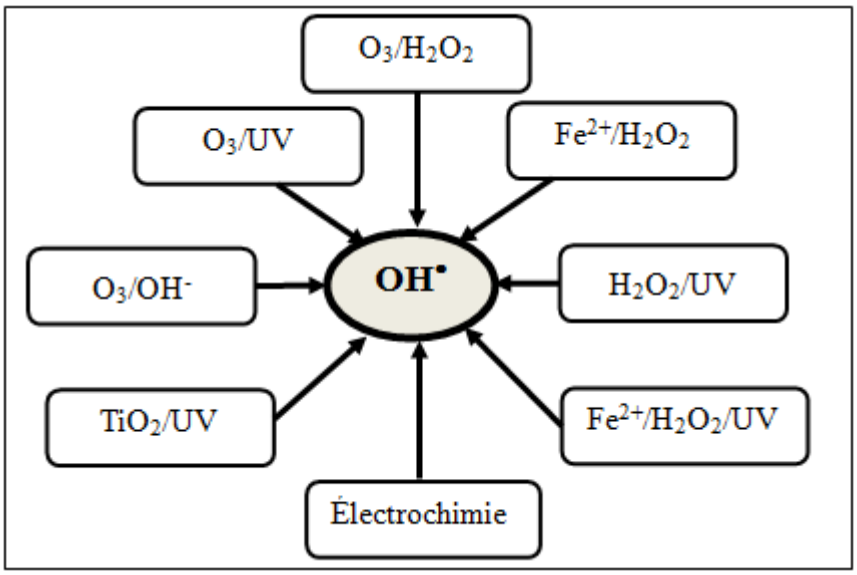


Figure II.2.*Principaux procédés de production des OH•pour la transformation des AB* ***[34].***

II.3.1.Procédés photochimiques

c. Photolyse H_2O_2 /UV

Des longueurs d'onde UV de 200 à 280 nm provoquent la décomposition de H2O2, ce qui génère des radicaux hydroxyles, avec un rendement quantique de deux OH• formés par photon absorbé **[44]** :

$$H_2O_2 + hv \longrightarrow 2OH^{\bullet} \quad \text{(II.1)}$$

d. Photolyse O_3 /UV

Ce procédé est plus complexe parce que les radicaux OH• sont produits en solution aqueuse à travers différents chemins réactionnels**.** Le processus d'ozonation combiné est basé sur l'hémolyse de l'ozone induite par la lumière ($\lambda \leq 315$ nm) **[43]** :

$$O_3 + H_2O + hv \longrightarrow H_2O_2 + O_2 \quad \text{(II.2)}$$

$$O_3 + H_2O_2 \longrightarrow OH^{\bullet} + HO^{\bullet}_2 + O_2 \quad \text{(II.3)}$$

$$2O_3 + H_2O_2 \longrightarrow 2OH^{\bullet} + 3O_2 \quad \text{(II.4)}$$

II.3.2. Procédés chimiques

c. Peroxonation (O_3 /H_2O_2)

La décomposition d'O_3 en présence de H_2O_2 conduit à la formation des radicaux réactifs selon l'équation :

$$O_3 + H_2O_2 \rightarrow {}^{\bullet}OH + HO_2^{\bullet} + O_2 \qquad (II.5)$$

L'efficacité de la peroxonation est limitée par la faible solubilité de O_3, la forte consommation énergétique et la dépendance de nombreuses paramètres. En revanche, l'étude comparative de l'ozonation et la peroxonation appliquées sur la dégradation des bétalactamines et des quinolones a montré des efficacités similaires avec une écotoxicité n'été pas totalement éliminée **[34].**

d. Procédé Fenton (Fe^{2+}/H_2O_2)

En raison de rendement élevé de la réaction Fenton, être une source rentable de radicaux hydroxyles et la facilité à utiliser et à entretenir, le réactif de Fenton peut être utilisé pour le traitement de la micropollution causée par les produits pharmaceutiques résiduels dans les eaux de surface, ainsi que des effluents industriels. D'autre part, les réactifs utilisés (le fer et le peroxyde d'hydrogène) sont très abondants et non toxiques et facile à manipuler et sans danger pour l'environnement. Le mélange de Fe_2SO_4 ou d'autre complexe ferreux (le réactif de Fenton) et H_2O_2 à faible pH, favorisant la décomposition de H_2O_2via une série des réactions catalytiques par l'ion Fe^{2+} qui produisent des radicaux hydroxyles **[44].**

La réaction globale est :

$$H_2O_2 + Fe^{2+} \longrightarrow Fe^{3+} + OH^- + OH^{\bullet} \qquad (II.6)$$

Les radicaux hydroxyles générés sont capables d'attaquer rapidement les substrats organiques (RH) et ainsi provoquer la décomposition chimique de ces composés par addition sur la liaison insaturée C=C **[44].**

$$RH + OH^{\bullet} \longrightarrow R^{\bullet} + H_2O_2 \qquad (II.7)$$

$$R^{\bullet} + Fe^{3+} \longrightarrow R^{+} + Fe^{2+} \quad \text{(II.8)}$$

$$R^{+} + H_2O \longrightarrow ROH + H^{+} \quad \text{(II.9)}$$

De nombreuses réactions concurrentes, peuvent être impliquées. Les radicaux hydroxyles peuvent être aussi consommés avec le Fe^{2+} ou le peroxyde d'hydrogène en générant les radicaux hydroperoxy des moins réactifs que les radicaux hydroxyles.

Plusieurs paramètres opératoires tels quels caractéristiques physico-chimiques du milieu (pH, température) et la concentration en réactifs, influencent fortement les réactions Fenton et par conséquent son efficacité dans le traitement des eaux, **[39].**

De nos jours, les procédés Fenton ont été utilisés pour traiter des AB des familles de pénicillines et des quinolones. Dans ces travaux les résultats obtenus étaient acceptables (efficacité de dégradation de plus de 53%) avec une augmentation de biodégradabilité de ces molécules **[34,45].**

II.3.3. Procédés photocatalytiques

c. Photo-Fenton $Fe^{2+}/H_2O_2/UV$

Le procédé photo-Fenton est basé sur la catalyse photochimique de la réaction de Fenton. En effet, l'effet de l'irradiation est doublement bénéfique: d'une part, la production supplémentaire des radicaux hydroxyles (équation. II.10) lors de la réduction photochimique d'ions ferriques, et d'autre part la catalyse de la réaction de Fenton. La régénération catalytique des ions ferreux a pour avantage de limiter l'ajout du sel de fer et d'éviter la formation de boues d'hydroxyde ferrique **[46].**

$$FeOH^{2+} + hv \longrightarrow Fe^{2+} + OH^{\bullet} \quad \text{(II.10)}$$

Plusieurs études antérieures ont montré l'efficacité élevée de l'application du procédé photo-Fenton au traitement des eaux contaminées par des résidus d'AB, en particulier l'ampicilline et la tétracycline **[47, 48].**

d. Photocatalyse avec TiO_2

La dépollution photocatalytique des eaux usées constitue une technique alternative de traitement basée sur l'irradiation UV de matériaux semi-conducteurs en poudre ou supportés tel le dioxyde de titane (TiO_2), le sulfure de cadmium (CdS) et l'oxyde de fer(Fe_2O_3). Parmi ces matériaux, le dioxyde de titane est le photocatalyseur le plus utilisé en traitement d'eaux résiduaires industrielles, en raison de la faible énergie nécessaire à son activation ($E_{activation}$= 3,2 eV) **[30].**

Plusieurs chercheurs ont étudié le traitement des différentes classes d'AB par photocatalyse. Des efficacités de dégradation importantes ont été atteintes (>80%) pour les bêta-lactames, les sulfonamides, et la TC, avec des pourcentages de minéralisation variant entre 40 et 70%.Ainsi, les composés intermédiaires formés étaient moins toxiques et plus biodégradables que les composés parents **[49-53].**

II.3.4.Procédés électrochimiques

a. Oxydation anodique

Cette méthode est basée sur la génération des radicaux hydroxyles adsorbés ($OH^{\bullet}$) sur la surface d'une anode ayant une surtension d'oxygène par l'oxydation de l'eau élevée (équation II.11) **[46].**

$$H_2O \longrightarrow OH^{\bullet}_{ads} + H^+ + e^- \qquad \text{(II.11)}$$

Parmi les matériaux d'électrodes, on trouve des oxydes métalliques comme le dioxyde d'étain, le dioxyde de plomb, et le dioxyde de plomb dopé, le platine et diamant dopé au bore (BDD). L'électrode BDD est ainsi un matériau adéquat pour la production des radicaux hydroxyles, ce qui ouvre de nouvelles applications pour la production d'oxydants puissants et semble favoriser la minéralisation complète de nombreux composés organiques **[23].**

L'efficacité de l'élimination des AB par oxydation anodique à l'aide de la BDD a été examinée par plusieurs auteurs, en particulier l'acide 4-chlorophénoxyacétique et la triméthoprime **[54,55].**

b. Procédé électro-Fenton

Dans ce cas, il s'agit d'un couplage entre la réaction de Fenton et l'électrochimie. Le procédé électro-fenton est basé sur la production continue du peroxyde d'hydrogène par la réduction de l'oxygène sur une cathode de mercure ou feutre de carbone selon l'équation (II.12) **[46].**

$$O_2 + 2e^- + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 \qquad \text{(II.12)}$$

Le fer est piégé dans le cycle d'oxydoréduction :

$$Fe^{3+} + e^- \longrightarrow Fe^{2+} \qquad \text{(II.13)}$$

Le procédé électro-Fenton a été exploité pour le traitement de différents polluants organiques récalcitrants, y compris les AB. Des solutions aqueuses d'enrofloxacine, de ciprofloxacine et defluméquine ont été traitées par les procédés électro-Fenton où une dégradation totale de plus de 89% a été atteinte **[56-58].**

II.4. Méthodes enzymatiques

Les traitements enzymatiques des molécules organiques impliquent des réactions chimiques extrêmement spécifiques et rapides, basées sur l'action des enzymes. Ces méthodes sont classées entre les procédés chimiques et biologiques. Ainsi, la variété de transformations catalysées par les enzymes a fait ces derniers une cible principale pour l'exploitation des industries biotechnologiques récentes, **[59].**

Ainsi, les avantages du traitement enzymatique par rapport aux traitements conventionnels peuvent être résumés comme suit, **[60]** :

- Application aux polluants récalcitrants, couvrant un large intervalle de concentrations en polluants, de pH, de température et de salinité ;
- Facilité et simplicité du processus ;
- Absence de biomasse, et réduction de volume de réacteur ;

- Transformation de divers composés aromatiques.

II.4.1. Peroxydases : hémoprotéines, produits principalement par un certain nombre de sources : micro-organismes et plantes, qui utilisent les peroxydes (comme le peroxyde d'hydrogène) comme un co-substrat pour oxyder une variété de composés organiques et/ou inorganiques, **[61].**

Les peroxydases d'origine végétales sont connues par leurs capacités de transformer un large nombre de polluants organiques via leur précipitation. La bibliographie a cité quelques études récentes sur la lignine-peroxydasse qui a montré une très grande efficacité pour la transformation de des TC avec des rendements importants **[62].**

Le tableau II.1présente une étude comparative résumant les principaux avantages et inconvénients des principaux procédés appliquées dans le traitement des AB.

