الجمـــهوريـــة الجـــزائريـــة الديـمقراطيـــــــة الشـــعبيـــــة
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعـلـيـم الـعـالـــي والـبـحـث الـعـلـمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة يحـي فارس بالمدية
Université Yahia Farés de Médéa

كـلـيـــــة العلوم
Faculté des sciences

قســـــم العلوم البيولوجية
Département de Science Biologique

Mémoire de Master en Ecologie

Étudié par : Ikram DAHLOUK& Imen BENDAOUD

Thème

IMPACTS DES SUBSTANCES PHARMACEUTIQUES SUR L'EAU ET LES MILIEUX AQUATIQUES

Soutenu devant le jury composé par:

Rachida ABBAS	MCA, UYFM	**Examinateur 1**
Amina BOUHRAMA	MAB, UYFM	**Examinateur 2**
Hichem BELHADJ	MCB, UYFM	**Co-Rapporteur de Mémoire**
Ahmed AZIZI	MCA, UATL	**Rapporteur de Mémoire**

Année universitaire 2021-2022

IMPACTS DES SUBSTANCES PHARMACEUTIQUES SUR L'EAU ET LES MILIEUX AQUATIQUES

RESUME.

Les produits pharmaceutiques constituent un groupe important de polluants émergents, dont la présence a été décrite dans de nombreuses parties environnementales. Cependant, les connaissances sur son impact potentiel sur les organismes terrestres et aquatiques sont encore rares. Les effets toxiques possibles des produits pharmaceutiques (paracétamol, ampicilline, diclofénec, amoxilline, pénicilline) à des concentrations en mg et µg ont été évalué en utilisent un modèle d'un plante et sur un modèle d'un micro organisme. Les effets des produits pharmaceutiques individuels ainsi que des mélanges sur les plantes ont été évalués à l'aide de différents paramètres, marqueurs morphologiques, physiologique et biochimiques,. Après une période d'exposition d'une semaine. Les résultats indiquent que les produits pharmaceutiques seul et en combinaison affecte la croissance et la teneur en chlorophylle dans les plantes d'aubergine. De plus, les polluants émergents induit un stress oxydatif dans les feuilles d'aubergine. Nous avons également évalué l'effet des préparations pharmaceutiques sur la diversité et la densité des diatomées, et les résultats de dénombrement ont montré une réduction décimale des diatomées et un légère effet sur la diversité. Les découvertes actuelles fournissent de nouvelles preuves biochimiques et physiologiques mettant en évidence les produits pharmaceutiques étudiés en tant que facteur de stress abiotique émergent, et soulignent la nécessité de poursuivre les recherches sur les écoulements d'eaux usées dans les environnements agricoles naturels.
MOTS-CLES. Stress oxydatif, produits pharmaceutiques, aubergine, paracétamol, diclofénec, diatomées.

IMPACTS OF PHARMACEUTICAL SUBSTANCES ON WATER AND AQUATIC ENVIRONMENTS

ABSTRACT

Pharmaceuticals are an important group of emerging pollutants, the presence of which has been described in many environmental parts. However, knowledge about its potential impact on terrestrial and aquatic organisms is still scarce. The possible toxic effects of pharmaceutical products (paracetamol, ampicillin, diclofenec, amoxillin, penicillin) at mg and µg concentrations were evaluated using a plant model and a microorganism model. The effects of individual pharmaceuticals as well as mixtures on plants were evaluated using different parameters, morphological, physiological and biochemical markers. After an exposure period of one week. The results indicate that the pharmaceuticals alone and in combination affect growth and chlorophyll content in eggplant plants. In addition, emerging pollutants induce oxidative stress in eggplant leaves. We also assessed the effect of pharmaceutical preparations on diatom diversity and density, and count results showed a decimal reduction in diatoms and a slight effect on diversity. The current findings provide new biochemical and physiological evidence highlighting the pharmaceuticals being studied as an emerging abiotic stressor, and underscore the need for further research into wastewater flows in natural agricultural environments.
KEY WORDS. Oxidative stress, pharmaceuticals, eggplant, paracetamol, diclofenec, diatoms.

آثار المواد الصيدلانية على المياه والبيئة المائية

ملخص.

تعد المستحضرات الصيدلانية مجموعة مهمة من الملوثات الناشئة ، وقد تم وصف وجودها في العديد من الأجزاء البيئية. ومع ذلك ، فإن المعرفة حول تأثيره المحتمل على الكائنات البرية والمائية لا تزال نادرة. تم تقييم التأثيرات السمية المحتملة للمنتجات الصيدلانية (باراسيتامول ، أمبيسيلين ، ديكلوفينيك ، أموكسيللين ، بنسلين) بتركيزات ملغ و مكغ باستخدام نموذج نباتي ونموذج كائن دقيق. تم تقييم تأثيرات المستحضرات الصيدلانية الفردية وكذلك المخاليط على النباتات باستخدام معايير مختلفة ، علامات مورفولوجية وفسيولوجية وكيميائية حيوية. بعد فترة تعرض لمدة أسبوع. تشير النتائج إلى أن المستحضرات الصيدلانية وحدها ومجتمعة تؤثر على النمو ومحتوى الكلوروفيل في نباتات الباذنجان. بالإضافة إلى ذلك ، تسبب الملوثات الناشئة الإجهاد التأكسدي في أوراق الباذنجان. قمنا أيضًا بتقييم تأثير المستحضرات الصيدلانية على تنوع الدياتومات وكثافتها ، وأظهرت نتائج العد انخفاضًا عشريًا في الدياتومات وتأثيرًا طفيفًا على التنوع. تقدم النتائج الحالية أدلة كيميائية حيوية وفسيولوجية جديدة تسلط الضوء على المستحضرات الصيدلانية التي تتم دراستها كضغوط غير حيوية ناشئة ، وتؤكد على الحاجة إلى مزيد من البحث في تدفقات المياه العادمة في البيئات الزراعية الطبيعية.

الكـــــلمات الـــرئيسيـــــة. الإجهاد التأكسدي ، الأدوية ، الباذنجان ، الباراسيتامول ، ديكلوفينيك ، الدياتومات.

Remerciements

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

Tout d'abord nous exprimons notre gratitude et nos remerciements à Mr Ahmed AZIZI notre promoteur et à Mr Hichem BELHADJ notre co-promoteur de recherche qui n'a jamais cessé de nous prodiguer conseils, pour avoir dirigé ce travail et pour sons aides pendant toute la durée de réalisation de ce travail.

Nous tenons à exprimer notre gratitude aux membres du jury :

Mm Rachida ABBAS et Mm Amina BOUHRAMA d'avoir accepté de juger ce travail.

Notre profond remerciement à Mme TAFOURA, ingénieur laboratoire biologie au département science de la nature et la vie a l'université Yahia farès Médéa.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Avec l'aide d'Allah"اللـــــــــــه", nous avons pu réalises ce travail que nous dédions a la lumère de mes yeux, Lombre de mes pas,Le bonheur et joie de ma vie,a ceux qui m'ont apprise le sens de la persévérance toutau long de mes études,pour leur patience sacrifie,soutiens,conseils et encouragement, je dédie ce travail :

À mes parents à qui je dois tous, mes sœurs, Fizia ,Najia,Hakima et Amina, mes frères Abdelkeder ,sedek et walid

À tous mes amis particuliermentikram, rouamissa , et A tout la famille bendaoud

Imene .Bendaoud

Dédicaces

Avec l'aide d'Allah"اللـــــــــه", j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie:

À mes parents à qui je dois tous.,

À mes deux sœurs, Sirine et Meriem

À mon frère Abdrahman

À mes collegue Imen et Roumaissa

À tous ceux qui croient en mois

.

DAHLOUK Ikram

DAHLOUK Ikram

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIÈRES *i*

ABRÉVIATIONS & NOMENCLAUTRES *iv*

LISTE DES FIGURES *xi*

LISTE DES TABLEAUX *xiii*

INTRODUCTION GÉNÉRALE 1

CHAPITRE 1. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUES

1.1 POLLUANTS EMERGENT 4

1.1.1 Concept de polluant émergent 4

1.2 Polluant émergent de classe pharmaceutiques 5

1.2.1Définition 5

1.2.2 Historique des produits pharmaceutique 5

1.2.3 Les produits pharmaceutiques dans l'environnement 6

1.2.4 Présence de produit pharmaceutique dans l'eau 7

1.2.4.1 Les antibiotiques 8

1.2.4.2 Les analgésiques : paracétamol 8

1.2.4.3 Les anti-inflammatoires nos stéroïdiens (AINS) 8

1.2.4.4 Les anticancéreuse 9

1.2.4.5 Hormones stéroïdes 9

1.2.4.6 ß. Bloquants 9

1.2.5 Source de produits pharmaceutique 10

1.2.5.1 Pollution de source ponctuelle 10

1.2.5.2 pollutions de source diffuse 11

1.2.6 Devenir des substances pharmaceutiques dans les systèmes aquatiques 12

1.2.6.1 Les phénomènes de dégradation en milieux naturel 12

1.2.6.1.1 La photo dégradation 12

1.2.6.1.2 La biodégradation 12

1.2.6.1.3 Distribution des substances pharmaceutique dans la phase aqueuse 13

1.2.6.1.4 Phénomènes de sorption 13

1.2.7 Transferts aux organismes aquatiques 14

1.2.8 Impacts sur les êtres organismes aquatiques 14

1.2.8.1 Effet potentiels sur l'homme 14

1.2.8.2 Effet potentiel sur la faune et la flore 14

1.3. Méthodes analytiques 15

1.3.1 Méthode d'échantillonnage et de prétraitement des échantillons 15

1.3.2 Technique d'analyse 16

1.3.3 validation des méthodes analytiques et assurance qualité 17

1.4 Evaluation des risques éco toxicologique 17

1.5 La biologie des diatomées 18

1.5.1 Description des diatomées 18

1.5.2 Morphologie des diatomées 18

1.5.3 Ecologie des diatomées 19

1.6 La plante d'aubergine 19

1.6.1 Description de la plante 19
1.6.2 Morphologie de la plante 20
1.6.3 Physiologie de la plante 20

CHAPITRE 2. PRODUITS, MATERIELS & METHODES

2.1. PARTIE 1 21
2.1.1 L'OBJECTIF 21
2.1.2 Matériel végétal 21
2.1.3 Matériel chimique 21
2.1.4 Méthodologie 23
2.1.4.1 La composition de milieux 24
2.1.4.2 Paramètres biométrique 25
2.1.4.2.1 Hauteur de plante 25
2.1.4.2.2 Mesure du poids frais 25
2.1.4.3 Paramètres physiologique 26
2.1.4.31Extraction et dosage de chlorophylle et les caroténoides 26
2.1.4.4 Paramètre biochimique 26
2.1.4.4.1 Dosage du peroxyde d'hydrogène 26
2.1.4.4.2 Teneur en MDA 27
2.1.4.4.3 Activité enzymatique antioxydants 27
2.1.4.4.3.1 Extraction des enzymes 27
2.1.4.4.3.2 Détermination des activités enzymatique 27
2.1.4.4.4 Dosage des activités ascorbat peroxydase 27
2.1.4.4.5 Dosage de l'activité catalase CAT 27
2.1.4.4.6 Dosage de l'activité Glutathoin 28
2.1.4.4.7 Métabolites antioxydant 28
2.1.4.4.7.1 Dosage de la teneur en Glutathion GSH 28
2.1.4.4.7.2 Dosage phénol 28
2.1.4.4.7.3 Dosage flavonoïde 29
2.1.4.5 Analyse statistique 29
2.2 partie 2 29
2.2.1 Les produis 29
2.2.1.1 Milieux de culture 29
2.2.2 Matériel 30
2.2.3 Méthodologie 31

