République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'enseignement Supérieur et la Recherche Scientifique



Université Dr. Yahia Farès de Médéa

Faculté des Sciences et de la Technologie

Département de Génie des Procédés et Environnement

Mémoire de projet de fin d'études

Pour l'Obtention du Diplôme de Master en Génie des Procédés

Option Bioprocédés Pharmaceutiques

Thème :

Elimination des colorants textiles par procédés enzymatique et Fenton

Proposé et dirigé par :

Dr. ABOUSEOUD.M

Mme.BOUCHERIT.N

Réalisés par :

MOUSSA NADJIA

BACHOUCHE FATNA

Promotion : 2012/ 2013

. ... Remerciements . ...

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

Monsieur le promoteur ***Abouseoud.M****, docteur à l'Université de Médéa, qui nous avez fait l'honneur d'avoir dirigé la réalisation de ce mémoire, nous vous remercie pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail.*

Mme Boucherit.N*, Co-promotrice, qui nous a fait un grand honneur de présider et suivi ce projet de fin d'étude. Qu'il veuille bien trouver ici toute notre gratitude et notre sentiments de respect. Nous leur dois également une profonde gratitude pour ses conseils, son aide pendant la réalisation des essais et des analyses au laboratoire et surtout pour son amitié. nous la remercions infiniment pour leur compétence et leur patience.*

Les travaux ont été réalisés au laboratoire d'analyse au niveau du hall de la technologie, université Dr.Yahia Farés de Médéa, sous la direction de ***Mr ALOUAOUI*** *et les ingénieurs de laboratoire Bouissa.N & Ali-Kacem.A, nous saisions cette occasion pour les remercier vivement pour avoir nous acceptés au sein de leur équipe. Leur aide inestimable, leur patience, leur grande expérience et les conseils qu'ils nous ont prodigués ,nous avons permis de conduire ce travail jusqu'à son terme.*

. ... *Dédicace* . ...

Je dédie ce travail de fin d'études :

À mes très chers parents *qui ont consacré tout ce qu'ils possèdent pour ma réussite.*

A mes frères : *Abd.K , Omar, Brahim, Salah, Khaled*

A mes sœurs : *Fatma, Naima, Djamila, Faiza, Sara, Hassiba*

A mes chers nièces et neuveux : *Moumen, Abd.N, Hoda, Younes, Sid-Ali, Mohamed, Fariel, Manel, Ihsane*

A mes consœurs *: Nawel, Samira, Hadjar, Fatima, Naima, Bahia*

Et avec toute la joie je le dédie à tous mes collègues de génie des procédés de la promotion 2013.

NADJIA

. ... Dédicace . ...

Je dédie ce travail de fin d'études:

À mes très chers parents *qui ont consacré tout ce qu'ils possèdent pour ma réussite.*

À mes sœurs : *Nacira , Reguia,Fatiha et Nadjat ;*

À mes frères *: Hamid, Ahmed,Djillali et Nourdine ;*

À mes neveux *: Ayoub et Mehdi .*

A la famille BACHOUCHE.

À mon amie *: Nadjia*

À mes chers enseignants et maîtres du primaire jusqu'aux études supérieures.

À la promotion 2013 et tous ceux qui m'aiment.

FATNA

OBIECTIFS

Dans notre travail, nous allons étudier les différents paramètres qui nous s'intéresse pour la dégradation des colorants par une méthode de traitement enzymatique /chimique, à l'aide d'un dispositif bien déterminés ,les expériences ont été réalisé au laboratoire d'analyse au niveau de hall de la technologie -Université de Médéa- . D'où nos objectifs sont les suivants :

- Extraction et purification de la peroxydase de courgette locale « *Cucurbita pepo* ».
- Etude de la dégradation des deux colorants textiles JD 106et BD 77 par la peroxydase libre par plans d'expériences.
- Etude de la dégradation des deux colorants JD 106 et BD 77 parle procédé de Fenton par plans d'expériences.
- Etude de la dégradation des deux colorants JD 106 etBD 77 par le couplage entre les procédés: peroxydase libre–Fenton en utilisant plans d'expériences.
- Caractérisation spectrale des surnageant après le traitement desdifférents procédés des colorants à partir des données prédéfinis (après l'optimisation des paramètres influençant sur le rendement de la décoloration).

III.1.Matériel et réactifs :

III.1.1.Equipements :

- Mixeur
- Balance analytique.
- Centrifugeuse.
- Agitateurs magnétique.
- pH-mètre.
- Thermomètre.
- SpectrophotomètreUV-vis (UV mini-1240).
- Chronomètre.
- Etuve (Memmert).

III.1.2.Réactifs utilisés

Les expériences exécutées au coursdutravail, nécessitent d'utiliser les produitsde qualité analytique selon les descriptions de tableau III.1.

Tableau III.1. Description général sur les réactifs utilisés au cours de travail

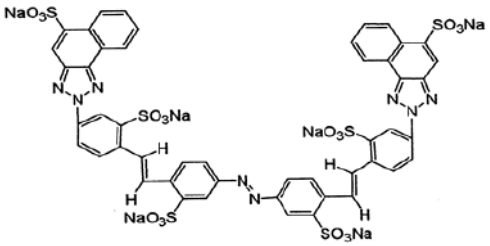
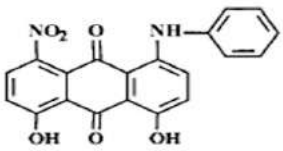
réactifs chimiques	Formule brute	Masse molaire g/mol
Acétone	C_3H_6O (85 %)	58,0791
Acide Chlorhydrique	HCl	36.5
Acide borique	H_3BO_4 (99%)	72
4-Amino-Antipyrine	$C_{11}H_{13}\ N_3O$	203,25
Biphtalate de potassium	$KHC_6H_4(COO)_2$	61.83
Bleu de Coomassie	-------	-------
Chlorure de Potassium	KCl	74,55
Eau distillée	H_2O	18
Ethanol	C_2H_5OH	46
Hydroxyde de Sodium	NaOH	40
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2(30%)	34,01
Phénol	C6H6O	94 ,11
Phosphate de Potassium monobasique	KH_2PO_4	136.09
Sulfate de Fer	$FeSO_4(1.5H_2O)$	151,91
Solutions tampons 2-10	*****	-------

*****les solutions tampons à différents pH, ont été préparé selon la pharmacopée américaine.

III.1.3. Propriétés physico-chimiques des colorants étudiés :JD106 et BD77

L'étude est basée sur la décoloration des deux colorants en respectant les normes des rejets industrielle dans la nature. Ce sont des produits synthétiques de familles différentes : dispersé ; direct.Les tableaux suivant s'accompagnent à des renseignements sur les deux colorants :

Tableau III.2. Propriétés physico-chimiquesdes colorants JD106 et BD 77

Colorant / **Propriétés**	JAUNE SOLOPHENYLE	Bleu Marine Bemacron
Dénomination selon colore index	Jaune direct 106 (DIRECT YELLOW 106)	Disperse Blue 77 (Bleu Disperse 77)
Aspect	poudreux, jaune-orange, inodore 	Poudreux ; bleu-noir ; inodore 
Solubilité	20,00 g/l dans l'eau à 20 °C	soluble dans l'eau
Formule brute	$C_{48}H_{26}N_8NA_6O_{18}S_6$	$C_{20}H_{12}N_2O_6$.
Formule développée		
Masse molaire	1333.09 g/mol	376.32 g/mole.
λmax	396nm	632nm
Famille	Azoïque	Anthraquinonique
Domaine d'application.	Soie, laine, tissu de nylon et industrie de papeterie, (industrie textile)	L'impression ; teinture des polyesters ;industrie textile

III.2.Méthodes :

III.2.1. Extraction de la peroxydase de la courgette [1] :

III.2.1.1.Mode opératoire, Préparation de l'extrait brut :

On pèse100 g de courgette bien nettoyé avec de l'eau distillée et coupée en petits morceaux, puis on les mettre dans un mixeur, ensuite on ajoute 200 ml d'eau distillée afin d'obtenir homogénéisât liquide.Ce dernier est filtré sur multicouche à gaze (compresse).Le filtrat est récupéré dans un erlenmeyer : c'est l'extrait enzymatique brut (noté EEB). La figure III.1 résume les différentes étapes d'extraction.



1- Courgette (rincée) est coupée enpetits morceaux (100g)



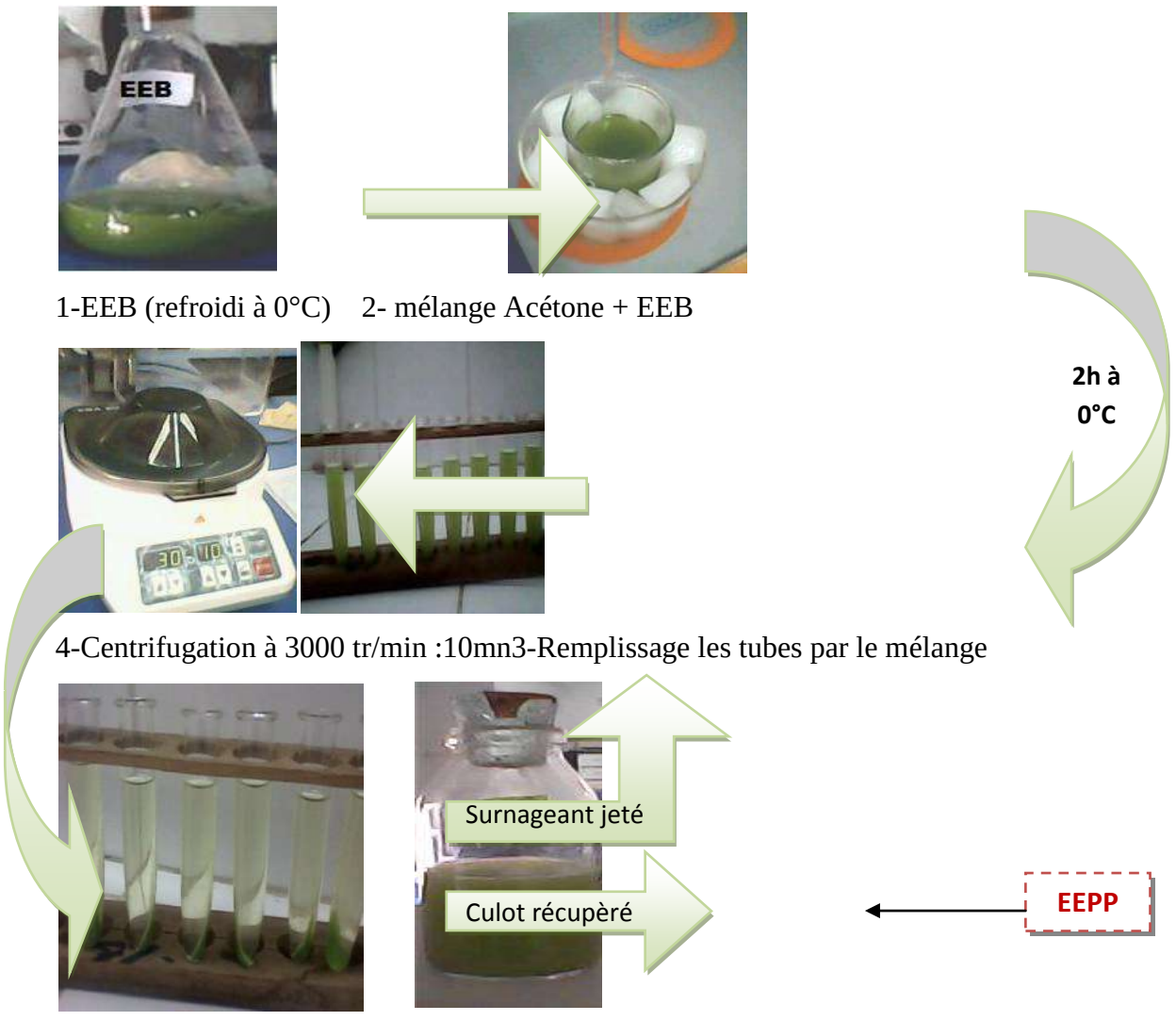
3- Filtration 2-Homogénéisation (mixeur)
+200ml d'eau distillée



4- L'extrait enzymatique brut (EEB).

Figure III.1. Protocole d'extraction de la peroxydase.

III.2.1.2 Préparation de l'extrait partiellement purifié [2]: Dans une burette on met un volume fixe d'acétone et dans un bécher un volume équivalent de l'EEB (les deux solutions sont préalablement refroidi à 0°C pendant 30min).Puis on verse l'acétone goutte à goutte dans l'EEB placé dans un bain d'eau glacée : le système est mis sous agitation continue. Le mélange extrait/acétone ainsi récupéré est refroidi à 0°C pendant 2h. Ensuite, ce mélange fait objet d'une centrifugation à 3000 tr pendant 10min. Enfin, on récupère les culots et on réalise une dissolution dans un volume de 100 ml de tampon pH 6, la solution finale est donc l'extrait enzymatique partiellement purifié (noté EEPP). Les étapes de purification sont résumées sur le protocole de la figure III.2.



1-EEB (refroidi à 0°C) 2- mélange Acétone + EEB

4-Centrifugation à 3000 tr/min :10mn3-Remplissage les tubes par le mélange

5-Après la centrifugation 6-dissolution de culot dans 100ml solution tampon pH 6 (conserver à l'endroit froid)

Figure III.2.Protocole de purification de la peroxydase par Acétone

III.2.2. Détermination desactivités catalytiques et spécifiques des extraits enzymatiques

III.2.2.1.Dosage de l'activité enzymatique [3]:

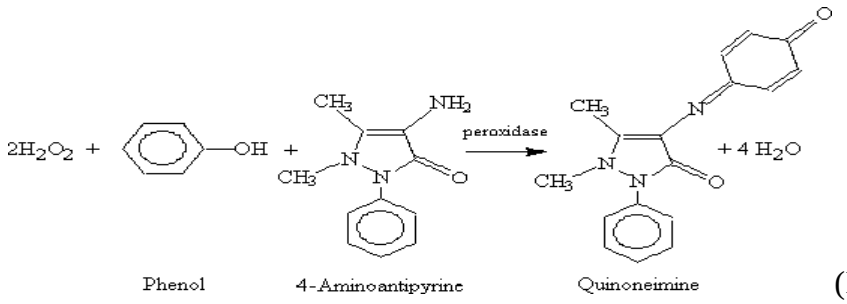
L'unité d'activité enzymatique est définie comme étant la quantité de la peroxydase qui transfère 1µmol du peroxyde d'hydrogène par minute à 25°C leur unité UI/ml. Cette activité est calculée à partir de la relation (III.1).

$$AE=\frac{\left(\frac{dC}{dt}\right)\times Volumedemélangeréactionnel}{volumed'enzymeinjectée} \text{(III.1)}$$

Avec AE : c'est l'activité enzymatique (UI/ml).

La mesure d'activité enzymatique se fait en continue ou discontinue, d'une manière général on utilise la méthode continue, basée sur le principe colorimétrique. On peut citer nu substrat capable d'oxydé à la présence de Co-substrat H_2O_2 comme suit:

- le phénol : en présence de la peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et de 4-Amino-antipyrine et la peroxydase, le produit formé au cours de temps soit coloré en rose due à l'oxydation de substrat par peroxydase c'est le quinoneimine, la réaction catalysée est indiquée l'équation (III.2):



(III.2)

Dans notre cas, nous avons réalisé un test préliminaire de localisation de la peroxydase dans une tranche de courgette (voir annexe 4). L'avancement de la réaction est déterminé par la mesure de l'augmentation de l'absorbance de Quinoneimine à λ_{max} = 517 nm qui indique l'évolution d'une couleur rose due à la transformation de phénol et H_2O_2.Par la suite, on exprime la vitesse initiale à partir de la pente à l'origine de la courbe cinétique étudiée, afin de déterminer l'AE de chacun des EEB et EEPP à partir de la 1^{iere} expérience.

Expérience N°1 : On prépare 3 tubes à essais contenant :

- 2ml de solution tampon pH7.
- 1ml d' H_2O_2 de concentration 0,01M.
- 1ml de 4-Amino-antipyrine à0.001M

- 1ml de phénol à 0.01M

le 1^{ier} tube servira comme blanc et dans le 2ème et le 3ème tube, on ajoute séparément 0,2 ml de l'EEB et 0,2 ml de l'EEPP, puis on passe à la mesure de l'absorbance et on note la DO chaque 10 seconde.

Expérience N°2 :

Préparer une série de tubes à essais (8tubes) contient le même mélange réactionnelle précédent mais à des concentrations d'H_2O_2 varie de (2.10^{-5} à 2.10^{-4}) mole/l. on laisse la couleur se stabilise par la suite on utilise la même λ_{max}pour faire la lecture à l'aide de spectrophotomètre UV $_{vis}$. Tracer la courbe DO = f([H_2O_2]).

III.2.2.2.Dosage de protéine par laméthode de Bradford [4] :

- **Principe :(voire Annexe5)**
- **Procédure :**

Introduit dans chaque tube à essais le mélange suivant (6 tubes):

- 0.1ml de l'albumine à différentes concentrations de 0-100mg/l (pas de 20)
- 0.25ml NaOH (1M).
- 5ml de réactif de Bradford.

Ensuite, on prépare 2 autres tubes à part bien rincés on introduit dans chacun le mélange :

- 0.1ml de EEPP/EEB
- 0.25ml NaOH (1M).
- 5ml de réactif de Bradford.

Agiter puis laisser à l'obscuritéles tubes 10min pour développer la coloration.

III.2.3.Etude de la stabilité de l'EEPP en fonction du pH et en fonction du temps :

En réalisant la même procédure de purification de l'extrait EEB par Acétone mais avec la dissolution du culot dans des solutions tampons de pH : 2, 3, 4, 5, 6,7, 8, 9 et 10 (annexe 7).

Toutes ces extraits sont analysés par la mesure de leurs AE le jour de la préparation et après chaque 3 jour, pendent un mois, en réalisant les expériences précédentes N°1,2 successivement, avec les mêmes conditions de travail.

III.3.Préparation et étalonnage des colorants (voir Annexe 8) :III.4. Etude de décoloration de JD106 et BD 77 par la peroxydase libre :

Premièrement, nous avons adopté pour l'optimisation du pH du milieu réactionnel et le temps de contact. Ensuite, nous avons essayé d'appliquer la méthode des plans d'expérience pour optimiser les concentrations en substrats et en enzyme.

III.4.1. Effet de pH :

Dans deux séries des tubes à essais, on prépare le mélange suivant :

- 3 ml de solution tampon à différents pH : 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10.
- 1 ml de colorant a une concentration (50 mg/l) de JD et (50 mg/l) de BD77.
- 1 ml de peroxyde d'hydrogène de concentration de 0,001M (JD106) et 0,02 M BD77.

La réaction est déclenchée par l'introduction de 0.86UI/ml d'EEPP, on laisse la réaction se dérouler 30 min (JD 106) et 30 min (BD 77) sous agitation puis on l'arrête par centrifugation des mélanges pendant 10 min avec une vitesse de 3000 tour/min. L'analyse des mélanges avant et après traitement se fait par spectrophotomètre UV-visible à λ_{max}.(on mesure le pH de chaque solution après la centrifugation)

L'expression de rendement de décoloration est donnée par l'équation (III.3).

$$R_d(\%) = \frac{DO_{initial} - DO_{finale}}{DO_{initial}} * 100 \quad \text{(III.3)}$$

III.4.2. Effet de Temps deContact :

Dans deux séries des tubes à essais nous introduisons :

- 3 ml de solution tampon à pH 2.
- 1 ml de colorant de concentration (50 mg/l) de JD106 et (50 mg/l) de BD77.
- 1 ml d'H_2O_2de concentration de 0,001M (JD 106) et 0,02M(BD77).

La réaction est déclenchée par l'introduction de 0.86 UI/ml de la concentration d'enzyme , on laisse la réaction se dérouler 2, 3, 8, 15,20 et 30 min (JD106) et 2, 5,10, 25 et 30 min (BD77)sous agitation , puis on arrête la réaction par la centrifugation des mélanges pendant 10 min avec une vitesse égal à 3000 tr/min. L'analyse des mélanges avant et après la centrifugation se fait par un spectropho-tomètre UV-visible à ($\lambda_{max(JD\ 106)}$=396nm et$\lambda_{max(BD77)}$ =632nm).

III.4.3. Principe des plans d'expériences - Méthode de TAGUCHI:

Leprincipe est basé sur la méthode TAGUCHI des plans d'expérience dits factoriels utilisent tous le modèle mathématique suivant qui relient la réponse y aux facteurs x_1, x_2, …x_i …x_n. Ce modèle théorique est postulé a priori. Il s'agit d'un modèle polynomial ,l'équation (III.4).

$$y=a_0+a_1.x_1+a_2.x_2+\ldots+a_n.x_n+\sum_{\substack{i,j=1 \\ i\neq j}}^{n}(a_{ij}.xi.xj)+\sum_{\substack{i,j,k=1 \\ i\neq j\neq k}}^{n}(a_{ijk}.xi.xj.xk)+\ldots \quad \text{(III.4)}$$

Tel que :

a_0,….., a_n : Coefficients du polynôme

Les termes produits de type par exemple a_{ij},x_i,x_j correspondent aux interactions. Pour un plan factoriel à 3 facteurs x_1, x_2 et x_3, on obtient par l'équation (III.5).

$$y=a_0+a_1.x_1+a_2.x_2+a_3.x_3+a_{12}.x_1.x_2+a_{13}.x_1.x_3+a_{23}.x_2.x_3+a_{123}.x_1.x_2.x_3 \text{ (III.5)}$$

Une fois ces effets,on pourra établir un modèle prédictif donnant la réponse (Y) .Un fonction des paramètres exprimés sous une forme réduite à partir des niveaux choisis:

$$Y=a_0+\Sigma a_i x_i+\Sigma a_{ij} x_i x_j+\Sigma a_{ijk} x_i x_j x_k \text{ (III.6)}$$

Sachant que :

a_i : c'est l'effet de paramètre x_i

a_{ij} :sont des effets des interactions entre paramètre $x_i x_j$

III.5.4.Optimisation des concentrations des substrats et de peroxydase En exécutant la méthode des plans d'expérience, à partir de 3 paramètres (ie 3 facteurs) afin de déterminer l'influence de chaque paramètre sur le rendement de décoloration : [colorant], [H_2O_2], [AE], et les niveaux sont fixés à 3 : deux extrêmes et des milieux: alors les essais sont calculés selon $3^3 = 27$ essais , on résume les donnés comme indique le tableau III.4.

Tableau.III.4. Estimation des facteurs influents sur le rendement de décoloration de milieu réactionnel.

essais	***[JD](mg/l)***	***[H_2O_2] (mM)***	***[AE] (UI/ml)***	**essais**	***[BD] (mg /l)***	***[H_2O_2] (mM)***	***[AE] (UI/ml)***
1	10	0.1	0.15	**1**	20	1	0.37
2	50	1	1.4	**2**	100	25	1.4
3	120	7.5	2.5	**3**	180	60	3.27

A partir des données detableau.III.4, on prépare un mélange réactionnel de 5 ml qui contient :

- 3 ml de solution tampon à pH 2.
- 1 ml de colorant à la concentration considérée tout dépend à l'essai à réaliser de JD106 / BD 77.
- 1 ml d'H_2O_2 de concentration considérée.

La réaction est déclenchée par l'ajout d'une quantité considérable de peroxydase (tout dépend à l'essai à réaliser), on laisse la réaction se dérouler sous agitation pendant le temps optimal (6 min) de chaque colorant, puis on termine par la centrifugation des mélanges pendant 10 min

avec une vitesse de 3000 tr/min. L'analyse des mélanges avant et après la centrifugation se fait par une lecture successive des DO à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible à λ_{max}données.Le tableau III.5 est le tableau des plans d'expériencespour le JD 106 et BD 77.

Tableau.III.5. Tableau des plans d'expériences pour le JD106 et BD77.

Essai N° :	[Colorant] (mg/l)	[H_2O_2] (mM)	[AE] (UI/ml)
1	1	1	1
2	1	1	2
3	1	1	3
4	1	2	1
5	1	2	2
6	1	2	3
7	1	3	1
8	1	3	2
9	1	3	3
10	2	1	1
11	2	1	2
12	2	1	3
13	2	2	1
14	2	2	2
15	2	2	3
16	2	3	1
17	2	3	2
18	2	3	3
19	3	1	1
20	3	1	2
21	3	1	3
22	3	2	1
23	3	2	2
24	3	2	3
25	3	3	1
26	3	3	2
27	3	3	3

Pour mentionner l'efficacité des résultats établis à l'issu de l'application des plans factoriels, il est nécessaire de calculer les effets moyens et les interactions entre les paramètres.