Tableau II.1. *Avantages et inconvénients de diverses méthodes d'élimination des AB et effluents industriels,* ***[34]***

Méthode de traitement	Avantages	Inconvénients
Physiques		
Adsorption	Efficace, économique	Déplacement de la pollution.
Filtration membranaire	Recyclage, appliquées aux effluents les plus complexes	Coût élevé, pas de séparation des produits dissous.
Coagulation/floculation	Efficace, rapide, économique	Génération d'une autre pollution.
Chimiques	Non énergétiques	Non efficaces pour certaines AB Biodégradabilité limité et écotoxicité inchangée.
Biologiques	Réduction de DCO, minéralisation partielle et totale, production de biogaz.	Procédé lent, traitement des AB biodégradables, Certaines AB sont récalcitrant et toxiques pour les boues. Accumulation de biomasse.
POA	Simple, Minéralisation totale, traitement des AB non biodégradables.	Coût élevé, dépendance de nombreux paramètres.
Enzymatiques	Simples, efficaces, rapides et spécifiques.	Isolement purification d'enzymes. Transformation de certains types de molécules d'AB.

CHAPITRE III :

MATÉRIELS & MÉTHODES

III.1. Objectifs

Toute notre étude a été réalisée au sein du laboratoire de la faculté des sciences de l'université de Médéa.

Cependant, l'objectif de la présente étude s'oriente vers la réalisation des étapes suivantes :

1. Extraction et purification de la peroxydase de navet ;
2. Traitement d'un AB utilisé en industrie pharmaceutique : « chlortétracycline» par la peroxydase de navet ;
3. Traitement de deuxAB utilisés en industrie pharmaceutique : « chlortétracycline et la doxycycline» par la méthode Fenton ;

Pour ce faire nous avons utilisé le matériel et nous avons appliqué les méthodes suivantes.

III.2. Présentation des matières premières

III.2.1. Réactifs chimiques

Les réactifs chimiques utilisés dans cette étude sont listés dans le tableau III.1.

Tableau III.1.*Réactifs chimiques utilisés et leurs caractéristiques*

Nom chimique	Formule brute	Masse molaire (g/mol)	Pureté	Fournisseur
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2	34	34%	SIGMA-ALDRICH
Acétone	C_3H_6O	58.07	99.5%	SIGMA-ALDRICH
4-amino-antypyrine	$C_{11}\ H_{13}N_3O$	203	99%	BIOCHEM CHEMOPHARMA
Phénol	C_6H_6O	94.1	99.5%	RIEDEL-DE HAEN
Chlorure de potassium	KCL	74.55	99.5%	RIEDEL-DE HAEN
Acide chlorhydrique	HCL	36.46	33%	SIGMA ALDRICH
Biphtalate de potassium	$C_8H_5KO_4$	204.22		SIGMA ALDRICH
Hydroxyde de sodium	NaOH	40	98.5%	BIOPERFECT ALGER
Phosphate de potassium mono basique	KH_2PO_4	174.18	99%	BIOCHEM CHEMOPHARMA
Acide borique	H_3BO_3	61.83	99%	BIOCHEM CHEMOPHARMA
Sulfate de Fer	$FeSO_4$ (7.H_2O)	278,01	99.5%	SIGMA-ALDRICH
Bleu de Coomassie	$C_{47}H_{49}N_3NaO_7S$	855.028		SIGMA-ALDRICH
Éthanol	C_2H_6O	46.06	95%	SIGMA-ALDRICH
Dihydrogène phosphate	H_2PO_4	97	85%	SIGMA-ALDRICH
SAB				SIGMA-ALDRICH

III.2.2. Les Antibiotiques

c. Chlortétracycline

Les caractéristiques du Chlortétracycline utilisée sont résumées dans le tableau III.2.

***Tableau III.2**. Caractéristiques physico-chimiques du Chlorhydrate de chlortétracycline utilisé* **[63]**

Caractéristique	**Description ou valeur**
Formule chimique	$C_{22}H_{24}Cl_2N_2O_8$
Nom chimique	2-amino hydroxy methylidene-7-chloro-4-dimethylamino-6,10,11,12a-tetrahydroxy-6-methyl-4,4a,5,5a-tetrahydrotetracene-1,3,12-trione hydrochloride, 2-azanyl oxidanyl methylidene-7-chloranyl-4-dimethylamino-6-methyl-6,10,11,12a-tetrakis oxidanyl-4,4a,5,5a-tetrahydrotetracene-1,3,12-trione hydrochloride
Masse molaire	515.3g/mol
Aspect	Poudre jaune cristalline, inodore
Point de fusion (°C)	210-215
Solubilité	Peu soluble dans l'eau et dans l'éthanol à 96 pour cent. Soluble dans les solutions d'hydroxydes et de carbonates alcalins.
Pureté (%)	98
Formes pharmaceutiques	Comprimé, pommade

d. Doxycyclinehyclate

Tableau III.3**. Caractéristiques physico-chimiques du Doxycycline utilisé **[63]

Caractéristique	**Description ou valeur**
Formule chimique	$(C_{22}H_{24}N_2O_8)_2.C_2H_6O.H_2O$
Masse molaire	1026 g/mol
Aspect	Poudre jaune cristalline au goût amer qui dégage une légère odeur de solvant
Point de fusion	201°C
Solubilité	Soluble dans l'eau et dans le méthanol. Insoluble dans l'éther.
Pureté (%)	98.5
Formes pharmaceutiques	Comprimé, micro-granule.

III.3. Matériel utilisé

Les manipulations réalisées ont nécessité d'utiliser le matériel détaillé dans le tableau III.3.

Tableau III.4. *Matériel utilisé.*

Matériel	Marque
Agitateur magnétique avec plaque chauffante	AGIMATIC - N
Balance électrique (Max 220g /d=0.1 mg)	AKERN
Bain Marie (20-120°C)	AGIBAT
Centrifugeuse (500-6000 tour/min)	HETTICH
Mixeur domestique	BESCH
pH-mètre	OAKTON
Spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)	SHIMADZU
Spectrophotomètre UV visible (3000nano)	OPTIMA
Étuve	

III.4. Méthodes expérimentales et techniques de caractérisation

III.4.1. Préparation des solutions tampons [63]

Tampon pH 2 : à partir d'une solution de KCl(0,2mol/l) on a prélevé 5 ml dans un bêcher de 250 ml, puis on a ajusté le pH à 2 avec une solution de HCl (0,2 mol/l).Enfin, on a complété jusqu'à 100 ml avec l'eau distillée.

Tampon pH 3 et tampon pH 4 : à partir d'une solution de biphtalate de potassium [$KHC_6H_4(COO)_2$] (0,2 mol/l), on a prélevé(pour chaque pH) : 5 ml, puis on a ajusté au pH désiré avec HCl(0.2 mol/l).Enfin, on a complété jusqu'à 100 ml avec l'eau distillée.

Tampon pH 5 : à partir d'une solution de biphtalate de potassium [$KHC_6H_4(COO)_2$] (0.2 mol/l), on a prélevé : 5 ml, puis on a ajusté au pH 5 avec NaOH 0,2 mol/l. Enfin, on a complétée jusqu'à 100 ml avec l'eau distillée.

Tampon pH 6, 7 et 8 : à partir d'une solution de phosphate de potassium monobasique (KH_2PO_4) (0.2 mol/l), on a prélevé 5 ml, puis on a ajusté au pH désiré avec NaOH (0.2 mol/l).Enfin, on a complété jusqu'à 100 ml avec l'eau distillée.

Tampon pH 9 et 10 : à partir d'une solution d'acide borique (H_3BO_3) (0.2 mol/L) et de KCl (0.2 mol/l), on a prélevé 2.5 ml de chaque solution, puis on a ajusté au pH désiré avec NaOH (0.2mol/l). Enfin, on a complété jusqu'à 100 ml avec l'eau distillée.

III.4.2. Caractérisations spectrales des AB utilisés

Cette partie consiste à caractériser la CTC et la DXC par UV-vis et FTIR.

a. Spectrométrie UV-Vis

- ***Principe :***

La spectrophotométrie UV-Visible est basée sur l'interaction des radiations lumineuses et de la matière dans le domaine du proche ultraviolet (UV) au très proche infrarouge (IR), soit entre 180 et 1100 nm. Cette partie du spectre apporte peu d'informations structurelles, mais a beaucoup d'importance en analyse quantitative. Les calculs d'absorbance des composés dans le proche UV et le visible par application de la loi de Beer-Lambert constituent la base de la méthode connue sous le terme général de colorimétrie pour tout spectre enregistré dans le visible **[64].**

Lorsqu'un faisceau de rayonnement est monochromatique incident d'intensité I_0traverse une substance colorée. On observe une absorption d'énergie de sorte que l'intensitédu faisceau émergent I est plus faible. Cette absorption monochromatique répond à la loi de Beer-Lambert qui s'exprime sous la forme **[64]** :

$$DO = Log (I_0 / I) = \varepsilon . C . l \qquad (III.1)$$

Avec:

DO : Absorbance

I : Intensité du faisceau émergent

I_0 : Intensité du faisceau incident

ε : Coefficient d'extinction massique (l/cm.g)

C : Concentration massique du composé dosé (g/l)

l : Épaisseur de la cuve (cm)

L'analyse de nos échantillons a été effectuée avec un spectrophotomètre UV/Visible de la figure III.1.



Figure III.1*.Spectrophotomètre UV visible utilisé*

- ***Mode opératoire :***

Il se résume dans la détermination de la longueur d'onde et dans l'établissement de la courbe d'étalonnage.

En premier lieu le balayage a été effectué pour des solutions aqueuses d'AB de concentration de 20 mg/l. La courbe obtenue permet d'identifier la valeur de λ_{max} des molécules d'AB.

En second lieu, et à la longueur d'onde maximale identifiée (λ_{max},), on mesure les DO pour une série de solutions aqueuses de concentrations allant de 0 à 40 mg/l. Les courbes d'étalonnage obtenues s'expriment par la variation de la DO en fonction de la concentration d'AB.

b. Caractérisation par FTIR

- ***Principe :***

Le principe de Transformation de Fourier (TF) se base sur le fait que chaque fonction peut être décomposée en une somme de fonctions sinusoïdales, chaque fonction sinusoïdale étant définie par deux valeurs : sa fréquence (longueur d'ondes) et son amplitude (intensité). Un spectromètre FT-IR comporte essentiellement cinq parties (Figure III.2): une source lumineuse, un dispositif permettant de générer les interférences, un compartiment échantillon (porte échantillon), un détecteur ou capteur photosensible et un convertisseur analogique numérique qui transforme le signal analogique en un signal numérique manipulable par le système informatique **[65].**

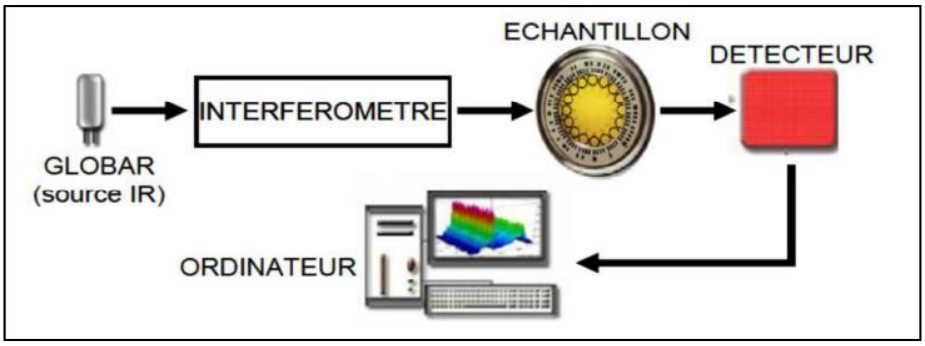


Figure III.2. *Principaux composants d'un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier,* ***[65].***

- ***Mode opératoire :***

Les spectres FTIR ont été obtenus par préparation des pastilles de CTC/KBr et de DXC/KBr avec une proportion de 1 %. Tous les échantillons ont été préalablement séchés à l'étuve à 50°C pendant 6 h.