2.2.3.1 Milieux culture 31

2.2.3.2 Technique de numération cellulaire 31

2.2.3.2.1 Principe de numération cellulaire 31

2.2.3.2.2 Présentation de la cellule de mallassez 31

2.2.3.2.3 Méthode de comptage 32

2.2.3.2.4 La numération microscopique 32

2.2.3.2.5 La formule de comptage 32

CHAPITRE 3. RESULTATS & DISCUSSION

PARTIE 1 33

3.1.1 Effet des produits pharmaceutique sur la biomasse 33

3.1.1.1 Effet sur la biomasse des pouces 33

3.1.1.2 Effet sur la biomasse des racines 34

3.1.2 Effet des produits pharmaceutique sur la longueur des plantes 34

3.1.2.1 Effet sur la longueur des pouces 34

3.1.2.2 Effet sur la longueur des racines 35

3.1.3 Paramètres biochimique 36

3.1.3.1 Teneur en chlorophylle 36

3.1.3.2 Effet de produits pharmaceutique sur la teneur en H2O2 37

3.1.3.3 Effet de produits pharmaceutique sur la teneur en MDA 38

3.1.4 paramètre enzymatique 39

3.1.4.1 Effet enzymatique sur l'activité de CAT 39

3.1.4.2 Effet enzymatique sur l'activité d' APX 40

3.1.4.3 Effet enzymatique sur l'activité GST 40

3.1.5 Paramètre métabolites antioxydants 3.1.5.1 Effet des métabolites antioxydants sur la teneur en GSH 41

3.1.5.2 Effet des métabolites antioxydants sur la poly phénol totaux 42

3.1.5.3 Effet des métabolites antioxydants sur la teneur en flavonoïde 42

2.1 Effet de concentration de paracétamol sur la concentration des diatomées 50

2.2 Effet de concentration de paracétamol sur la concentration sur la diversité des diatomées 51

2.3 Effet de concentration de paracétamol sur la concentration sur la morphologie de la population des diatomées 52

CONCLUSION GENERALE 53

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

LISTE DES ABREVIATIONS& NOMENCLATURES

Abréviation	***Signification***
AINS	Anti inflammatoire non stéroïdiens
STEP	Station d'épuration des eaux usées
LC	Chromatographie liquide
MS	Spectroscopie de masse
MS/ MS	Spectrométrie de masse en tandem
C18	Carbon 18
MIP	Polymères à empreinte moléculaire
SPE	Extraction en phase solide
HLB	Hydrophile équilibré
Oasis MCX	Echange de cations fort en mode mixte
PEP	Polymère polaire amélioré
SDB-L	Styrène divinylbenzèn
STE	Ionisation par électrospray
LOQ	Limite de quantification
LOD	Limite de détection
RSD	Ecart-type relatif
IUPAC	Union internationale des sciences appliquées et de la chimie
S/N	Signal sur bruit
COX	Cyclo-oxygènase
QR	Quotients de risque
PNEC	Concentration prédite sans effet
GST	Glutathion S-Transférase
H_2O_2	Peroxyde d'hydrogène
MDA	Malondialdéhyde
CAT	Catalase
APX	Ascrobat peroxydase
GSH	Glutation
FLAVO	Flavonoïde
DO	Densité optique
TBA	Thiobarbiturique
TCA	Trichloroacide
ROS	Oxygène réactif
UV	Spectrophotomètre
P	Pureté
G	Gramme
Mg	Milligramme
µg	Microgramme
ng	nannogramme

LISTE DES FIGURES

Numéros	Titres des figures	Pages
1.1	Sources de la micropollution	11
1.2	Exemple de diatomées	17
1.3	La composition d'une diatomée pennée	18
1.4	Image microscopique de diatomées en culture (S.robusta)	18
2.1	La culture d'aubergine	24
2.2	Culture des diatomées (gauche), la culture avec le traitement (droite)	31
3.1	Effet des produits pharmaceutique sur la biomasse des pouces	33
3.2	Effet des produits pharmaceutique sur la biomasse des racines	34
3.3	Effet des produits pharmaceutiques sur la longueur des pouces	35
3.4	Effet des produits pharmaceutiques sur la longueur des racines	36
3.5	Effet des produits pharmaceutiques sur la teneur en chlorophylle	37
3.6	Effet des produits pharmaceutiques sur la teneur en H2O2	38
3.7	Effet des produits pharmaceutiques sur la teneur en MDA	39
3.8	Effet des produits pharmaceutiques sur l'activité de CAT	39
3.9	Effet des produits pharmaceutiques sur l'activité d'APX	40
3.10	Effet des produits pharmaceutiques sur l'activité d'GST	41
3.11	Effet des produits pharmaceutiques sur La teneur en GSH	41
3.12	Effet des produits pharmaceutiques sur La teneur en polyphénol totaux	42
3.13	Effet des produits pharmaceutiques sur la teneur en Flavonoïde	43
3.14	Effet de concentration de paracétamol sur la concentration des diatomées	50
3.15	Morphologie des diatomées sans traitement	51
3.16	Morphologie des diatomées avec le traitement	52
3.17	Photo montre une forme normale de diatomées (gauche) et une forme anormal suit au traitement (droit)	52

LISTE DES TABLEAUX

Numéros	Titre des tableaux	Pages
1.1	Classe de polluant émergent	4
1.2	Composés pharmaceutique abondant dans l'environnement	7
2.1	La composition en macro-élément du milieu de culture	24
2.2	La composition en oligo-élement du milieu	25
2.3	Le milieu de culture WC(ou de Wood Hole)	30
3.1	Dénombrement des diatomées par cellule Mallassez	50

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Le développement de l'industrie, de l'agriculture et la croissance de la population conduit à l'utilisation de nombreuses substance chimiques. Avec l'amélioration de la surveillance et les progrès réalisés en matière d'analyse environnementale, la présence d'un nombre de ces composés chimiques dits «polluant émergent» et mise en évidence dans les différentes matrices (air, eau et sol) (Maroga Mboula, 2012).

Par ailleurs, le problème de la pollution de l'environnement et plus spécialement, celui de l'eau est devenu un sujet d'une cruciale importance à cause de sa raréfaction fortement ressentie, surtout dans les pays en voie de développement. L'homme est le principal responsable de la pollution du fait de l'extension croissante de l'agriculture, l'urbanisation et l'industrialisation (Pépin, 2006).

La présence de résidus de médicaments dans l'environnement est un sujet de préoccupation récent (Santos et al., 2010). Elle a été signalée pour la première fois aux Etats-Unis dans les années 70, avec la détection d'antibiotiques dans les eaux usées (Verstraeten, Heberer, & Scheytt, 2002). Près de dix ans plus tard, des résidus de médicaments ont été détectés en Grande-Bretagne. Néanmoins, c'est seulement à partir des années 90 que les connaissances sur cette contamination environnementale se sont développées (Santos et al., 2010). Ceci a été possible grâce au progrès des techniques d'analyse qui permettent la détection de quantités de l'ordre du µg/l dans des échantillons complexes (Smith & Burgett, 2005).

Les composés pharmaceutiques retrouvés dans l'environnement proviennent principalement de l'élimination de ces molécules et leurs métabolites par les hommes ou les animaux sous traitement thérapeutique. Leurs concentrations dans les eaux, variables d'un site à l'autre mais également d'un composé à l'autre, sont généralement faibles. Cependant, des concentrations non négligeables de ces composes, de quelques nanogrammes par litre a quelques centaines de microgrammes par litre ont parfois été observées (Deng, Blok, & Van Der Leun, 2012).

Les produits pharmaceutiques contiennent des substances actives et sont utilisés pour la prévention, le diagnostic ou le traitement des maladies ainsi que pour restaurer, corriger ou modifier des fonctions organiques (Monteiro & Boxall, 2010). Après consommation par l'homme ou l'animal, certains médicaments seront plus ou moins métabolisés et d'autres resteront intacts (Monteiro & Boxall, 2010). Par conséquent, ils seront excrétés sous forme de molécules-mères et/ou de métabolites (Bouvier, Durand, & Guillet, 2010) et déversés dans le

milieu aquatique via le rejet des eaux usées domestiques (K Kümmerer & Schuster, 2008) Les risques potentiels dus à la présence de telles substances dans les eaux sont mal connus et l'effet cumulatif de cette pollution sur la sante humaine et l'environnement reste encore difficile a évaluer. Ainsi des travaux d'étude et de recherche sont nécessaires pour mieux connaitre les dangers et caractériser les expositions.

Les risques potentiels dus à la présence de telles substances dans les eaux sont mal connus et l'effet cumulatif de cette pollution sur la sante humaine et l'environnement reste encore difficile a évaluer. Ainsi des travaux d'étude et de recherche sont nécessaires pour mieux connaitre les dangers et caractériser les expositions.

Dans le futur, la situation actuelle va très probablement s'accentuer suite à l'augmentation de la consommation de médicaments. Celle-ci est liée à la fois à l'augmentation de la population et à l'augmentation du nombre de personnes âgées. De plus, avec l'amélioration des standards de vie et la mise sur le marché de médicaments moins chers, l'accès aux médicaments grandit au niveau mondial, spécialement dans les pays émergents (Klaus Kümmerer, 2010). Pour leur part, les industries pharmaceutiques n'ont pas comme priorité la fabrication de médicaments « plus verts », ou plus respectueux de l'environnement. Elles visent d'abord une plus grande efficacité thérapeutique avec le moins d'effets secondaires possibles.

Dans cette étude, notre présent travail et de mieux comprendre les réponses des plantules d'aubergine et d'un micro algue les diatomées aux stresses causés par la présence des produits pharmaceutiques.

Le présent manuscrit est présenté de la façon suivante :

- ***Le premier chapitre*** est consacré à la synthèse bibliographique relative à la présence des produits pharmaceutiques dans l'environnement ainsi que leur impacts et risques potentiels associés à ces composés.
- ***Le deuxième chapitre*** représente l'ensemble des méthodes expérimental et comporte : une présentation du matériel, méthodologie expérimentaux utilisés dans la réalisation de cette étude. Les essaie porteront en premier lieu les effets des produits pharmaceutiques par les deux procédé les plantules et le micro algue.
- ***Le troisième chapitre*** présente l'ensemble des résultats obtenus expérimentalement et leur discussion.

CHAPITRE 1. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUES

CHAPITRE 1. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUES

1.1 POLLUANT EMERGENT

1.1.1 Concept de polluant émergent

Les composés dits "polluants émergents" sont les substances retrouvées dans l'environnement à faibles concentrations grâce à l'amélioration de la surveillance et le développement des techniques analytiques.

Pour un grand nombre de ces composés, il existe peu de données relatives à leur devenir, leur comportement dans l'environnement et les effets probables qu'ils peuvent avoir sur les êtres vivants ne sont pas encore bien définis (Maroga Mboula, 2012).

Le terme « **polluants émergents** » regroupe des composés de nature chimique ou biologique qui peuvent être d'origine industrielle, agricole, domestique ou naturelle. Peuvent

être classés comme polluants émergents les stéroïdes, les médicaments à usage humain ou vétérinaire, les produits de dégradation de détergents non ioniques, les désinfectants, les phtalates etc.… tel qu'il est présenté dans le tableau (1.1)(Maroga Mboula, 2012).

Tableau(1.1) : Classe de polluants émergents (Maroga Mboula, 2012)

Produits	**Exemples de composé**
Produits pharmaceutiques	
Antibiotiques	Triméthoprime, érythromycine, lincomycine, sulfaméthoxazole
Analgésiques, anti-Inflammatoires	Codéine, ibuproféne, acétaminophène, aspirine, diclofénac, fénoproféne
Médicaments psychotiques	Diazépam
Régulateurs de lipide	Bézafibrate, acide clorifibrique, acide fénofibrique
ß-bloquants	Métoprolol, propanol, timolol
Stéroïdes et hormons	Estradiol, oestrone, oestriol, diéthylstibestrol
Produits à usage ménager	
Parfums Produits solaires Insecticides Antiseptiques	Polycyclique, macrocyclique Benzophénone, méthylbenzylidène N,N-diéthyltoluamide Triclosan, chlorophène
Les tensioactifs et leurs Métabolites	Ethoxylates d'alkylphénol, 4-nonylphénol, 4-octylphénol,Carboxylates d'alkylphénol
Produits à retard de flamme	Ethers diphényliquespolybromés, tétrabromobisphénol A
Additifs industriels	Agents chélatant (EDTA), sulfate aromatique
Additifs d'essence	Dialkyl d'éther, méthyl-ter-butyl éther (MTBE)

Les polluants émergents se retrouvent dans l'environnement à des concentrations variables allant de l'ordre du **ng/L** au **µg/L**. Ces derniers entrent dans l'environnement par les effluents des stations d'épuration, par les excréments des animaux (médicaments), par l'épandage des boues et aussi par les lixiviats des eaux des décharges.

Les êtres vivants se retrouvent ainsi exposés à une multitude des composés qui peuvent avoir des effets néfastes sur eux. Il est alors nécessaire de pourvoir identifier les effets potentiels que ces composés peuvent avoir sur l'Homme, la faune et la flore (Maroga Mboula, 2012).