On peut calculer l'effet de A au niveau i (noté E_{Ai}), si M est la moyenne générale des rendements des essais effectués, la relation (III.7) s'écrit donc, [5]:

$$E_{Ai} = \bar{A}_i - M \quad \text{(III.7)}$$

$\bar{A}_i$:moyenne des réponses de A au niveau i.

L'interaction I_{AiBj}sera recherché à partir des résultats moyennes des essais réalisée lorsque le facteur A se trouve au niveau i et le facteur B au niveau j mais dans ces essais, l'effet principale E_{Ai} joue sur les réponses, de même que l'effet E_{Bj}.

I_{AiBj}=Moyenne des réponses lorsque(A=i,B=j)-M-E_{Ai}-E_{Bj}(III.8)

III.5. Etude de la décoloration des colorants JD106 et BD77 par procédé Fenton

III.6.1. Effet de pH :

Dans une série de béchers de 25 ml introduit le mélange réactionnel suivant :

- 6 ml de solution tampon à différents pH de 2 à 10.
- 2 ml de colorant à une concentration 50 mg/l chacun des JD 106 / BD77.
- 1 ml de [H_2O_2] de 0.008M (JD 106) et 0.04 M (BD 77).

La réaction est lancée par l'ajout de 1 ml de $FeSO_4$ de concentration 0.001M (JD 106) et 0.002 M (BD 77), le système est sous agitation pendent 15 min, puis on arrête la réaction par la centrifugation des mélanges (durent 10 min avec 3000 tour/min). L'analyse des mélanges avant et après la centrifugation se fait par un spectrophotomètre UV-visible à λ_{max} considérée.

III.6.2. Effet de temps deContact (t_{cont}):

Dans une série de béchers de 10 ml mettre :

- 3 ml de solution tampon à pH optimal prédéfinit.
- 1 ml de colorant à une concentration (50 mg/l) de JD 106 et (50 mg/l) de BD 77.
- 1 ml de[H_2O_2] de 0.1M (JD 106) et 0.12 M (BD 77).

La réaction est déclenchée par l'introduction de 1 ml de $FeSO_4$ de concentration 0.001 M (JD 106) et 0.002 M (BD 77), on laisse la réaction se dérouler (sous agitation) pendant 3, 5, 10 et 15 min (JD 106) / (BD 77), puis on l'arrête par l'ajout goute à goute de NaOH (0.5N) afin de régler le pH de milieu à 7, par la suite on passe à la centrifugation des mélanges sous mêmes conditions. L'analyse des mélanges se fait avant et après le traitement par la mesure des DO par UV-visible à λ_{max} de chacun des deux colorants.

III.5.3.Optimisation des concentrations de [colorant],[H_2O_2] et [Fe^{2+}] par plans d'expériences pour le procédé Fenton: Même principe d'optimisation que le 1^{ier} traitement,on a trois facteurs qui influent sur le rendement de décoloration : [colorant], [H_2O_2], [Fe^{2+}], et les niveaux sont fixés à 3 : deux extrêmes et des milieux. Alors les essais sont calculés selon $3^3 = 27$ essais 'expériences', les notations sont résumés dans le (Tableau III.6).**Tableau.III.6.**estimation des paramètres des plans d'expériences

Essais n° :	**[JD 106] (mg/l)**	**[H_2O_2] (mM)**	**[Fe^{2+}] (mM)**	**essais**	**[BD 77] (mg/l)**	**[H_2O_2] (mM)**	**[Fe^{2+}] (mM)**
1	10	0.5	0.2	1	20	5	0.1
2	50	8	1.5	2	100	30	1
3	120	16	3	3	180	60	2

Préparer un mélange réactionnel de 10 ml contenant:

- 6 ml de solution tampon de pH 2.
- 2 ml de colorant à la concentration correspondante de JD 106 et 1 ml de colorant à la concentration correspondante de BD 77.
- 2 ml de peroxyde d'hydrogène de concentration.

La réaction est déclenchée par l'introduction de Fe^{2+}, on laisse la réaction sous agitation àt_{opt} de chaque colorant, puis on centrifuge les mélanges pendant 10 min avec une vitesse de 3000 tr/min.

L'analyse des mélanges avant et après centrifugation se fait par un spectrophotomètre UV-visible à λ_{max}. Le tableau III.7résume les paliers de plans d'expériences pour chaque colorant comme suit :

Tableau.III.7. Plans d'expériences pour le JD 106 / BD 77 par le procédé de Fenton.

Essais N ° :	[Colorant] (mg/l)	[H_2O_2] (mM)	[Fe^{+2}] (mM)
1	1	1	1
2	1	1	2
3	1	1	3
4	1	2	1
5	1	2	2
6	1	2	3
7	1	3	1
8	1	3	2
9	1	3	3
10	2	1	1
11	2	1	2
12	2	1	3
13	2	2	1
14	2	2	2
15	2	2	3
16	2	3	1
17	2	3	2
18	2	3	3
19	3	1	1
20	3	1	2
21	3	1	3
22	3	2	1
23	3	2	2
24	3	2	3
25	3	3	1
26	3	3	2
27	3	3	3

III.6. La décoloration par couplage de procédés : peroxydase libre –Fenton :

Après l'optimisation des données concernant les deux colorants traités par différents procédées étudiés, et d'après l'objectif citer au dessus, on peut couplée les deux procédées simultanément pour prévoir un rendement maximal désirable de la décoloration du milieu. Ensuite, on va fixer les différents paramètres qui influent le rendement de décoloration de chaque colorant : pour JD106 et pour BD77 on a 3^3=27essais, donc on peut traduit les données de base comme indiquent les tableaux III.8 et III.9.

Tableau III.8. Les notions des paramètres : [Colorant], [H_2O_2] et [Fe^{+2}]

Essaisn° :	**[JD] (mg/l)**	**[H_2O_2] (mM)**	**[Fe^{2+}] (mM)**	**Essais n° :**	**[BD] (mg/l)**	**[H_2O_2] (mM)**	**[Fe^{2+}] (mM)**
1	10	0.1	0.2	1	20	5	0.1
2	50	8	1.5	2	100	30	1
3		18	3	3	180	60	2

Dans une série des béchers de 25 ml on introduit :

- 6 ml de solution tampon à pH optimal déterminé
- 2 ml de colorant de JD 106 et 1 ml de BD 77.
- 2 ml de Fe^{2+}
- Une AE_{opt} tout dépend le colorant étudié.
- La réaction est démarrée par addition de 2 ml d'H_2O_2 ;

Laisser la réaction sous agitation à 300 tr/min pendant t_{opt} de chaque colorant, puis on arrête la réaction par la centrifugation du mélange à 3000tr/min pendant 10 min, l'analyse se fait par la mesure de la DO à λ_{max}.

Tableau.III.9.matrice de planification pour le couplage des procédés enzymatique-Fenton.

Essais N ° :	[JD106] (mg/l)	[H_2O_2] (mM)	[Fe^{+2}] (mM)	[BD77] (mg/l)	[H_2O_2] (mM)	[Fe^{+2}] (mM)
1	1	1	1	1	1	1
2	1	1	2	1	1	2
3	1	1	3	1	1	3
4	1	2	1	1	2	1
5	1	2	2	1	2	2
6	1	2	3	1	2	3
7	1	3	1	1	3	1
8	1	3	2	1	3	2
9	1	3	3	1	3	3
10	2	1	1	2	1	1
11	2	1	2	2	1	2
12	2	1	3	2	1	3
13	2	2	1	2	2	1
14	2	2	2	2	2	2
15	2	2	3	2	2	3
16	2	3	1	2	3	1
17	2	3	2	2	3	2
18	2	3	3	2	3	3
19				3	1	1
20				3	1	2
21				3	1	3
22				3	2	1
23				3	2	2
24				3	2	3
25				3	3	1
26				3	3	2
27				3	3	3

III.7. Etude spectrale

Les surnageant récupéré par les procédés : Enzymatique, fenton et couplage entre les procédés enzymatiques/fenton aux conditions optimales font appel à une caractérisation qualitative par spectrophotométrie UV-vis en balayant aux différentes longueurs d'ondes de 200 à 800 nm.

<u>Annexe 1</u> : Classification tinctoriale des colorants :

La classification tinctoriale présente le classement par domaines d'application. Qu'il est renseigné sur la solubilité du colorant dans le bain de teinture,son affinité pour les diverses fibres et sur la nature de la fixation. Celle-ci est de force variable selon que la liaison colorant-substrat est du type ionique, hydrogène, de Van der Waals ou covalente.

les catégories tinctoriales qui comporte 11 catégories [1]:

Les colorants directs; Les colorants de cuve; Les colorants réactifs ; Les colorants à mordant ; Les colorants cationiques ; Les colorants acides ; Les colorants au soufre ; Les colorants métallifères ; Les colorants plastosolubles ; Les colorants azoïques insolubles ; Les pigments colorés . La dernière catégorie est la seule qui ne soit pas constituée uniquement de colorants appartenant à la chimie organique , mais également de colorants provenant de la chimie minérale, [1]. Par la suit, parmi les on peut sité des explications brève de quelques colorants.

- **Les *colorants acides ou anioniques* :** Solubles dans l'eau grâce à leurs groupes sulfonâtes ou carboxylates, ils sont ainsi dénommés parce qu'ils permettent de teindre les fibres animales (laine et soie) et le polyamide en bain légèrement acide.
- **Les *colorants directs*** : Les colorants directs ou substantifs, sont solubles dans l'eau, du fait de la présence de groupes sulfonâtes. En revanche, ils se distinguent par leur affinité pour les fibres cellulosiques liée à la structure linéaire et plane de leur molécule.
- **Les *colorants cationiques*** sont des sels d'amines organiques. En passe de disparaître dans la teinture de la laine et de la soie, ces colorants ont bénéficié d'un regain d'intérêt avec l'apparition des fibres acryliques , sur lesquelles ils permettent des nuances très vives et d'excellentes solidités.
- **Les *colorants au soufre*** sont insolubles dans l'eau. Ainsi, leur application en teinture passe par une réduction alcaline pour aboutir à un composé soluble , appelé leucodérivé , qui de surcroît présente de l'affinité pour les fibres . Le colorant est ensuite réoxydé en sa forme insoluble, qui reste emprisonnée dans la fibre. utilisés pour la teinture du coton.
- **Les *colorants de cuve*** : sont insolubles et doivent être transformés en leucodérivés par réduction alcaline. La teinture se termine par la réoxydation in situ du colorant sous sa forme insoluble initiale. Réputés pour leur bonne résistance aux agents de dégradation , les colorants de cuve sont encore utilisés, à l'image de l'indigo pour la teinture des articles jean ou denim.
- **Les *colorants réactifs* :** Solubles dans l'eau , ils entrent de plus en plus fréquemment dans la teinture du coton et éventuellement dans celle de la laine et des polyamides.

L'existence d'une liaison covalente colorant-fibre permet d'obtenir des teintures présentant d'excellentes solidités, sauf vis-à-vis de l'hypochlorite de sodium .

Annexe 2: Tableau des réactions Fenton

Tableau A.1 : Les principales réactions intervenant dans le système de Fenton et les Constantes cinétiques correspondantes, [85].

Réaction	Constante de vitesse ($M^{-1}.l.s^{-1}$)	Equation N°
Initiation : $H_2O_2 + F^{2+} \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + OH^\bullet$	55	AI
Catalyse: Régénération du Fe^{2+}: $H_2O^\bullet + Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+} + HO_2^\bullet + H^+$ $Fe^{3+} + HO_2^\bullet \rightarrow Fe^{2+} + O_2 + H^+$ $Fe^{3+} + O_2^{\bullet-} \rightarrow Fe^{2+} + O_2$	$3{,}1.\ 10^{-3}$ 2.10^4 5.10^7	AII AIII AIV
Propagation: $OH^\bullet + H_2O_2 \rightarrow H_2O + HO_2^\bullet$ $HO_2^\bullet \rightarrow H^+ + O_2^{\bullet-}$ $RH + OH\bullet \rightarrow R^\bullet + H_2O$ $ArH + OH\bullet \rightarrow ArHOH$	$3{,}3.10^7$ $1{,}6.10^5$ 10^7-10^9 10^8-10^{10}	AV AVI AVII AVIII

Annexe 3 : Verreries consommables sont :

- Fioles jaugées de volumes : 25 ; 50 ;100 ;250 ;500ml.
- Les tubes à essaies (en verre) .
- Spatules (en verre / métallique) + capsules (en plastique / verre) .
- Les béchers de volumes : 25 ; 50 ; 500ml.
- Erlenmayers de : 250 ; 500ml.
- Cristallisoir
- Entonnoir
- Burette (25ml)
- Eprouvettes graduées (20 ; 50 ml).
- micro-pipette (0-200µl) ;
- pipettes graduées de : 1 ; 2 ; 5 ; 10ml (+ poire).

<u>Annexe 4</u> : Existence de la peroxydase dans la courgette.

Méthode : le mélange réactionnel est préparé dans un tube à essais, introduire le mélange :

- 2ml de solution tampon pH7.
- 1ml d' H_2O_2 de concentration 0,01M.
- 1ml de 4- Amino –antipyrine à 0.001M.
- 1ml de phénol à 0.01M.

Couper deux tranches de courgette a testé, les mettre dans des capsules en plastique, puis on verse le mélange réactionnel sur l'un des deux tranche et l'autre par l'eau distillée pour servira comme témoin .Laisser la coloration se développer pendant une demi-heure.

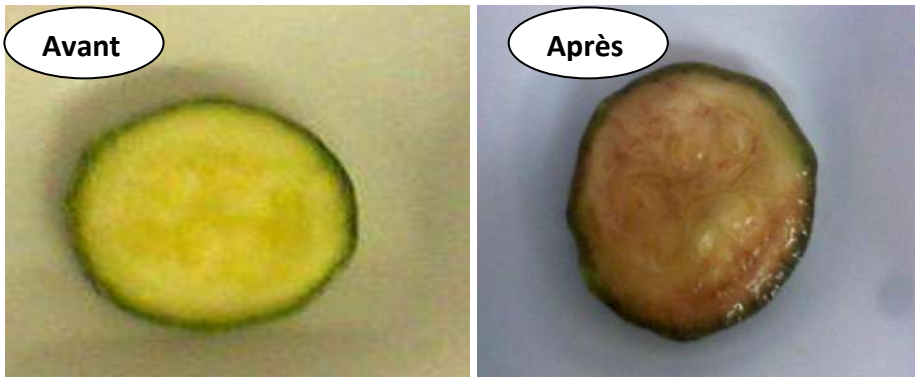


Fig. A.1. La mise en évidence de l'activité catalytique de la peroxydase dans la courgette.

Le témoin reste comme l'état initial, mais la 2^{ieme} tranche change sa couleur après le traitement par le phénol et H_2O_2 .Les tissus et la paroi sont couvris par la couleur rose qui indique la présence de l'enzyme peroxydase à toutes région de la tranche, alors on se caractérise sa couleur par l'obtention d'une nouvelle complexe colorée due à l'oxydation des substrats avec la peroxydase, on parle donc de quinoneimine.

<u>Annexe 5</u> : Le principe de la Méthode de Bradford :

La méthode de Bradford est un dosage colorimétrique, leur principe repose sur le changement d'absorbance (la mesure se fait à 595 nm), il s'agit du changement de la couleur du bleu de Coomassie après liaison (apparition du complexe coloré) avec les acides aminées aromatiques (tryptophane, tyrosine et phénylalanine) et les résidus hydrophobes des acides aminés présents dans la ou les protéines. La forme anionique du colorant est en bleue (liée), l'absorbance maximal estimé historiquement à la langueur d'onde 595 nm. Les formes cationiques du colorant (radicaux libres) sont comme étant rouges et vertes, capable d'absorber à 465-470

nm. Le changement d'absorbance est due au quantité de colorant lié, indiquant donc la concentration en protéines dans l'échantillon.

la méthode de Bradford est moins sensible aux interférences par divers agents présents dans les échantillons de protéine.

- Composition de Réactifs de Bradford :
  - 100mg/l Bleu de Coomassie .
  - 50ml Ethanol (95%) .
  - 100ml H_2PO_4 (85%) .

Mettre le mélange sous agitation à l'obscurité pandent 24h puis on passe à la filtration sur papier filtre afin d'obtenir une solution homogène .

La détermination de la courbe d'étalonnage de sérum d'albumine bovin (SAB) figure A.2.

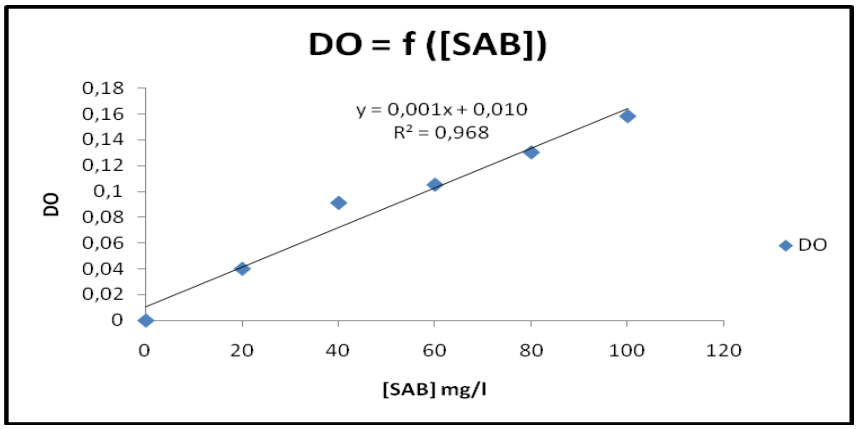


Fig A.2 : La courbe d'étalonnage de SAB (λ_{max}=595nm)**.**

D'après la figure A.2, l'expérience indique que l'absorbance de substrat analysé est proportionnel à la quantité des protéines SAB , de facteur de l'ordre 0.001 $(mg/l)^{-1}$.

Annexe 6 : la courbe d'étalonnage de peroxyde d'hydrogène

L'absorbance d'une substance à partir la méthode colorimétrique est menai à la loi de Beer-Lambert qui s'écrit par la relation suivant :

$$Log\ (I_0\ /I) = Ɛ.C.L=DO$$

Ɛ: Coefficient d'extinction molaire $(mol\ .l^{-1}.min^{-1})$.

C : Concentration molaire (mol/l).

L : ruegral de la cuve (cm : généralement on prend 1cm).

I_0 : L'intensité de l'énergie d'irradiation arrivant sur l'échantillon (Ampère).

I : L'intensité de la radiation qui a traversé l'échantillon (Ampère).

DO : la densité optique de la substance à analysée (sans unité).

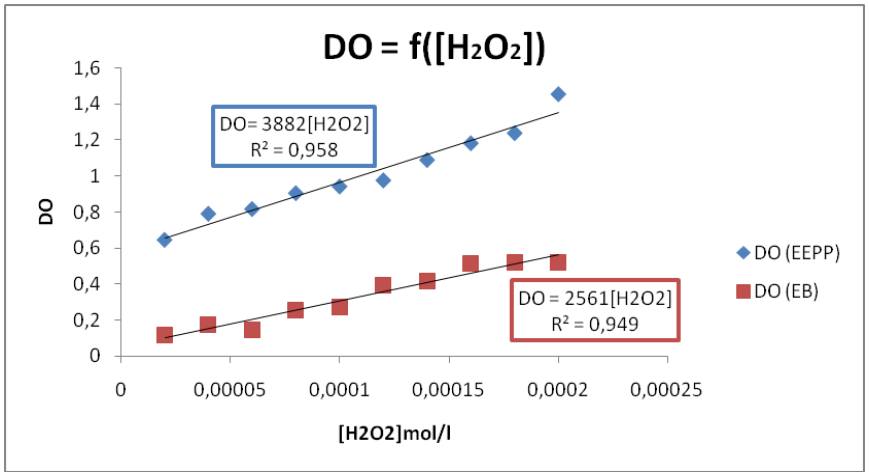


Fig. A.3. Courbe d'étalonnage de peroxyde d'hydrogène de EEB/EEPP (λ_{max}=517nm ; T=25°C).

Annexe7 : Test de stabilité de la peroxydase à différents pH:

A partir de l'EEPP traité à différents pH de 2 – 10 Après certain temps on passe à la mesure des absorbances à λ_{max} = 517 nm on obtient les résultats indiqué fig A.4.

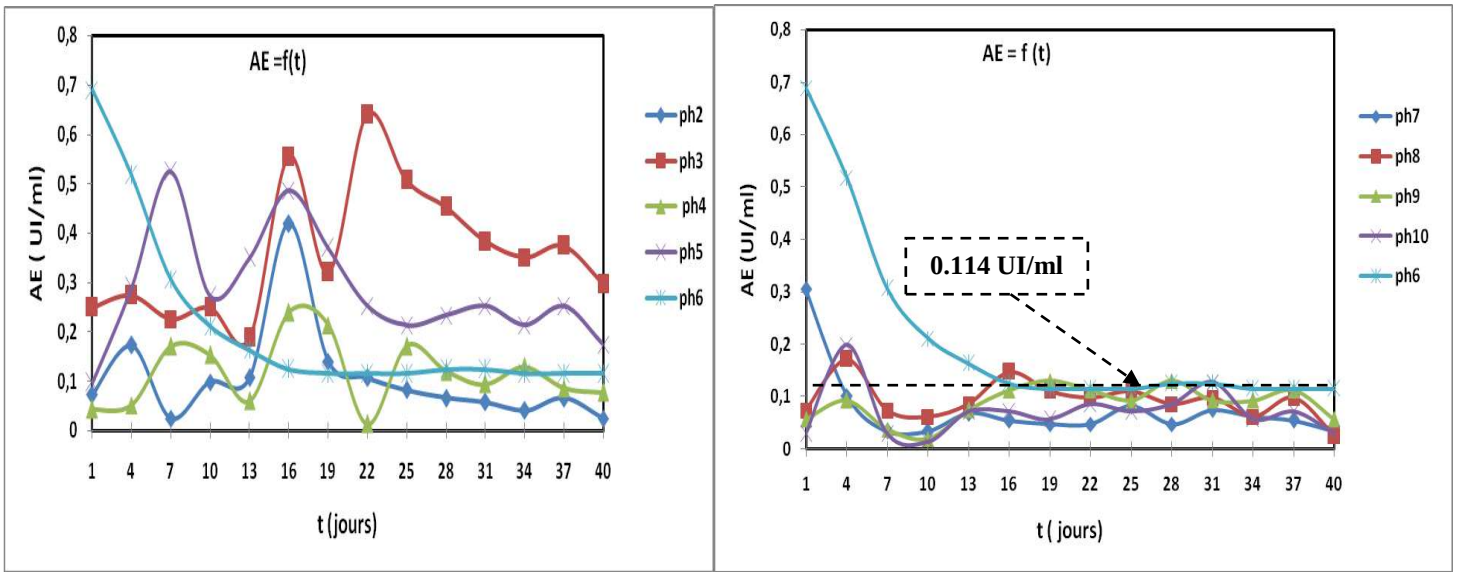


Fig A.4 : Représentation graphique indique l'évolution de l'activité enzymatique au cours de temps (T=25°C ; $[H_2O_2]$=0.01M ; [Phénol]=0.01M ; λ_{max}= 517nm).

D'après les graphes, on constate que l'activité enzymatique au début est maximale à pH 6 considéré par 0.68 UI/ml sera diminue jusqu'à se stabilise à 0.114 UI/ml durent 19^{ième} jusqu'à 40^{ième} jours dans notre étude. Aussi on observe que les autres valeurs de l'AE à différents pH sont perturbées tout le temps plus ou moins de la valeur optimal qui correspond à la vitesse de la dégradation de substrat est constante, donc l'enzyme est stable à pH 6 à une activité équivalente à 0.114 UI/ml et même conservé à une température basse (4°C).

Annexe 8 : préparation et étalonnage des colorants

1-Colorant JD 106 :

on prend un échantillon et on mesure la longueur d'onde qui correspond au maximum d'absorption, qui est de l'ordre de 396 nm (Fig.A.5).