La préparation des pastilles a été réalisée par broyage de la substance à analyser en présence du KBr, le mélange est ensuite comprimé sous une pusse (presse). En fin, les pastilles ont été mises pour analyse FTIR où les spectres d'absorption infrarouge ont été enregistrés dans la gamme de nombres d'onde comprise entre 400 et 4000 cm^{-1}.

III.4.3.Extraction et purification de la peroxydase de navet blanc

a. Extraction de la peroxydase de navet

400g de navet blanc bien rincée avec l'eau distillée et coupée en morceaux a été homogénéisé avec 400 ml d'eau distillée dans un mixeur pendant 5 minutes. Le mélange est ensuite filtré sur multicouches pliés d'une gaze (on évite les pertes à la cour de la filtration). L'extrait récupéré est l'EEB, (Figure III.3).

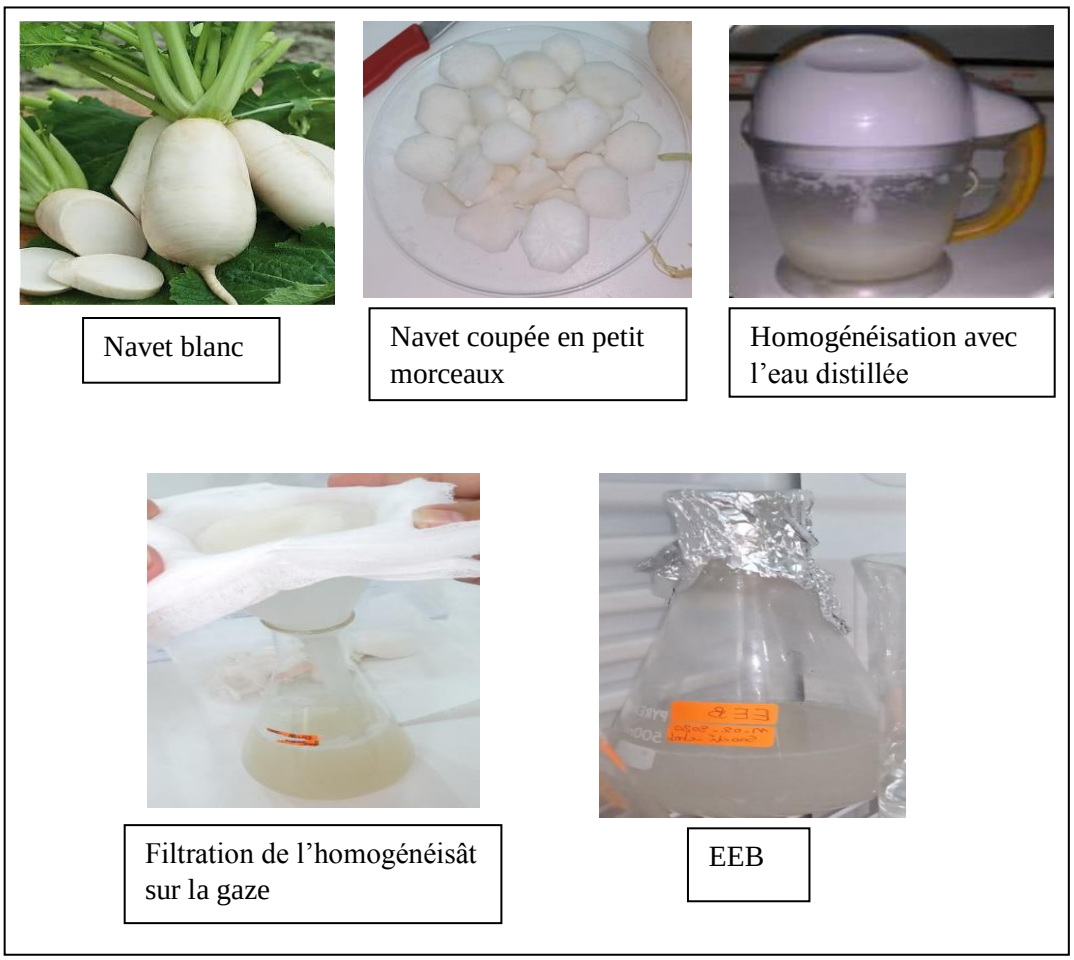


Figure III.3.*Protocole expérimental d'extraction de la peroxydase de navet.*

b. Purification de la peroxydase extraite

L'EEB obtenu a subi une purification à l'acétone dont le protocole expérimental (figure III.4) se résume comme suit :

- Addition goutte à goutte d'un volume égal d'acétone pré-refroidit à un volume de l'EEB porté sous-agitation et mis dans un bain d'eau glacée.
- Conservation du mélange obtenu dans le réfrigérateur (T = 4°C) pendant 2h.
- Centrifugation du mélange obtenu à 4000 tr/min pendant 10 min.
- Dissolution des culots récupérés dans une solution tampon phosphate pH 7.

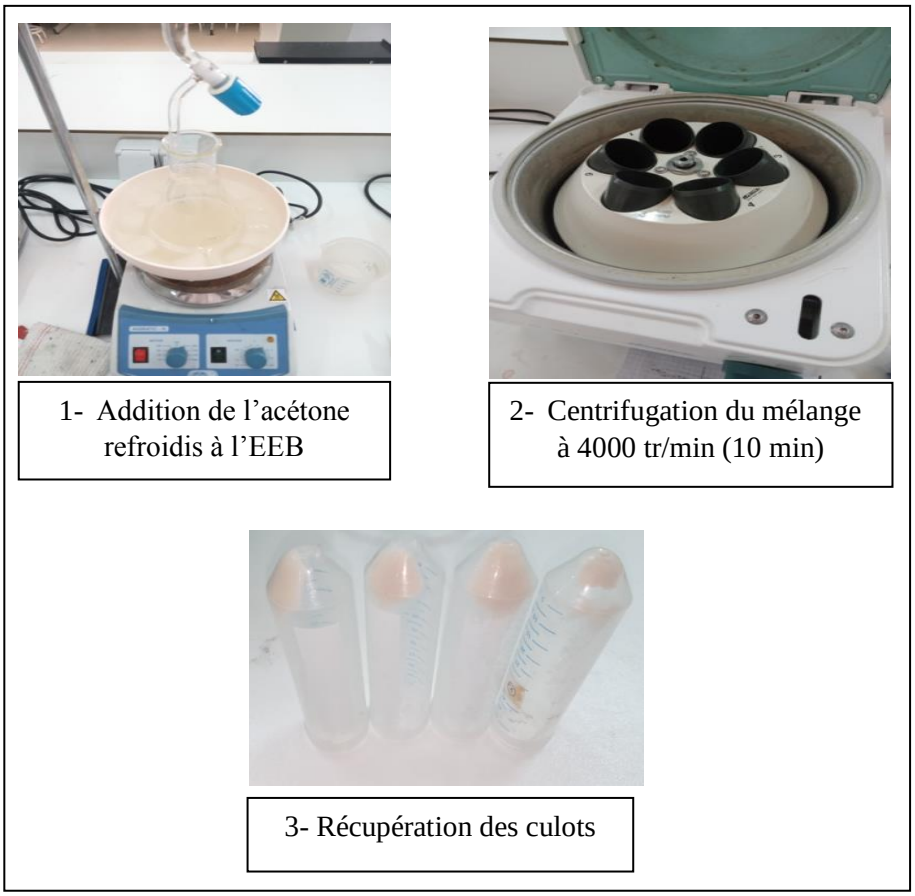


Figure III.4.*Protocol expérimental de purification de la peroxydase de navet.*

III.4.4.Mesure de l'activité enzymatique de la peroxydase

La mesure d'activité peroxydasique basée sur le principe colorimétrique en utilisant le 4-aminoantipyrene, en présence du phénol et du peroxyde d'hydrogène comme substrats.

L'apparition de quinoneimine produit coloré en rose, absorbe dans la gamme visible à une longueur d'onde maximale (entre 500 et 517 nm) ce qui permet de mettre en œuvre une technique de mesure d'activité enzymatique en continu.

L'unité d'activité enzymatique est définie comme la quantité de la peroxydase qui transfère 1µmol du peroxyde d'hydrogène par minute à 25°C. Cette activité est calculée à partir de la relation suivante :

$$AE = \frac{\Delta DO}{\Delta t} . \frac{V_m}{V_e . \varepsilon} . 10^3 \qquad \text{(III.2)}$$

Avec :

AE : l'activité enzymatique (UI/ml)

Vm : Volume du mélange réactionnel (ml)

Δt : intervalle de temps (min)

Ve : Volume de l'extrait enzymatique (ml)

ε : Coefficient d'extinction molaire (l/mol.cm)

L'évaluation de l'AE de l'EEPP est basée sur l'identification de la longueur d'onde maximale et la détermination du coefficient d'extinction molaire du de quinoneimine établi à partir de la courbe d'étalonnage du peroxyde d'hydrogène exprimé par :

$$DO = f(H_2O_2) = \varepsilon . [H_2O_2] \qquad \text{(III.3)}$$

Les produits colorés de la réaction de dosage de l'activité peroxydasique pour les différentes concentrations de peroxyde d'hydrogène sont donnés sur la figure III.5.

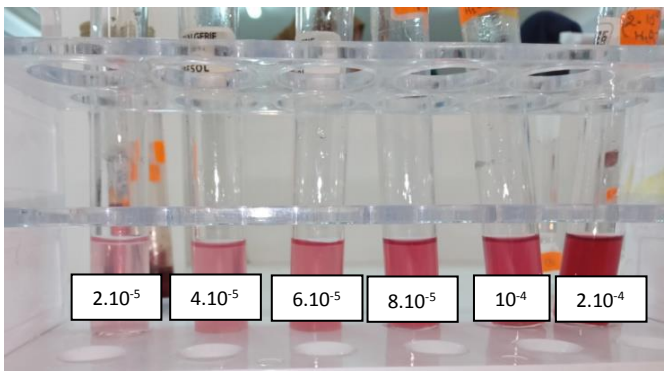


Figure III.5.*Produits colorés formés de la réaction colorimétrique pour différentes concentration de peroxyde d'hydrogène.*

III.4.5. Dosage de la quantité des protéines dans les extraits enzymatiques

a. Principe

La technique de Bradford **[66]** utilise la fixation du bleu de Coomassie sur les protéines. Ce colorant existe sous 3 formes : une forme anionique colorée en bleu (λ_{max} =595 nm), une forme cationique rouge (λ_{max} = 470 nm) et une forme neutre verte (λ_{max} = 650 nm). C'est la forme anionique qui se fixerait préférentiellement aux protéines grâce à des interactions électrostatiques avec les groupements cationiques des protéines (plus particulièrement les groupements fonctionnels basiques et/ou aromatiques).

b. Mode opératoire

La quantité des protéines totale de chaque extrait enzymatique (brut, partiellement purifié) est dosée selon la méthode de Bradford. La concentration est déterminée à l'aide d'un courbe étalon de sérum d'albumine bovin SAB, en ajoutant 0.1 ml de sérum à différentes concentrations au 5 ml de réactif de Coomassie et 0.25 ml d'Hydroxyde de sodium (NaOH) de concentration 1 M. La DO de chaque échantillon sera mesurée à 595 nm.

Les mélanges réactionnels (réactifs de Bradford) utilisés ont les compositions chimiques suivantes :

- Bleu de Coomassie (100mg /l).
- Éthanol à 95% (50ml).
- H_3PO_4 à 85% (100ml).

Le mélange reste 24 h sous agitation à l'obscurité puis on fait une filtration sur papier filtre.

On réalise une gamme d'étalonnage contenant 0 à1 mg /ml de protéine à partir d'une solution mère de 1mg /ml.

La détermination de la courbe d'étalonnage de sérum d'albumine bovin (SAB) est résumée dans le tableau III.5.