1.2 polluants émergents de classe pharmaceutiques

1.2.1 Définition

Les substances pharmaceutiques sont des molécules possédant des propriétés curatives, préventives ou administrées en vue d'établir un diagnostic. Elles sont classées selon :

- L'effet pour lequel elles sont conçues (Antibiotiques, Analgésiques…),
- Leur structure chimique (parmi les Antibiotiques : Quinolones, Céphalosporine…),
- Leur mode d'action (anti-métabolites ou agents alkylants) (Ra, Oh, Lee, & Kim, 2008).

Leurs propriétés physicochimiques leur confèrent des capacités de franchissement des membranes biologiques, elles sont généralement considérées comme des polluants émergents compte tenu du récent intérêt dont elles font l'objet, et sont souvent classées dans une catégorie que l'on qualifie de « micropolluants » car les concentrations retrouvées dans les milieux aquatiques sont de l'ordre du nanogramme ou du microgramme par litre (Ra et al., 2008).

Les produits pharmaceutiques, qui sont conçus pour être des substances biologiquement actives, peuvent aussi être source de préoccupation par leurs interactions possibles avec les organismes non ciblés dans l'environnement mais aussi pour les humains (Klavarioti, Mantzavinos, & Kassinos, 2009). Ils sont généralement lipophiles et résistants à la biodégradation, ayant ainsi un grand potentiel d'accumulation et de persistance dans l'environnement (Paxeus, 2004).

En outre, les produits pharmaceutiques peuvent être stables dans l'environnement ou soumis à des transformations biotiques et/ou abiotique, et parmi les transformation a biotiques, la photo-dégradation qui est le processus d'élimination le plus important, ce qui conduit parfois à la formation de produits beaucoup plus toxiques que les composés parentaux (Isidori, Bellotta, Cangiano, & Parrella, 2009).

1.2.2. Historique des produits pharmaceutiques

La présence de produits pharmaceutiques dans l'environnement aquatique a été mise en évidence dans le milieu des années 1960 et 1970. Les premiers rapports publiés par (Hignite & Azarnoff, 1977; Stumm-Zollinger & Fair, 1965), ont démontré une élimination incomplète de certains produits pharmaceutiques par le traitement des eaux usées ainsi que leur introduction dans l'environnement via les stations d'épurations des eaux usées. Malgré cette découverte, cette problématique n'a attiré l'attention des chercheurs qu'après les années 1990 (Desbrow, Routledge, Brighty, Sumpter, & Waldock, 1998; Halling-Sørensen et al., 1998; Purdom et al., 1994). Les progrès des méthodes d'analyse, particulièrement le couplage de la chromatographie en phase gazeuse ou de la chromatographie liquide et de la spectrométrie de masse, permettent d'évaluer des quantités de plus en plus faibles de toutes sortes de molécules, de mieux les séparer et de mieux les identifier. Ainsi, la présence de médicaments et de leurs métabolites a pu être mise en évidence à des concentrations de l'ordre du ng L^{-1}.

Depuis, plusieurs études publiées ont signalé la présence de ces composés dans l'environnement (Al-Rifai, Gabelish, & Schäfer, 2007; Conley, Symes, Kindelberger, & Richards, 2008; Kolpin et al., 2002; T. Ternes, Bonerz, & Schmidt, 2001; T. A. Ternes, 1998), à des différentes concentrations allant jusqu'au µg L-1, en raison de leur utilisation croissante et de leur diversité(Bound & Voulvoulis, 2004).

1.2.3. Les produits pharmaceutiques dans l'environnement

Parmi les micropolluants émergents, les produits pharmaceutiques ont attiré l'attention depuis plusieurs années. Ce sont des substances actives qui peuvent rester longtemps dans l'eau et principalement retrouvés dans les eaux usées. De plus, les composés pharmaceutiques assimilés par l'homme et les animaux peuvent se dégrader au sein des organismes vivants, et les produits de dégradation issus de la métabolisation, également excrétés dans les urines, peuvent aussi être considérés comme micropolluants (Djemai, Boukrouk, & Rouibah, 2020).

Les stations d'épuration, bien qu'elles se soient significativement améliorées sur le plan technique ces dernières années, n'ont pas été conçues pour éliminer la totalité des molécules pharmaceutiques. Par exemple, même si le paracétamol y est dégradé à plus de 90 %, on en retrouve des traces dans les eaux usées remises en circulation, puis dans les eaux de surface. Certains composés, comme le diclofénec ou la carbamazépine, ne se dégradent quasiment pas.

Ces résidus de produits pharmaceutiques, rejetés dans les eaux de surface, peuvent donc présenter un risque environnemental non négligeable (Djemai et al., 2020).

1.2.4. Présence de produits pharmaceutiques dans l'eau :

De nombreuses classes pharmaceutiques telles que des antibiotiques, des analgésiques, des anti-inflammatoires, des antihypertenseurs, des ß-bloquants, des agents de contraste ou des antiépileptiques sont retrouvées dans les eaux. D'une manière générale, les concentrations en produits pharmaceutiques retrouvées dans l'environnement varient d'un composé à l'autre, mais également d'un site à l'autre.

Les concentrations rapportées dans les effluents de stations d'épuration ou dans l'eau de surface vont de quelques nano-grammes par litre à quelques centaines de microgrammes par litre. Les différences régionales d'utilisation des médicaments ainsi que la biodégradabilité des produits pharmaceutiques et de leurs métabolites pourraient expliquer ces différences de concentrations retrouvées dans l'environnement tableau 1.2 (Djemai et al., 2020).

Tableau 1.2. Composés pharmaceutiques abondants dans l'environnement(Benchaabane & Chadouli, 2019).

Groupe	**Produits pharmaceutiques**	**Concentration(µg/L)**
Antibiotique	Oflaxacin,Chlortetracycline,Oxytetracycline,Streptomycin, Flumequine, Ciprofloxacin, Trometoprim,Lincomycin,Azithromycin,Clarithromycin,exythromycin,N4-AcetySulfamerthoxazole,Sulfamerthoxazole,Roxithromycin,Sulfamethazin	1.7
Antidépressifs	Mianserin	0.004
Tranquillisants	Diazépam	
Antiépileptiques	Carbamazépine	1.21
Analgésiques	Acideasétylsalicylique(Aspirine),Diclofénac,Ibuprofène,Acétaminophène, Métamizol, Codéine, Indométacine,Naproxen,Phenazone,Fenoprofen,Paracétamol	10
Agent decontraste	Diatrizoate, Iohexol, Ioméprol, Iopamidol, Iopronide, AcideIothalamine,Acide Ioxithalamine	10
Beta-Bloquants	Métoprolol,Propanolol,Nadolol,Aténolol, Sotalol,Bétaxolol	1.07
Anticancéreux	Cyclophosphamide,Ifosfamide	1.46
Diurétiques	Furosémide	0.067

1.2.4.1 Les antibiotiques

Les antibiotiques regroupent différentes familles : les pénicillines, les bêta-lactamines bactéricides parmi lesquelles l'amoxicilline, les céphalosporines (cefixime, ceftriaxone) inhibant la synthèse de la paroi bactérienne, les aminosides (gentamicine), bactéricides inhibant la synthèse protéique, les macrolides (érythromycine, clarithromycine), les bactériostatiques agissant au niveau des sousunités ribosomales 50 S, les tétracyclines (doxycycline) à propriété bactériostatique, et les fluoroquinolones (ciprofloxacine, norfloxacine), bactéricides inhibiteurs de la synthèse l'ADN. L'association de sulfamides (sulfaméthoxazole) et de benzylpyrimidine (triméthoprime) présente une action bactéricide par inhibition de la synthèse de l'acide folique(Madikizela et al., 2020).

1.2.4.2 Les analgésiques : le paracétamol

Le paracétamol est un analgésique et un antipyrétique. Il semble inhiber la cyclo-oxygénase au niveau du système nerveux central sans action périphérique, raison pour laquelle il est dénué d'effets anti-inflammatoires. Chez les poissons, un homologue de la cox-2 a été mis en évidence dans les macrophages de la truite arc-en-ciel (Oncorhynchusmykiss), où l'on retrouve 83% d'homologie avec la cox-2 humaine et 77% avec la cox-1. Cette homologie suggérerait une sensibilité des poissons à cette molécule (Collette-Bregand, James, Munshy, & Bocquene, 2009; Tixier, Singer, Oellers, & Müller, 2003).

1.2.4.3 Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les taux de destruction dans les stations d'épuration d'eaux usées varient de 26 % à 92 % respectivement pour le diclofénac et l'ibuprofène d'après leurs mesures en amont et en aval mais ces taux peuvent varier fortement d'une station d'épuration à l'autre (Lindqvist et al. 2005) et aussi en fonction de l'âge des boues activées (Janex-Habibi et al. 2004), ce qui ne facilite pas l'évaluation des risques.

Le diclofénac est assez mal éliminé, avec des taux variables de 17 à 70 % dans les stations d'épuration, ce qui explique sa présence assez fréquente dans les eaux de surface (Buser, Poiger, & Müller, 1999).

1.2.4.4 Les anticancéreux

Les médicaments anticancéreux se retrouvent de façon sporadique dans les effluents des STEP via les eaux d'égout domestiques car leur demi-vie d'élimination corporelle est assez longue. Un des problèmes à résoudre est qu'ils ne semblent pas bien éliminés par les stations d'épuration. Ces médicaments sont, de plus, très persistants dans l'environnement car très peu biodégradables.

Des médicaments anticancéreux excrétés par des malades sont présents dans les effluents de centres hospitalo-universitaires à des concentrations moyennes de 146 et 109 ng/L avec des pointes de 4 500 et 3 000 ng/L respectivement pour le cyclophosphamide et l'ifosfamide ou des pointes de 3 000 ng/L pour le platine (Balaguer et al. 1999 ; Pillon et al. 2005).Le cyclophosphamide et l'ifosfamide ont été détectés dans les affluents de stations d'épuration municipales à des concentrations à peu près identiques à celles d'effluents, ce qui démontre la faible biodégradation de ces composés avec des teneurs maximales de 149 ng/L pour le cyclophosphamide comme l'ont rapporté Steger-Hartmann et de 1,91 µg/L pour l'ifosfamide. Le cyclophosphamide et l'ifosfamide (jusqu'à 2 900 ng/L) mais aussi le cis-platine et la bléomycine (de 10 à 19 ng/L) ont été aussi retrouvés en sortie des stations d'épuration.

1.2.4.5 Les hormones stéroïdes

Les hormones stéroïdiennes et leurs analogues de synthèse comprennent les estrogènes (17-bêtaestradiol (E2) l'éthinylestradiol (EE2)) et les progestatifs des contraceptifs ou des traitements hormonaux substitutifs. Leur impact environnemental est aujourd'hui manifeste et ils agissent sur les organismes non-cibles à très faibles doses. Ce sont de puissants perturbateurs endocriniens. Aux concentrations environnementales, des retards de développement testiculaire et l'apparition d'ovocytes testiculaires chez la truite arc-en-ciel (O. mykiss) sont observés(Waleng & Nomngongo, 2022).

1.2.4.6 Les β-bloquants

Les β-bloquants ont en commun la propriété d'occuper les récepteurs bêta-adrénergiques et d'inhiber ainsi les effets bêta-adrénergiques des catécholamines. Les β-bloquants sont tous des antagonistes compétitifs comportant parfois une activité agoniste partielle. Ces

médicaments se distinguent les uns des autres par la présence d'effets pharmacologiques s'ajoutant à l'action sur les récepteurs bêta-adrénergiques ou par des particularités de leur pharmaco cinétique. .La plupart des béta-bloquants comme le propranolol sont retrouvés dans les effluents des STEP sur le continent européen et américain (Djemai et al., 2020)voire dans les eaux de surface.(Vieno et al., 2006) indiquent des concentrations dans les effluents de trois STEP en Finlande de 910 à 1 070 ng/L pour le métoprolol et de 40 à 440 ng/L pour l'aténolol.

1.2.5 Source de produit pharmaceutiques

La source des produits pharmaceutiques peut être divisée en deux manières pollution de source ponctuelle et pollution diffuse.

1.2.5.1 Pollution de source ponctuelle

est une source identifiable unique qui provient de source distinctes, Ces sources concernent les effluents des station d'épuration, les eaux usées industrielles, les eaux usées domestiques ainsi que la fosse septique sont la principale source ponctuelle de la zone du sol et des ressources en eau (Li, 2014).