Puis, on prépare une séries de dilutions du colorant à partir d'une solution mère avec de l'eau distillée comme indiqué sur la figure A6.

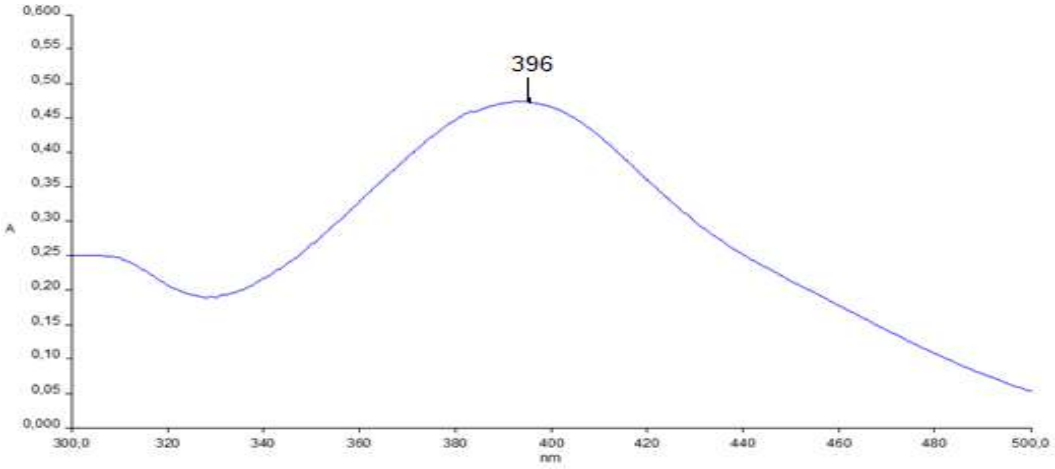


Fig.A.5 : Spectre d'absorption de JD 106 dans la gamme de (300-500) nm.

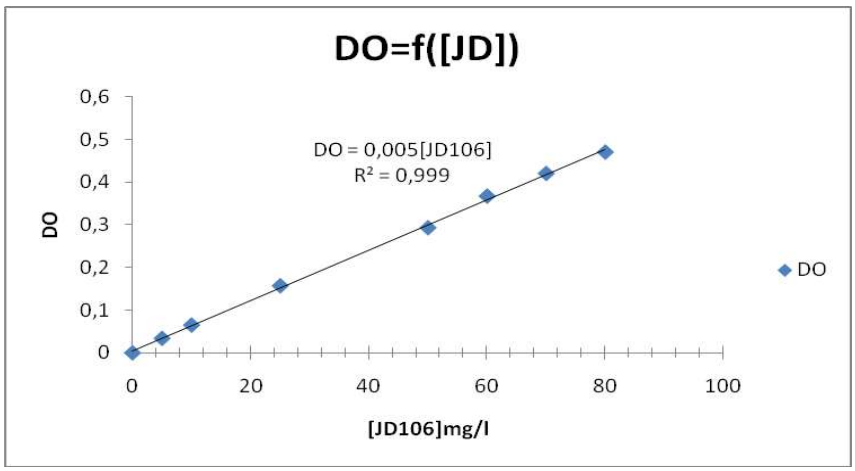


Fig. A.6 : La courbe d'étalonnage de JD 106 (T=25°C, λmax=396nm).

2-Colorant BD 77 :

en utilisant une solution de BD77 pour un balayage spectrophotométrique de longueur d'onde allant de 200 à 800nm , afin de déterminer la longueur d'onde qui correspond au maximum d'absorption d'après le spectre d'absorption (Fig. A.7) : λ_{max} = 632 nm.

Puis, on prépare une séries de solutions à différentes concentrations afin de d'établir la courbe d'étalonnage, (figure A8).

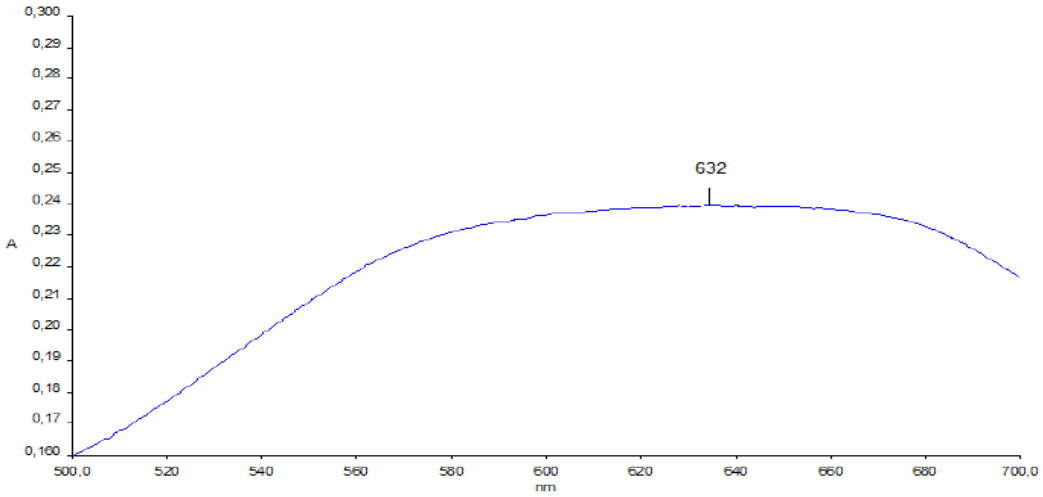


Fig. A.7. Spectre d'absorption de BD 77 dans la gamme de (500-700) nm.

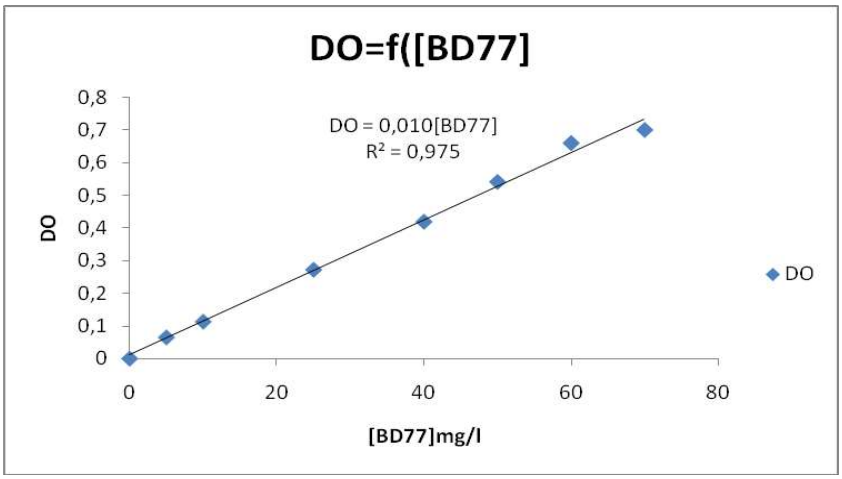


Fig. A.8. Courbe d'étalonnage de BD 77 (T=25°C, λ_{max}=632 nm).

Annexe 9 : la cinétique enzymatique d'EEB/EEPP et le phénol comme substrat :

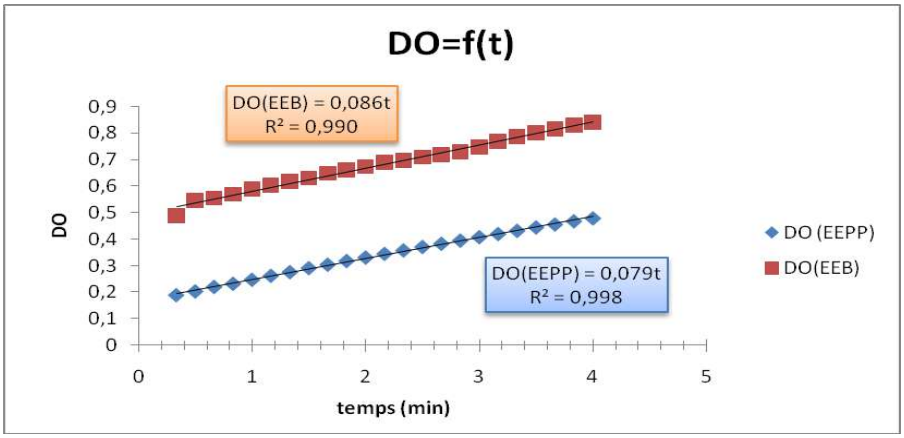


Figure A.9 : Le graphe représente la cinétique d'EEB/EEPP en fonction du temps

(T=25°C ; pH=7 ; $[H_2O_2]$=0.01M ; [Phénol]=0.01M ; λ_{max}= 517nm).

Les courbes représentent la cinétique enzymatique d' EEB/EEPP dans les conditions normale à la température ambiante on peut tirer les informations suivants : se sont des droites ne passe pas par l'origine leurs pentes sont successivement : 0.086 min^{-1} ; 0.079 min^{-1}, donc la dégradation de substrat où de phénol, en présence d'H_2O_2, est très rapide dans EEB car il est plus chargés que l'autre par les enzymes responsables à la catalyse enzymatique. Figure IV.2 représente l'aspect général de traitement par voie enzymatique :

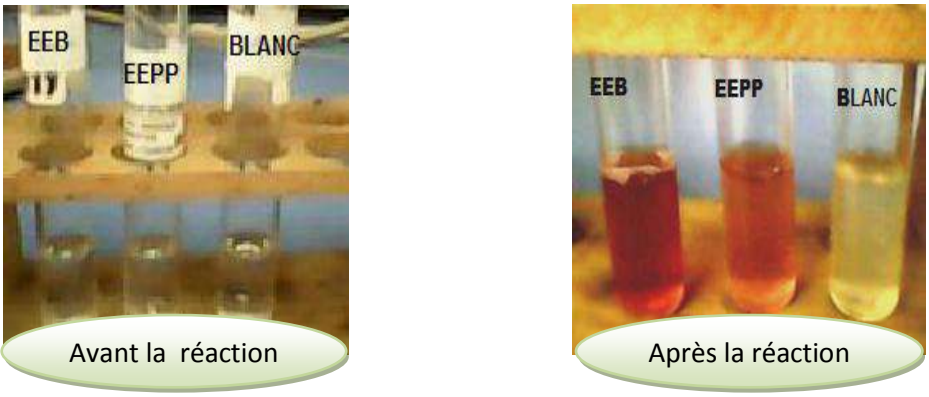


Figure A. 10 : Deux photos représentent l'évolution de la coloration rose d' EEB / EEPP .

Annexe 10 : Méthode de TAGUCHI, [8] :

Exemple d'application (on recherche une valeur minimale pour la réponse).

1 Niveau des facteurs selectionnés (A ,B, C, E) Les quatre facteurs sélectionnés seront testés aux niveaux de la fig 1

FACTEURS / NIVEAUX	A	B	C	E
NIVEAU 1	54	3	13	4
NIVEAU 2	90	6	23	63

fig 1

2 - Tableau des combinaisons retenues des interactions effectuées et des réponses obtenues
On a utilisé une table L8 (2 7)
- Le facteur C est placé en colonne 1
- Le facteur B est placé en colonne 2
- Le facteur A est placé en colonne 4
- Le facteur E est placé en colonne 7
- la colonne 3 est réservée à l'interaction CB
- la colonne 4 est réservée à l'interaction CA

facteurs	C	B	CB	A	CA	E	Réponses
1	10	3	1	54	-	52	4
2	10	3	1	93	2	63	3
3	10	6	2	54	-	63	10
4	10	6	2	90	2	52	4
5	20	3	2	54	2	63	18
6	23	3	2	90	-	52	10
7	20	6	1	54	2	52	12
8	20	6	1	90	-	E3	8
						$\overline{R}$ = 8,625	

fig 2

3 - Table des réponses

Les résultats sont obtenus à partir des moyennes des réponses pour chaque niveau des facteurs

facteurs	C	B	A	E	CB	CA
niveau 1	5.25	8.75	11	7.5	6.75	8
niveau 2	12	8.5	6.25	9.75	10.5	9.25
écarts	6.75	0.25	4.75	2.25	3.75	1.25

fig 3

4 - Graphes des effets des facteurs et des interactions

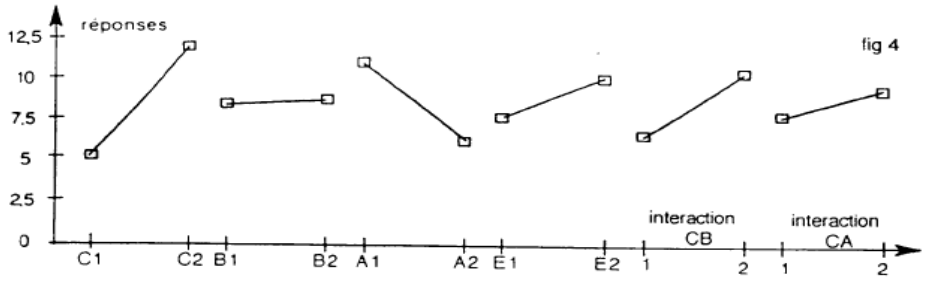
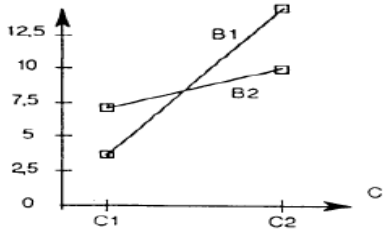


fig 4

L'observation du graphe des réponses montre que les facteurs C et A ont une influence significative sur la réponse. Cl et A2 fournissent les meilleurs résultats. Les facteurs B et E semblent n'avoir aucune influence significative.

Pour les interactions, nous retiendrons celle de C avec B pour laquelle nous allons déterminer la meilleure combinaison. Par la suite on a le graphe des réponses de l'interaction CB



La combinaison C1 B1 fournit une réponse favorable, c'est pourquoi nous retiendrons aussi le facteur B à son niveau 1.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Dans la présente étude concernant " Elimination des colorants textiles par procédés enzymatique et Fenton", dont notre objectif été consisté d'une part, d'optimiser le pH et le temps de réaction et d'autre part d'appliquer la méthode de TAGUCHI pour l'étude de décoloration des solutions synthétiques de jaune direct 106 et bleu dispersé 77 par trois procédés.

Pour le traitement par la peroxydase partiellement purifiée, le temps de réaction a été atteint au bout de 3 min et 5 min à un pH = 2 , dont un rendement de décoloration de 96.82 % et 72.06 % corresponds aux concentrations des colorants de 10 mg/l et 180 mg/l , de l'eau oxygénée de 7.5 et 1 mM et pour des activités enzymatiques de 1.4 et 3.27 UI/ml pour le JD106 et le BD77 respectivement, le système soit sous agitation à la température ambiante.

Pour le traitement par le procédé fenton , un temps de contact était de 3 min à un pH = 2 . Les concentrations des colorants de 50 mg/l et 20 mg/l , de l'eau oxygénée de 8 mM et 60 mM et $[Fe^{2+}]$ égal à 3mM et 2 mM conduisent aux rendements de décoloration : 98.14 % et 99.39 % pour le JD106 et BD77 respectivement.

De même pour les expériences réalisées sur le couplage simultané des procédés peroxydasique et fenton ; nous avons opter d'appliquer la méthode de TAGUCHI, où les résultats des 18 essais sur le JD106 ont abouti à un rendement de 97,99%, tandis que celles des 27 essais réalisés sur des solutions de BD77, ont conduit en un rendement maximal de décoloration de 96,46%, corresponds aux concentrations des colorants de 10 mg/l et 20 mg/l , de l'eau oxygénée de 0.1 et 5 mM et $[Fe^{2+}]$ égal à 3mM et 2 mM pour des activités enzymatiques de 1.4 et 3.27 UI/ml pour le JD 106 et le BD 77 respectivement.

En perspective, il sera intéressant de compléter l'étude d'une part , par des analyses des surnageant et des précipités par GC-SM ou HPLC-SM afin d'identifier les produits de transformation , et d'autre part d'établir un modèle décrivant le rendement de décoloration à tout niveau

IV. Résultats et discussions :

IV.1. Détermination des activités catalytique et spécifique des extraits enzymatiques

A partir des expériences réalisées, la cinétique des réactions de transformation du phénol en produit coloré : quinoneimine assurée par la peroxydase présente dans les extraits préparés est représenté sur la figure A.9 de l'annexe 9. Ainsi, ces cinétiques permettent de calculer les valeurs des activités enzymatiques des extraits sont récapitulés sur le tableau IV.1.

Tableau IV.1 : caractérisation catalytiques des extraits enzymatiques préparés.

Extraits	[protéine] mg/ml	AE (UI/ml)	AE_{sp} (UI/mg)	Facteur de purification	R%
EEB	0.837	0.873	1.043	1	100
EEPP	0.218	0.529	2.426	2.325	60.59

D'après le tableau IV.1, on trouve que les activités d'EEB / EEPP sont proches de celle de HRP qu'il a été obtenue par S.Maria et al, [6]. Concernant la quantité des protéines on trouve que pour l'EEB, elle est 4 fois plus grande que celle de l'EEPP, qui traduit par l'accumulation des protéines incluant dans l'état brute de l'extrait. Le rapport entre AE et [protéine] donne un autre critère sur l'activité spécifique (AE_{sp}), qui est 2 fois plus importante pour l'EEPP, par apport à l'EEB, car ce dernier n'a subit aucune purification. L'aspect des deux extraits enzymatiques de la courgette est représenté sur la figure IV.1.

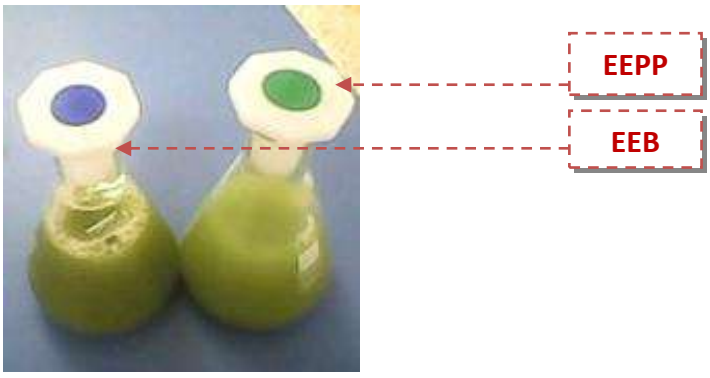


Figure IV.1 : Photo représente l'aspect des extraits EEB et EEPP.

Une purification par l'acétone a pour objectif l'obtention d'enzyme la plus pure possible qui traduit par le facteur de purification élevé. Au cours de cette purification, l'activité spécifique et le facteur de purification augmentent, tandis que le rendement diminue.

IV.2. Etude de stabilité d'EEPP à différent pH en fonction du temps :

Le principe du test était de suivre l'évolution de l'activité enzymatique de la peroxydase à différents pH au cours de temps, figure IV.2.



Figure IV.2 : Aspects des EEPP à différents pH de 2 à 10 (pendant 40 jours).

L'effet de pH sur l'activité enzymatique de la peroxydase pour une durée de conservation de 40 jours donne des AE perturbées à pH acide et basique au cours de cette durée. Cela est peut être due à l'influence des ions présents dans milieu sur le site actif de la peroxydase . Donc l'enzyme est stable à pH 6 à une activité équivalente à 0.114 UI/ml et conservé à basse température (voire annexe 7).

IV.3. Etude de la décoloration de JD106 et BD77 par la peroxydase libre :

IV.3.1.Effet de pH :

Les résultats de l'effet de pH sur le rendement de décoloration des deux colorants par la peroxydase de courgette sont traduits sur la figure IV.4.

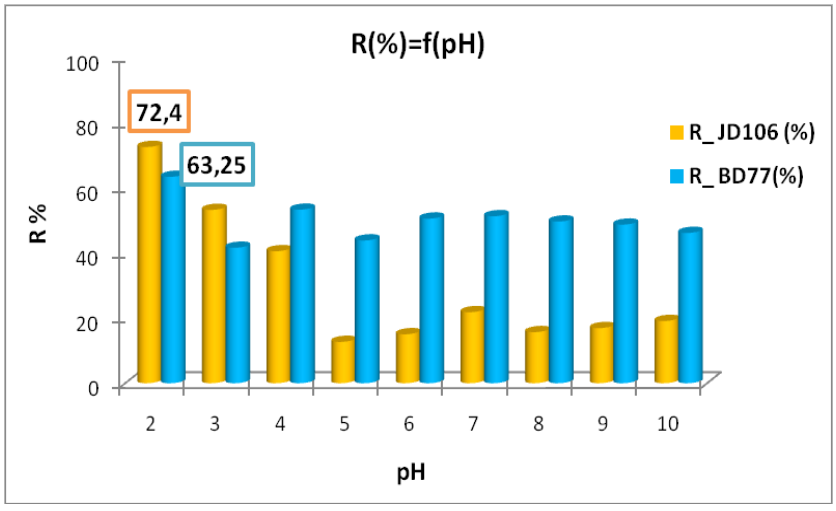


Figure IV.4 : Histogramme de variation de rendement de décoloration de JD106 et BD77 en fonction du pH (à T=25°C ; AE=0.86UI/ml ; [colorant]=50mg/l ; $[H_2O_2]$=0.001 / 0.02mM ; λ_{max} =396nm / 632nm)

D'après la figure IV.4 , un pH optimal de 2 est obtenue pour le JD106 et le BD77 correspondant respectivement à des rendements R = 72.4% et 63.25% respectivement . On observe que la décoloration de JD106 diminue avec l'auglentation du pH (jusqu'à pH 5) puis elle restra constante avec le pH.

Pour le 2ième colorant le BD77 , on trouve qu'à partir de pH 2, la décoloration diminue legerement avec le pH, et le rendement de décoloration parrait plus ou moins stable entre pH 5 et 10.

Au cours du traitement nous avons essayé de prendre quelques photos représentatives des deux colorants afin de montrer l'effet de pH sur le rendement de décoloration des substrats, (figures IV.5 et IV.6).



Avant traitement Après traitement

Figure IV.5 : Photos montrant les solutions de JD106 avant et après le traitement enzymatique à différents pH.



Avant traitement Après traitement

Figure IV.6 : Photos montrant les solutions de BD77 avant et après le traitement enzymatique à différents pH.

IV.3.2.Effet du temps de contact :

Les résultats sont représentés sur la figure IV.7, qui permet de montrer l'effet du temps de contact de la réaction considéré sur le rendement de décoloration du mélange réactionnel pour les deux colorants , JD 106 et BD 77 :

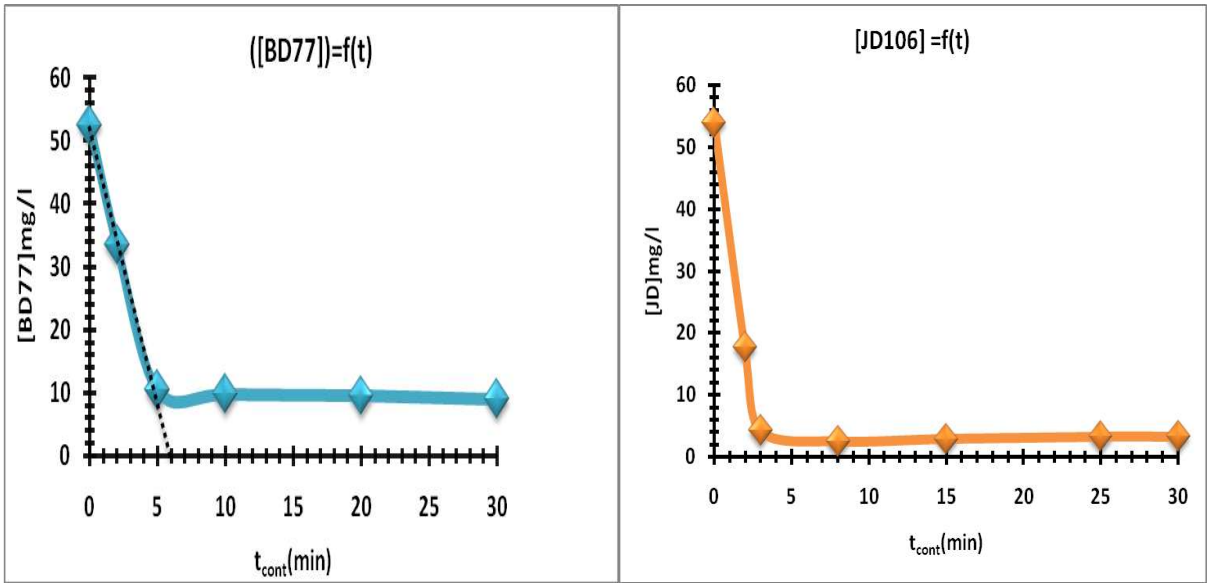


Figure IV.7 : Décoloration de JD106/ BD77 en fonction de temps

(T=25°C; pH= 2; AE=0.86UI/ml; [colorant]=50mg/l; [H_2O_2]=0.001 / 0.02mM; λ_{max} =396nm/632nm, respectivement)

On constate que les concentrations des deux colorant diminuent jusqu'à ce qu'elles atteignent les valeurs de 8mg/l (R=84.76%) et de 2 mg/l (R=92.59%) pour BD77 et JD 106 respectivment dans les 5 min et 3 min respectivement. Au dela de cette valeur, les concentration restent constantes . On exprime alors le temps qui correspond à la dégradation maximale des colorants ,à 5 min et 3 min pour BD77 et JD 106 respectivment.