Tableau III.5*. Volumes des réactifs utilisés lors de la détermination de la quantité des protéines.*

C (mg/ml)	0	0.10	0.25	0.50	0.75	1.00	EEPP
$\boldsymbol{V_{Etalon}}$ **(µl)**	100	100	100	100	100	100	100
$\boldsymbol{V_{NaOH}}$**(µl)**	250	250	250	250	250	250	250
$\boldsymbol{V_{réactifdeBradford}(ml)}$	5	5	5	5	5	5	5

III.4.6. Détermination de l'activité spécifique et de l'activité totale

l'activité spécifique et l'activité totale, sont définies comme suit :

$$\mathrm{AS} = \frac{\mathrm{AE}}{\text{Concentration des protéines}} \qquad \text{(III.4)}$$

$$\mathrm{AT} = \mathrm{AE}.\mathrm{V_t} \qquad \text{(III.5)}$$

Avec :

AE : Activité enzymatique (UI/ml)

AS : activité spécifique (UI/mg).

AT : activité totale (UI).

V_t : volume total de l'extrait enzymatique purifié, (ml).

III.4.7.Transformation de la CTC par la peroxydase du navet blanc

Dans cette partie, nous allons appliquer le traitement enzymatique qui met en jeu la peroxydase extraite du navet.

Toutes les expériences réalisées au cours de cette partie ont été effectuées, en appliquant le même protocole. Les mélanges réactionnels sont préparés dans des tubes à essais, bien nettoyés, ils contiennent :

- 3ml de solution tampon d'un pH donné
- 1ml de CTC
- 1ml d'H_2O_2

La réaction est initiée par l'ajout de 0.2 ml d'extrait enzymatique partiellement purifié, on laisse la réaction se déroulé pendant un temps déterminé ensuite les réactions sont arrêtées et les mélanges sont centrifugés pendant 15 minutes avec une vitesse de 4000 tour/min. L'analyse des mélanges avant et après la centrifugation est effectuée par un spectrophotomètre UV-visible (à λ_{max} du CTC) afin de déterminer la concentration résiduelle du CTC, au cours de son élimination par la peroxydase.

La transformation est évaluée par le calcul du rendement en utilisant la formule (III.6) :

$$\text{RT}\ (\%) = \left[\frac{\text{DO}_{\text{initiale}} - \text{DO}_{\text{finale}}}{\text{DO}_{\text{initiale}}}\right] \text{x}\ 100 \qquad \text{(III.6)}$$

a. Effet du pH

Les expériences ont été réalisées pour un mélange réactionnel constitué de substrat, de co-substrat et de l'enzyme.

L'effet de pH concerne les valeurs de pH variant de 2 à 10 en utilisant des solutions tampons de pH déterminé.

La réaction a été déclenchée par addition de l'enzyme puis laissée se dérouler pendant 30 min. En fin, la réaction a été arrêtée par désactivation thermique.

L'expérience consiste à préparer des mélanges réactionnels de volume de 5 ml dont la composition est donnée sur le tableau III.5.

Tableau III.6. *Composition du mélange réactionnel utilisé pour le traitement du CTC par la peroxydase de navet*

Paramètre	**C_{AB} (mg/l)**	**C_{H2O2} (mM)**	**AE (UI/ml)**
Concentration	10	0.4	14.44 UI/ml

b. Effet de température

Les expériences ont été réalisées pour un mélange réactionnel composé des réactifs du tableau III.4, en utilisant des solutions tampons de pH optimal.

Ces mélanges réactionnels sont portés aux températures de : 15 ; 20 ; 25 ; 30 ; 37 ; 40 ; 50 et 60°C.

c. Cinétique de transformation

Aux conditions optimales de pH et de température, on prépare une série de mélanges réactionnels aux concentrations données au tableau III.5.

Laisser les réactions se dérouler pendant : 1, 2, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 et 60min.

III.4.7.Transformation des AB par la méthode Fenton

On prépare un mélange réactionnel contenant : l'AB, le peroxyde d'hydrogène et les ions ferreux, dont les concentrations sont détaillées dans le tableau III.6. Le mélange réactionnel a été porté à pH 3 à l'aide d'une solution tampon pH3. On laisse la réaction pour se dérouler pendant 30 min, ensuite la réaction est arrêtée par neutralisation du pH (addition de NaOH 1N).Puis les mélanges sont centrifugés à 4000tr/min pendant 15 minutes.

Les différents surnageant ont subi une analyse spectrométrique par UV-Vis à λmax de chaque AB.

Tableau III.7. *Composition du mélange réactionnel utilisé pour le traitement du CTC et de la DXC par la méthode Fenton*

Paramètre	**C_{AB} (mg/l)**	**C_{H2O2} (mM)**	**C_{Fe2+} (mM)**
Concentration	10	5	2.5

III.4.8. Modélisation de rendement de transformation chimique des AB par la méthode TAGUCHI

Pour étudier l'influence des paramètres de configuration combinés, nous avons utilisé la méthode de TAGUCHI qui permet un choix optimal de ces paramètres. La modélisation consiste à étudier le rendement en fonction des trois paramètres de configuration combinés suivant un plan factoriel.

L'objectif par la méthode TAGUCHI est de trouver les niveaux optimaux des paramètres (C_{AB}, C_{H2O2}, C_{Fe2+}) qui maximisent le rendement de transformation.

Les niveaux choisis sont fixés à 3 d'où le nombre d'essais est donc : $3^3 = 27$ essais 'expériences'.Les niveaux choisis sont résumés sur le tableau III.7.

Tableau III.8. *Niveaux des trois facteurs choisis.*

Essais	C_{AB} ***(mg/l)***	C_{H2O2} ***(mM)***	C_{Fe2+} ***(mM)***
1	10	1	0.5
2	50	5	2.5
3	90	9	4.5

CHAPITRE IV :

RÉSULTATS & DISCUSSIONS

IV.1. Introduction

Cette partie n'a pas pu être achevée à cause de l'épidémie du Corona virus (COVID 19), alors nous allons présenter quelques résultats, et nous allons compléter l'étude par une présentation des résultats de quelques travaux antérieurs s'articulant dans le même axe de notre travail.

IV.2. Caractérisations spectrales des AB utilisés

IV.2.1.Par UV-Vis

Les spectres UV-Vis de la DXC et de la CTC présentés par les figures IV.1 et IV.2. indiquent des longueurs d'onde maximales de ces deux molécules aux valeurs : 381 nm et 370 nm respectivement.

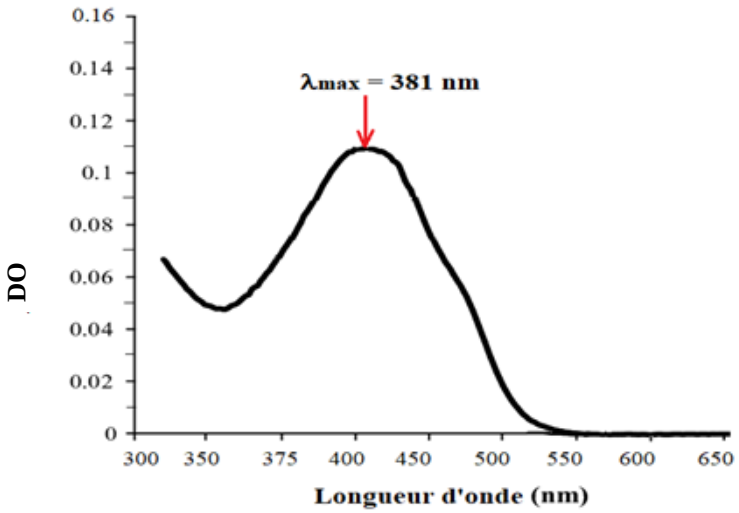


Figure IV.1. *Spectre d'absorption UV-Vis de la molécule CTC (10 mg/l)*

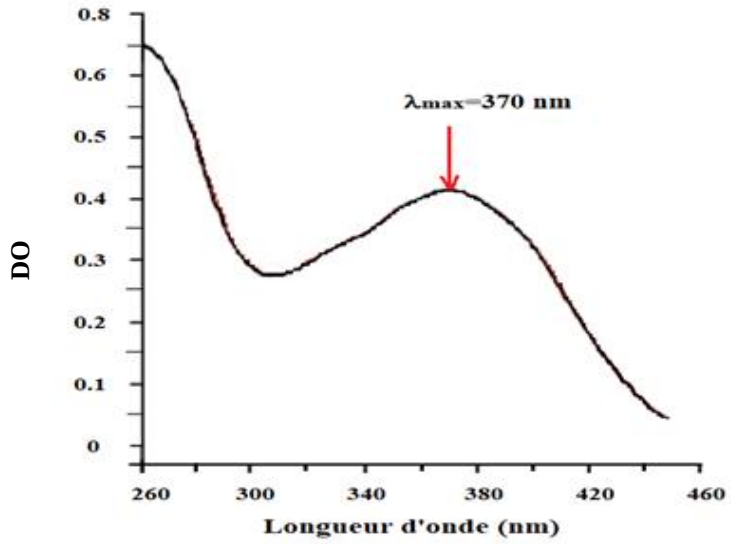


Figure IV.2. *Spectre d'absorption UV-Vis de la molécule DXC (10 mg/l)*

Ainsi, la courbe d'étalonnage de la CTC est illustrée par la figure IV.3.

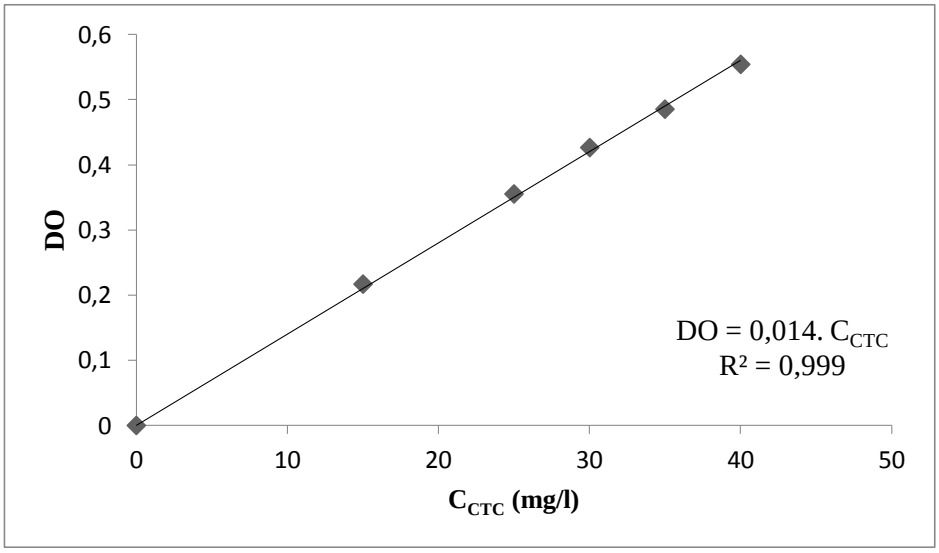


Figure IV.3. *Courbe d'étalonnage de la CTC.*

IV.2.2.Par FTIR

Pour la caractérisation IR de la CTC, le spectre est donné par la figure IV.4.