Parmi, les sources ponctuelles:

- le rejet direct des médicaments (et des produits chimiques utilisés au cours de la

fabrication des médicaments) dans les eaux résiduaires des industries pharmaceutiques et chimiques fines (Unuabonah, Adebowale, Olu-Owolabi, Yang, & Kong, 2008),

- l'élimination directe ou indirecte des agents pharmaceutiques utilisés dans les établissements de soins (laboratoires, hôpitaux, etc...),

- la dispersion directe des médicaments vétérinaires d ans l'environnement en aquaculture ou lors de traitement des animaux d'élevage, ou la dispersion indirecte en cas d'épandage des lisiers et des purins dans les sols destinés à l'agriculture (Unuabonah et al., 2008),

- la dispersion directe des molécules thérapeutiques sous for mes de compléments alimentaires versées directement dans les bassins de pisciculture (Djedid, Rezak, Bettahar, & Bahmani).

1.2.5.2 la pollution de source diffuse

Est difficilement identifiable emplacement qui se produit au-delà des échelles géographiques. Les eaux de ruissellement, le lessivage des sols et les eaux souterraines sont quelques exemples de ce type de sources. Comparez avec la pollution ponctuelle, la pollution diffuse a généralement une charge environnementale plus faible parce qu'il a un potentiel plus élevé d'atténuation naturelle dans le sol et le sous-sol (Li, 2014) . On retrouve, parmi les sources diffuses:

- le stockage et l'élimination inappropriés des médicaments périmés ou inutilisés (Nandi, Goswami, & Purkait, 2009),

- l'excrétion métabolique par la voie urinaire ou digestive, des médicaments consommés

par les hommes et les animaux (Djedid et al.; Nandi et al., 2009).

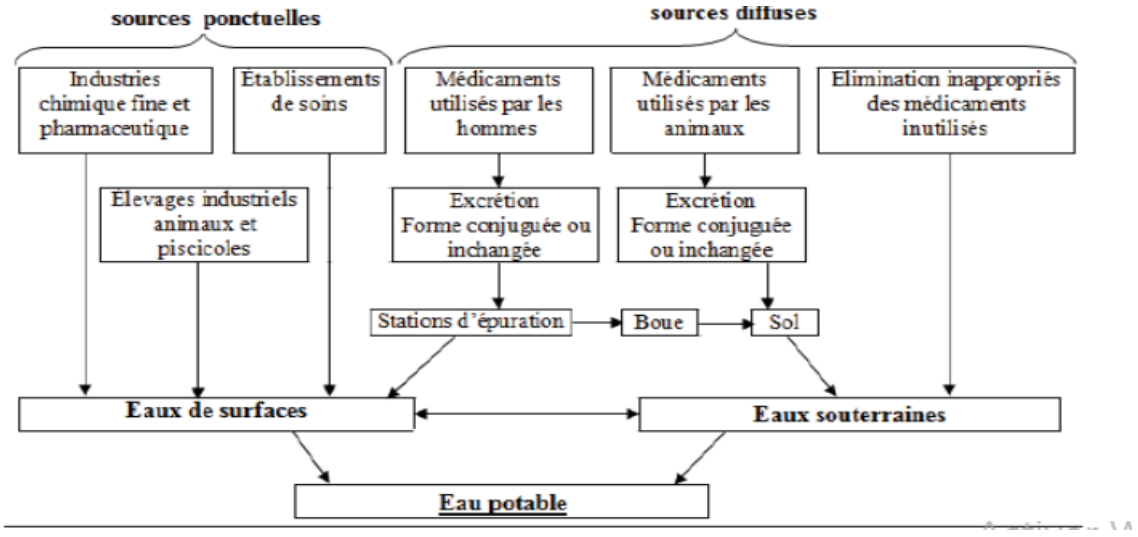


Fig.1.1: Sources de la micropollution aqueuse par les produits pharmaceutiques (Unuabonah et al., 2008).

1.2.6 Devenir des substances pharmaceutiques dans les systèmes aquatiques

Le devenir des substances pharmaceutiques et de leurs métabolites dans l'environnement demeure encore non élucidé. La faible volatilité des substances pharmaceutiques ainsi que leur polarité indiquent que la distribution dans l'environnement vase faire essentiellement par transport au sein de la voie aqueuse et également au travers des chaînes alimentaires.

1.2.6.1 Les phénomènes de dégradation en milieux naturels

1.2.6.1.1 La photodégradation

Les études concernant la photodégradation des substances pharmaceutiques se sont largement

Généralisées (Boreen, Arnold, & McNeill, 2003) La dégradation se fait essentiellement par réaction photochimique directe ou indirecte. Les réactions de photodégradation par photolyse interviennent dans les phénomènes de biodégradation de manière significative pour des composés comme le naproxène et le diclofénac (Lin & Reinhard, 2005) produisant des composés parfois plus toxiques que la molécule mère (Isidori, Lavorgna, Nardelli, Pascarella, & Parrella, 2005). (Lam & Mabury, 2005)ont mis en évidence des photoproduits issus de défluorination de la fluoxétine par photodégradation.

1.2.6.1.2 La biodégradation

Les phénomènes de biodégradation qui ont été initiés au sein des stations d'épurationvont se poursuivre dans le milieu naturel mais dans une moindre mesure. Ces mécanismes ne semblent pas prévalents (ou demeurent encore non élucidés) pour les substances pharmaceutiques à l'exception des estrogènes. (Carrara et al., 2008) à travers une étude surles anti-inflammatoires non stéroïdiens (l'ibuprofène, le naproxène), outre la mise en évidence d'une contamination des eaux souterraines à des concentrations aussi élevées que pour les eaux usées, établissent une corrélation entre la persistance des molécules et les conditions du milieu et concluent que les conditions toxiques sont favorables à la dégradation des molécules.

Les phénomènes de biodégradation peuvent également se dérouler dans les sédiments.Ainsi (Bradley, Barber, Kolpin, McMahon, & Chapelle, 2007) a étudié les capacités de biodégradation des populations bactériennes naturelles présentes dans les sédiments de différentes rivières envers la caféine, la nicotine et la cotinine. Les résultats montrent qu'au sein des sédiments les populations bactériennes sont capables d'activité de biotransformation. De même, il est apparu que la capacité à convertir le diclofénec était largement répandue dans les sédiments, et ne nécessitait aucune acclimatation des organismes du milieu. De plus, aucune corrélation avec l'activité microbienne totale n'a été mise en évidence (Poiger, Buser, & Müller, 2001).

1.2.6.1.3 Distribution des substances pharmaceutiques dans la phase aqueuse

La question de la distribution des substances pharmaceutiques entre les phases dissoutes et colloïdales a récemment été étudiée (Maskaoui, Hibberd, & Zhou, 2007). Les résultats mettent en évidence qu'une période courte de 5 min est suffisante pour que les interactions entre les substances pharmaceutiques et les colloïdes atteignent un plateau. Les interactions entre les substances pharmaceutiques et les colloïdes, sous contrôle du caractère hydrophobe des molécules, apparaissent comme prépondérantes pour la compréhension du devenir de ces molécules dans les systèmes aquatiques (Lin & Reinhard, 2005).

1.2.6.1.4 Phénomènes de sorption

De par leurs propriétés physico-chimiques (valeurs faibles, solubilité élevée), les études sur les substances pharmaceutiques se sont essentiellement cantonnées à des études en phase dissoute de telle sorte que très peu de données de présence dans les phases solides sont recensées. (Ra et al., 2008) ont mis en évidence la faible affinité de l'ibuprofène et dugemfibrozil pour les matières en suspension, seul le diclofénec présente 11 % de sorption(expérience simulée). La présence de substances pharmaceutiques a été rapportée dans les sédiments, principalement celle des anti inflammatoires non stéroïdiens et du gemfibrozil (Bradley et al., 2007; Hernando, Mezcua, Fernández-Alba, & Barceló, 2006). Un effort de recherche doit être porté sur ces compartiments de l'environnement qui peuvent participer à la dissipation des molécules dans l'environnement

(vecteurs ou réservoirs). Un certain nombre de travaux se sont également attachés à l'étude des substances pharmaceutiques à usages vétérinaires notamment les antibiotiques, dans les sols : ils mettent en évidence des concentrations qui peuvent atteindre la dizaine de µg/g de sols (Kemper, 2008).

1.2.7 Transferts aux organismes aquatiques

Pour l'heure le devenir des substances pharmaceutiques (bioconcentration, bioaccumulation et biotransformation) dans les organismes aquatiques est peu étudié, exception faite du contexte réglementaire lié à l'usage des antibiotiques en aquaculture. Ainsi un certain nombre d'études ont été réalisées dans ce contexte et ont pu mettre en évidence la persistance de certains antibiotiques après administration (Fairgrieve et al., 2006).

1.2.8 Impact sur les êtres vivants et l'environnement

1.2.8.1 Effets potentiels sur l'homme

Les effets des contaminants sur les hommes sont difficiles à étudier car l'expérimentation sur l'homme est limitée. L'impact des polluants sur les hommes est, en général, mis en évidence par des études épidémiologiques ou estimer en fonction des tests sur les animaux et les cellules. Par exemple, l'exposition aux substances à action endocrine qui induit une baisse de la reproduction chez les animaux est également soupçonnée de provoquer une baisse de la reproduction chez les humains. Les perturbateurs endocriniens comme le bisphénol A et la 17ù-œstradiol sont soupçonnés de participer au développement du cancer du sein, du cancer des testicules et de la prostate (Maroga Mboula, 2012).

1.2.8.2 Effets potentiels sur la faune et la flore

La présence des contaminants dans l'environnement entraine des interrogations notamment sur les effets qu'ils peuvent avoir sur l'écosystème. Ainsi, de nombreuses études sont effectuées afin d'identifier les effets probables sur la flore et la faune. Dans la littérature, les études de toxicité les plus rencontrées sont les évaluations d'effet de toxicité aigüe. Cette dernière est étudiée in vivo, chez l'animal après exposition à des doses relativement élevées

ou in vitro, avec des tests sur des cultures cellulaires En plus des effets mis en évidence dans les études en laboratoires, il existe des observations d'effet dans le milieu naturel. Un des exemples d'effet observé dans le milieu naturel, qui fut également largement médiatisé, est celui observé sur la reproduction des alligators du lac Apopka en Floride. Dans les années 90, ce lac fut l'objet d'une contamination accidentelle par des insecticides organochlorés (DDT en particulier). La présence de ces organochlorés a entraîné une démasculinisation des alligators mâles. Les chercheurs ont également observé un faible taux de reproduction et une baisse de la capacité de maturation des œufs des oiseaux se nourrissant des poissons du lac Apopka (Maroga Mboula, 2012).

1.3 Méthode analytique

1.3.1 Méthodes d'échantillonnage et de prétraitement des échantillons

L'échantillonnage ponctuel est la méthode préférée pour la collecte des échantillons. Néanmoins, les concentrations de produits pharmaceutiques diminuent considérablement jusqu'à des niveaux infimes lorsqu'elles pénètrent dans l'environnement, en particulier l'eau de mer. En conséquence, leur détection devient difficile car la plupart de leurs concentrations sont inférieures aux limites de détection de la plupart des instruments d'analyse. y compris les plus sophistiqués. Des dispositifs d'échantillonnage passif ont été déployés en haute mer pour augmenter les fréquences de détection de nombreuses techniques d'analyse. Ces dispositifs agissent en pré-concentrant les polluants sur temps dans le milieu aquatique (Ericson, Thorsén, & Kumblad, 2010). Explication complète concernant ces dispositifs sont accessibles dans la littérature. La plupart, les échantillons prélevés par prélèvement ponctuel sont stockés dans les réfrigérateurs du laboratoire à 4° jusqu'à nouvelle analyse. Avant les procédures d'extraction et de pré-concentration, l'échantillon analytique est filtré pour exclure les solides non ciblés et interférences acquises des sites d'échantillonnage. Extraction en phase solide (SPE) parmi d'autres dispositifs d'échantillonnage passif, est l'échantillon le plus considéré méthode de prétraitement. L'extraction en phase solide est normalement intégrée à divers adsorbants pour l'extraction et la pré-concentration des polluants(Albero, Tadeo, Escario, Miguel, & Pérez, 2018). Les adsorbants rapportés dans la littérature pour les procédures SPE

comprennent Oasis hydrophile lipophile (HLB), Oasis MAX, polymères à empreinte moléculaire (MIP), Oasis MCX, Cleanert PEP, Strata SDB-L et styrène divinylbenzyle. Cependant, des études récentes ont rapporté Oasis HLB comme le meilleur adsorbant dans les procédures SPE. L'adsorbant Oasis HLB offre de grands avantages, notamment la capacité de retenir nombreux polluants du milieu aquatique. Un exemple clair a été observé lorsque plus de 200 composés, y compris des produits pharmaceutiques, ont été identifié à l'aide d'un échantillonneur passif (Che catcher avec Oasis HLB recevant phase) couplée à une spectrométrie de masse en tandem haute résolution ciblée dépistage dans la province de Gauteng(Gilroy, 2012).