IV.3.3.Etude de décoloration de JD106 et BD77 par la peroxydase *cuccurbita pepo* par plans d'expériences:

Après le traitement par peroxydase de courgette on obtient les résultats résumés sur le tableau IV.2.

Tableau IV.2 : Rendements de décoloration des colorants JD106/BD77 traités par la peroxydase *cuccurbeta pepo*.

N°essais	R_{JD106} (%)	R_{BD77} (%)
1	63.26	39
2	69.38	29
3	51.96	35
4	58.92	65.53
5	83.92	48.02
6	92.42	44.06
7	49.2	65.55
8	96.82	43.88
9	95.26	58.46
10	36.5	66.32
11	52.09	66.14
12	94.29	64.65
13	46.45	67.35
14	48.93	66.76
15	93.61	67.75
16	22.85	63.01
17	26.78	61.83
18	69.64	67.35
19	25.62	70.22
20	31.55	71.74
21	36	72.06
22	13.36	67.94
23	18.25	69.72
24	38.4	66.59
25	14.1	70.46
26	24.69	68.6
27	29.17	69.19

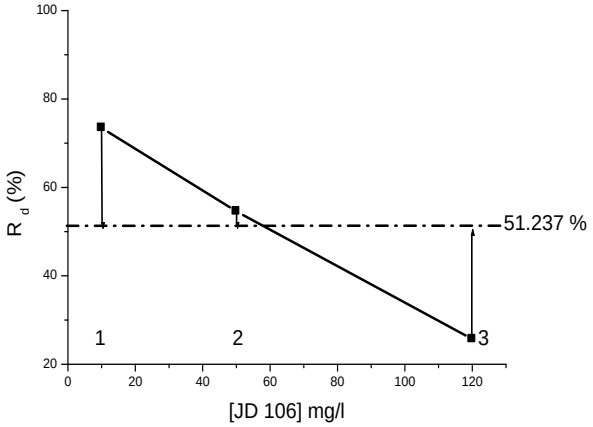
A partir du tableau IV.2, on peut déduire les informations suivantes : l'essais n°8 correspond à un rendement important égale à 96.82 %, pour : [JD 106] = 10mg/l , $[H_2O_2]$ = 7.5mM et [AE] = 1.4 UI/ml . De même , l'essais n°21 , on obtient R = 72.06 % , pour le mélange constitué de [BD77] = 180 mg/l , $[H_2O_2]$ = 1 mM et [AE] = 3.27 UI/ml .

Dans un premier temps nous calculons les effets moyens par la méthode TAGUCHI [8]. Le calcul conduit aux résultats du tableau IV.3.

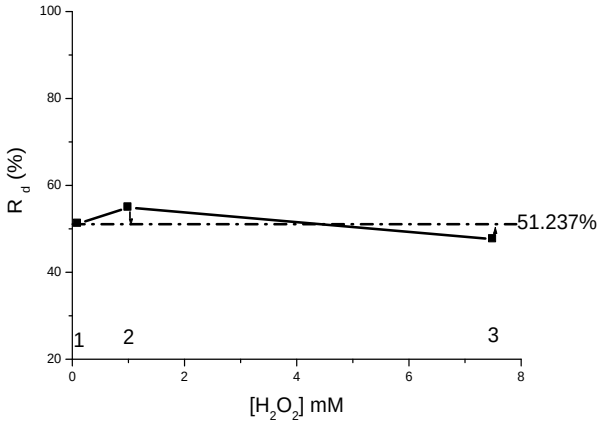
Tableau IV.3. Effets moyens des paramètres : ([colorant],[H_2O_2],[AE]) M_{JD}=51.237% ;M_{BD}=60.969%

	Effet de [Colorant]			Effet de [H_2O_2]			Effet de [AE]		
	$E[colorant]_1$ %	$E[colorant]_2$ %	$E[colorant]_3$ %	$E[H_2O_2]_1$ %	$E[H_2O_2]_2$ %	$E[H_2O_2]_3$ %	$E[AE]_1$ %	$E[AE]_2$ %	$E[AE]_3$ %
JD106	22.223	3.334	-25.554	-0.053	3.68	-3.627	-4.541	-0.969	15.51
BD77	-13.359	4.715	8.644	-3.843	1.666	2.176	2.962	-2.619	-0.343

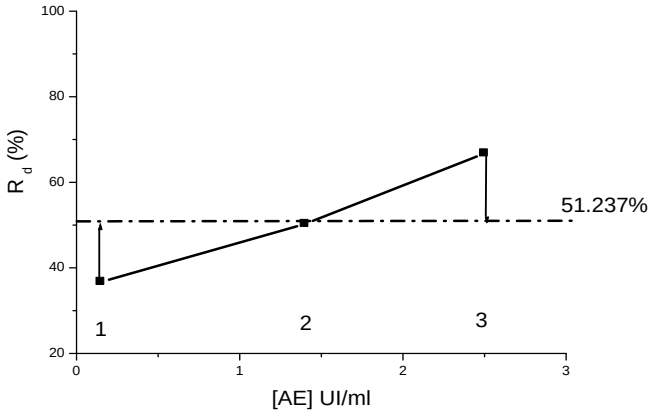
Les figures IV.8 et IV.9 présentent les différents effets sur le rendement de décoloration



E [JD 106] sur le R_d %

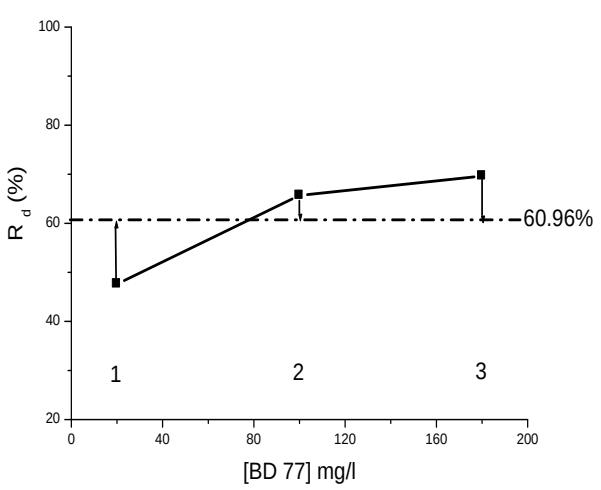


E [H_2O_2] sur le R_d %

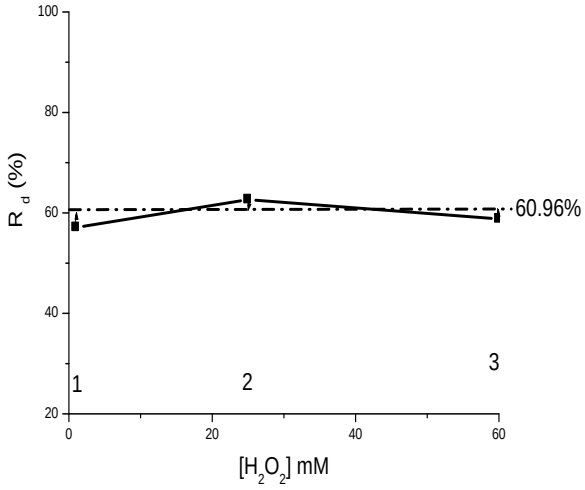


E [AE] sur le R_d %

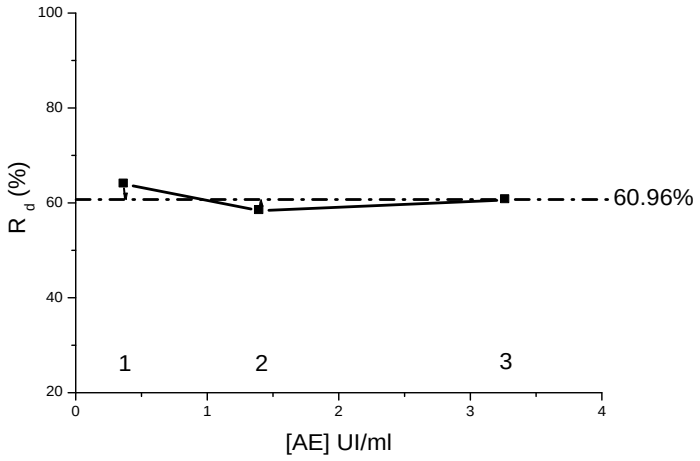
Figure IV.8. Représentation graphique des effets moyens des facteurs influençant le R_d% de JD106 traité par la peroxydase *cuccurbeta pepo* (T=25°C ; pH=2 ; t_{cont}=3min)



E [BD77] sur le R $_d$ %



E [H_2O_2] sur le R $_d$ %



E [AE] sur le R $_d$ %

Figure IV.9 : Représentation graphique des effets des facteurs influençant le R_d% de décoloration par procédés enzymatique de BD77 (T=25°C ; pH=2 ; t_{cont}=6 min)

A partir de ces figures, on constate que les effets de concentration en JD106 et de AE sont prédominants en comparaison à l'effet de H_2O_2. On constate que l'effet de concentration de JD106 au niveau 1 est significatif, donc l'effet de la concentration est négatif sur le rendement de décoloration par procédé enzymatique. De même pour le BD 77, mai on trouve l'effet de concentration de BD77 est positif le R_d et BD77 sont importants , avec [H_2O_2] a effet négligeable sur le R_d. Donc , nous avons confirmé le résultat du rendement maximal de décoloration pour les paramètres étudiés au niveau correspondant.

Dans un autre temps et à partir des résultats des effets tableau IV.3, on peut tirer les informations d'intérêts pour remplir le tableau IV.4, IV.5 et IV.6 des interactions entre les paramètres où les facteurs des effets s'interagirent entre eux afin d'étudier l'impact de l'un sur l'autre :

Tableau IV.4. Interactions entre les paramètres : [colorant] et [H_2O_2] ; M_{JD106}=51.237 ; M_{BD77}=60.969

	Paramètre : [colorant] / Paramètre : [H_2O_2]	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3
JD106	Niveau 1	$IN[H_2O_2]_1[JD]_1$=-11.873	$IN[H_2O_2]_1[JD]_2$= 6.442	$IN[H_2O_2]_1[JD]_3$= 5.426
	Niveau 2	$IN [H_2O_2]_2[JD]_1$=-15.606	$IN[H_2O_2]_2[JD]_2$= 4.754	$IN[H_2O_2]_2[JD]_3$= -6.026
	Niveau 3	$IN[H_2O_2]_3[JD]_1$= 10.593	$IN[H_2O_2]_3[JD]_2$= -11.187	$IN[H_2O_2]_3[JD]_3$= 0.597
BD77	Niveau 1	$IN[H_2O_2]_1[BD]_1$= -9.433	$IN[H_2O_2]_1[BD]_2$= 3.862	$IN[H_2O_2]_1[BD]_3$= 5.57
	Niveau 2	$IN[H_2O_2]_2[BD]_1$= 3.26	$IN[H_2O_2]_2[BD]_2$= 0.063	$IN [H_2O_2]_2[BD]_3$= - 3.195
	Niveau 3	$IN[H_2O_2]_3[BD]_1$= 6.177	$IN[H_2O_2]_3[BD]_2$= -3.796	$IN[H_2O_2]_3[BD]_3$=- 2.372

Tableau IV.5. Interactions entre les paramètres :[colorant] et [AE] ;M_{JD106}=51.237 ;M_{BD77}=60.969

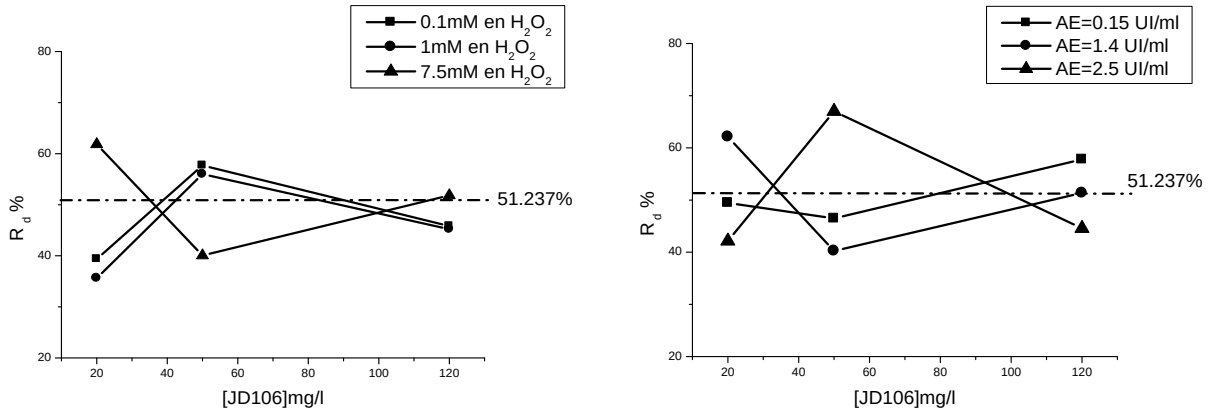
	Paramètre : [colorant] / Paramètre : [H_2O_2]	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3
JD106	Niveau 1	$IN[AE]_1[JD]_1$= -1.792	$IN [AE]_1[JD]_2$= -4.763	$IN[AE]_1[JD]_3$= 6.551
	Niveau 2	$IN [AE]_2[JD]_1$=10.882	$IN[AE]_2[JD]_2$= - 11.002	$IN[AE]_2[JD]_3$= 0.116
	Niveau 3	$IN[AE]_3[JD]_1$= -9.09	$IN[AE]_3[JD]_2$= 15.765	$IN[AE]_3[JD]_3$= -6.669
BD77	Niveau 1	$IN[AE]_1[BD]_1$= 6.121	$IN[AE]_1[BD]_2$= - 3.086	$IN[AE]_1[BD]_3$= - 3.035
	Niveau 2	$IN[AE]_2[BD]_1$=- 4.691	$IN[AE]_2[BD]_2$= 1.845	$IN [AE]_2[BD]_3$=3.026
	Niveau 3	$IN[AE]_3[BD]_1$= - 1.427	$IN[AE]_3[BD]_2$= 1.242	$IN[AE]_3[BD]_3$=0.01

Tableau IV.6. Interactions entre les paramètres : [AE] et [H_2O_2] ; M_{JD106}=51.237 ; M_{BD77}=60.969

	Paramètre : [colorant] / Paramètre :[H_2O_2]	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3
	Niveau 1	$IN[H_2O_2]_1[AE]_1$=5.150	$IN[H_2O_2]_1[AE]_2$= 0.791	$IN[H_2O_2]_1[AE]_3$= - 5.944
	Niveau 2	$IN [H_2O_2]_2[AE]_1$= - 0.799	$IN[H_2O_2]_2[AE]_2$= - 3.581	$IN[H_2O_2]_2[AE]_3$= 4.383

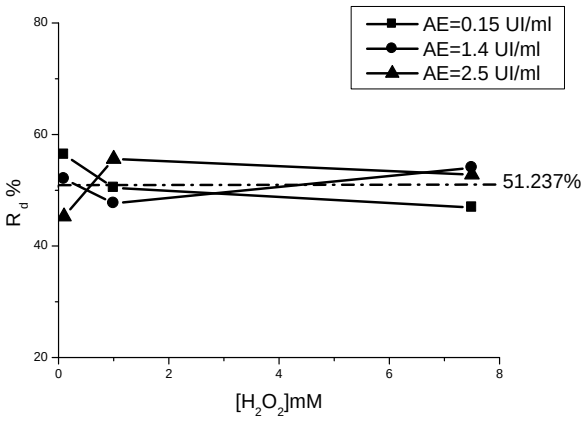
JD106	Niveau 3	IN$[H_2O_2]_3[AE]_1$= - 4.352	IN$[H_2O_2]_3[AE]_2$= 2.789	IN$[H_2O_2]_3[AE]_3$= 1.57
BD77	Niveau 1	IN$[H_2O_2]_1[AE]_1$= -1.574	IN$[H_2O_2]_1[AE]_2$= 1.119	IN$[H_2O_2]_1[AE]_3$= 0.453
	Niveau 2	IN$[H_2O_2]_2[AE]_1$= 1.343	IN$[H_2O_2]_2[AE]_2$= 1.484	IN $[H_2O_2]_2[AE]_3$= -2.825
	Niveau 3	IN$[H_2O_2]_3[AE]_1$= - 8.767	IN$[H_2O_2]_3[AE]_2$= - 2.422	IN$[H_2O_2]_3[AE]_3$= 2.198

A partir de ces résultats, nous pouvons les traduire sous forme de configurations graphiques pour valoriser mieux le travail. Les figures IV.10, IV.11 donnent plus d'information sur les interactions entre les paramètres considérés pour mettre en évidence les résultats obtenues expérimentalement.



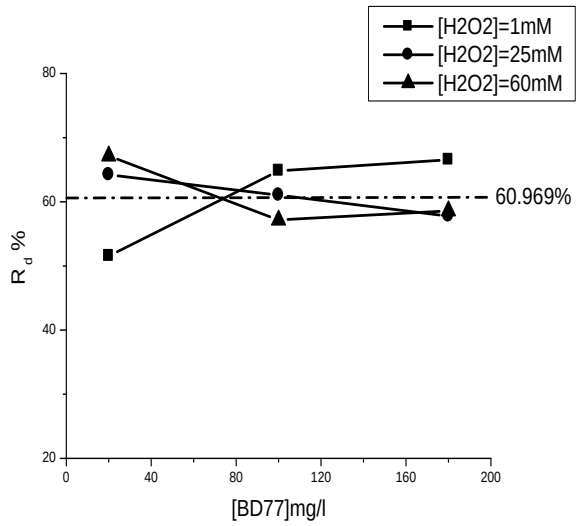
IN [JD106] / $[H_2O_2]$

IN [JD106] / [AE]

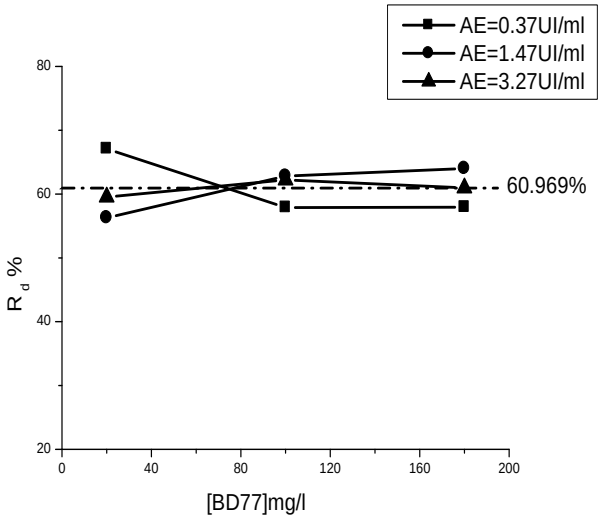


IN $[H_2O_2]$ / [AE]

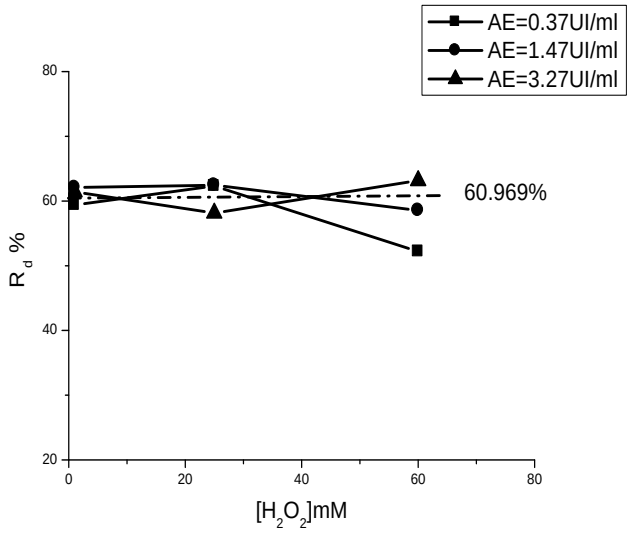
Figure IV.10 : Interactions entre les paramètres ([JD106] ; $[H_2O_2]$; [AE]) pour JD106



IN [BD77] / [H_2O_2]



IN [BD77] / [AE]



IN [H_2O_2] / [AE]

Figure IV.11 : Interaction entre les paramètres ([BD77] ; [H_2O_2] ; [AE]) pour BD77

Pour déduire la configuration optimale donnant le rendement maximale, il faut tenir en compte les interactions qui lient les 3 paramètres entre eux.

Pour le 1^{ier} colorant : JD106 et à partir les configurations correspondantes on peut tirer les informations suivantes :

[JD106] = 20 mg/l [AE] = 1.4 UI/ml $[H_2O_2]$ = 0.1 mM

Concernant le 2ieme colorant BD77 on trouve :

[BD77] = 20 mg/l [AE] = 0.37 UI/ml $[H_2O_2]$ = 60mM (au niveau 3)

Les interactions [colorant] / [AE] et [colorant] / $[H_2O_2]$ sont significatif d'après la configuration obtenue par apport les autres interactions

IV.4. Etude de décoloration de JD106 et BD77 par le procédé fenton:

IV.4.1.Effet de pH :

Après le traitement des colorants par procédées de Fenton on obtient les résultats représentés sur figure IV.12.

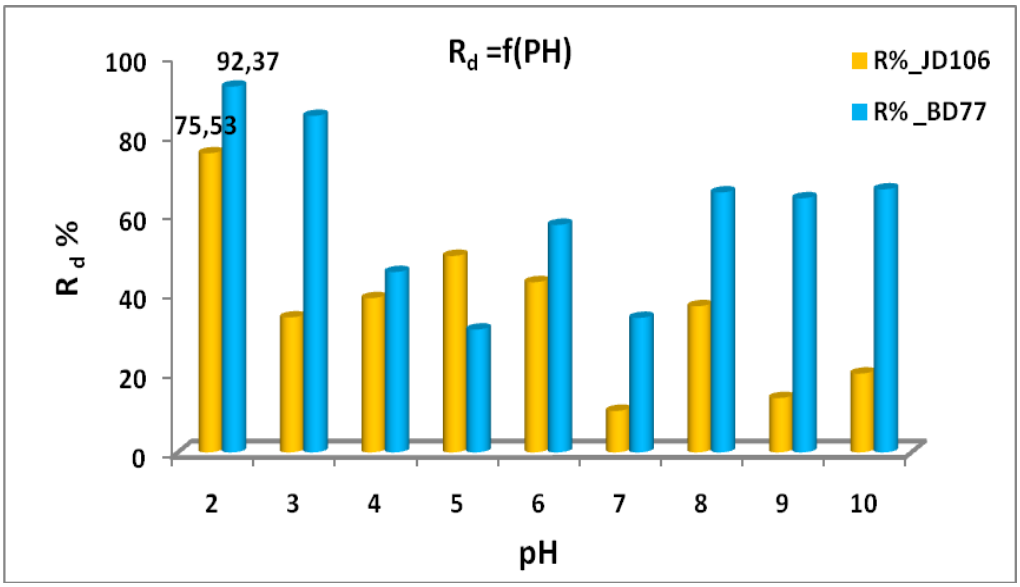


Figure IV.12.La variation de R_d % en fonction du pH par p.Fenton .
(T=25°C ; $[Fe^{2+}]$=2mM (BD77) et 1mM(JD106) ;[colorant]=50mg/l)

La figure IV.12 indique la variation de rendement de décoloration des deux colorants, en exprimant la valeur optimale du pH est égale à 2 qui corresponds aux R% suivants : 75.53% (JD106) ; 92.37% (BD77).