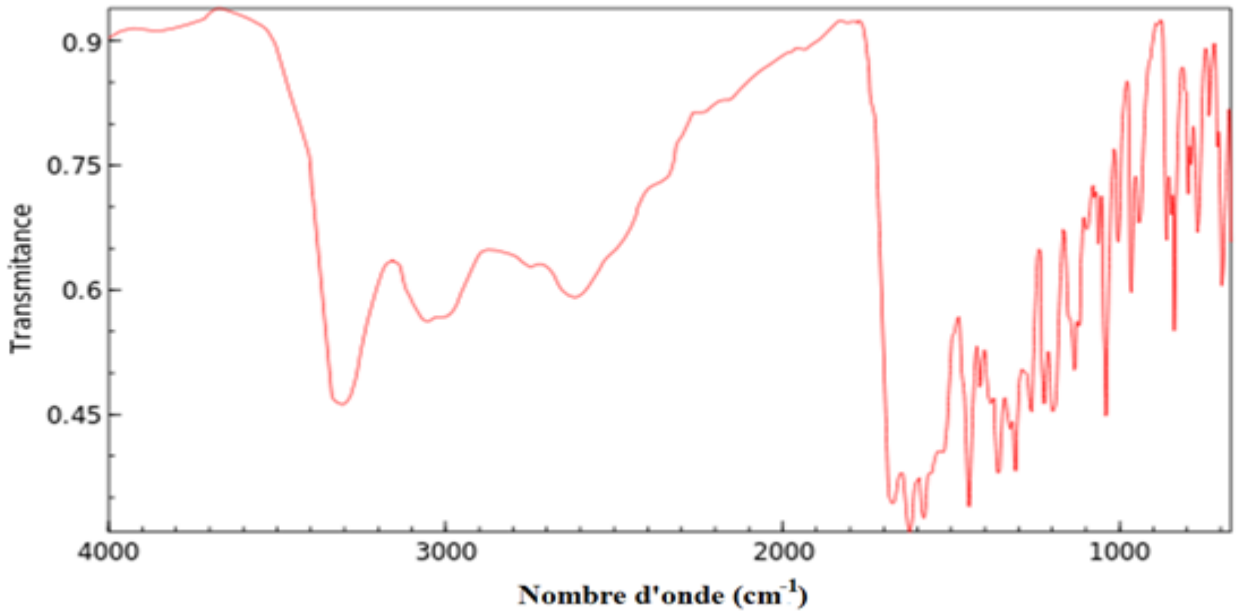


Figure IV.4.*Spectre IR de la CTC selon,* ***[67]***

L'analyse du spectre IR de la CTC, nous permis de cibler les principaux nombre d'onde de vibration (élongation et déformation) aux fonctions de la molécule CTC. Ceci est détaillé dans le tableau IV.1.

Tableau IV.1*. Attribution des bandes de vibration IR de CTC*

Liaisons	**Bandes caractéristiques (cm^{-1})**
υ (C-Cl)	750
$\delta(C\text{-}H)_{aromatique}$	800
υ (C-O)	1000
υ(C-N)	1100
υ (C-C)	1200
$\upsilon\ (C{=}C)_{aromatique}$	1450
$\upsilon\ (O\text{-}H)_{phénol}$	1400
υ (C=O) amide	1620
υ (C=O) cétone	1800
υ (C-H) aromatique	3050
$\upsilon\ (O\text{-}H)_{phénol}$	3350

De même, l'analyse du spectre IR de la DXC (donnée par la figure IV.5) est détaillée dans le tableau VI.2.

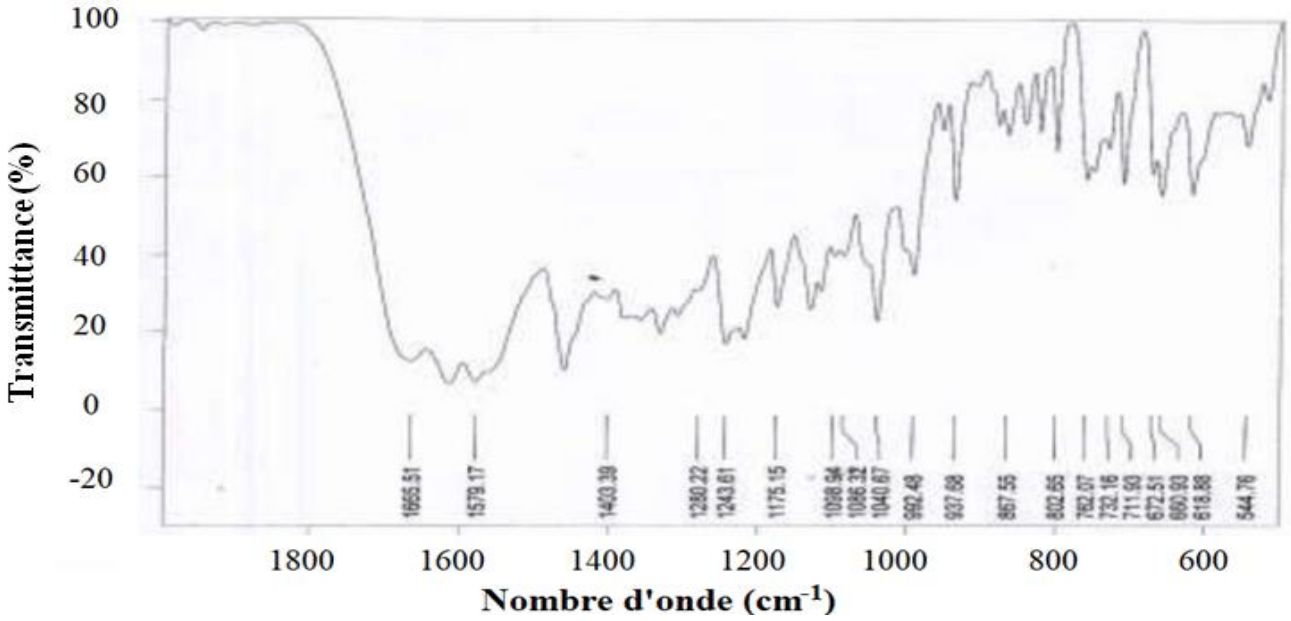


Figure IV.5. *Spectre IR de la DXC selon,* ***[68]***

Tableau IV.2*. Attribution des bandes de vibration IR de la DXC*

Liaisons	**Bandes caractéristiques (cm^{-1})**
δ(C-H) aromatique	867
υ (C-O)	1040
υ (C-C)	1175
δ(N-H)	1243
δ $(O-H)_{phénol}$	1280
υ (C=C) aromatique	1433
υ (C=O) amide	1579
υ (C=O) cétone	1655

IV.3.Caractérisation de la peroxydase extraite

IV.3.1. Dosage de l'activité enzymatique

La représentation de l'évolution de la concentration du chromogène du Quinoneimine produit au cours des réactions de dosage de l'activité enzymatique de l'EEPP en fonction du temps donne l'allure de la figure IV.6).

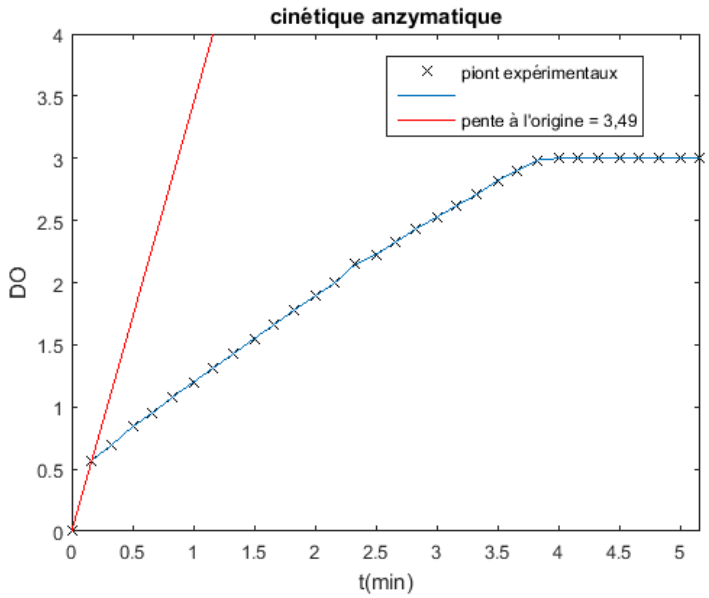


Figure IV.6. *Cinétique enzymatique de réaction de transformation de phénol par la peroxydase de navet à* λ_{max}=507nm

Ainsi, la courbe d'étalonnage de peroxyde d'hydrogène. Cette courbe est illustrée sur la figure IV.7

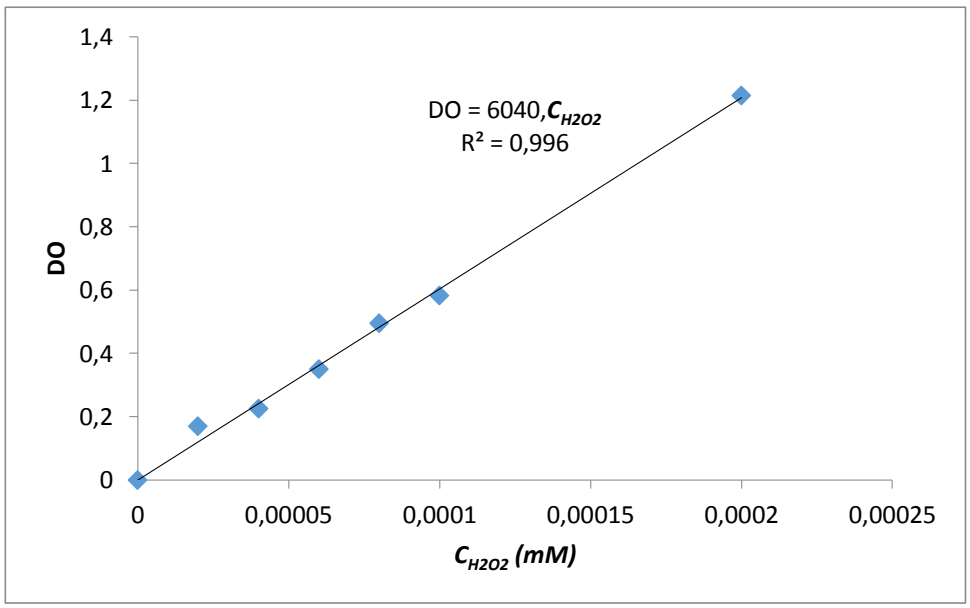


Figure IV.7*. Courbe d'étalonnage de peroxyde d'hydrogène, ε=6040 l/mol.cm*

Les résultats des figures IV.1 et IV.2, nous a permis d'évaluer la valeur de l'activité enzymatique de l'EEPP du navet qui est égale à 14.44 UI/ml.

IV.2.2. Mesure de l'activité spécifique de la peroxydase de navet

La courbe d'étalonnage du SAB est donnée par la figure IV.8.

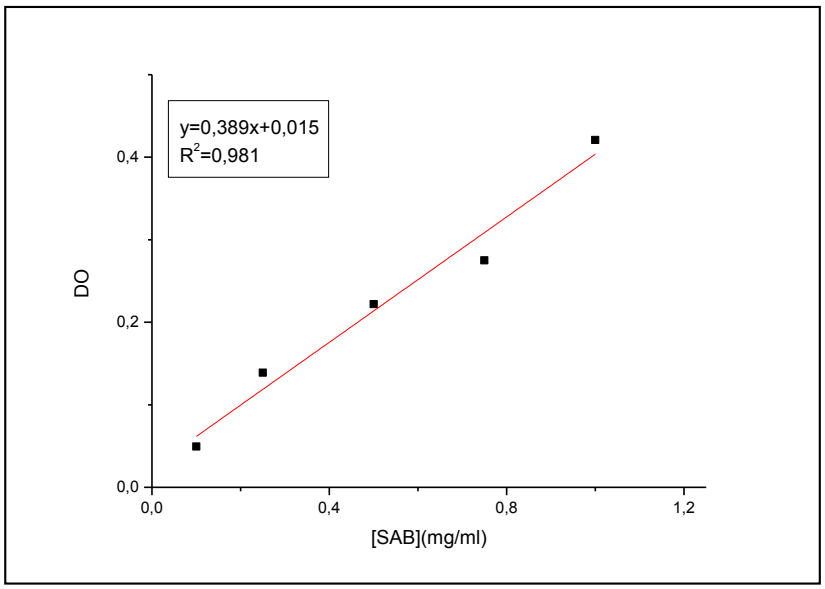


Figure VI.8.*Courbe d'étalonnage de sérum d'albumine bovin SAB à* λ_{max}*=595 nm*

La quantité des protéines dans l'EEPP et les paramètres de purification sont représenté sur le tableau IV.3.