1.3.2 Techniques d'analyse

Les produits pharmaceutiques sont des composés organiques polaires et non volatils. La chromatographie en phase liquide combinée à une méthode de pré concentration appropriée offre des limites de détection qui vont de faibles ng L^{-1} au µg L^{-1} qui sont suffisantes ou une surveillance adéquate des produits pharmaceutiques dans l'environnement. Des techniques hybrides telles que le piège à ions et la liquide chromatographie et détecteur de spectrométrie de masse LC-MS/MS, toutes deux associées à la source SIE ionisation par électro spray ont été rapportées pour l'analyse des produits pharmaceutiques. Cependant, la LC-MS reste la meilleur option pour l'analyse environnementale des produits pharmaceutiques(de García, García-Encina, & Irusta-Mata, 2017). La chromatographie liquide couplée à la spectroscopique ultraviolet- visible et au détecteur à barrettes de diodes a récemment été rapportée pour l'analyse des produits pharmaceutiques. Les valeurs de la LOQ limite de quantification différent entre les différentes études utilisant les mêmes techniques analytiques en raison des différents facteurs d'enrichissement obtenus grâce aux différents volumes d'échantillons filtrés par les cartouches SPE l'extraction en phase solide. Polluants organique polaires et non volatils. Y compris les produits pharmaceutiques. L'accès à des techniques analytiques hybrides sensibles pour une surveillance adéquate des polluants dans l'environnement reste une préoccupation croissante. La présence et l'élimination des produits pharmaceutiques dans les systèmes d'eau, indiquant l'émergence de connaissance et de

ressources dans l'analyse environnementale d'analyse des polluants. Notamment, la plupart des études qui ont été menées en Afrique sur l'analyse des produits pharmaceutiques ont été effectuées à l'aide de techniques LC-MC disponible dans différents laboratoire. De techniques analytiques pour l'analyse des produits pharmaceutiques dans l'environnement (Guerra, Kim, Shah, Alaee, & Smyth, 2014).

1.3.3 Validation des méthodes analytiques et assurance qualité

La sensibilité, l'exactitude et la précision de l'analyse proposée les méthodes sont évaluées à l'aide des limites de détection et de quantification (LOD et LOQ), les récupérations d'extraction (ER%) et les écarts-types relatifs (RSD), respectivement. Préalablement à l'utilisation de la méthode d'analyse optimisée en surveillance environnementale, des tests de dopage sont effectués dans le échantillons environnementaux pour évaluer l'efficacité de la méthode analytique optimisée (Jones, Voulvoulis, & Lester, 2001).

Selon l'Union internationale des sciences pures et appliquées la chimie (IUPAC), la LOQ et la LOD sont enregistrées comme les concentrations d'analyte les plus faibles pouvant donner un rapport signal sur bruit (S/N) équivalent à 3 et10, respectivement (Afonso-Olivares, Torres-Padrón, Sosa-Ferrera, & Santana-Rodríguez, 2013). Pour obtenir de meilleurs résultats, les quantités d'analytes dans l'environnement doit se situer dans la plage linéaire dynamique. Nombreux des études ont rapporté une linéarité proche de un qui peut être obtenue en traçant les réponses du détecteur en fonction de diverses concentrations. Une bonne méthode d'analyse précise doit présenter des pourcentages de récupération supérieurs à 80 %.tandis qu'une précision adéquate est atteinte lorsque les valeurs RSD sont inférieures à 20%.Cependant, une bonne méthode d'analyse peut toujours produire un pourcentage plus faible pour analytes particuliers en raison de leurs propriétés physiques et chimiques variables (Magnér, Alsberg, & Broman, 2009).

1.4 Evaluation des risques écotoxicologiques

Les études écotoxicologiques de différentes classes de produits pharmaceutiques permettent informations importantes sur le risque pour la vie terrestre et aquatique. Différentes classes de

produits pharmaceutiques détectés dans les systèmes d'eau ont un potentiel de causant de graves effets néfastes sur l'écosystème.

Les études d'écotoxicologie de diverses classes de produits pharmaceutiques fournits des informations importantes sur le danger pour la vie terrestre et aquatique.

Différentes classes de produits pharmaceutiques détectés dans les systèmes d'eau ont un potentiel de causer des effets indésirables graves effets sur l'écosystème. Dans cette revue, les effets écotoxicologiques de différents classes de produits pharmaceutiques tels que les ARV, les antibiotiques, les AINS, les stéroïdes hormones et bêta-bloquants ont été évalués. Dans chaque classe, les plus détectés composé pharmaceutique a été utilisé comme représentant pour évaluer la écotoxicité (Waleng & Nomngongo, 2022).

Des quotients de risque (QR) ont été utilisés pour mesurer le risque potentiel de chaque classe pharmaceutique dans l'environnement aquatique. Selon le système de classification RQ établi par la Commission européenne, il existe trois niveaux de risque utilisés pour évaluer les risques écotoxicologiques des produits pharmaceutiques dans l'environnement ($RQ<0,1$, $0,1<RQ<1$ et $QR\geq1$, impliquant respectivement des risques minimaux, médians et élevés) (Waleng & Nomngongo, 2022). Les quotients de risque sont obtenus sous la forme d'un rapport entre la concentration mesurée dans l'environnement (MEC) et la concentration prédite sans effet (PNEC)(Nantaba et al., 2020).

1.5 La biologie des diatomées

1.5.1 Description des diatomées

Les diatomées, ou *Bacillariophycées*, sont des algues microscopiques unicellulaires qui se développent sous forme de colonies (filaments, rubans ou résidus tubulaires) (voir figure2.1). Leur nom est issu du mot grec « *dia* » qui veut dire « en divisant » et du mot « *temnein* » qui signifie « couper ». Les parois cellulaires de ces algues sont formées de coquilles siliceuses. Les microorganismes sont repartis, et de façon omniprésente, principalement dans les écosystèmes aquatiques (Benjira, 2019).

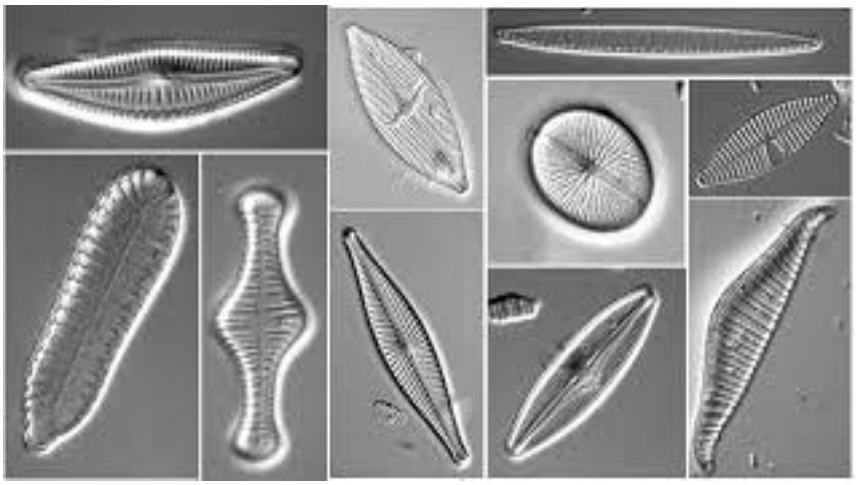


Fig. 1.2. Exemples de diatomée

1.5.2 Morphologie des diatomées

Les diatomées appartiennent au groupe des algues, un des plus riches groupements d'espèces sur la planète. Ces organismes sont bien conservés sous forme fossile, en raison de leur squelette externe de silice. Cette propriété est fort utile en paléo-écologique afin de reconstituer les conditions environnementales des périodes anciennes, et permet actuellement d'identifier plus de 100 000 espèces de diatomées, principalement sur la base de caractères morphologiques (Spanbauer, 2015) .

Les frustules peuvent prendre des formes variées allant de circulaire à elliptique, en forme d'aiguille, de sigmoïde et polygonale. Selon la géométrie des frustules, les diatomées sont divisées en deux grandes catégories: les diatomées centrales et les pennées. Les diatomées centrales ont une symétrie radiale avec un frustule ayant plusieurs stries. Les figures 2.2 et 2.3 illustrent respectivement les différentes parties d'une diatomée pennée et une image

microscopique d'une culture de diatomées pennées. Pour la plupart des espèces de diatomées, les valves sont essentiellement composées de deux parties en silice, séparées par des rangées des pores . Ces pores facilitent le passage de l'eau à travers la cellule, ainsi que la sécrétion de matière organique (Douglas, Smol, & Blake Jr, 1994).

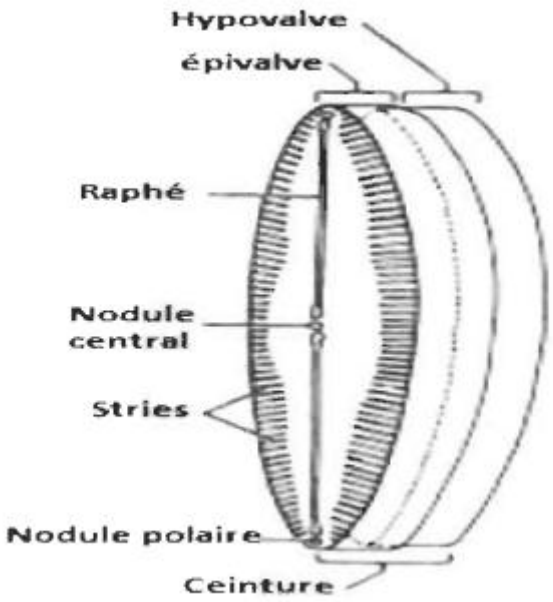


Fig.1.3. Composantes d'une diatomée pennée (Theriot & Herbarium, 1992)

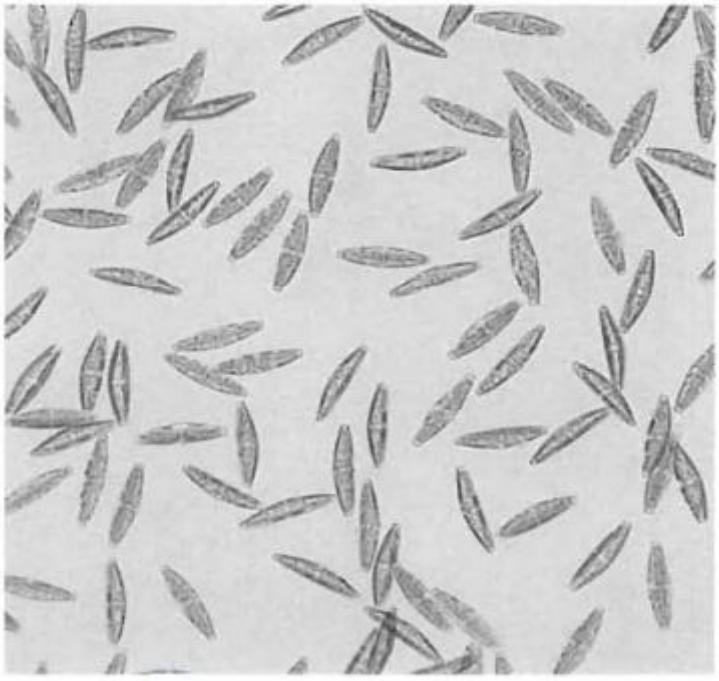


Fig. 1.4. Image microscopique de diatomées en culture (S. robusta).

Le processus d'identification taxonomique est complexe à cause de la variabilité de la forme et de la taille de la valve chez les diatomées. Récemment, des études moléculaires ont été utilisées pour raffiner les descriptions morphologiques des espèces de diatomées et ces études ont révélé que des espèces peuvent être morphologiquement similaires mais génétiquement distinctes (Seckbach & Kociolek, 2011).

1.5.3 Ecologie des diatomées

Le vent et les animaux participent à la dispersion des diatomées sur de grandes distances. Par conséquent, la distribution des espèces de diatomées est communément cosmopolite . Les diatomées vivent dans de nombreux habitats. Plusieurs travaux sur les diatomées font état des préférences écologiques des diatomées et ont révélé que ces communautés sont influencées par les conditions régionales telles que le climat et la géologie ainsi que par des facteurs locaux comme la physico-chimie, la diversité des habitats, la disponibilité de la lumière, l'inclinaison de la pente (Finlay, 2002).