Selon les essais établies, lorsque la valeur du pH est supérieure à 2 dans cette réaction, la capacité d'oxydation Fenton est diminuée en raison de la décomposition du peroxyde d'hydrogène et la désactivation de catalyseur ferreux avec la formation de complexe hydroxyle de fer. Par conséquent, le processus Fenton est sensible aux valeurs du pH .

La dégradation des deux colorants azoïques B54 et R31 ,[7] (colorants azoïques) en fonction du pH indiquent clairement que l'ampleur de la dégradation diminue avec l'augmentation de la

valeur de pH= 3. Cela démontre le pH le plus efficace pour la dégradation de B54 et R31 par le réactif de Fenton est 3.

IV.4.2.Effet de temps de contact:

D'après le traitement des colorants par procédé de fenton on obtient les résultats indiqués sur la figure IV.13 :

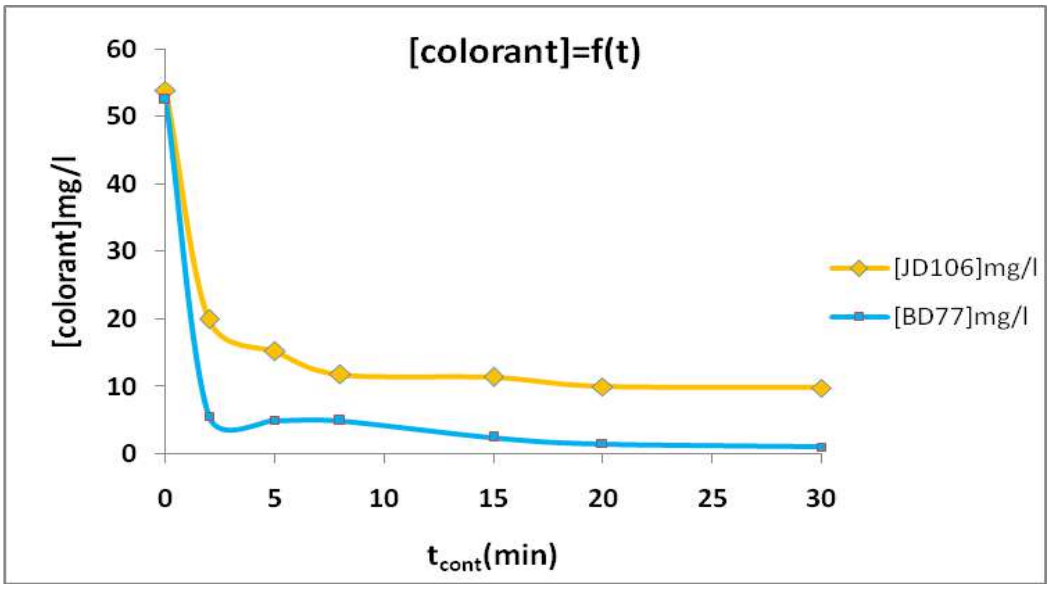


Figure IV.13 : Evolution de la décoloration en fonction du temps (à T=25°C ; $[Fe^{2+}]$=2mM [BD77] et 1mM [JD106])

On constate que, la concentration des colorants a diminué au cours du temps, la décoloration maximale sera atteinte après une durée de l'ordre de 3 min pour BD 77 et JD 106 respectivement sous les conditions normale qui correspondent à des rendements de : 92.38% et 70.37% successivement.

IV.4.3. Etude de décoloration de JD106 et BD77 par le procédé fenton par plans d'expériences:

Le traitement par procédé de fenton des 2 colorants donne les résultats des 27 essais, ces derniers sont résumés sur le tableau IV.8.

A partir ce dernier, on peut tiré les informations suivants : à l'essais n°15 on trouve un rendement important égale à 98.14 % , des niveaux : [JD106] = 50 mg/l , $[H_2O_2]$ = 8 mM et $[Fe^{2+}]$ = 3mM .

Ainsi à l'essai n° 9 , on obtient R_d = 99.39 % , issue de mélange réactionnel de [BD77] = 20mg/l , $[H_2O_2]$= 60mM et $[Fe^{2+}]$=2 mM.

Après, le calcul des effets moyens des 3 facteurs influençant la décoloration conduit aux résultats du tableau VI.9.

Tableau IV.8. Le tableau des plans d'expériences de procédé de Fenton

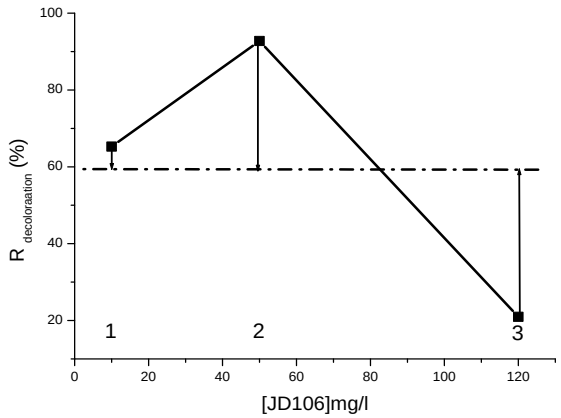
N°essais	R%_JD	R%_BD
1	41.44	75.51
2	86.18	79.05
3	84.86	81.41
4	47.92	41.89
5	76.33	73.7
6	86.98	77.37
7	52.74	96.37
8	54.94	98.48
9	56.04	99.39
10	92.56	69.56
11	94.27	69.75
12	95.27	92.97
13	90.57	65.8
14	96.21	77.44
15	98.14	91.34
16	88.4	69.46
17	87.24	70.13
18	92.19	66.08
19	14.22	70.73
20	15.92	70.51
21	26.87	70.67
22	14.08	67.36
23	34.93	63.61
24	46.47	86.66
25	20.77	60.66
26	7.74	63.05
27	7.74	64.67

Par la suite on trace le tableau IV.9 qui indique les différents effets moyens afin de déterminer le paramètre qui possède l'impact le plus important dans ce procédé de traitement de chaque colorant

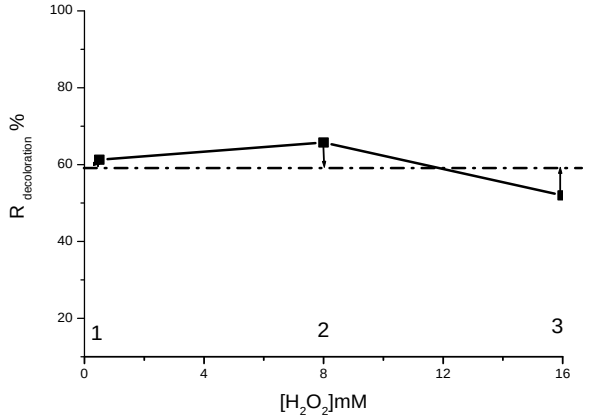
Tableau IV.9. Effets moyens des paramètres :([colorant], $[H_2O_2]$, $[Fe^{2+}]$) ; M_{JD106}=59.667 ; M_{BD77}=74.577

	Effet de [Colorant]			Effet de $[H_2O_2]$			Effet de [AE]		
	$E[colorant]_1$ %	$E[colorant]_2$ %	$E[colorant]_3$ %	$E[H_2O_2]_1$ %	$E[H_2O_2]_2$ %	$E[H_2O_2]_3$ %	$E[Fe^{2+}]_1$ %	$E[Fe^{2+}]_2$ %	$E[Fe^{2+}]_3$ %
JD	5.603	33.094	-38.695	1.620	6.069	-7.689	-8.255	1.861	6.395
BD	5.775	0.148	-5.919	0.996	-2.891	1.899	-5.983	-0.608	6.596

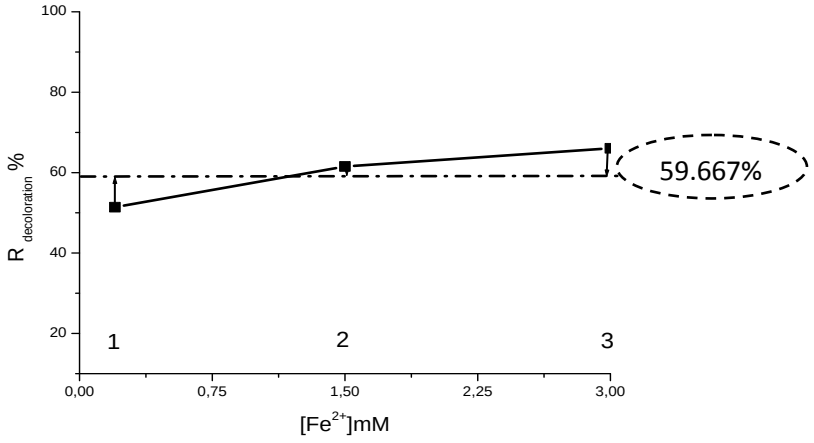
Les résultats de tableau IV.9 sont représentés sous forme d'allures configurés sur les figures IV.14-IV.15 concernant les deux colorants.



E [JD106] sur le R% la décoloration

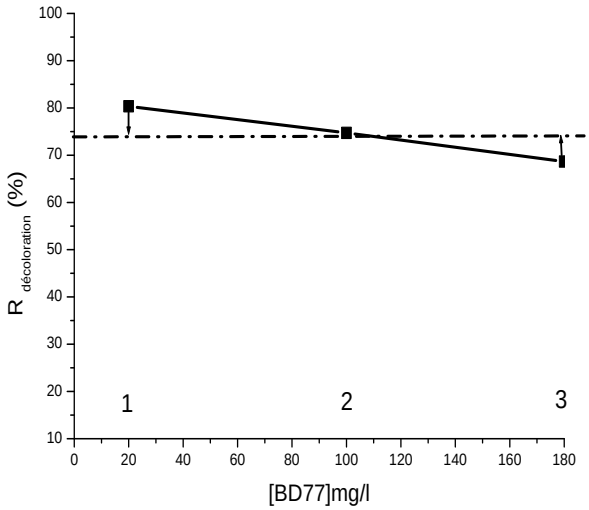


E $[H_2O_2]$ sur le R% de décoloration

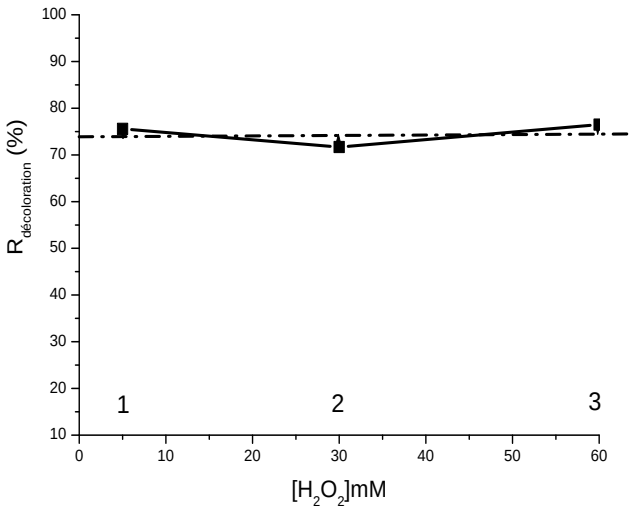


E $[Fe^{2+}]$ sur le R% de décoloration

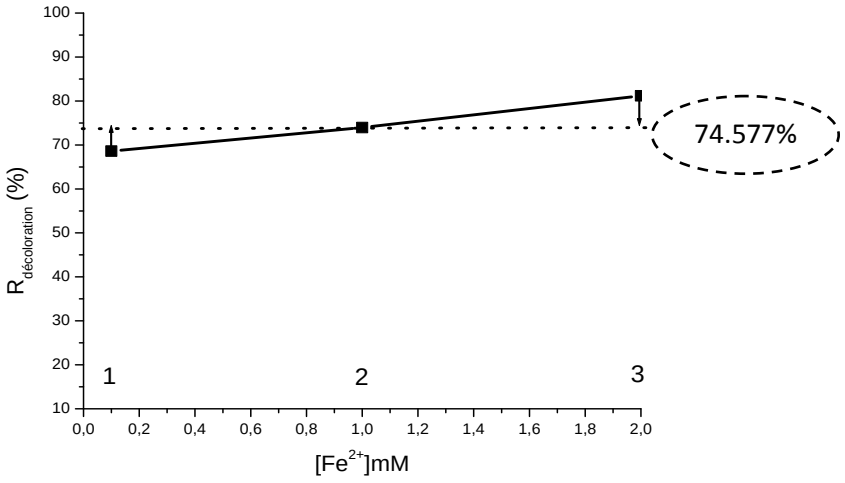
Figure IV.14 : Effets des paramètres influençant le rendement de décoloration de JD106 par un procédé Fenton



E[BD77]sur le R% de décoloration



E[H_2O_2] sur le R% de décoloration.



E [Fe^{2+}] sur le R% de décoloration

Figure IV.15 : Effets moyens des paramètres influençant le rendement de décoloration de BD77 par procédé Fenton

D'après les figures IV.14, on constate que les effets de [JD 106] entre 10 et 50mg/l est important, et au-delà on trouve un chute du R_d , que l'effet de H_2O_2 et de Fe^{2+} , avec l'effet de [H_2O_2] négligeable. Aussi, la figure IV.15 représente les effets des paramètres étudiés qui donne des résultats négatifs par rapport le 1^{ier} colorant.

A partir de des résultats des effets on peut tirer le tableau des interactions entre les paramètres où les facteurs afin d'étudier l'impact l'un sur l'autre. Les différents graphes d'interactions sont illustrés sur les figures : IV.16, IV.17

Tableau IV.10. Interaction entre les paramètres: [colorant] et [H_2O_2] ; M_{JD106}=59.667 ; M_{BD77}=74.577

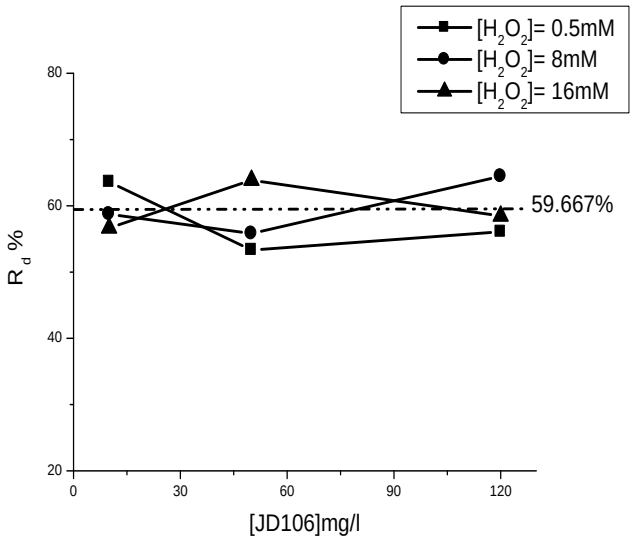
	Paramètre: [colorant] / Paramètre :[H_2O_2]	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3
JD106	Niveau 1	IN$[H_2O_2]_1[JD]_1$=3.936	IN$[H_2O_2]_1[JD]_2$=-6.347	IN$[H_2O_2]_1[JD]_3$=-3.588
	Niveau 2	IN $[H_2O_2]_2[JD]_1$=-0.929	IN$[H_2O_2]_2[JD]_2$= -3.856	IN$[H_2O_2]_2[JD]_3$=4.785
	Niveau 3	IN$[H_2O_2]_3[JD]_1$= -3.007	IN$[H_2O_2]_3[JD]_2$= 4.204	IN$[H_2O_2]_3[JD]_3$= -1.199
BD77	Niveau 1	IN$[H_2O_2]_1[BD]_1$= -2.691	IN$[H_2O_2]_1[BD]_2$= 1.705	IN$[H_2O_2]_1[BD]_3$= 0.982
	Niveau 2	IN$[H_2O_2]_2[BD]_1$= -13.141	IN$[H_2O_2]_2[BD]_2$= 6.359	IN $[H_2O_2]_2[BD]_3$=6.776
	Niveau 3	IN$[H_2O_2]_3[BD]_1$= 15.829	IN$[H_2O_2]_3[BD]_2$= -8.067	IN$[H_2O_2]_3[BD]_3$=-7.763

Tableau IV.11. Interaction entre les paramètres :[colorant] et [Fe^{2+}] ; M_{JD106}=59.667 ; M_{BD77}=74.577

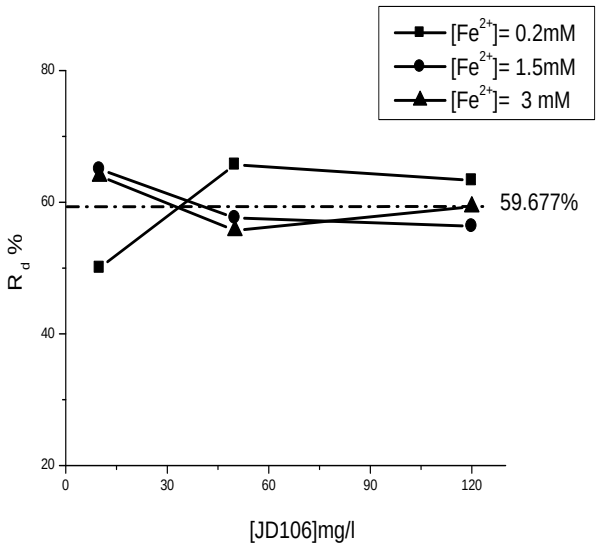
	Paramètre : colorant] / Paramètre :[H_2O_2]	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3
JD106	Niveau 1	IN$[Fe^{2+}]_1[JD]_1$=-9.648	IN$[Fe^{2+}]_1[JD]_2$=6.044	IN$[Fe^{2+}]_1[JD]_3$=3.639
	Niveau 2	IN $[Fe^{2+}]_2[JD]_1$= 5.352	IN$[Fe^{2+}]_2[JD]_2$= -2.048	IN$[Fe^{2+}]_2[JD]_3$=-3.303
	Niveau 3	IN$[Fe^{2+}]_3[JD]_1$= 4.295	IN$[Fe^{2+}]_3[JD]_2$= -3.956	IN$[Fe^{2+}]_3[JD]_3$= -0.34
BD77	Niveau 1	IN$[Fe^{2+}]_1[BD]_1$= -3.112	IN$[Fe^{2+}]_1[BD]_2$= -0.468	IN$[Fe^{2+}]_1[BD]_3$= 3.575
	Niveau 2	IN$[Fe^{2+}]_2[BD]_1$= 3. 999	IN$[Fe^{2+}]_2[BD]_2$= -1.677	IN $[Fe^{2+}]_2[BD]_3$=-2.326
	Niveau 3	IN$[Fe^{2+}]_3[BD]_1$= -0.891	IN$[Fe^{2+}]_3[BD]_2$= 2.142	IN$[Fe^{2+}]_3[BD]_3$=-1.254

Tableau IV.12. Interaction entre les paramètres :[Fe^{2+}] et [H_2O_2] ; M_{JD106}=59.667 ; M_{BD77}=74.577

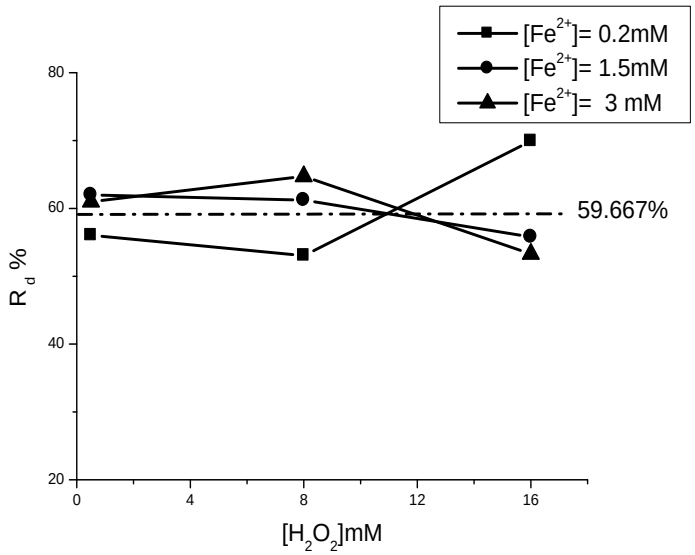
	Paramètre [colorant] / Paramètre :[H_2O_2]	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3
JD106	Niveau 1	IN$[H_2O_2]_1[Fe^{2+}]_1$=-3.625	IN$[H_2O_2]_1[Fe^{2+}]_2$=2.308	IN$[H_2O_2]_1[Fe^{2+}]_3$ =1.318
	Niveau 2	IN $[H_2O_2]_2[Fe^{2+}]_1$=-6.624	IN$[H_2O_2]_2[Fe^{2+}]_2$= 1.559	IN$[H_2O_2]_2[Fe^{2+}]_3$=5.065
	Niveau 3	IN$[H_2O_2]_3[Fe^{2+}]_1$= 10.247	IN$[H_2O_2]_3[Fe^{2+}]_2$=- 3.865	IN$[H_2O_2]_3[Fe^{2+}]_3$= -6.383
BD77	Niveau 1	IN$[H_2O_2]_1[Fe^{2+}]_1$= 3.339	IN$[H_2O_2]_1[Fe^{2+}]_2$= -1.861	IN$[H_2O_2]_1[Fe^{2+}]_3$= -0.485
	Niveau 2	IN$[H_2O_2]_2[Fe^{2+}]_1$=-7.353	IN$[H_2O_2]_2[Fe^{2+}]_2$= 0.505	IN $[H_2O_2]_2[Fe^{2+}]_3$=6.841
	Niveau 3	IN$[H_2O_2]_3[Fe^{2+}]_1$= 5.003	IN$[H_2O_2]_3[Fe^{2+}]_2$= 1.352	IN$[H_2O_2]_3[Fe^{2+}]_3$=-6.358



IN [JD106] / $[H_2O_2]$

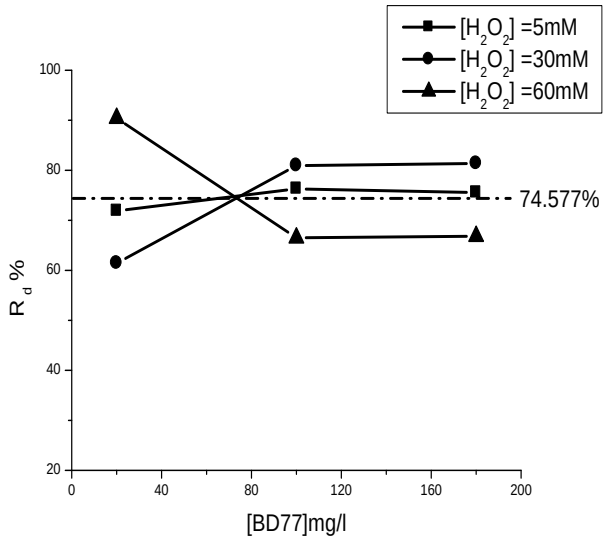


IN [JD106] / $[Fe^{2+}]$

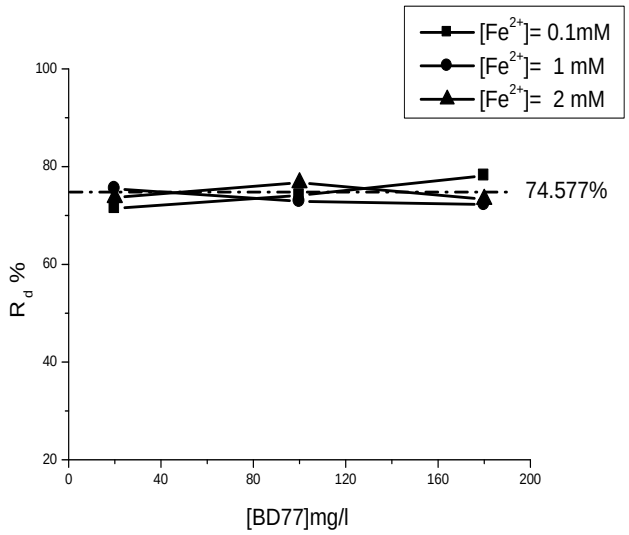


IN $[H_2O_2]$ / $[Fe^{2+}]$

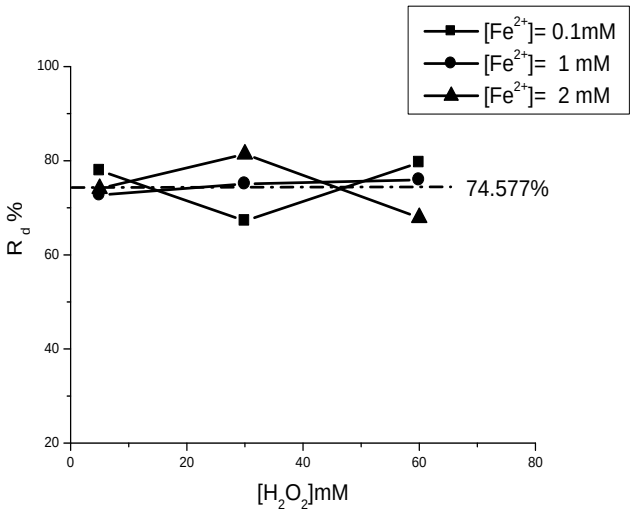
Figure IV.16 : Interactions entre les paramètres pour le JD106 par procédé Fenton.