Tableau IV.3. *Paramètres de purification de l'EEPP*

Enzyme	**AE (UI/ml)**	**[Protéines] (mg/ml)**	**AS (UI/mg)**	**V_t (ml)**	**A_t (UI)**
EEPP	14.44	2.21	6.53	100	1444

IV.3. Transformation de la CTC par la peroxydase du navet blanc

IV.3.1. Effet du pH

Les résultats de l'effet de pH sur le rendement de transformation de CTC par la peroxydase de navet blanc sont traduits sur la figure IV.9.

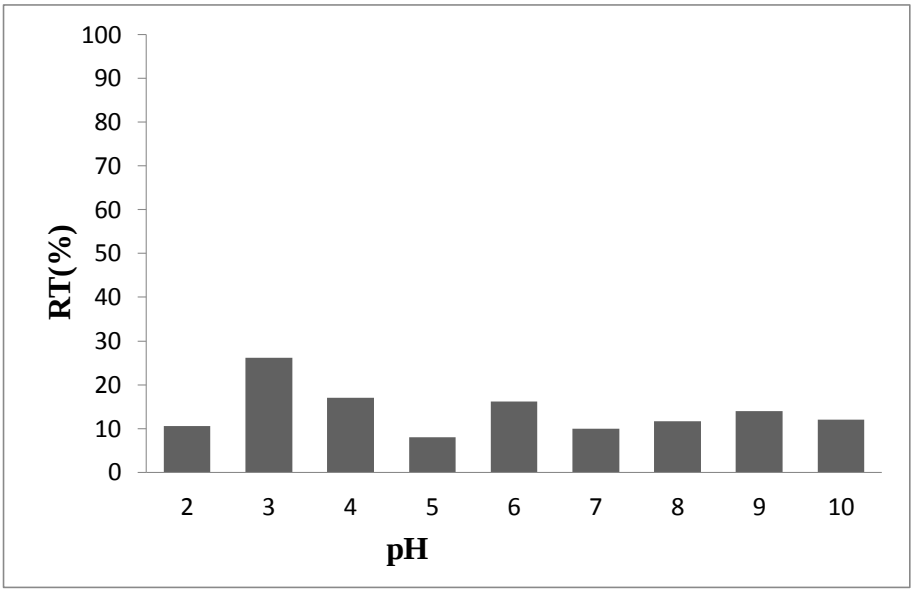


Figure IV.9. *Variation du rendement de transformation du CTC en fonction du pH (C_{AB} = 10 mg/l, C_{H2O2} =0.4 mM et AE = 14.44 UI/ml)*

D'après la figure IV.9,on constate que la transformation du CTC par la peroxydase de navet est faible (pour une AE de 14.44 UI/ml), elle atteint un maximum de 23.11 % seulement à pH 3. Cela peut être dû à la résistance de la molécule de CTC à l'oxydation enzymatique. Par ailleurs, avec la doxycycline (un résultat non présenté) n'a pas était transformée par la peroxydase. De ce fait, les autres paramètres (température et cinétique de transformation) n'ont pas été étudiés.

IV.4.Étude de la transformation de la TC et de l'OTC par la lignine peroxydase [69]

IV.4.1.Cinétique de transformation

Aux conditions expérimentales citées par l'auteur, les cinétiques de transformation de la TC et l'OTC sont représentées par la figure IV.10.

Il est clair que la dégradation de ces deux AB est rapide, un RT de plus 95 % a été atteint dès les première 5 min. Après 30 min, des traces de ces molécules seulement n'ont pas été transformées : (concentration résiduelle des AB est moins de 0.25 mg/l).

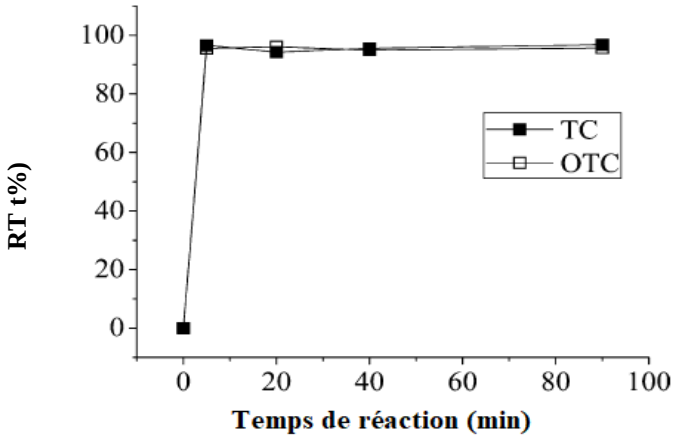


Figure IV.10. *Cinétique de transformation de l'OTC et de la TC par la lignine peroxydase*

(pH 4.2, $C_{alcoolveratryl}$ =2mM,C_{H2O2} =4 mM, $C_{TC\ or\ OTC}$= 50mg/L, AE_{LiP} = 40 IU/l, T= 37 °C)

IV.4.2.Effet de pH

La figure IV.11, montre qu'un RT maximal de la CT et de l'OTC est atteint à pH 4.2. Cependant, la dégradation est stable dans l'intervalle du pH de 3.6 à 4.2. Au-delà de cette valeur, on observe que le RT du TC a diminué plus rapidement que celui de l'OTC.

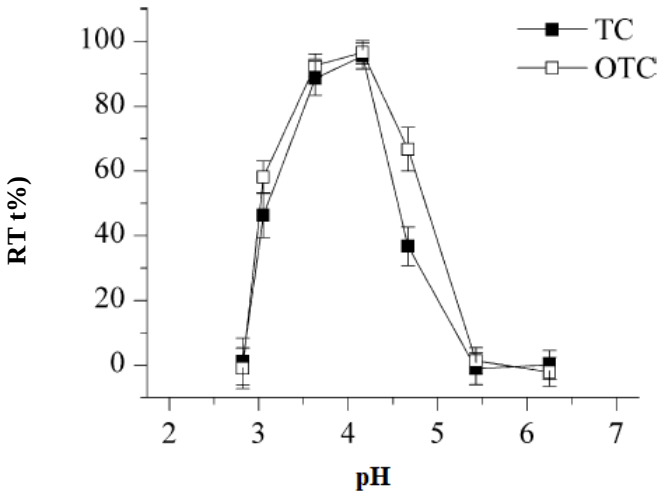


Figure IV.11. *Effet de pH sur la transformation de l'OTC et de la TC par la lignine peroxydase*($C_{alcoolveratryl}$ = 2 mM, C_{H2O2} =4 mM, C $_{TC\ or\ OTC}$ = 50mg/l, AE $_{LiP}$ = 40 IU/l, T= 37 °C)

Cette dépendance de dégradation au pH du milieu de la réaction est dû au fait que ce paramètre intervient dans l'ionisation des acides aminés constituant le site actif de l'enzyme. En plus, il a été prouvé que les molécules portant un noyau tétracycline présentent une certaine stabilité vis-à-vis la variation du pH, d'où l'action de lignine peroxydase dépends fortement de pH et elle est maximale pour des valeurs de pH acide.

IV.4.3.Effet de température

L'influence de la température sur la transformation de TC et de l'OTC est donnée sur la figure IV.12.

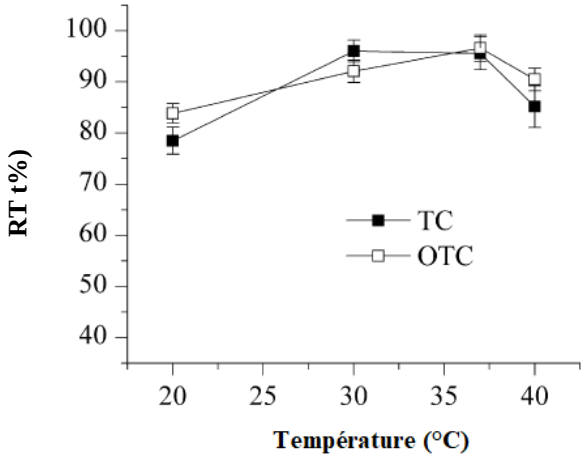


Figure IV.12. *Effet de température sur la transformation de l'OTC et de la TC par la lignine peroxydase (pH 4.2, $C_{alcoolveratryl}$ = 2 mM, C_{H2O2} =4 mM, $C_{TC\ or\ OTC}$ = 50mg/l, AE_{LiP} = 40 IU/l)*

A 20°C, les RT de la CT et de l'OTC sont 78 et 83%. Ensuite, et lorsque la température varie entre30 et 37°C, la TC est presque totalement éliminée tandis qu'à la même température, la transformation de l'OTC est de 90%. De même de la figure IV.12, l'élimination des deux molécules d'AB à une température supérieure est diminuée, ceci peut être dû l'instabilité voire l'inactivation de l'enzyme.

IV.4.4.Effet de la concentration de peroxyde d'hydrogène

La figure IV.13, illustre la dépendance de la transformation de TC et de l'OTC à la variation de peroxyde d'hydrogène.

Cette figure montre que la présence de peroxyde d'hydrogène influe considérablement sur la transformation enzymatique de la TC et de l'OTC, cette transformation est maximale (95%) pour les deux molécules à une concentration de H_2O_2 de 0.3 mM. Aux valeurs supérieures, la dégradation est faiblement influencée cet

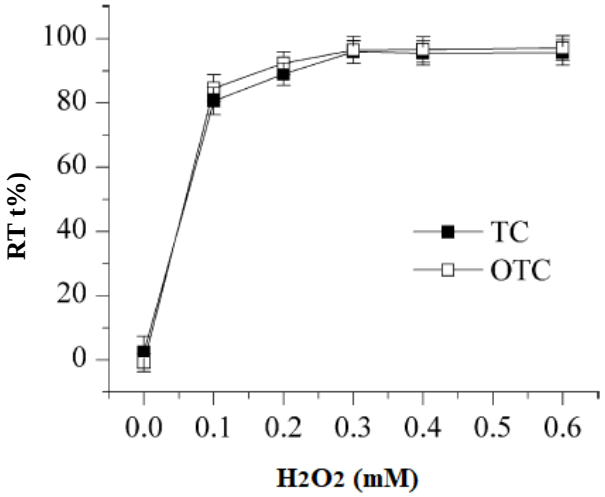


Figure IV.13. *Cinétique de transformation de l'OTC et de la TC par la lignine peroxydase*

(pH 4.2, $C_{alcoolveratryl}$ = 2 mM, $C_{TC\ or\ OTC}$ = 50mg/L, AE_{LiP} = 40 IU/l, T= 37 °C)

IV.5. Transformation des AB par la méthode Fenton

Aux concentrations de chaque AB : CTC et DXC (10 mg/l) pris séparément, et aux concentrations de peroxyde d'hydrogène (5 mM) et des ions ferreux (2.5 mM), la transformation Fenton de ces deux molécules a conduits aux RT CTC et de la DXC de 92 % et de 100 % de la respectivement.

Les figures IV.14 et IV.15. Montrent l'aspect des deux solutions avant et après transformation Fenton.