La disponibilité des éléments nutritifs affecte fortement la dynamique de la population de diatomées. Les cellules des diatomées sont diploïdes et utilisent la mitose pour se reproduire. La limitation des nutriments à la fin d'une période de floraison des diatomées produit souvent des interruptions dans la phase du cycle de vie de la diatomée (Seckbach & Kociolek, 2011).

1.6 La plante d’aubergine

1.6.1 Description de la plante

L’aubergine (*Solanum melongena L.*) c'est une plante annuelle cultivée dans les pays tempérés, où elle craint le gel. Dans les pays tropicaux, c'est une plante pérenne. L'espèce est originaire d'Asie méridionale (Inde, Birmanie) (Anonyme 1, 2002). La plante, à port dressé, atteint 50cm à 1,2m de haut. Les fleurs, de couleur blanche ou violette, solitaires, sont portées à l'aisselle des feuilles. Les fruits de la variété la plus commune en France sont allongés et de couleur violet sombre, mais il existe des variétés, de formes et de couleurs différentes (blanches, tigrées, ...).

1.6.2 Morphologie de la plante

L'aubergine atteint 0,60m à 1,20m de haut. Le port est buissonnant. Ses tiges sont ramifiées, les feuilles simples, alternes vert foncées ; les fruits généralement violets, sont allongés ou globuleux. Les peuvent atteindre 1 à 1,50m de profondeur (Lebeau, 2010).

1.6.3 Physiologie de la plante

L'aubergine est bien adaptée aux conditions tropicales. Pour son développement optimal, il faut une température entre 20 et 30°C. l'aubergine est plus exigeante en chaleur que la tomate. Cependant, il existe des variétés adaptées u climat frais(Lebeau, 2010).

Références bibliographiques

Afonso-Olivares, C., Torres-Padrón, M., Sosa-Ferrera, Z., & Santana-Rodríguez, J. J. (2013). Assessment of the presence of pharmaceutical compounds in seawater samples from coastal area of Gran Canaria Island (Spain). *Antibiotics*, *2*(2), 274-287.

Al-Rifai, J. H., Gabelish, C. L., & Schäfer, A. I. (2007). Occurrence of pharmaceutically active and non-steroidal estrogenic compounds in three different wastewater recycling schemes in Australia. *Chemosphere*, *69*(5), 803-815.

Albero, B., Tadeo, J. L., Escario, M., Miguel, E., & Pérez, R. A. (2018). Persistence and availability of veterinary antibiotics in soil and soil-manure systems. *Science of the total environment*, *643*, 1562-1570.

Benchaabane, H., & Chadouli, S. (2019). Etude paramétrique et cinétique de la dégradation et de la minéralisation de l'amoxicilline par oxydation anodique. Application sur un rejet

pharmaceutique réel (SAIDAL Medéa). *Mémoire Master, Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana*.
Benjira, M. A. (2019). *Classification automatique des diatomées.* Université du Québec à Trois-Rivières.
Boreen, A. L., Arnold, W. A., & McNeill, K. (2003). Photodegradation of pharmaceuticals in the aquatic environment: a review. *Aquatic Sciences, 65*(4), 320-341.
Bound, J., & Voulvoulis, N. (2004). Pharmaceuticals in the aquatic environment—a comparison of risk assessment strategies. *Chemosphere, 56*(11), 1143-1155.
Bradley, P. M., Barber, L. B., Kolpin, D. W., McMahon, P. B., & Chapelle, F. H. (2007). Biotransformation of caffeine, cotinine, and nicotine in stream sediments: Implications for use as wastewater indicators. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal, 26*(6), 1116-1121.
Buser, H.-R., Poiger, T., & Müller, M. D. (1999). Occurrence and environmental behavior of the chiral pharmaceutical drug ibuprofen in surface waters and in wastewater. *Environmental science & technology, 33*(15), 2529-2535.
Carrara, C., Ptacek, C. J., Robertson, W. D., Blowes, D. W., Moncur, M. C., Sverko, E., & Backus, S. (2008). Fate of pharmaceutical and trace organic compounds in three septic system plumes, Ontario, Canada. *Environmental science & technology, 42*(8), 2805-2811.
Collette-Bregand, M., James, A., Munshy, C., & Bocquene, G. (2009). Contamination des milieux aquatiques par les substances pharmaceutiques et cosmétiques-Etat des lieux et perspectives.
Conley, J. M., Symes, S. J., Kindelberger, S. A., & Richards, S. M. (2008). Rapid liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the determination of a broad mixture of pharmaceuticals in surface water. *Journal of Chromatography A, 1185*(2), 206-215.
de García, S. O., García-Encina, P. A., & Irusta-Mata, R. (2017). The potential ecotoxicological impact of pharmaceutical and personal care products on humans and freshwater, based on USEtox™ characterization factors. A Spanish case study of toxicity impact scores. *Science of the total environment, 609*, 429-445.
Desbrow, C., Routledge, E., Brighty, G., Sumpter, J., & Waldock, M. (1998). Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 1. Chemical fractionation and in vitro biological screening. *Environmental science & technology, 32*(11), 1549-1558.
Djedid, K., Rezak, N., Bettahar, N., & Bahmani, A. Utilisation de matériaux macroporeux dans le traitement des eaux polluées. *Revue des Energies Renouvelables ICESD, 11*, 12.
Djemai, C., Boukrouk, A., & Rouibah, K. E. (2020). *Contribution à l'étude de l'élimination de polluants émergents de type pharmaceutiques par adsorption.* Université de Jijel.
Douglas, M. S., Smol, J. P., & Blake Jr, W. (1994). Marked post-18th century environmental change in high-arctic ecosystems. *science, 266*(5184), 416-419.
Ericson, H., Thorsén, G., & Kumblad, L. (2010). Physiological effects of diclofenac, ibuprofen and propranolol on Baltic Sea blue mussels. *Aquatic Toxicology, 99*(2), 223-231.
Fairgrieve, W. T., Masada, C. L., Peterson, M. E., McAuley, W. C., McDowell, G. C., & Strom, M. S. (2006). Concentrations of erythromycin and azithromycin in mature Chinook salmon Oncorhynchus tshawytscha after intraperitoneal injection, and in their progeny. *Diseases of aquatic organisms, 68*(3), 227-234.
Finlay, B. J. (2002). Global dispersal of free-living microbial eukaryote species. *science, 296*(5570), 1061-1063.
Gilroy, È. (2012). AM; Balakrishnan, VK; Solomon, KR; Sverko, E.; Sibley, PK Chemosphere Behaviour of pharmaceuticals in spiked lake sediments—Effects and interactions with benthic invertebrates. *Chemosphere, 86*, 578-584.
Guerra, P., Kim, M., Shah, A., Alaee, M., & Smyth, S. (2014). Occurrence and fate of antibiotic, analgesic/anti-inflammatory, and antifungal compounds in five wastewater treatment processes. *Science of the total environment, 473*, 235-243.
Halling-Sørensen, B., Nielsen, S. N., Lanzky, P., Ingerslev, F., Lützhøft, H. H., & Jørgensen, S. (1998). Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment-A review. *Chemosphere, 36*(2), 357-393.
Hernando, M. D., Mezcua, M., Fernández-Alba, A. R., & Barceló, D. (2006). Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. *Talanta, 69*(2), 334-342.

Hignite, C., & Azarnoff, D. L. (1977). Drugs and drug metabolites as environmental contaminants: chlorophenoxyisobutyrate and salicylic acid in sewage water effluent. *Life Sciences, 20*(2), 337-341.
Isidori, M., Bellotta, M., Cangiano, M., & Parrella, A. (2009). Estrogenic activity of pharmaceuticals in the aquatic environment. *Environment international, 35*(5), 826-829.
Isidori, M., Lavorgna, M., Nardelli, A., Pascarella, L., & Parrella, A. (2005). Toxic and genotoxic evaluation of six antibiotics on non-target organisms. *Science of the Total Environment, 346*(1-3), 87-98.
Jones, O., Voulvoulis, N., & Lester, J. (2001). Human pharmaceuticals in the aquatic environment a review. *Environmental technology, 22*(12), 1383-1394.
Kemper, N. (2008). Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. *Ecological indicators, 8*(1), 1-13.
Klavarioti, M., Mantzavinos, D., & Kassinos, D. (2009). Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation processes. *Environment international, 35*(2), 402-417.
Kolpin, D. W., Furlong, E. T., Meyer, M. T., Thurman, E. M., Zaugg, S. D., Barber, L. B., & Buxton, H. T. (2002). Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999− 2000: A national reconnaissance. *Environmental science & technology, 36*(6), 1202-1211.
Lam, M. W., & Mabury, S. A. (2005). Photodegradation of the pharmaceuticals atorvastatin, carbamazepine, levofloxacin, and sulfamethoxazole in natural waters. *Aquatic Sciences, 67*(2), 177-188.
Lebeau, A. (2010). *Résistance de la tomate, l'aubergine et le piment à Ralstonia solanacearum: interactions entre les géniteurs de résistance et la diversité bactérienne, caractérisation et cartographie des facteurs génétiques impliqués chez l'aubergine.* Université de la Réunion.
Li, W. C. (2014). Occurrence, sources, and fate of pharmaceuticals in aquatic environment and soil. *Environmental pollution, 187*, 193-201.
Lin, A. Y. C., & Reinhard, M. (2005). Photodegradation of common environmental pharmaceuticals and estrogens in river water. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal, 24*(6), 1303-1309.
Madikizela, L. M., Ncube, S., Tutu, H., Richards, H., Newman, B., Ndungu, K., & Chimuka, L. (2020). Pharmaceuticals and their metabolites in the marine environment: sources, analytical methods and occurrence. *Trends in Environmental Analytical Chemistry, 28*, e00104.
Magnér, J., Alsberg, T., & Broman, D. (2009). Bag-SPE—a convenient extraction method for screening of pharmaceutical residues in influent and effluent water from sewage treatment plants. *Analytical and bioanalytical chemistry, 395*(5), 1481-1489.
Maroga Mboula, V. (2012). *Devenir de polluants émergents lors d'un traitement photochimique ou photocatylitique sous irradiation solaire.* Nantes, Ecole des Mines.
Maskaoui, K., Hibberd, A., & Zhou, J. L. (2007). Assessment of the interaction between aquatic colloids and pharmaceuticals facilitated by cross-flow ultrafiltration. *Environmental science & technology, 41*(23), 8038-8043.
Nandi, B. K., Goswami, A., & Purkait, M. K. (2009). Adsorption characteristics of brilliant green dye on kaolin. *Journal of hazardous materials, 161*(1), 387-395.
Nantaba, F., Wasswa, J., Kylin, H., Palm, W.-U., Bouwman, H., & Kümmerer, K. (2020). Occurrence, distribution, and ecotoxicological risk assessment of selected pharmaceutical compounds in water from Lake Victoria, Uganda. *Chemosphere, 239*, 124642.
Paxeus, N. (2004). Removal of selected non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), gemfibrozil, carbamazepine, b-blockers, trimethoprim and triclosan in conventional wastewater treatment plants in five EU countries and their discharge to the aquatic environment. *Water science and technology, 50*(5), 253-260.
Poiger, T., Buser, H. R., & Müller, M. D. (2001). Photodegradation of the pharmaceutical drug diclofenac in a lake: pathway, field measurements, and mathematical modeling. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal, 20*(2), 256-263.
Purdom, C., Hardiman, P., Bye, V., Eno, N., Tyler, C., & Sumpter, J. (1994). Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. *Chemistry and Ecology, 8*(4), 275-285.

Ra, J. S., Oh, S.-Y., Lee, B. C., & Kim, S. D. (2008). The effect of suspended particles coated by humic acid on the toxicity of pharmaceuticals, estrogens, and phenolic compounds. *Environment international*, *34*(2), 184-192.
Seckbach, J., & Kociolek, P. (2011). *The diatom world* (Vol. 19): Springer Science & Business Media.
Spanbauer, T. L. (2015). Sizes, shifts, & structures: A statistical exploration of changes in diatom morphologies and communities.
Stumm-Zollinger, E., & Fair, G. M. (1965). Biodegradation of steroid hormones. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 1506-1510.
Ternes, T., Bonerz, M., & Schmidt, T. (2001). Determination of neutral pharmaceuticals in wastewater and rivers by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, *938*(1-2), 175-185.
Ternes, T. A. (1998). Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water research*, *32*(11), 3245-3260.
Theriot, E., & Herbarium, D. (1992). FE Round, RM Crawford, and DG Mann, The Diatoms. Biology and Morphology of the Genera: Society of Systematic Biologists.
Tixier, C., Singer, H. P., Oellers, S., & Müller, S. R. (2003). Occurrence and fate of carbamazepine, clofibric acid, diclofenac, ibuprofen, ketoprofen, and naproxen in surface waters. *Environmental science & technology*, *37*(6), 1061-1068.
Unuabonah, E., Adebowale, K., Olu-Owolabi, B., Yang, L., & Kong, L. (2008). Adsorption of Pb (II) and Cd (II) from aqueous solutions onto sodium tetraborate-modified kaolinite clay: equilibrium and thermodynamic studies. *Hydrometallurgy*, *93*(1-2), 1-9.
Waleng, N. J., & Nomngongo, P. N. (2022). Occurrence of pharmaceuticals in the environmental waters: African and Asian perspectives. *Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, *4*, 50-66.