IN [BD77] / [H_2O_2]



IN [BD77] / [Fe^{2+}]



IN [H2O2] / [Fe^{2+}]

Figure IV.17 : Interactions entre les paramètres de la décoloration pour BD 77 par procédé Fenton

De même, Pour le 1^{ier} colorant JD106 et à partir les configurations correspondantes on peut retient les informations suivantes :

[JD106] = 50 mg/l (niveau 2) ; [Fe^{2+}] = 0.2 mM (niveau 1) ; [H_2O_2] = 16 mM (niveau 3)

Concernant le 2^{ieme} colorant BD77 on trouve :

[BD77] = 20 mg/l (niveau 1) ; [Fe^{2+}] = 2 mM (niveau 3) ; [H_2O_2] = 30mM (niveau 2)

Les interactions [colorant] / [H_2O_2] et [H_2O_2] / [Fe^{2+}] sont significatifs d'après la configuration obtenue par apport aux autres interactions

IV.5. Etude de décoloration de BD77 et JD 106 par couplage : Fenton – Peroxydase libre par plans d'expériences .

Le traitement par procédé de Fenten couplé simultanément avec procédé enzymatique concernant les deux colorants donne des résultats remarquables résumé sur le tableau IV.14. Les expériences sont réalisés sous les conditions optimal c'est-à-dire à pH 2 et à aussi des AE $_{JD106}$=1.4UI/ml; AE $_{BD77}$=3.27UI/ml ; avec température ambiante du milieu.

Tableau IV.14: Résultats des R_d % pour les différents essais des plans d'expériences.

N°essais	R_d%(JD106)	R_d%(BD77)
1	95.98	80.53
2	96.78	91.15
3	**97.99**	**96.46**
4	95.97	83.18
5	65.56	84.09
6	38.46	88.68
7	38.7	72.81
8	38.08	85.8
9	37.46	89.42
10	10.04	74.83
11	13.62	79.7
12	17.76	85.7
13	24.71	76.1
14	41.59	78.78
15	52.26	90.93
16	16.62	63.19
17	20.96	80.73
18	12.76	81.98

19		74.74
20		79.29
21		85.9
22		74.86
23		75.1
24		91.15
25		70.23
26		77.48
27		77.62

A partir de tableau IV.14, on peut tirer les informations suivants : à l'essai n°3 on trouve un rendement très important égale à 97.99%, due à un mélange comportant le [JD106]=10mg/l,

$[H_2O_2]$=0.1mM et $[Fe^{2+}]$=3mM, [AE]=1.4UI/ml, t_{cont}=5min.

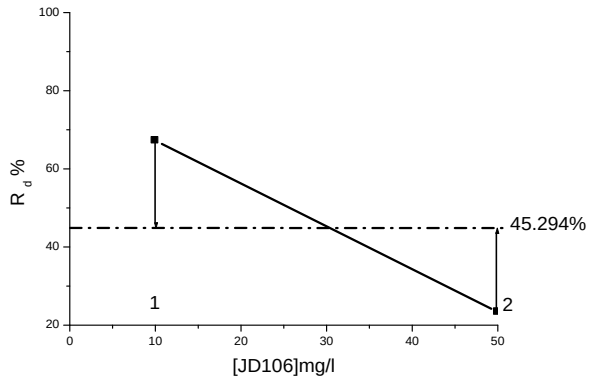
Ainsi à l'essai n°3, on obtient R=96.46%, issue de mélange réactionnel de [BD77]= 20mg/l, $[H_2O_2]$ = 5mM et $[Fe^{2+}]$ = 2mM, [AE] = 3.27UI/ml, t_{cont} = 5min . les réactions sont réalisés sous température ambiante

Après l'optimisation, le tableau IV.15 récapitule les effets moyens des deux colorants :

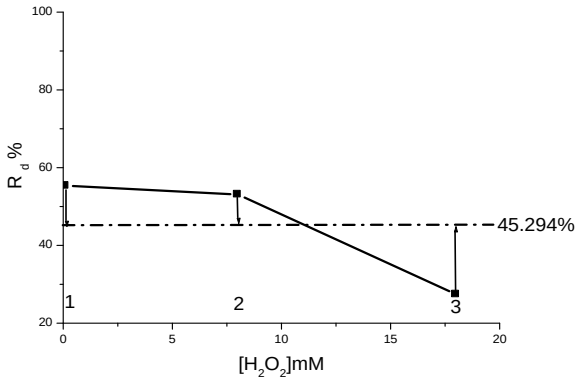
Tableau IV.15. Effets moyens des paramètres de couplage : ([colorant], $[H_2O_2]$, $[Fe^{2+}]$);M_{JD}=45.294 ; M_{BD}=81.127

	Effet de [Colorant]			Effet de $[H_2O_2]$			Effet de [AE]		
	$E[colorant]_1$ %	$E[colorant]_2$ %	$E[colorant]_3$ %	$E[H_2O_2]_1$ %	$E[H_2O_2]_2$ %	$E[H_2O_2]_3$ %	$E[fe^{2+}]_1$ %	$E[fe^{2+}]_2$ %	$E[fe^{2+}]_3$ %
JD	21.926	-21.926		10.067	7.797	-17.864	1.709	0.804	-2.513
BD	4.664	-2.023	-2.642	2.017	1.414	-3.432	-6.630	0.219	6.411

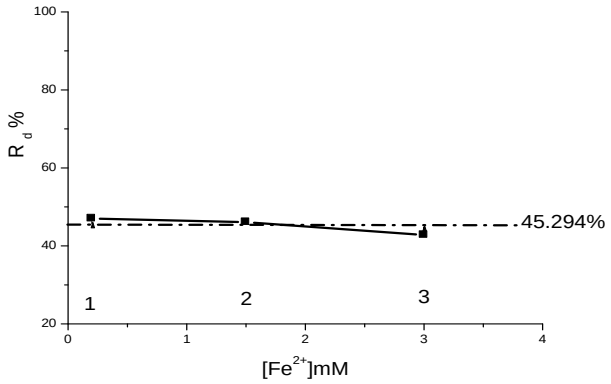
Par la suite on trace les différents effets moyens afin de déterminer le paramètre qui possède l'impact le plus important dans ce procédé de couplage de chaque colorant.



E[JD106]sur le R_d%

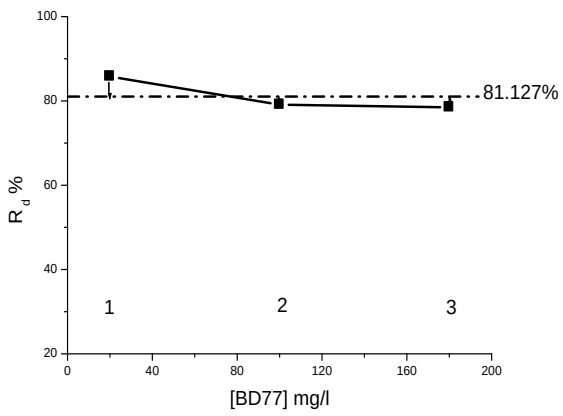


E[H_2O_2] sur le R_d%

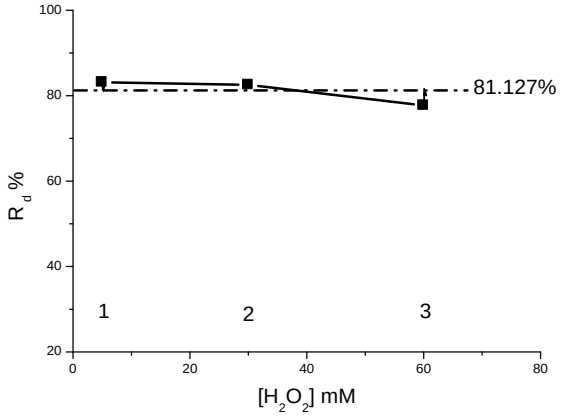


E [Fe^{2+}] sur le R_d%

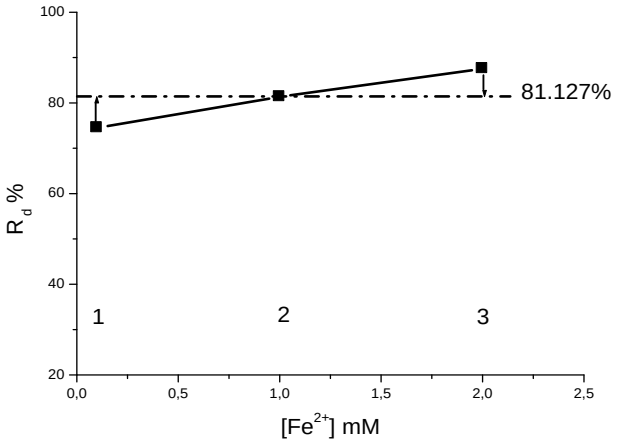
Figure IV.18 : Effets des paramètres influençant le rendement de décoloration de JD106 par procédé de couplage.



E [BD77]sur le R_d%



E[H_2O_2] sur le R_d%



E $[Fe^{2+}]$ sur le R_d %

Figure IV.19: Effets des paramètres pour la décoloration de BD77 par procédé de : Fenten-peroxydase libre.

A partir des figures IV.18-IV.19, on constate que les effets de [JD 106] sont prédominants que l'effet de H_2O_2 et de Fe^{2+} , si la concentration en colorant est importante le rendement de la décoloration sera réduit. Aussi , on a trouvé que les effets des paramètres pour la décoloration de BD77 ont été faibles donc i.e négligeables. Avec l'effet de H_2O_2 est souvent négligeable par rapport au autre .

A partir des effets obtenues on peut déduire le tableau des interactions entre les paramètres où les facteurs afin d'étudier l'impact de l'un sur l'autre, les tableaux IV.16-IV.18 et les figures IV.20 et IV 21 illustrent les différents résultats des interactions entre les paramètres.

Tableau IV.16. Interaction entre les paramètres de couplage :[colorant] et [H_2O_2] ; M_{JD}=45.294 %; M_{BD}=81.127%

	Paramètre :[colorant] / Paramètre :[H_2O_2]	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3
JD	Niveau 1	IN[H_2O_2]1[JD]1=19.628	IN[H_2O_2]1[JD]2= -19.628	
	Niveau 2	IN [H_2O_2]2[JD]1=-8.218	IN[H_2O_2]2[JD]2= 8.355	
	Niveau 3	IN[H_2O_2]3[JD]1=-11.277	IN[H_2O_2]3[JD]2= 11.276	
BD	Niveau 1	IN[H_2O_2]1[BD]1= 1.572	IN[H_2O_2]1[BD]2= -1.044	IN[H_2O_2]1[BD]3=-0.525
	Niveau 2	IN[H_2O_2]2[BD]1=-1.888	IN[H_2O_2]2[BD]2= 1.418	IN [H_2O_2]2[BD]3=0.471
	Niveau 3	IN[H_2O_2]3[BD]1= 0.317	IN[H_2O_2]3[BD]2= -0.372	IN[H_2O_2]3[BD]3=0.057

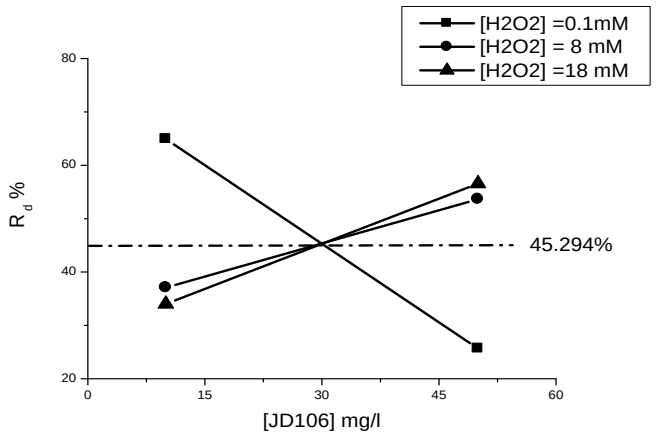
Tableau IV.17. Interaction entre les paramètres de couplage [colorant] et [Fe^{2+}] ;M_{JD}=45.294% ; M_{BD}=81.127%

	Paramètre [colorant] / Paramètre [H_2O_2]	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3
JD106	Niveau 1	IN[Fe^{2+}]$_1$[JD]$_1$=7.953	IN[Fe^{2+}]$_1$[JD]$_2$=-7.953	
	Niveau 2	IN [Fe^{2+}]$_2$[JD]$_1$=-1.218	IN[Fe^{2+}]$_2$[JD]$_2$= 1.218	
	Niveau 3	IN[Fe^{2+}]$_3$[JD]$_1$= -6.738	IN[Fe^{2+}]$_3$[JD]$_2$= 1.712	
BD7	Niveau 1	IN[Fe^{2+}]$_1$[BD]$_1$= -0.32	IN[Fe^{2+}]$_1$[BD]$_2$= -1.099	IN[Fe^{2+}]$_1$[BD]$_3$=1.422
	Niveau 2	IN[Fe^{2+}]$_2$[BD]$_1$= 1.003	IN[Fe^{2+}]$_2$[BD]$_2$= 0.413	IN [Fe^{2+}]$_2$[BD]$_3$=-1.414
	Niveau 3	IN[Fe^{2+}]$_3$[BD]$_1$= -0.681	IN[Fe^{2+}]$_3$[BD]$_2$= 0.689	IN[Fe^{2+}]$_3$[BD]$_3$=-0.005

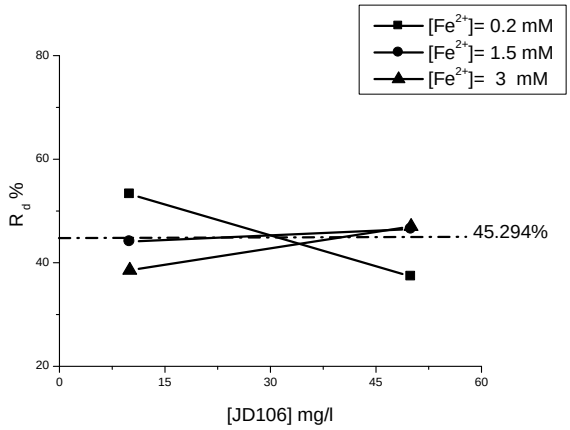
Tableau IV.18. Interaction entre les paramètres de couplage [Fe^{2+}] et [H_2O_2] ; M_{JD}=45.294% ; M_{BD}=81.127%

	Paramètre [colorant] / Paramètre [H_2O_2]	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3
JD	Niveau 1	IN[H_2O_2]$_1$[Fe^{2+}]$_1$= - 4.06	IN[H_2O_2]$_1$[Fe^{2+}]$_2$= -0.965	IN[H_2O_2]$_1$[Fe^{2+}]$_2$= 4.424
	Niveau 2	IN [H_2O_2]$_2$[Fe^{2+}]$_1$= 5.54	IN[H_2O_2]$_2$[Fe^{2+}]$_2$= -0.32	IN[H_2O_2]$_1$[Fe^{2+}]$_2$= -5.218
	Niveau 3	IN[H_2O_2]$_3$[Fe^{2+}]$_1$= -1.479	IN[H_2O_2]$_3$[Fe^{2+}]$_2$= 1.286	IN[H_2O_2]$_1$[Fe^{2+}]$_2$= 0.193
BD	Niveau 1	IN[H_2O_2]$_1$[Fe^{2+}]$_1$= 0.187	IN[H_2O_2]$_1$[Fe^{2+}]$_2$= 0.017	IN[H_2O_2]$_1$[Fe^{2+}]$_3$=-0.200
	Niveau 2	IN[H_2O_2]$_2$[Fe^{2+}]$_1$=2.136	IN[H_2O_2]$_2$[Fe^{2+}]$_2$= -3.436	IN [H_2O_2]$_2$[Fe^{2+}]$_3$=1.302
	Niveau 3	IN[H_2O_2]$_3$[Fe^{2+}]$_1$=- 2.318	IN[H_2O_2]$_3$[Fe^{2+}]$_2$= 3.422	IN[H_2O_2]$_3$[Fe^{2+}]$_3$= -1.098

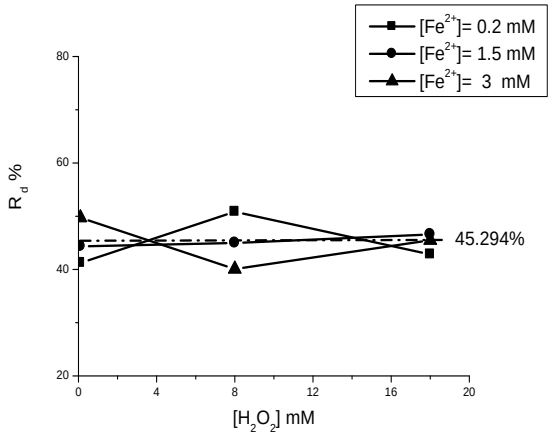
Par la suite on trace les différentes interactions afin de déterminer le paramètre qui possède l'impact le plus important de l'un sur l'autre dans ce procédé de couplage de chaque colorant.



IN [JD106] / [H_2O_2]



IN [JD106] / [Fe^{2+}]



IN [H_2O_2] / [Fe^{2+}]

Figure IV.20 : Interactions entre les paramètres de décoloration pour JD106 par procédé de Fenten-peroxydase.

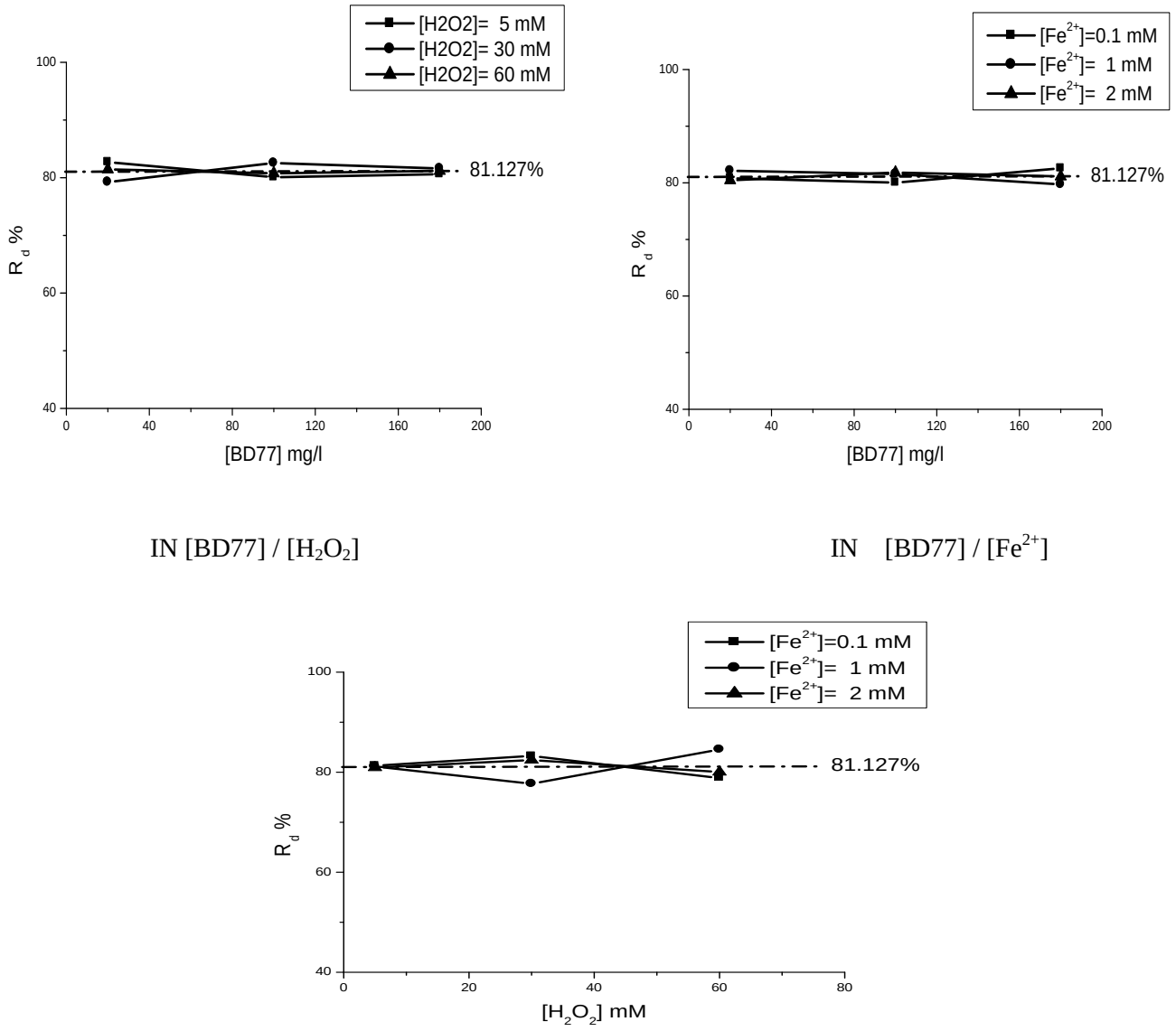


Figure IV.21 : Interactions entre les paramètres de décoloration pour BD77 par procédé de Fenton-peroxydase libre

Pour déduire la configuration optimale donnant le rendement maximal, il faut tenir en compte les interactions qui lient les 3 paramètres entre eux. Pour le 1^{ier} colorant JD106 on a trouvé que l'interaction [JD 106] / [H_2O_2] est importante selon la configuration obtenue, quand on augment la concentration en H_2O_2 la décoloration sera mieux on peut tirer les informations :

[JD106] = 10 mg/l (niveau 1) ; [Fe^{2+}] = 0.2 mM (niveau 1) ; [H_2O_2] = 8 mM (niveau 2)

Concernant le 2^{ieme} colorant BD77 on trouve :

[BD77] = 20 mg/l (niveau 1) ; [AE] = 2mM (niveau 3) ; [H_2O_2] = 30mM (niveau 2)

Les interactions [JD106] / [H_2O_2] , [JD106] / [Fe^{2+}] et [H_2O_2] / [Fe^{2+}] sont sembles et faibles la configuration confirme le résultat obtenue , on peut dire qu'il y a indépendance entre les paramètres étudiés , malgré on obtient un rendement de décoloration du BD 77 élevé.

IV.6. analyse des surnageant par spectrophotométrie UV-vis

L'analyse des surnageant par balayage des longueurs d'onde dans la gamme UV-vis, est présentée sur les figures IV-22 et IV-23.