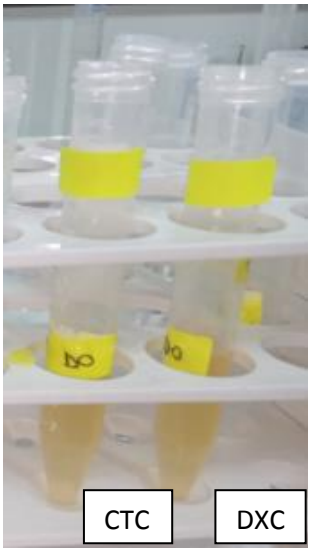


Figure IV.14. *Solutions des AB (10mg/l) avant transformation*

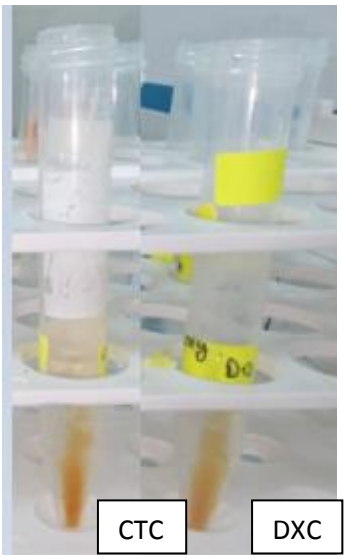


Figure IV.15.*Solutions d'AB (10 mg/l) après transformation*

A la lumière de ces résultats, on peut dire que :

- La molécule de DXC a été transformée complétement par les radicaux hydroxyles.
- Le RT atteint 92% pour la molécule de CTC, un résultat supérieur à celui obtenu par Pulicharla et al. **[70]** qui arrivé une RT de 76% avec une concentration de peroxyde d'hydrogène de 0.88 mM et une concentration de cations ferreux de 0.53 mM.

Cependant, selon les travaux antérieurs **[70, 71]**, la transformation par les radicaux hydroxyles de la molécule de CTC, n'a jamais été totale (elle ne dépasse 90%).

Pulicharla et al. **[69],** ont proposé aprés une analyse par spectroscopie de masse, un mécanisme de transformation de la CTC par le procédé Fenton. Ce mécanisme est illustré par la figure IV.16.

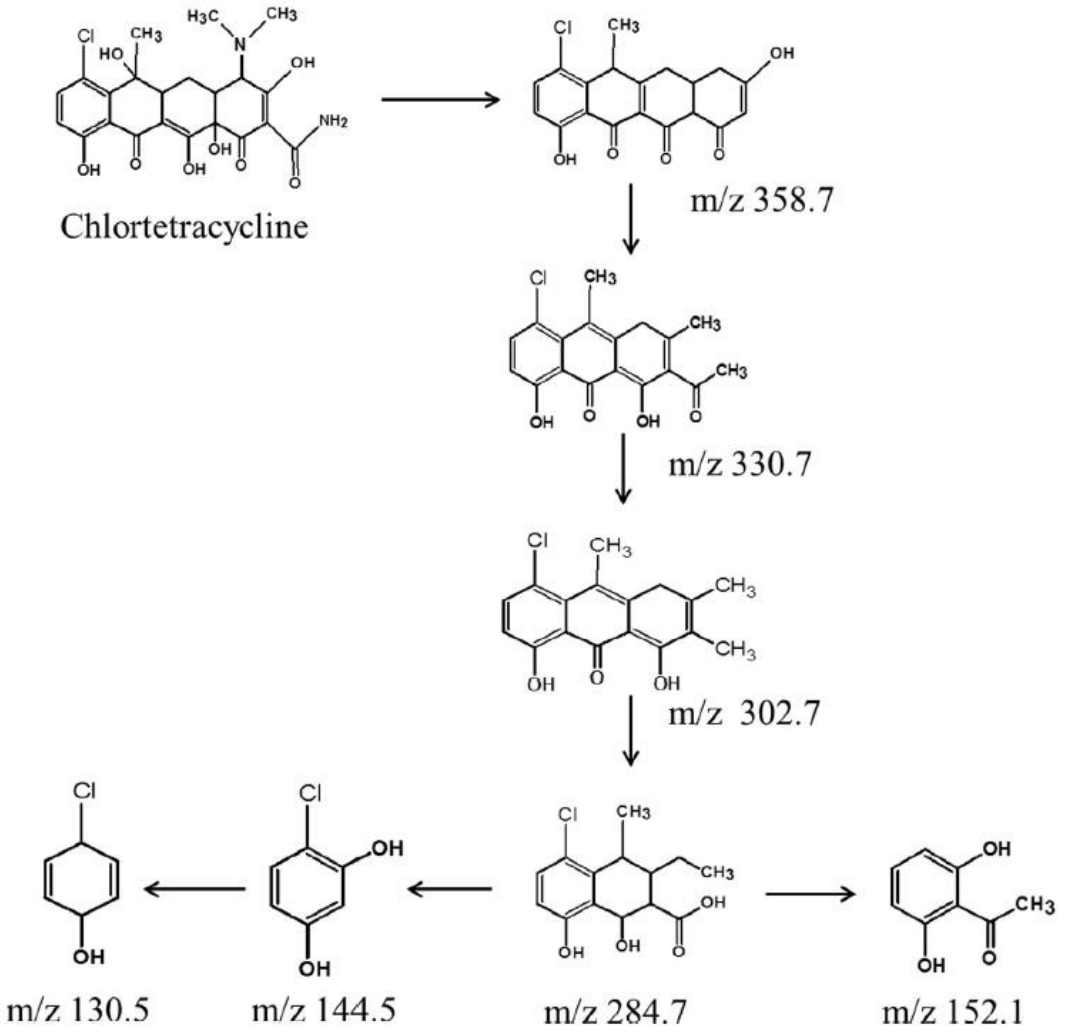


Figure IV.16. *Mécanisme proposé de transformation de la CTC par le procédé Fenton* ***[69].***

Selon ce mécanisme, la réaction des radicaux $HO^{\bullet}$ avec la molécule de CTC ne conduit pas à une minéralisation de cette dernière.

Ainsi, les radicaux $HO^{\bullet}$ attaquent facilement les groupes C-4 diméthylamino et C-2 carboxyle amide et une deuxième oxydation par ces radicaux entraine la formation des composés intermédiaires aromatiques tricycliques et dicycliques. En effet, les radicaux $HO^{\bullet}$ agissent d'une manière non sélective sur les groupements hydroxyde des cycles aromatiques en conduisant aux plus petits fragments.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Cette étude, qui s'inscrit dans le cadre général de la dépollution d'environnement, les produits pharmaceutiques est un problème environnemental émergent, l'un des produits pharmaceutiques les plus nocifs sont les antibiotiques en raison de leur forte production dans le monde et leurs larges utilisationsa eu pourobjectif d'appliquer deux méthodes impliquéesdans le traitement des antibiotiques, la méthode enzymatique et la méthode chimique d'oxydation avancée "Fenton"autraitement d'une solution aqueuse de deux antibiotiques présentent dans l'écosystème : la chlortétracycline et la doxycycline. Ces antibiotiques, ont été choisis à cause de sa forte utilisation sur l'échellemondiale en médecine vétérinaire et humaine, leur impact environnemental et leur non élimination par les stations d'épurations.

Au cours de la présente étude nous avons arrivé aux conclusions suivantes :

- La peroxydase de navet extraite et purifiée à l'acétone avait une activité enzymatique de 14.44UI/ml et une activité spécifique 6.53 UI/mg de protéines.
- La peroxydase extraite de navet était faiblement capable de transformer la CTC où une transformation maximale de 26.11% était atteinte à pH 3 à une concentration de de CTC de 10mg/l et de 0.4mM de peroxyde d'hydrogène.En ce qui concerne la DXC, le rendement était très bas (négligeable).
- Les radicaux hydroxyles étaientfortement capables de transformer les deux antibiotiques aux concentrations de 10mg/l et aux concentrations de 5mM et 2.5mM de peroxyde d'hydrogène et des ions ferriques respectivement. Les rendements atteints étaient de 92% et 100% pour la CTC la DXC respectivement.
- Pour le premier travail de recherche étudié, la lignine peroxydase a montré son efficacité de transformer la tétracycline et l'oxytétracycline avec une transformation presque totale.
- Dans le deuxième travail de recherche étudié, il a été montré que les radicaux hydroxyle ont la capacité de transformer la molécule de chlortétracycline en petite molécules avec un rendement de dégradation de 76%.

En perspective, et comme notre objectif de recherche n'a pas était atteint, nous souhaitons dans futur, de compléter le travail par une étude complète visant à :

- Appliquer un traitement enzymatique sur d'autres molécules d'antibiotiques
- Appliquer le traitement Fenton sur les molécules d'antibiotiques étudiées avec élaboration d'un modèle décrivant la transformation.
- Accomplir l'étude par une caractérisation approfondie des produits de transformation.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1] S. Sonia, A. Saidane.Dégradation de l'Amoxicilline par le procédé Electro Fenton hétérogène, Thèse de Magister, Université A. Mira-Bejaia, Algérie 2019.

[2] E. Benito-Pe˜na, A.I. Partal-Rodera, M.E. Le´on-Gonz´alez, M.C. Moreno-Bondi, "Evaluation of mixed mode solid phase extraction cartridges for the preconcentration of beta-lactam antibiotics in wastewater using liquid chromatography with UV-DAD detection". AnalyticaChimicaActa 556, 415-422, 2006.

[3] M. Soufan. Oxydation par le chlore de composés pharmaceutiques. Thèse de doctorat, université de Poitiers, France 2011.

[4] I. Yahiaoui. « Dégradation de composés organiques récalcitrants (phénol, colorants etantibiotiques) par oxydation électrochimique directe sur électrode de plomb couplée à untraitement biologique », Thèse de Doctorat, Université A. Mira-Bejaia, Algérie 2013.

[5] L. Mitscher. Antibiotics and antimicrobial agents. In: Principles of Medicinal Chemistry (Foye WO, Lemke TL, Williams DA, eds). Baltimore: Williams & Wilkins, 1995.

[6] B. Seddik khodja. "Élimination d'antibiotiques des eaux épurées de la STEP de Tiaret " thèse de magister, université des sciences et de technologie d'ORAN Mohamed Boudiaf, Algérie 2015.

[7] www.123bio.net, consulté le 22/05/2020.

[8] Q. Vicens. "Structures cristallographiques de complexes entre des fragments d'acides ribonucléiques comportant le site A ribosomique et des antibiotiques de la famille des aminoglycosides", Thèse de Doctorat, Université Louis Pasteur - Strasbourg, 2002.

[9] S. Kondo and K. Hotta. Semisynthetic aminoglycoside antibiotics: development and enzymatic modifications. J Infect Chemother, 5:1-9, 1999.

[10] T. K. Ritter and C. H. Wong, Carbohydrate-based antibiotics: a new approach totackling the problem of resistance. Angew Chem Int Ed, 40:3508-3533, 2001.

[11] M. Simonet. Structure mode d'action des antibiotiques et mécanisme de la résistance bactérienne. In : Berchem P, Gaillard JL et Simonet M. Bactériologie : les bactéries des infections humaines. Flammarion, Paris 1988.

[12] S. Faure. Les quinolones et les fluoroquinolones. Actualités pharmaceutiques, 447, 2008.

[13] L-M. Prescott, J-M. Willey, L-M. Sherwood, C-J. Woolverton. Microbiologie. 5éme édition, De Boeck supérieur, p 190.191, 2018.

[14] F. Ngyyen, A. L. Starosta, S. Arenz, D. Sohmen, A. Donhofer, D. N. Wilson, «tetracycline antibiotics and resistance mechanisms», biological Chemistry, 2014.

[15] L. BOULTIF, «Optimisation des paramètres de détection et de quantification des résidus d'antibiotiques dans le lait par chromatographie liquide haute performance (HPLC)», mémoire Magister, Université Mentouri de Constantine, 2009.

[16] C. Thorsten, R.J. Schneider, H.A. Färber, D. Skutlarek, M.T. Meyer and H.E. Goldbach, Determination of antibiotic residues in manure, soil, and surface waters. Acta Hydrochimica et Hydrobiologica, 31: 36-44, 2003.