CHAPITRE 2. MATERIELS & METHODES

CHAPITRE 2. PRODUITS, MATERIELS & METHODES

Partie 1

2.1.1. l'objectif

Il a récemment été démontré que les composés pharmaceutiques exercent des effets phytotoxiques, La présente étude explore les réponses au stress abiotique et les mécanismes de détoxification induits par l'exposition de plants d'aubergine cultivés dans du milieu nutritif (culture hydroponique) en serre à cinq composés pharmaceutiques communs appliqués individuellement (mg L^{-1} et µg L^{-1}) (Diclofénec, paracétamol, ampicilline, pénicilline, amoxilline) et leur mélange.

2.1.2 .Matériel végétale

La variété utilisée d'aubergine utilisée est (*salanum melongena*). Sa croissance est monpodiale au débit puis sympdiale ce qui lui confère un port buissonnant, la durée moyenne du plante 50 à 60-70 jours du semis a la plantation selon la destination de plein champs ou serre, elle produit de gros fruits et donne un bon rendement.

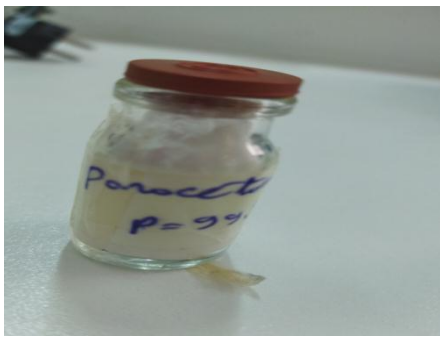
Nous avons apporté les plantules d'aubergine d'une pépinière Rami, située à Alger la commune d'Ain Taya.

2.1.3 Matériel chimique

Nous avons ramené tous les produits pharmaceutiques dans le complexe de Seidel de Médéa.

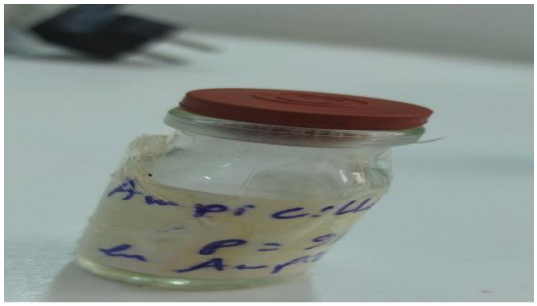
Paracétamol

C'est un composé chimique de formule $C_8H_9NO_2$ qui figure parmi le médicament les plus connus utilisés et prescrit au monde, sont pureté **(p=99,79).**



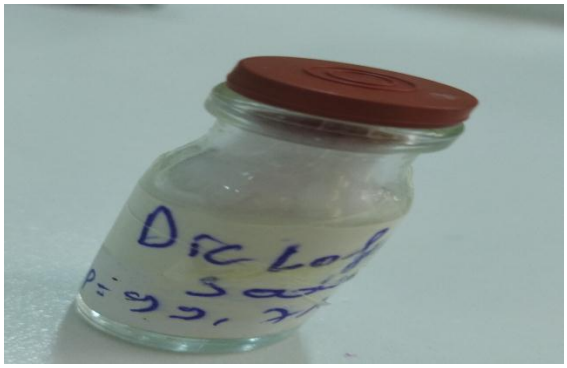
Ampicilline

C'est un antibiotique de la formule $C_{16}H_{18}NaO_4S$ .cet antibiotique fait partie de la liste des médicaments essentiels de l'organisation mondial de la santé **(p=91,43).**



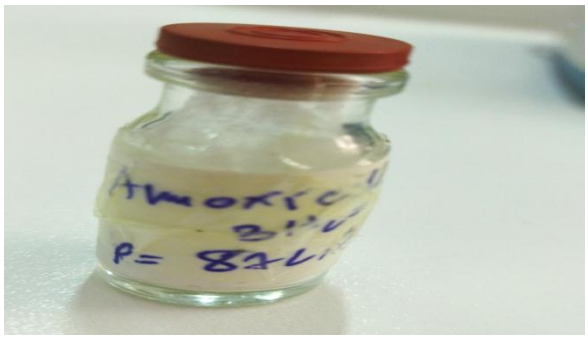
Diclofinec

C'est un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS) et qui est largement diffusé dans la pharmacopée mondiale sous diverses appellations de la formule $C_{14}H_{11}CL_2NO_2$ sont pureté **(p=99,71).**



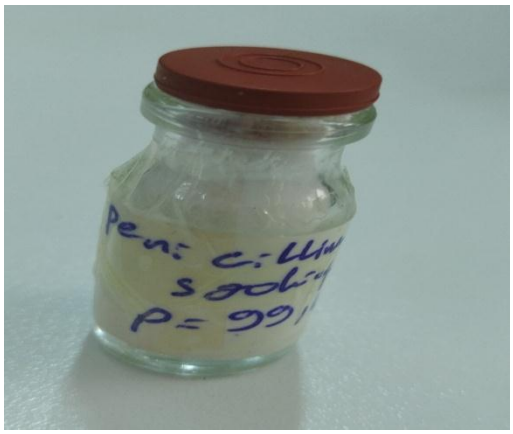
Amoxilline

C'est un antibiotique de la formule $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ indiqué dans le traitement des infections bactériennes à germes sensible **(p=87,71).**



Pénicilline

Ce médicament de la formule $C_{16}H_{18}N_{204}S$, contient un antibiotique de la famille des pénicillines, Habituellement on l'utilise pour combattre les infections.



Effluent Entrée et Effluent sortie

Les effluents de station de traitement des eaux usée de fabrication des médicaments de Seidel de Médéa, on n'a fait un prélèvement au niveau de l'entrée des effluents avant le traitement et de sortie après le traitement.

2.1.4. Méthodologie

Dans notre expérience nous avons appliqué la culture hydroponique aux plantules d'aubergine après avoir lavés et débarrassés le sol collée sur ses racines. Les semis ont placés une à la fois dans un des Goblet en plastique contient une 90 ml de solution nutritive préparé (tableau2.1). Et mettre dans une chambre avec des conditions contrôlés (Température C° =24-26C° et (HR=70-80) photopériode 16/8H°) après trois jours, ont été divisés la culture au hasard en 15 groupe contenant chacun 5 semis dont **(1)** témoin, croissance des semis en solution nutritive seulement. **(2)** Paracétamol (mg), ajouté hydroponique ment à dose de 50

(mg). **(3)** ampicilline (mg), ajouté hydroponique ment à dose de 50mg, **(4)** Diclofénec (mg), ajouté hydroponique ment à dose de 50(mg). **(5)** Amoxilline (mg) ,ajouté hydroponique ment à dose de 50(mg), **(6)** Pénicilline (mg), ajouté hydroponique ment à dose de 50mg , **(7)** Paracétamol (µg), ajouté hydroponique ment à dose de 50(µg).**(8)** ampicilline (µg),ajouté hydroponique ment à dose de 50(µg), **(9)** Diclofénec (µg), ajouté hydroponique ment à dose de 50(µg). (**10)** Amoxilline (µg), ajouté hydroponique ment à dose de 50(µg)**. (11)** Pénicilline (µg) , ajouté hydroponique ment à dose de 50(µg), **(12)** combiné (mg).

Les semis ont été exposés à un stress combiné par application foliaire de paracétamol (mg), plus Ampicilline (mg), plus Diclofinec (mg), plus Amoxilline, (mg), plus Pénicilline (mg), ajouté hydroponiquement. (**13)** combiné (µg) ajouté la combiné de paracétamol (µg), plus ampicilline (µg), plus Diclofinec,(µg),plus Amoxilline (µg), plus Pénicilline (µg), (**14)** Effluent entrée, L'eau que nous avons apportée du complexe de Seidel avant de la traiter ajouté hydroponique ment, (**15)** Effluent sortie L'eau que nous avons apportée du complexe de Seidel après de la traitement ajouté hydroponique ment, chaque trois jours les solution était régulièrement rafraichie, après cinq jours de traitement dans certain condition de croissance pour analyse morphologique et biochimique.



Fig.2.1. la culture d'aubergine.

2.1.4.1. La composition de milieux culture

Milieu de culture.

Tableau 2.1. Composition en macro-éléments du milieu de culture (Arnon et Hoagland, 1940)

Sels	PM (g .mol^{-1})	Solution nutritive (mM)

$Ca(NO_3)_2, 4H_2O$	**236,15**	**1,25**
$MgSO_4, 7H_2O$	**246,48**	**0,5**
KNO_3	**101,11**	**1,25**
KH_2PO_4	**136,1**	**0,25**

Tableau.2.2. Composition en oligo-éléments du milieu de culture (Arnon et Hoagland, 1940).

Sels	**PM ($g.mol^{-1}$)**	**Solution nutritive (µM)**
$MnSO_4, 4H_2O$	**223**	**10^{-3}**
$CuSO4, 5H_2O$	**249,6**	**$5\ 10^{-4}$**
$ZnSO4, 6H_2O$	**269,5**	**$5\ 10^{-4}$**
$(NH_4)MO_7O_{24}, 4H_2O$	**1235,86**	**$5\ 10^{-5}$**
H_3BO_3	**61,83**	**10^{-2}**

Pour le fer, une solution mère est utilisée et elle est préparée comme suit : Une quantité de 26,1 g d'EDTA (triplex II) sous forme sodique ($C_{10}H_{16}N_{2O8}$) est dissoute dans 268 ml de KOH (1N) et 24,9 g de Fe SO_4, $7H_2O$. Le mélange est ensuite complété avec de l'eau distillée jusqu'à 950 ml (toujours < 1 litre). Après une agitation pendant 24h afin de stabiliser le complexe Fe-EDTA, son pH est amené à la valeur de 5,5 avec de l'hydroxyde de potassium(KOH) 1N. Le volume est finalement ajusté à 1 litre avec de l'eau distillée. La solution de fer ainsi préparée est maintenue à l'obscurité. Paramètres biométriques

2.1.4.2. Paramètres biométrique

2.1.4.2.1. Hauteur de la plante

La croissance des plantes est déterminée par mesures répétées des longueurs moyennes des racines principales et des tiges. Les plantes sont photographiées à chaque point de mesure et avant chaque prélèvement.

2.1.4.2.2. Mesure du poids frais

Le poids frais (gr) de chaque plante a été déterminé à l'aide d'une balance de précision juste après la récolte.

2.1.4.3. Paramètres physiologiques

2.1.4.3.1. Extraction et dosage de la chlorophylle et les caroténoïdes

Le dosage de la chlorophylle totale (t), la chlorophylle (a), la chlorophylle (b) et les caroténoïdes est déterminé par la méthode (Lichtenthaler & Wellburn, 1983).

Nous avons mis 50 mg de feuilles d'aubergine dans un mortier contenant 5mg de sable et une pincé de carbonate de calcium (pour neutraliser l'acidité du milieu). L'ensemble a été broyé avec 5ml d'acétone à 95% jusqu'à ce que la solution soit vert foncée. Le broyat est centrifugé à2500 tours/min pendant 5 min. Ensuite 1ml de surnageant est prélevé, et complété avec 4 ml d'acétone à 95%, puis soumis à une agitation à l'aide d'un vortex.

Notre extrait pigmentaire a été dilué à ½ et la lecture a été faite sur un spectrophotomètre suivant ces longueurs d'onde (460, 645, 663) nm. Afin de déterminer la teneur de ces pigments nous avons appliqué la règle (d'Arnon, 1949).