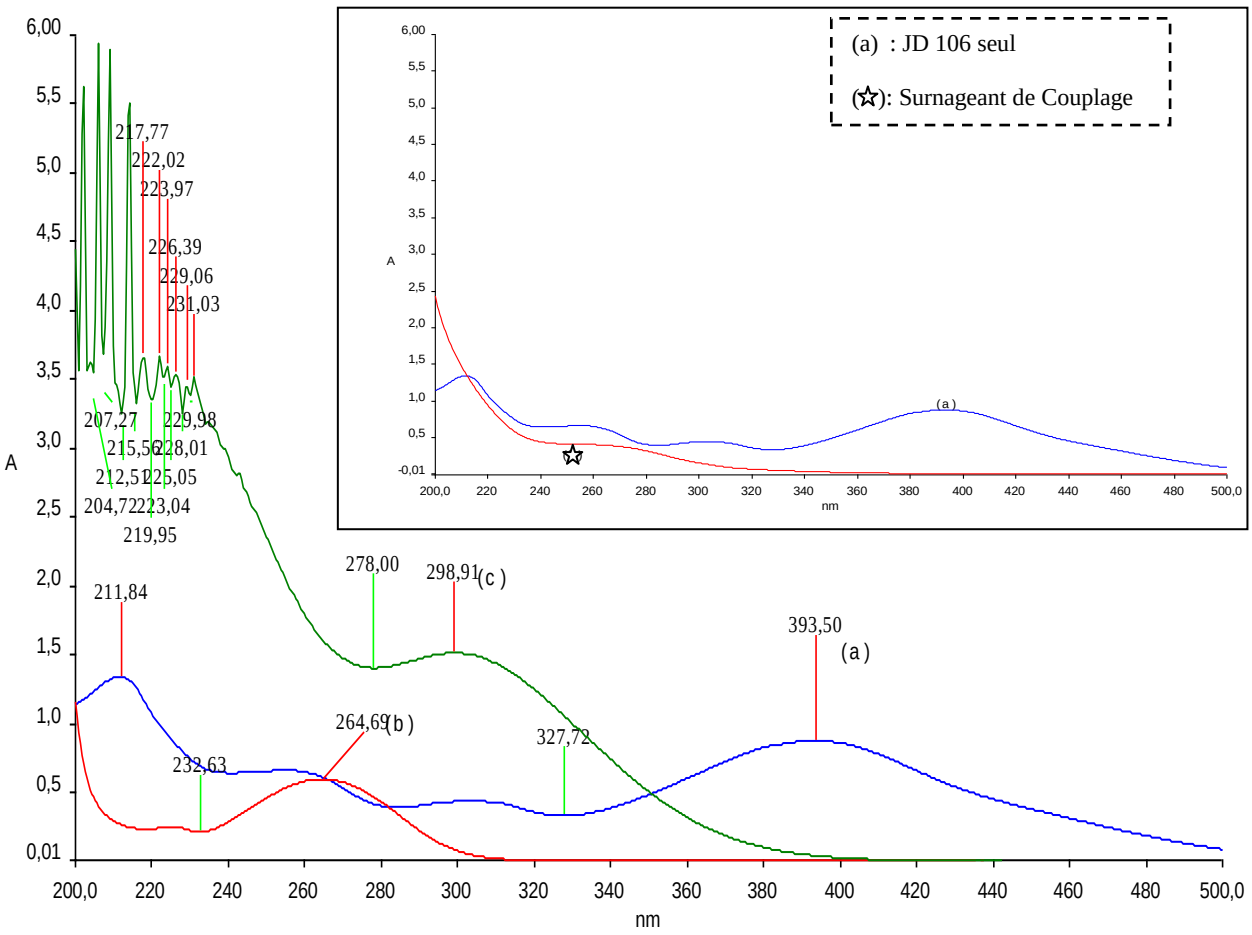


Figure IV. 22. Spectre d'absorption des solutions en JD106 dans la gamme 200-500 nm

(a): JD 106(sans traitement); (b) : surnageant de p. enzymatique ;

(c): surnageant de p. Fenton (☆) : Surnageant de Fenton-peroxydase.

D'après la figure IV.22, on constate que l'élimination du JD 106 par procédé enzymatique est plus favorable que celle obtenue par le procédé de Fenton. La décoloration est totale (solution (b)) dans la gamme du visible (400 -500 nm) par rapport au colorant non traité . Néanmoins, le pic à 264.9 nm du à la présence de cycle aromatique persiste. Avec le procédé Fenton (La solution (c)) un pic est signalé à la longueur d'onde 298.9 nm, ainsi que d'autres pics sur la gamme 200à 300nm pouvant être dus à la formation d'amines aromatiques . Le couplage de procédés, enzymatique/Fenton, (la solution (☆), a permis la diminution de l'intensité du pic 264.9 nm . Donc, le couplage entre les deux procédés donne un résultat significatif , et une amélioration du rendement d'élimination de JD 106 par rapport au procédé Fenton seul.

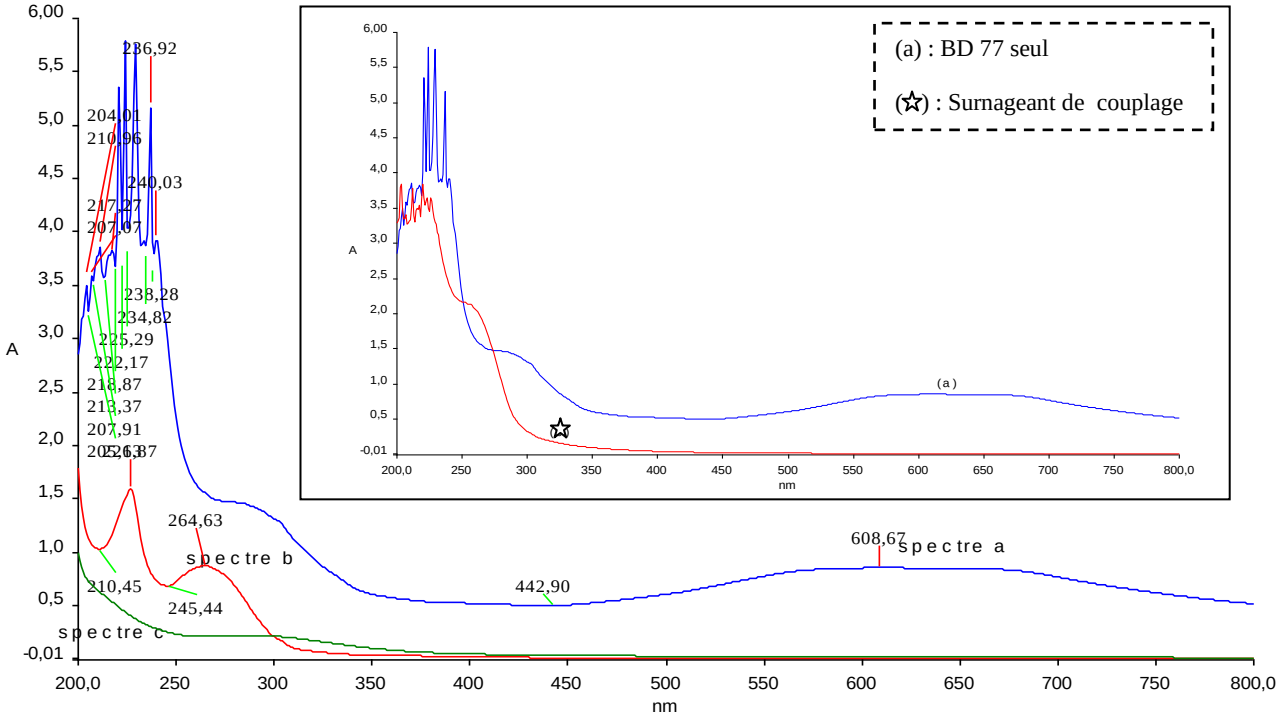


Figure IV. 23. Spectre d'absorption des solutions en BD77 dans la gamme 200-800 nm

Avec : (a) : BD 77(sans traitement) ; (b) : surnageant de p. enzymatique ;

(c) : surnageant de p. Fenton ; (☆) : Surnageant de Fenton-peroxydase

Selon la figure IV.23, on constate que l'élimination du BD 77 par le rendement obtenu procédé Fenton est supérieur à celui du procédé enzymatique. La valeur d'absorption enregistrée dans gamme visible pour la solution (c) est très faible par rapport à l'absorption du colorant brut. Par ailleurs un pic est signalé pour la solution (b) à 264.6 nm identique à celui trouvé pour le colorant JD. Aussi, la configuration correspondante de la solution (☆) , où le couplage donne un résultat remarquable , aucune pic n'apparait sur la gamme du visible (400-800 nm) , donc la décoloration a été confirmée par le spectre.

Introduction générale

Un colorant est une substance fortement colorée qui interagit avec le milieu dans lequel elle est introduite, et le colorant soit dissolvant et dispersant. Généralement, un colorant possède une affinité importante capable à se fixer par teinture ou impression sur la plupart des textiles. Les colorants synthétiques sont à la fois toxiques et responsables de la coloration des eaux. [1].

Certains rejets des industries textiles entraine des problèmes de la pollution des eaux, qu'il s'agit d'une altération de sa qualité et de sa nature qui rend son utilisation dangereuse et (ou) perturbe l'écosystème aquatique. Elle peut concerner les eaux superficielles (rivières, la mer) et/ou les eaux souterraines, [2].

L'élimination de ces pollutions passe par plusieurs types de processus dont les procédés physico-chimiques, l'adsorption, la dégradation biologique, électrochimiques, photochimiques et les processus microbiologiques. Malheureusement, Ces méthodes de traitements ne sont pas toujours efficaces, ce qui impose aux chercheurs de trouver un procédé de traitement alternatif moins coûteux et moins agressifs pour l'environnement.

Durant ces dernières années, nombreuses études sur la dégradation enzymatique ou chimique des colorants, qui ont basées sur les enzymes d'intérêts et le procédé de Fenton caractérisé par un réactif de Fenton où le fer afin d'intérêt la décoloration des eaux usées. Les enzymes, grâce à leur pouvoir catalytique et surtout leur spécificité, prennent de jour en jour une position importante parmi les méthodes de traitement les plus efficaces du point de vue technicoéconomique pour le traitement des polluants d'industrie textiles, [3].

Pour les raisons (faible minéralisation, possibilité de formation de sous produits toxiques), les chercheurs dans le domaine de l'oxydation ont concentré leurs efforts sur des procédés d'oxydation plus puissants : procédés d'oxydation avancée (POA). Ces technologies ont déjà montré leur potentiel dans le traitement de polluants organiques toxiques et/ou biorécalcitrants. Les POA sont basés sur la production des radicaux hydroxyles, très fortement oxydant et extrêmement réactif. Ces radicaux sont capables de minéraliser n'importe quel composé organique et organométallique. [4]

L'objectif de ce travail est de montrer premièrement l'efficacité de la peroxydase extraite d'une source végétale(courgette), dans la décoloration des colorants synthétiques . Deuxièment , d'effectuer une étude expérimental afin de vérifier l'efficacité de procédé de Fenton pour le traitement des mêmes colorants. Aussi on a proposé de réaliser une technique expérimentale pour le traitement des effluents textiles , on parle donc le couplage des deux procédés qui déjà cités. Dans ce contexte, l'étude a porté sur l'optimisation des paramètres qui ont une influence sur le rendement de la décoloration des deux colorants synthétiques étudiés , en utilisant du plans d'expériences : le Jaune Direct 106 et le bleu dispersé 77 en vue d'application à la dépollution d'un effluent réel issu de l'industrie de textile. On a choisi ces colorants selon le domaine d'application, qui sont très utilisés dans l'industrie textile , parmi les , on trouve « SOITEX de Tlemcen » en Algérie. On distingue que les rejets de ces colorants ne subissent pas un traitement satisfaisant selon les normes mondiale.

L'étude s'appuie sur deux parties, une partie théorique basée sur une recherche bibliographique, qui comporte deux chapitres, concernant le 1^{ier} chapitre, on trouve l'essentiel sur les colorants synthétiques, leur toxicité et les différentes méthodes de traitement des effluents textiles. Dans le $2^{ième}$ chapitre, on a mentionné une généralité sur les enzymes notamment la peroxydase, ainsi que ses applications à différents domaines. L'autre partie dite expérimentale regroupe aussi deux chapitres, en premier lieu, on a cité toutes les méthodes et les dispositifs utilisés pendant la durée de la formation pour atteindre l'objectif. On a les résultats et discutions obtenus au cours de ce travail, en dernier lieu.

Enfin le mémoire se termine par une conclusion générale résumant l'essentiel du travail élaboré et les perspectives qui peuvent être envisagées dans le futur.

Les abréviations et les symboles

Abréviation	*Signification*	*Unité*
AE	Activité Enzymatique	UI/ml
AE_{sp}	Activité Enzymatique spécifique	UI/mg
BD 77	Bleu Dispersé 77	---
BDD	Diamant Dopé au Bore	---
C	Concentration molaire	mol/l
COT	Carbone Organique Total	mg/l
CI	Colour Index	---
DBO	Demande Biologique d'Oxygène	mg d'O_2/l
DCO	Demande Chimique en Oxygène	mg d'O_2/l
DO	Densité Optique	---
E	Enzyme	---
E_{Ai} ou E	Effet de A au niveau i	---
EEB	Extrait Enzymatique Brut	---
EEPP	Extrait Enzymatique Partiellement Purifié	---
EF	Enzyme-Activateur	---
EI	Enzyme-Inhibiteur	---
ES	Enzyme-Substrat	---
ESI	Enzyme-Substrat-Inhibiteur	---
GC-SM	Chromatographie Gazeuse assisté par Spectroscopie de Masse	---
HPLC	Chromatographie Liquide à Haute Performance	---
HRP	Horse Radish Peroxidase	---
I_{AiBj} ou IN	Interaction	---
I_0	Intensité de la radiation émise sur l'échantillon	Ampère
I	Intensité de la radiation qui a traversé l'échantillon	Ampère
JD 106	Jaune Direct 106	---
L	Largeur de la cuve de mesure de DO	cm
MnPeroxydase	Manganèse peroxydase	---
LiPeroxydase	Lignin peroxydase	---
M	Moyenne générale des essais effectués	---
MATE	Ministère de l'Aménagement Territoriale et de l'Environnement	---
opt	Optimal	---
P	Produit	---
pH	Potentiel d'Hydrogène	---
POA	Procédé d'Oxydation Avancé	---
R_d	Rendement de décoloration	%
S	Substrat	---
SAB	Sérum d'Albumine Bovin	---
T	Température	°C
t	Temps	min
t_{cont}	Temps de contact	min
v	Vitesse de la réaction	M/min
V_M	Vitesse maximale de la réaction	M/min

Symboles	*Signification*	*Unité*
$\bar{A}_i$	La moyenne des réponses de A au niveau i	----------
k	Constante de vitesse	min^{-1}
k_M	Constante de Mechaelis-Menten	mol/l
R^2	Coefficient de corrélation	---------
Ɛ	Coefficient d'extinction molaire	$mol\ .l^{-1}.cm^{-1}$
λ_{max}	Longueur d'onde à DO maximal d'une substance	nm

Listedes tableaux

Tableau I.1. Principaux groupes chromophores et auxochromes…….4

Tableau I.2. Les principaux colorants textiles et leurs applications…….6

Tableau I.3. Quelques caractéristiques des effluents textiles……9

Tableau.I.4. Norme algérienne (n° 06-141) des rejets d'effluents d'industrie textile…..…….9

Tableau. I.5. Estimation de fixation de différents colorants aux fibres textiles……..11

Tableau.I.6 : Principales applications des peroxydases sur la décoloration des colorants et effluents textiles……...….20

Tableau. I.7 : Avantages et les inconvénients de diverses méthodes de décoloration pour les colorants et effluents industriels……...……21

Tableau II.1. La classification des enzymes selon la commission des enzymes de l'Union Internationale de Biochimie…….24

Tableau III.1. Description général sur les réactifs utilisés au cours de travail…..……..35

Tableau III.2. Propriétés physico-chimiques du colorant JD106 et BD 77……..…..36

Tableau.III.4. Estimation des facteurs influents sur le rendement de décoloration par peroxydase libre…….……..……42

Tableau.III.5. Tableau des plans d'expériences pour le JD106 / BD77 par la peroxydase….43

Tableau.III.6. Estimation des paramètres des plans d'expériences pour le p. Fenton……45

Tableau.III.7. Plans d'expériences pour le JD 106 / BD 77 par le procédé Fenton.……..…46

Tableau III.8. Les notions des paramètres pour le couplage: [Colorant], [H_2O_2] et [Fe^{+2}]…..47

Tableau.III.9. Matrice de planification pour le couplage de JD106/BD77...…… 48

Tableau IV.1 . Caractérisation catalytiquesdes extraits enzymatiques préparés…….49

Tableau IV.2 . Les rendements de décoloration des colorants JD106/BD77traités par la peroxydase ……..……53

Tableau IV.3. Effets moyens des paramètres ([colorant],[H_2O_2],[AE]) pourp.enzymatique..54

Tableau IV.4. Interactions entre les paramètres [colorant] et [H_2O_2] pourp. enzymatique….56

Tableau IV.5. Interactions entre les paramètres [colorant] et [AE] pourp.enzymatique…….56

Tableau IV.6. Interactions entre les paramètres [AE] et [H_2O_2] pourp.enzymatique……..56

Tableau IV.8. Le tableau des plans d'expériences de procédé de Fenton……...61

Tableau IV.9. Effets moyens des paramètres ([colorant], [H_2O_2], [Fe^{2+}]) par p.Fenton……..62

Tableau IV.10. Interaction entre les paramètres de Fenton [colorant] et [H_2O_2] …..…… 64

Tableau IV.11. Interaction entre les paramètres de Fenton [colorant] et [Fe^{2+}] …….64

Tableau IV.12. Interaction entre les paramètres de Fenton [Fe^{2+}] et [H_2O_2] ……..64

Tableau IV.14. les paramètres plan d'expériences pour le p.de couplage…….. 67

Tableau IV.15. Effets moyens des paramètres de couplage ([colorant], [H_2O_2], [Fe^{2+}])…… 68

Tableau IV.16. Interaction entre les paramètres de couplage [colorant] et [H_2O_2] ……..….71

Tableau IV.17. Interaction entre les paramètres de couplage [colorant] et [Fe^{2+}] ……..71

Tableau IV.18. Interaction entre les paramètres de couplage [Fe^{2+}] et [H_2O_2]……..... 71

Listes des figures

Figure.I.1. Deux colorants exemplaires indiquent la partie chromophore et auxochromes…3

Figure. I.2: Le mécanisme d'oxydation des colorants azoïques par la peroxydase……..8

Figure .I.3. Structures chimiques de quelques amines aromatiques toxiques……..…..10

Figure .I.4. Principaux procédés de production des $OH^{\bullet}$……15

Figure II.1. Diagramme énergétique d'une réaction chimique catalysée par une enzyme…..25

Figure II.2.Ac'est unereprésentation graphiquede Lineweaver-Burk……26

Figure II.3. Effet de la température et de pH sur l'activité enzymatique……27

Figure II.4.Mécanisme réactionnel de l'inhibition compétitive……..28

Figure II.5.Mécanisme réactionnel de l'inhibition non compétitive…...……28

Figure II.6.Mécanisme réactionnel de l'inhibition incompétitive……...……29

Figure II.7.Mécanisme réactionneld'un activateur F…….29

Figure.II.8. Structure de Ferriproto-porphyrine IX ou l'héminique……30

Figure.II.9. Structure Tridimensionnelle de la peroxydase d'arachide…….30

Figure. II.10. Cycle catalytique de la partie Hémine de la peroxydase…..…….……31

Figure III.1. Protocole d'extraction de la peroxydase…….37

Figure III.2. Protocole de purification de la peroxydase par Acétone……38

Figure IV.1 : Photos représente l'aspect générale des extraits EEB/EEPP……49

Figure IV.2 :L'aspect général d'EEPP à différents pH 2-10 après certain temps……..50

Figure IV.4 :L'histogramme représente la variation de rendement de décoloration de JD106 et BD77 en fonction du Hp……50

Figure IV.5 : Photos montrant les solutions de JD106 avant et après le traitement enzymatique à différents pH……51

Figure IV.6 : Photos montrant les solutions de BD77 avant et après le traitement enzymatique à différents pH……...51

Figure IV.7 : Décoloration de JD106/ BD77 en fonction de temps……52

Figure IV.8 : Représentation graphique des effets moyens des facteurs influents sur le R_d% de JD106 traité par la peroxydase *cuccurbitapepo*……....54**Figure IV.9** : Représentation graphique des effets des facteurs influents sur le R% de décoloration par procédés enzymatique de BD77…….55

Figure IV.10 : Interactions entre les paramètres ([JD106] ; [H_2O_2] ; [AE]) pour JD106…....57

Figure IV.11 : Interaction entre les paramètres ([BD77] ; [H_2O_2] ; [AE]) pour BD77……...58

Figure IV.12 :La variation de R_d % en fonction du pH (procédé deFenton)..……..59

Figure IV.13 : L'évolution de la décoloration en fonction du temps (p.Fenten)……60

Figure IV.14 : Effets des paramètres influençant le rendement de décoloration de JD106 par un procédé de Fenton……62

Figure IV.15 : Effets moyens des paramètres influençant le rendement de décoloration de BD77 par procédé de Fenton……63

Figure IV.16 : Interactions entre les paramètres pour le JD106 par procédé Fenton ...……65

Figure IV.17 : Interactions entre les paramètres de décoloration pour BD77 par procédé Fenton……..66

Figure IV.18 : Effets des paramètres influençant le rendement de décoloration de JD106 par procédé de couplage……..69

Figure IV.19: Effets des paramètres la décoloration de BD77 par couplage entre : Fenton-peroxydase libre……...……70

Figure IV.20 : Interactions entre les paramètres de décoloration pour JD106 par procédé de Fenton-peroxydase……72

Figure IV.21 : les interactions entre les paramètres de décoloration pour BD77 par procédé de Fenton-peroxydase…..……..……73

Figure IV. 22. Spectre d'absorption des solutions traitées de JD106dans la gamme 200-500 nm……74

Figure IV. 23. Spectre d'absorption des solutions traitées de BD77 dans la gamme 200-800 nm…….……75

Sommaire

Introduction général……1

PARTIE THEORIQUE

Chapitre I : **Colorants textiles, méthodes de traitements et couplage des procédés**

I.1. Généralités sur les colorants textiles……...…….3

I.2. Classification des colorants ……..……4

I.2.1. Les colorants azoïques ……4

I.2.2. Les colorants anthraquinoniques ……5

I.2.3. Les colorants indigoïdes……...…….5

I.2.4. Les colorants xanthène……..5

I.2.5. Les phtalocyanines……5

I.2.6. Les colorants nitrosés……5

I.2.7. Les colorants triphénylméthanes……...5

I.3. Fixation des colorants aux fibres ……6

I.4. Synthèse et réactivité des colorants azoïques et anthraquinoniques ……...7

I.4.1.Les colorants azoïques ……..……....7

I.4.2. Les colorants anthraquinoniques ……..8

I.5. Rejets d'effluents textiles ……9

I.5.1. Propriétés ……...……..9

I.5.2.Toxicité des colorants textiles……..10

I.6. Procédés de traitement des colorants ……...……..11

I.6.1. Méthodes classiques …….. 11

I.6.1.1. Méthodes physiques ……11

a. Adsorption……...……..11

b. Filtration membranaire ……12

c. Coagulation/floculation ……12

I.6.1.2. Méthodes biologiques ……..……12

i. Bactéries……12

ii. Fongis……...……13

iii. Algues……13
I.6.1.3. Méthodes chimiques ……14
I.6.2. Méthodes alternatives……..14
I.6.2.1. Méthodes d'oxydation avancée ……14
i. Procédés photochimiques ……15
♦.1. Photolyse d'O_3……15
♦.2. Photolyse de H_2O_2……15
♦.3. Photo-peroxonation $O_3/UV/H_2O_2$……15
ii. Procédés photocatalytiques……16
♦.1. Photo-Fenton $Fe^{2+}/H_2O_2/UV$……16
♦.2. Photocatalyse avec TiO_2 ……16
iii. Procédés d'oxydation chimiques ……16
♦.1. Peroxonation (O_3/H_2O_2)……16
♦.2. Procédé Fenton (Fe^{2+}/H_2O_2)……17
iv. Procédés électrochimiques……18
♦.1. Electrochimie directe ou Oxydation anodique……18
♦.2. Electrochimie indirecte ou électro-Fenton……18
I.6.2.1. Méthodes enzymatiques ……19
♦.1.Laccases ……19
♦.2. Peroxydases……20
I.6.2.3. Couplage des procédés……20
I.7.Conclusion……22

Chapitre II : Généralité sur les enzymes, les peroxydases libres

II.1. Généralités sur les enzymes ……23
II.1.1. Classification et nomenclature des enzymes……23
II.1.2.Catalyse enzymatique ……24
❖ Modèle de Mechaelis&Menten ……25
II.1.3.Facteurs influençant la vitesse des réactions enzymatiques……26
II.1.3.1. Effet de La température ……26
II.1.3.2.Influence du pH ……26
II.1.4. Inhibiteurs /Activateurs ……27
II.1.4.1.les inhibiteurs ……27
➢ Inhibition compétitive ..……27