[17] S.Budavary, M. O'Neil and A. Smith (Eds). The Merck Index. Merck and Co. Whitehouse Station. NJ. 1996.

[18] J.M. Pépin, «Impacts écotoxicologiques de certains médicaments dans l'environnement», maître en environnement (M.Env.), Sherbrooke, Québec, Canada, 2006.

[19] Anonyme 2, Aide publique et développement de l'élevage en Algérie contribution à une analyse d'impact 2000 2005. http://www.gredaal.com/ddurable/agricelevage/obselevages/publications/autres/Elevage Algerie-2005.pdf. Consulté le 15/04/2008.

[20] El watan. Algérie - Prescriptions abusives de médicaments - Gaspillage sur ordonnance. Consulté le 05/05/2018

[21] https://www.saidalgroup.dz/fr/: consulté le 17/04/2020.

[22] https://www.hikma.com/fr-dz/page-daccueil/, consulté le 17/04/2020

[23] https://www.radioalgerie.dz/news/fr/node/102565, consulté le 17/04/2020

[24] M. Zoubir, « Éliminations des composés pharmaceutiques par photo-fenton hétérogène (goethite et argile synthétique) étude cinétique et transfert des espèces organiques à l'interface minéral solution », Mémoire de Magister, Université Ferhat Abbas Sétif -1-, Algérie, 2015.

[25] J.P. Besse, « Impact environnemental des médicaments à usage humain sur le milieu récepteur : évaluation de l'exposition et des effets biologiques pour les écosystèmes d'eau douce ». Thèse de Doctorat. Université de Metz – UFR SCI.F.A, 2010.

[26] A. Alighardashi, « Composés pharmaceutiqueset eaux usées urbainesI. Analyse bibliographique, II. Effet de deux antibiotiques de type macrolide sur les boues activées », Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine, 2007.

[27] A. Y. Muna shueai, « Traitement de la pollution organique en milieu aqueux par le Procédé électrochimique d'oxydation avancé ''Électro-Fenton''. Application à la minéralisation des antibiotiques fluoroquinolones », Thèse doctorat, Université Mohammed V Rabat – Maroc, 2016.

[28] M. Slamani, « Élimination de rejet pharmaceutique par procédés d'oxydation avancée POA », Thèse de Doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis Mostganem, 2018.

[29] G.Crini, P.M. Badot, « Traitement et épuration des eaux industrielles polluées: procédés membranaires, bioadsorption et oxydation chimique », Presses universitaires de Franche-Comté, 2007.

[30] V. Homem, L. Santos, Degradation and removal methods of antibiotics from aqueous matrices – A review, Journal of Environmental Management.92, 2011.

[31] M.J. Ahmed, S.K. Theydan, Fluoroquinolones antibiotics adsorption onto microporous activated carbon from lignocellulosic biomass by microwave pyrolysis, Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers45, 2014.

[32] E.K. Putra, R. Pranowo, J. Sunarso, N. Indraswati, S. Ismadji, Performance of activated carbon and bentonite for adsorption of amoxicillin from wastewater: mechanisms, isotherms and kinetics, Water Research 43. 2009.

[33] W-R. Chen, C-H. Huang, Adsorption and transformation of tetracycline antibiotics with aluminium oxide, Chemosphere 79. 2010.

[34] V. Homem, L. Santos, Degradation and removal methods of antibiotics from aqueous matrices, A review", Journal of Environmental Management 92, 2011.

[35] D. Mansour, F. Fourcade, I. Soutrel, D. Hauchard, N. Bellakhal and A.Amrane, Relevance of a combined process coupling electro-Fenton and biological treatment forthe remediation of sulfamethazine solutions - Application to an industrial pharmaceutical effluent, Comptes Rendus Chimie 18, 2015.

[36] C. Adams, Y. Wang, K. Loftin, M. Meyer, Removal of Antibiotics from Surface and Distilled Water in Conventional Water Treatment Processes, Journal of Environmental Engineering128. 2002.

[37] P.E. Stackelberg, J. Gibs, E.T. Furlong, M.T. Meyer, S.D. Zaugg, R.L. Lippincott, Efficiency of conventional drinking-water-treatment processes in removal of pharmaceuticals and other organic compounds, Science of the Total Environment. 2007.

[38] N.M. Vieno, H. Härkki, T. Tuhkanen, L. Kronberg, Occurrence of Pharmaceuticals in River Water and Their Elimination in a Pilot-Scale Drinking Water Treatment Plant, Environmental Science & Technology 41, 2007.

[39] A. DIRANY, Studies on oxidation/mineralization kinetics and mechanism of antibiotics sulfamethoxazole (SMX), amoxicillin (AMX) and sulfachloropyridazine (S P C) in aqueous media by electrochemical advanced oxidation processes. Measuring and monitoring the evolution of toxicity during treatment, Thèse de Doctorat, Université Paris, 2010.

[40] D. Nasuhoglu, A. Rodayan, D. Berk, V. Yargeau, Removal of the antibiotic levofloxacin (LEVO) in water by ozonation and TiO_2 photocatalysis, Chemical Engineering Journal, 189-19, 2012.

[41] C.V. Gómez-Pacheco, M. Sánchez-Polo, J. Rivera-Utrilla, J. López-Peñalver, Tetracycline removal from waters by integrated technologies based on ozonation and biodegradation, Chemical Engineering Journal 178, 2011.

[42] I-S. Djakaou, « Élimination de solutés organiques polluants d'effluents liquides par plasma non thermique : comparaison des processus mis en jeu à l'interface liquide-plasma dans les procédés Glidarc et DBD », Thèse de Doctorat, Université pierre et marie curie -Paris VI, 2012.

[43] D. Chebli, « Traitement des eaux usées industrielles : Dégradation des colorants azoïques par un procédé intégré couplant un procédé d'oxydation avancée et un traitement biologique », Thèse de Doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif -1-, 2012.

[44] Z. MANAA, « Élimination des composés pharmaceutiques par photo-fenton hétérogène (goethite et argile synthétique) Étude cinétique et transfert des espèces organiques à l'interface minéral solution », Thèse de Magister, Université Ferhat Abbas Sétif -1-, 2015.

[45] I. Arslan-Alaton et F. Gurses, Photo-Fenton-like and photo-fenton-like oxidation of Procaine Penicillin G formulation effluent, Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry 165. 2004.

[46] M. Dorsaf, « Minéralisation des antibiotiques par procédé électro-Fenton et par procédé combiné: Électro-Fenton – Traitement biologique. Application à la dépollution des effluents industriels », Thèse de Doctorat, Université de Carthage, INSAT, Tunisie, 2015.

[47] O. Rozas, D. Contreras, M.A. Mondaca, M. Pérez-Moya, H.D. Mansilla, Experimental design of Fenton and photo-Fenton reactions for the treatment of ampicillin solutions, Journal of Hazardous Material 177, 2010.

[48] E. Yamal-Turbay, E. Jaén, M. Graells, M. Pérez-Moya, Enhanced photo-Fenton process for tetracycline degradation using efficient hydrogen peroxide dosage, Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry 267, 2013.

[49] D. Klauson, J. Babkina, K. Stepanova, M. Krichevskaya, S. Preis, Aqueous photocatalytic oxidation of amoxicillin, Catalysis Today 151, 2010.

[50] E.S. Elmolla, M. Chaudhuri, Comparison of different advanced oxidation processes for treatment of antibiotic aqueous solution, Desalination 256, 2010.

[51] E.S. Elmolla, M. Chaudhuri, Degradation of amoxicillin, ampicillin and cloxacillin antibiotics in aqueous solution by the UV/ZnO photocatalytic process, Journal of Hazardous Material 173, 2010.

[52] P. Calza, Photocatalytic transformations of sulphonamides on titanium dioxide, Applied Catalysis B: Environmental 53, 2004.

[53] M. Addamo, V. Augugliaro, A.D. Paola, E. García-López, V. Loddo, G. Marcì, et al., Removal of drugs in aqueous systems by photoassisted degradation, Journal of Applied Electrochemistry 35, 2005.

[54] E. Brillas, B. Boye, I. Siré s, J.A. Garrido, R.M. Rodrı´guez, C. Arias, et al., Electrochemical destruction of chlorophenoxy herbicides by anodic oxidation and electro-Fenton using a boron-doped diamond electrode, ElectrochimicalActa 49, 2004.

[55] T. González, J.R. Domínguez, P. Palo, J. Sánchez-Martín, E.M. Cuerda-Correa, Development and optimization of the BDD-electrochemical oxidation of the antibiotic trimethoprim in aqueous solution, Desalination 280, 2011.

[56] E. Guinea, J.A. Garrido, R.M. Rodríguez, P.L. Cabot, C. Arias, F. Centellas, E. Brillas, Degradation of the fluoroquinolone enrofloxacin by electrochemical advanced oxidation processes based on hydrogen peroxide electrogeneration, ElectrochimicalActa 55, 2010.

[57] M.S. Yahya, N. Oturan, K. El Kacemi, M. El Karbane, C.T. Aravindakumar, M.A. Oturan, Oxidative degradation study on antimicrobial agent ciprofloxacin by electro-fenton process: Kinetics and oxidation products, Chemosphere117, 2014.

[58] S. Garcia-Segura, J.A. Garrido, R.M. Rodríguez, P.L. Cabot, F. Centellas, C. Arias, et al., Mineralization of flumequine in acidic medium by electro-Fenton and photoelectro-Fenton processes, Water Research 46, 2012.

[59] Y. Anjaneyulu, N.S. Chary, D. S. Suman Raj, Decolourization of industrial effluents - available methods and emerging technologies, a review, Reviews in Environmental Science and Biotechnology 4, 2005.

[60] Q. Husain, Potential applications of the oxidoreductive enzymes in the decolorization and detoxification of textile and other synthetic dyes from polluted water: a review, Critical Review of Biotechnology 60, 2006.

[61] M. Hamid, K. Rehman, Potential applications of peroxidases, Review, Food Chemistry 115, 2009.

[62] X. Wen, J. Yannan, L. Jiaxi, Degradation of tetracycline and oxytetracycline by crude lignin peroxidase prepared from Phanerochaetechrysosporium – A white rot fungus, Chemosphere 75, 2009.

[63] : Pharmacopée européenne, 10ème Edition (2019)

[64] F. Roussac, A.Roussac, Analyses chimique, méthode et technique instrumentales modernes, Edition Masson. 1994.

[65] P.R. Griffiths. J.A. Haseth. Fourier transform infrared spectroscopy in raphs on analytical chemistry and its applications; 38, 1986.

[66] M.M. Bradford, A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, Analytical Biochemistry, 72, 1976.

[67] https://webbook.nist.gov/cgi/inchi?ID=B6005143&Mask=80, consulté le 27/05/2020

[68] S. Chand, D. Sharma, A. Sharma, S. Agarwal, R.B. Sharma, H.R. Vashist, "Formulation and evaluation of pH sensitive in situ ocular gel of doxycycline hyclate", International Journal of Development Research, 08, 2018.

[69] X. Wen, Y.Jia, J. Li, "Degradation of tetracycline and oxytetracycline by crude lignin peroxidaseprepared from Phanerochaetechrysosporium – A white rot fungus", Chemosphere 75, 2009.

[70] R. Pulicharla, S. K. Brar, T. Rouissi, S.Auger, P. Drogui, M. Verma, R. Y. Surampalli, « Degradation of chlortetracycline in wastewater sludge by ultrasonication, Fenton oxidation, and ferro-sonication", UltrasonicsSonochemistry 34, 2017.

[71] R. Daghrir, P. Drogui, N. Delegan, M.A. El Khakani, "Removal of chlortetracycline from spiked municipal wastewater using a photoelectrocatalytic processoperated under sunlight irradiations", Science of the Total Environment 466, 2014.