- Inhibition non compétitive …..……28
- Inhibition incompétitive ….……..29

II.1.4.2.Les Activateurs ……..…….……29

II. 2.Peroxydase…….29

II.2.1. Définition et structure……...……..29

II.2.2. Classification……..30

II.2.2.1. Peroxydases animales (classe I)……..……30

II.2.2.2. Peroxydases fongiques extracellulaires (classe II)…..……30

II.2.2.3. Peroxydases des plantes, (classe III)……...…30

II.2.3. Cycle catalytique……31

II.2.4. Applications de la peroxydase ……...……32

♦.1. Dégradation des colorants synthétiques……32

♦.2. Traitement des composés phénolique……...……32

♦.3. Dégradation de pesticides ……..……..32

♦.4. Synthèse des polymères……33

♦.5.Utilisation de la peroxydase dans des produits cosmétiques protecteurs de la peau…...33

II.3.Conclusion……..33

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre III : Matériels& Méthodes

III.1. Matériels et réactifs utilisés ……..34

III.1.1.Equipements …….…….34

III.1.2.Réactifs utilisés……..34

III.1.3. Propriétés physico-chimiques des colorants étudiés : JD106 et BD77……...35

III.2. Méthodes……..37

III.2.1. Extraction de la peroxydase de la courgette…….37

III.2.1.1.Mode opératoire, Préparation de l'extrait brut ……...…37

III.2.1.2 Préparation de l'extrait partiellement purifié……..38

III.2.2. Détermination desactivités catalytiques et spécifiques des extraits enzymatiques…..39

III.2.2.1.Dosage de l'activité enzymatique ……..……39
III.2.2.2.Dosage de protéine par la méthode de Bradford ……40
III.2.3.Etude de la stabilité de l'EEPP en fonction du pH et en fonction du temps ……...40
III.3.Préparation et étalonnage des colorants ……..…40
III.4. Etude de décoloration de JD106 et BD 77 par la peroxydase libre…….40
III.4.1. Effet de pH ……..41
III.4.2. Effet de Temps de Contact ……...……41
III.4.3. Principe de la méthode des plans d'expérience utilisée……...41
III.4.4.Optimisation des concentrations des substrats et de peroxydase…….42
III.5. Etude de décoloration des colorants JD106 et BD77 par le procédé Fenton…..…....44
III.5.1. Effet de pH……...44
III.5.2. Effet de Temps de Contact……...44
III.5.3.Optimisation des concentrations de [colorant],[H_2O_2] et [F^{2+}] par plans d'expériences pour le procédé de Fenton ……45
III.6. La décoloration par procédé de couplage : peroxydase libre –Fenton ……..……47
III.7. Etude spectrale…….48

Chapitre IV : Résultats & Discutions

IV. Résultats et discutions ……49
IV.1.Détermination desactivités catalytique et spécifique des extraits enzymatiques …...…49
IV.2. Etude de stabilité d'EEPP à différent pH en fonction du temps…….50
IV.3.Etude de décoloration de JD106 et BD77 par la peroxydase libre ……50
IV.3.1.Effet de pH ……50
IV.3.2.Effet du temps de contact ……..52
IV.3.3. Etude de la décoloration par la peroxydase de JD 106 et BD 77 par plans d'expériences…...…….52
IV.4. Etude de décoloration de JD106 et BD77 par le procédé fenton……59
IV.4.1.Effet de pH ……59
IV.4.2.Effet de temps de contact…….....60
IV.4.3. Etude de décoloration de JD106 et BD77 par le procédé fenton par plans d'expériences……60

IV.5. Etude de décoloration de BD77 et JD 106 par couplage entre les procédés :Fenton – Peroxydase libre ……...67

IV.6. Etude spectrale des surnageant……...……74

CONCLUSION GENERALE ……...76

Références de chapitre I

[1] M. CHAGUER. «Analyse, synthèse et étude solvatochromique de composés tinctoriaux » , Thèse de Magister en Chimie de Université Mentouri de Constantine, (2007) p. 6.

[2] WW. ECKENFELDER . – Gestion des eaux usées urbaines et industrielles , technique et documentation, Lavoisier Paris, Edition 1982

[3] A. ZILLE. « Laccase Reactions for Textile Applications »Thèse de Doctorat Université de Minho. 2005.

[4] S. BOUAFIA, « Dégradation des colorants textiles par procédés d'oxydation avancée basée sur la réaction de Fenton. Université Saâd Dahlab, (2008) p.2.

[5] N. BARKA, « L'élimination des colorants de synthèse par adsorption sur un phosphate naturel et par dégradation photocatalytique sur TiO2 supporté », thèse de doctorat, université Ibn Zohr, Agadir,(2008) p. 5 - 7 .

[6] E. Guivarch Traitement des polluants organiques en milieux aqueux par le procédé électrochimique d'oxydation avancée « Electro-Fenton ». Application à la minéralisation des colorants synthétiques, Thèse de doctoratde l'université de Marne-la-Vallée, 2004.

[7] Society of Dyes and Colourist Colour Index, vol. 1, 3ème edition, S.D.C., A. Association of Textile and Chemicals Colour, 1984.

[8] N. Oubagha, « Décontamination des eaux contenant les colorants textiles et les adjuvants par les matériaux naturels et synthétiques » mémoire de magister, université de Tizi-Ouzou, 2011.

[9] H.S. Freeman and G.N. Mock, "Dye Application, Manufacture of Dye Intermediates and Dyes. Handbook of Industrial Chemistry and Biotechnology,New York , 2012.

[10] W. Zongping , X. Miaomiao , H. Kai , L. Zizheng . "Textile Dyeing wastewater Treatment "*Huazhong University of Science and Technology*, Advances in Treating Textile Effluent, 2011.

[11] Zollinger H. "Color Chemistry. Syntheses, Properties, and Applications of Organic Dyes and Pigments". 3ème édition, Verlag Helvetica Chimica, Acta, Zürich, (2003).

[12] E.Torres, I. Bustos -Jaimes, S. Le Borgne 'Potential use of oxidative enzymes for the detoxification of organic pollutants' Applied Catalysis B: Environmental, (2003) 46 :1-15.

[13] A . Hazrat. "Biodegradation of Synthetic Dyes—A Review", Water Air Soil Pollution, 2010.

[14] Journal officiel de la république algérienne n° 26 « Décret exécutif n° 06-141 du 20 Rabie El Aouel 1427 correspondant au 19 avril 2006 définissant les valeurs limites des rejets d'effluents liquides industriels. » ,2006.

[15] K. Specht, T. Platzek, "Textile dyes and finishes - Remarks to toxicological and analytical aspects", Deut. Lebensm.-Rundsch , 91(1995) 352-359.

[16] M.A. Brown , Devito S.C., Predicting azo dye toxicity, Critical Review of Environmental Science Technology, 23 (1993) 249-324 .

[17] K.T. Chung , G.E. Fluk, A.E. Andrews, Mutagenicity testing of some commonly used dyes, Applied Environmental Microbiology, 42 (1981) 641-648.

[18] H.S. Rosenkranz, G. Klopman, Structural basis of the mutagenicity of 1-amino-2-naphthol-based azo dyes, Mutagenesis5 (1990) 137-146 .

[19] J.R. Easton, The dye maker's view, in Colour in dyehouse effluent, P. Cooper, Society of Dyers and Colourists: Bradford, England, Editor (1995) p.9-21.

[20] MFR. Pereira, SF . Soares , JJM Orfão, JL Figueiredo . Adsorption of dyes on activated carbons: influence of surface chemical groups. Carbon, (2003) 41: 811-821.

[21] P. Luciana, A. Magdalena, « Dyes—Environmental Impact and Remediation", Environmental Protection Strategies for Sustainable Development, Strategies for Sustainability, (2008) 111-162 .

[22] S.D. Lambert, N.J.D. Graham, C.J. Sollars , G.D. Fowler, Evaluation of inorganic adsorbents for the removal of problematic textile dyes and pesticides, Water Science and Technology, 36 (1997) 173-180 .

[23] S.H. Lin . Adsorption of disperses dye by powdered activated carbon, Journal of Chemical of Technology and Biotechnology, 57(1993) 387-391 .

[24] K.R. Ramakrishna, T. Viraraghavan , Dye removal using low cost adsorbents, Water Science and Technology, 36 (1997) 189-196 .

[25] G. Mckay , G. Ramprasad , P. Mowli , Desorption and regeneration of dye colours from low-cost materials. Water Ressource, 21 (1987) 375-377.

[26] Y. Anjaneyulu, N. Sreedhara Chary 2, D. Samuel Suman Raj. ”Decolourization of industrial effluents – available methods and emerging technologies – a review”Reviews in Environmental Science and Bio/Technology , (2005) 4: 245-273 .

[27] KT. Chung, GE Fulk, M Egan . Reduction of azo dyes by intestinal anaerobes. Applied of Environnmental Microbiology ,(1978) 35: 558-562 .

[28] T. Robinson, Geoff McMullan, Roger Marchant, Poonam Nigam. “Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative”. Bioresource Technology 77, (2001) 247-255 .

[29] M. Solis, A.Solis, H. Ines Perez, N. Manjarrez, M.Flores.” Microbial decolouration of azo dyes: A review”, Process Biochemistry 47, (2012) 1723-1748 .

[30] CI. Pearce, JR Lloyd, JT. Guthrie. The removal of colour from textile wastewater using whole bacterial cells: a review. Dyes and Pigments, (2003) 58:179-196 .

[31] C. Seignez , **N.** Adler, J.C. Suard, P Peringer . Aerobic and anaerobic biodegradability of 1-anthraquinone sulphonate. Applied Microbiology Biotechnology, (1996) 45:719-722 .

[32] SR. Couto . Dye removal by immobilised fungi. Biotechnology Advanced , (2009) 27:227-235 .

[33] C.K Ramesh, G. Rishi , P.K. Yogender “Chapter 35 Microbial Decolorization of Colored Industrial Effluents » *Microorganisms in Environmental Management:Microbes and Environment*, (2012).

[34] A. Bhatnagar, M. Sillanpaa. Utilization of agro-industrial and municipal waste materials as potential adsorbents for water treatment: a review. Chemical Engineering Journal, (2010) 157:277-296 .

[35] Y. Sugano, Y. Matsushima, K. Tsuchiya, H. Aoki, M. Hirai, M. Shoda, “ Degradation pathway of an anthraquinone dye catalyzed by a unique peroxidase DyP from Thanatephoruscucumeris Dec1”. Biodegradation , (2009) 433-440 .

[36] Q. Husain , M. Husain “Peroxidases as a Potential Tool for the Decolourization and Removal of Synthetic Dyes from Polluted Water”. Environmental Protection Strategies for Sustainable Development, Strategies for Sustainability , (2012) .

[37] JQ. Liu, HT.Liu . Degradation of azo dyes by algae. Environmental Pollution, (1992) 75:273-278 .

[38] WH. Glaze, JW. Kang & DH. Chapin . The chemistry of water treatment processes involving ozone, hydrogen peroxide, and ultraviolet radiation. Ozone Science Engineering , (1987) 9: 335-352 .

[39] H. Y. Shu & M. C. Chang. Pre-ozonation coupled with UV/H_2O_2 process for the decoloration and mineralization of cotton dyeing effluent and synthesized C. I. Direct Black 22 wastewater. Journal of Hazardous Materials, (2005) 121 ; 127-133.

[40] E. J. Rosenfeldt , P. J. Chen, S. Kullmanc , K. G. Linden . Destruction of estrogenic activity in water using UV advanced oxidation. The Science of the Total Environment, (2007) 377, 105-113 .

[41] M. Skoumal, P. L. Cabot, F. Centellas, C. Arias, R. M. Rodríguez , J. A. Garrido. Mineralization of paracetamol by ozonation catalyzed with Fe^{2+}, Cu^{2+} and UV a light. Applied Catalysis B Environmental, (2006), 66, 228 - 240 .

[42] P. Cañizares, R. Paz, C. Saez , & M.A. Rodrigo, Costs of the electrochemical oxidation of wastewaters: a comparison with ozonation and Fenton oxidation processes. Journal of Environmental Management, (2009) 90, 410-420 .

[43] S. Hamani. « Étude de dégradation des colorants de textile par les procédés d'oxydation avancée. Application à la dépollution des rejets industriels ». Thèse de Doctorat. Université Tunis El Manar Faculté des Sciences de Tunis, (2008) .

[44] J. M. Poyatos, M. M. Muñio, M. C. Almecija, J. C. Torres, E. Hontoria, F. Osorio. "Advanced Oxidation Processes for Wastewater Treatment: State of the Art". Water Air and Soil Pollution, (2010) 205:187-204 .

[45] O. Legrini , E. Oliveros , A.M. Braun, "Photochemical processes for water treatment, Chemical Review", 93 (1993) 671-698 .

[46] R.Venkatadri, R.W. Peters, Chemicaloxidation technologies: Ultraviolet light/hydrogenperoxide, Fenton'sreagent, and titanium dioxide-assisted photocatalysis, Hazard. Waste Hazard. Mater , 10 (1993) 107-131 .

[47] F. Fdil, J-J. Aaron, N. Oturan, A. Chaouch, M.A. Oturan, Dégradation photochimique d'herbicides chlorophénoxyalcanoïques en milieux aqueux, Rev. Sciences de l'Eau 16 (2003), 123-142 .

[48] Z. Huaili, P. Yunxia, X. Xinyi, "Oxidation of acidic dye Eosin Y by the solar photo-Fenton processes", Journal of Hazardous Materials, 141 (2007) 457- 464 .

[49] W. Gernak, T. Krutzler, A. Glaser, S. Malato, Caceres J., Bauer R., Fermandez-Alba A. R., "Photo-Fenton treatment of water containing natural phenolic pollutants", Chemosphere , 50(1) (2003) 71-78 .

[50] J. Kiwi, C. Pulgarin, P. Peringer, "Effect of Fenton and photo-Fenton reactions on the degradation and biodgradation of 2-Nitrophenols in water treatment, Applied Catalysis. B: Environmental", 3 (1994) 335-350 .

[51] M.A. Maitha, M.A. Rauf, S.S. Ashraf, "A comparative study of Neutral Red decoloration by photo-Fenton and photocatalytic processes", Dyes and Pigments ,76 (2008) 332-337 .

[52] S.G. Poulopoulos , M. Nikolaki , D. Karampetsos , C.J. Philippopoulos," Photochemical treatment of 2-chlorophenol aqueous solutions using ultraviolet radiation, hydrogen peroxide and photo-Fenton reaction", Journal of Hazardous Materials , 153 (2008)582-587 .

[53] J.M. Herrmann, C. Guillard, M. Arguello, A. Aguera, A. Tejedor, L. Piedra, A. Fernandez-Alba, "Photocatalytic degradation of pesticide pirimiphos-methyl. Determination of the reaction pathway and identification of intermediate products by various analytical methods", Catalyse Today 54 (1999) 353-367 .

[54] K.I. Konstantinou, Albanis A.T., "Photocatalytic transformation of pesticides in aqueous titanium dioxide suspensions using artificial and solar light: Intermediates and degradation pathways", Applied Catalysis B : Environmental , 42 (2003) 319-335 .

[55] R. Hernandez, Zappi M., Colucci J., Jones R., "Comparing the performance of various advanced oxidation processes for treatment of acetone contaminated water", Journal of Hazardous Materials , 92 (2002) 33-50 .

[56] E. Neyens, J. Baeyens. "Review A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique". Journal of Hazardous Materials B98 (2003) 33-50 .

[57] H. Belhadj « Dégradation photochimique du rose de Bengale (Colorant Xanthénique) par différents procédés d'oxydation avancée et sur des supports inorganiques chromophores en solution aqueuse ». Mémoire de Magister, Univerité Mentouri, Constantine, 2011.

[58] C. Comninellis, C. Pulgarin, « Electrochemical oxidation of phenol for wastewater treatment using SnO2 anodes", Journal of Applied Electrochemistry, 23 (1993) 108-112 .

[59] X.Y. Li, Y.H. Cui, Y.J. Feng, Z.M. Xie, J.D. Gu, "Reaction pathways and mechanisms of the electrochemical degradation of phenol on different electrodes", Water Ressources.39 (2005) 1972-1981 .

[60] J. Feng, L.L. Houk, D.C. Johnson, S.N. Lowery, J.J. Carey, "Electrochemical of anodic oxygen transfer reactions: The electrochemical incineration of benzoquinone", Journal of Electrochemical Society , 142 (1995) 3626-3631 .

[61] C. Comninellis, C. Pulgarin, "Anodic oxidation of phenol for wastewater treatment". Journal of Applied Electrochemistry , 21 (1991) 703-708 .

[62] E. Brillas, E. Mur, R. Sauleda, L. Sanchez, J. Peral, X. Domenech, J. Casado, "Aniline mineralization by AOP's: anodic oxidation, photocatalysis, electro-Fenton and photo-Fenton processes", Applied of Catalysis. B: Environmental , 16 (1998) 31- 42 .

[63] N. Bellakhal, M. Dachraoui, N. Oturan, M.A. Oturan, "Degradation of tartrazine in water by electro-Fenton process", Journal of Society. Chim.Tun. ; 8 (2006) 223-228 .

[64] E. Brillas, J. Casado, "Aniline degradation by electro-Fenton and peroxy-coagulation processes using a flow reactor for wastewater treatment", Chemosphere 47 (2002) 241-248.

[65] Gianfreda .L, Rao MA. "Potential of extra cellular enzymes in remediation of polluted soils: a review". Enzyme Microbiology Technology , (2004) 35: 339-354 .

[66] Held C, Kandelbauer A, Schroeder M, Cavaco-Paulo A, Guebitz GM "Biotransformation of phenolics with laccase containing bacterial spores". Environmental Chemical Letter , (2005) 3:74-77.

[67] 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 , (2006) 60:201-221 .

[68] S. Sumathi, BS. Manju . " Uptake of reactive textile dyes by *Aspergillusfoetidus".* Enzyme Microbiology Technology , (2000) 27: 347-355.

[69] Rodriguez-Couto S "Enzymatic biotransformation of synthetic dyes". Current Drug Metabolism10(9):1048-1054 (2009) .

[70] Q. Husain **. "** Peroxidase mediated decolourization and remediation of waste water containing industrial dyes: a review". Review of Environmental Science and Biotechnology ; (2010) 9: 117-140 .

[71] P. Razia Khan , Bhawana M. H. Fulekar**. "**Microbial decolourization and degradation of synthetic dyes: a review". Review of Environmental Science and Biotechnology (2013) 12:75-97.

[72] N. Durán, E. Esposito. "Review Potential applications of oxidative enzymes and phenoloxidase-like compounds in wastewater and soil treatment: a review" Applied Catalysis B: Environmental 28 ; (2000) 83-99.

[73] Nilesh P. Tantak, Sanjeev Chaudhari, " Degradation of azo dyes by sequential Fenton's oxidation and aerobis biological treatment". Journaal of Hazardous Materials, B136 (2006) 698 -705 .

[74] H. Zhang, J.Zhang, C. Zhang, F.Liu, D. Zhang. "Degradation of C.I. Acid Orange 7 by the advanced Fenton process in combination with ultrasonic irradiation". Ultrasonics Sonochemistry , 16 (2009) 325- 330 .

[75] U. Bali, B. Karago ¨zog˘lu"Performance comparison of Fenton process, ferric coagulation and H_2O_2/pyridine/Cu (II) system for decolourization of Remazol Turquoise Blue G-133 ». Dyes and Pigments, 74 (2007) 73 - 80 .

[76] J.H. Sun, S.P. Sun, J.Y. Sun, R.X. Sun, L.P. Qiao, H.Q. Guo, M.H. Fan. "Degradation of azo dye Acid black 1 using low concentration iron of Fenton process facilitated by ultrasonic irradiation". Ultrasonics Sonochemistry , 14 (2007) 761- 766 .

Références de chapitre II (les enzymes)

[1] B . Augère « les enzymes biocatalyseur protéique » Ellipses édition Marketing S . A, (2001).

[2] S. Fabiano «Immobilisation d'enzymes dans des films de polymère conducteur: PEDT », thèse de doctorat, Université Claude Bernard, (2002) 14-26.

[3] Jurgen Sygusch , BCM 1502- Cinétique d'inhibition enzymatique. Université Paris-Sud 11,91405 Orsay Cedex, France , (2012) 12-24 .

[4] C. Penel and Christophe Dunand. Signaling via Plant Peroxidases . *Signaling in Plants* , Signaling and Communication in Plants. 2009.

[5] Ph. Demarche, Charles Junghanns, Rakesh R. Nair, Spiros N. Agathos. "Harnessing the power of enzymes for environmental stewardship". Biotechnology Advances (2011).

[6] C. Nigel Veitch. "Structural determinants of plant peroxidase function" . *Phytochemistry Reviews* , (2004) 3: 3-18 .

[7] Q. Husain & Maroof Husain .Peroxidases as a Potential Tool for the Decolourization and Removal of Synthetic Dyes from Polluted Water .Chapter 15. Environmental Protection Strategies for Sustainable Development , Strategies for Sustainability , 2012.

[8] Q. Husain . Peroxidase mediated decolourization and remediation of waste water containing industrial dyes: a review Environmental Science Biotechnology, (2010)9:117-140.

[9] H. Jouili , H . Bouazizi , Ezzeddine El Ferjani. "Plant peroxidases: biomarkers of metallic stress". ActaPhysiol Plant , (2011) 33: 2075-2082 .

[10] Eduardo Torres, IsmaelBustos-Jaimes, Sylvie Le Borgne. "Potential use of oxidative enzymes for the detoxification of organic pollutants ». Applied Catalysis B: Environmental , 46 (2003) 1-15.

[11] C. Regalado, Blanca E. Garc´ıa-Almend´arez& Miguel A. Duarte-V´azquez .Biotechnological applications of peroxidases.*Phytochemistry ,* (2004) 3 : 243-256 .

[12] M. Wagner, A. James Nicell . "Detoxification of phenolic solutions with horseradish peroxidase and hydrogen peroxide". Water Research ,36 (2002) 4041- 4052 .

[13] Suhail Akhtar, Qayyum Husain. "Potential applications of immobilized bitter gourd (Momordicacharantia) peroxidase in the removal of phenols from polluted water". Chemosphere , 65 (2006) 1228-1235 .

[14] F. Kamel, JA. Hoppin . Association of pesticide exposure with neurologic dysfunction and disease. Environ HealthPerspect , (2004) 112 : 950-958.

[15] J. Hernandez, NR . Robledo, L . Velasco et al . Chloroperoxidase-mediated oxidation of organophosphorus pesticides.PesticBiochemPhysiol , (1998) 61 :87-9 .

Références de la partie experimental

[1] S. Akhtar, A. Ali Khan, Q. Husain. "Partially purified bitter gourd (Momordicacharantia) peroxidase catalyzed decolourization of textile and other industrially important dyes. Bioressource Technology, (2005).

[2] C. Gandolfi Boer, L. Obici, C. G. Marques de Souza , R.M. Peralta. « Purification and some properties of Mn peroxidase from Lentinulaedodes". Process Biochemistry 41(2006)1203-1207 .

[3] F. Ghaemmaghami, I. Alemzadeh, S. Motamed. "Seed Coat Peroxidase: Extraction and Biocatalytic properties determination. Iranian Journal of Chemical Engineering , (2010).

[4] C. Nigma, I-F. Tsao, A. Sakoda, H.Y. Wang, "Techniques for preparing hydrogel membrane capsule, Biotechnology. Technology , 2 (1988) 271-276.

[5] T. Philippe «notions de bases sur les plans d'expériences » LycéeNiepce – Chalonsur Saone, (2008) 49 : 4 -14 .

[6] S. Maria, A. Guelli, E. Forgiarini, A. Augusto, U. de Souza "Toxicity of textile dyes and their degradation by the enzyme horseradish peroxidase (HRP)" 2007 Journal of Hazardous Materials 147 (2007) 1073-1078.

[7] P.K. Malik , S.K. Saha b . "Oxidation of direct dyes with hydrogen peroxide using ferrousion as catalyst" . Jadavpur University, Calcutta 700032, Indiab Department of Material Science and Technology, Faculty of Engineering, Gifu University, 1-1 Yanagido, Gifu-Shi 501-1193, Japan Received 20 June 2002; received in revised form 25 October 2002; accepted 27 October 2002.

[8] M. Pillet, « Introduction aux plans d'expériences par la méthode TAGUCHI ». Les éditions des organisations universitaires, (1994) 23-24 .