CHa(µg/g) = 12,7 DO (663) – 2,59 DO (645)

CHb(µg/g) = 22,9 DO (645) – 4,68 DO (663)

CHt(µg/g) = CHa + CHb

Ccar = [(5 DO (460) 3,19 CHa) + (130,3 CHb)]

- DO : densité optique

- CHa : concentration de la chlorophylle (a)
- CHb : concentration de la chlorophylle (b)
- CHt : concentration de la chlorophylle totale
- Ccar : concentration de caroténoïde

2.1.4.4. Paramètres biochimiques

2.1.4.4. Dosage du peroxyde d'hydrogène

0.1g de feuilles ont été broyé avec 3ml de TCA (0,1%) dans un mortier placé sur un bac contenant des morceaux de glace (afin de garder nos échantillons au froid), le broyat obtenu est centrifugé à 12000 tours/ 20min à 4 °C.

1ml du surnageant de chaque échantillon a été ajouté à 1ml de $KHPO_4$ (10Mm)et à 2ml de KI (1M), la solution obtenue est agitée à l'aide d'un vortex et laissé à incuber 15mn à l'abri de la lumière ensuite une lecture au spectrophotomètre a été faite à une longueur d'onde 390 nm (Velikova, Yordanov, & Edreva, 2000). **NB** : le blanc est préparé avec 1ml d'eau distillé additionné à 1ml de KHPO4 et 2 ml de KI.

2.1.4.4.2. Teneur en MDA

Pour la mesure de la peroxydation des lipides dans les fruits et les feuilles, le test de l'acide thiobarbiturique (TBA), qui détermine la teneur en MDA en tant que produit final de la peroxydation lipidique (Heath & Packer, 1968), a été utilisé. De la poudre congelée de feuilles (100 mg) est homogénéisée dans 1 mL de TCA 0,1% (p:v) solution. L'homogénat est centrifugé à 12 000 g pendant 15 min, puis 500 µl de surnageant est ajouté à 1 ml de TBA 0,5% (p:v) dans du TCA 20% (p:v) dans un tube à vis. Le mélange est incubé à 100°C pendant 30 min. Ensuite, la réaction est arrêtée dans un bain de glace. L'absorption est lue à 532 nm dans un lecteur Spectrophotomètre. La valeur d'absorption non-spécifique à 600 nm est aussi lue puis soustraite et la concentration du complexe MDA-TBA (pigment rouge) est calculée à partir du coefficient d'extinction de 155 mM-1.cm-1.

2.1.4.4.3. Activités enzymatiques antioxydants

2.1.4.4.3.1 Extraction des enzymes

Les protéines ont été extraites par homogénéisation de 0,2 g de feuilles dans 3mL de 100 mM tampon $KHPO_4/K_2HPO_4$, pH7.0, et qui contient 1 mM d'ascorbate (AsA). L'homogénat a été centrifugé à 16000 g, pendant 15 min, à 4° C, et l'activité enzymatique du surnageant est immédiatement mesurée.

2.1.4..4.3.2 Détermination des activités enzymatiques :

Toutes les activités enzymatiques ont été déterminées par réactions cinétiques, à 25 ° C.

2.1.4.4.4 Dosage de l'activité Ascorbat peroxydase (APX) :

Milieu réactionnel composé de tampon phosphate de potassium à 50 mM (pH 7.0) ; d'AsA à 0,25 mM, de 10 µL d'extrait enzymatique et d'H2O2 à 5 mM. L'activité a été déterminée en mesurant la disparition de l'ascorbate à 290 nm pendant 5 minutes et calculée à partir du coefficient d'extinction de 2.8 $mM^{-1}cm^{-1}$ (Nakano & Asada, 1981).

2.1.4.4.5 Dosage de l'activité Catalase (CAT) :

Milieu réactionnel composé de tampon phosphate de potassium à 50 mM (pH 7,0), d'H2O2 à 15 mM, et de 20 µL d'extrait enzymatique, selon la méthode adaptée de (Aebi, 1984). L'activité a été déterminée en mesurant la diminution de la vitesse de réaction à 240 nm et calculée à partir du coefficient d'extinction de 43.6 M^{-1} cm^{-1}.

2.1.4.4.6 Dosage de l'activité Glutathion S-Transférase (GST) :

Le dosage de la Glutathion-S-transférase est réalisé par la méthode de (Habig, Pabst, & Jakoby, 1974). Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-chloro 2, 4-dinitrobenzène) en présence d'un cofacteur : le glutathion (GSH), puis mesurée à une longueur d'onde de 340 nm dans un spectrophotomètre visible/UV.

Le dosage consiste à faire réagir 200 µl (0,2 ml) du surnagent avec 1,2 ml du mélange CDNB (20 mM)-GSH (100 mM) [0,4052 g CDNB, 3,072 g GSH, 1 ml éthanol, 99 ml tampon phosphate (100 mM, pH 6,5)].

La variation de la densité optique due à l'apparition du complexe CDNB-GSH est mesurée toutes les 15 secondes pendant 1 minute à 340 nm. Contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité du surnageant.

2.1.4.4.7 Métabolites antioxydants

2.1.4.4.7.1 Dosage de la teneur en Glutathion (GSH) :

Les concentrations du GSH sont dosées par la méthode de (Anderson, 1985). 100 mg des feuilles fraiche est homogénéisé dans une solution d'éthylène diamine tétra-acétique (E.D.T.A) à 0,02 M et subissent une déprotéinisation par l'acide sulfo-salycilique 0,25%. Après centrifugation à 2000 g pendant 10 minutes le surnageant est utilisé pour le dosage

spectro photométrique avec le réactif DTNB (5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acide) à 0,01 M à 412 nm.

2.1.4.4.7.2 Dosage des phénols totaux

La teneur en phénols totaux des extraits des plantes a été déterminée par la méthode de (Singleton & Rossi, 1965), utilisant le réactif de Folin–Ciocalteu. Un volume de 200 µl pour chaque extrait est introduit dans des tubes à essais, le mélange (1 ml de FolinCiocalteu dilué 10 fois et 0,8 ml de carbonate de sodium Na_2CO_3 à 7,5 %) est additionné. L'ensemble des tubes est soumis à une agitation au vortex et conservés à l'obscurité et à température ambiante durant 30 min.

L'absorbance est mesurée à 765 nm en utilisant le spectrophotomètre UV. Une courbe d'étalonnage est réalisée par l'acide gallique à différentes concentrations et pratiquée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons. Les teneurs en phénols totaux dans les extraits sont exprimées en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par gramme (g) du poids de la matière fraiche (mg EAG/ g MS).

2.1.4.4.7.3 Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode colorimétrique adaptée par (Zhishen, Mengcheng, & Jianming, 1999). Une quantité de 500 µl de solution méthanolique à différentes concentrations ou de l'extrait méthanolique dilués est ajoutée à 1500 µl de l'eau distillée. Au temps zéro, 150 µl de nitrite de sodium ($NaNO_2$) à 5 % est ajouté au mélange. Après 5 min à température ambiante à l'obscurité, Ce mélange est ensuite additionné de 150 µl de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 10 % (m/v). Après l'incubation de 6 min à la température ambiante, 500 µl d'hydroxyde de sodium (NaOH) 1M est additionné. Immédiatement, le mélange est complètement agité au vortex. L'absorbance de la solution de couleur rosâtre est mesurée à 510 nm contre le blanc.

Une courbe d'étalonnage qui servira à la quantification des flavonoïdes est réalisée par le catéchine à différentes concentrations (0-200 µg/ml) et pratiquée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons. La teneur en flavonoïdes des extraits des plantes d'aubergine est exprimée en milligramme (mg) équivalents de catéchine par gramme (g) du poids de la matière fraiche (EC)/g).

2.1.4.5 Analyse statistique

Les données expérimentales ont été analysées par ANOVA à une facteur, tandis que la Tucky a été utilisé pour déterminer les différences significatives entre les traitements au niveau $P < 0,05$. Les valeurs présentées sont des moyennes ± SE de trois répétitions, et chaque expérience a été répétée deux fois, au moins. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SPSS (Ver 16.0).

PARTIE 2

2.2. 1. PRODUITS

2.2.1.1. Milieux de culture utilisée

D'après (Guillard et Lorenzen 1972), ce milieu a été utilisé pour les cultures d'algues, diatomées et cyanobactéries. Le tableau ci-dessous reprend les différents nutriments ainsi que leur concentration utilisée pour les milieux de culture.Milieux de WC ou WoodS Hoke.

Tableau. 2.3. Milieu de culture WC (ou de Woods Hole).

	Concentration	
Macronutriments	mg/l	µmol/l
K_2HPO_4	8.71	50
$NaNO_3$	85.01	1000
$Na_2SiO_3, 9H_2O$	28.42	100
$CaCl_2, 2H_2O$	36.76	250
$NaHCO_3$	12.6	150
$MgSO_4, 7H_2O$	36.97	150
Micronutriments	mg/l	
Na_2EDTA	4.36	
$FeCl_3, 6H_2O$	3.15	
$CuSO_4, 5H_2O$	0.01	
$ZnSO_4, 7H_2O$	0.022	
$CoCl_2, 6H_2O$	0.01	
$MnCl_2, 4H_2O$	0.18	
$Na_2MoO_4, 2H_2O$	0.006	
H_3BO_3	1	
Vitamines	mg/l	
Thiamine. HCL	0.1	

Biotine B12	0.0005 0.0005	

2.2.2. Matériel

Centrifugeuse (-EBA 21 Hettich ZENTRIFUGEN), Autoclave (OT O12), Microscop optique (OPTIKA MICROSCOPE), Agitateur (Agimatic-N), Balance(KERN), Micropipette 100-1000µl (EASY AOT), Congélateur (Liebher), Lamelles en verre, lames en vert la cellule Mallassez.

Matériel biologique

Les biofilms ont deux composantes principales, d'une part les micro-organismes dont certains sont phototrophes (micro algues dont les diatomées, cyanobactéries et algues vertes) et d'autres hétérotrophes (bactéries, champignons,…), d'autre part une matrice de substances polymériques qualifiées d'exopolysaccharides (Othoniel 2006).

2.2.3. Méthodologie

2.2.3.1. Milieux de culture

Milieu de culture doit contenir tous les éléments nécessaires à la croissance de les diatomées, sa composition donnée dans le tableau (2.2) les milieux de culture WC ou Woos Hole préparé est stérilisé à l autoclave à 120°C Pendant 20 minutes.

Des cultures d'algues, de diatomées et de cyanobactéries ont été réalisées en laboratoire dans du milieu de culture WC (ou de Woods Hole) (tableau 2.2). Les monocultures pures ont été maintenues à une température constante de 20 C° sous une photopériode jour/nuit de 12h/12h.

Le matériel végétal (algues), et échantillons d'eau ont été prélevés au niveau de une station d'oued chiffa.

Ce travail de recherche s'est basé sur :

La mesure des paramètres physico- chimiques (la biomasse et la diversité et la morphologie) au niveau des une station de prélèvement.

L'organisme modèle utilisé a été la diatomée issue de nos propres cultures d'algues (souche différente de celle de l'expérience), Nous avons réalisé un test éco- toxicologique en testant différentes concentrations (50 mg, 50µg et 50ng de le paracétamol).

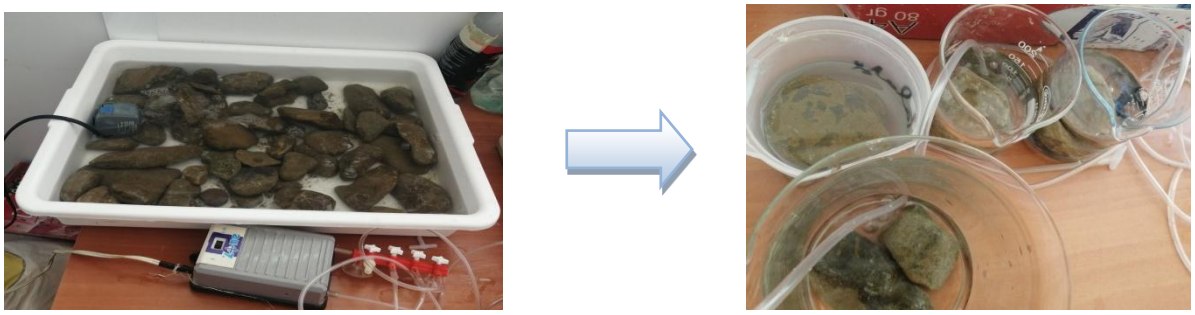


Fig. 2.2. Culture des diatomées (gauche), la culture avec le traitement (droite).

2.2.3.2Technique de numération cellulaire

2.2.3.2.1. Principe de numération cellulaire

La numération cellulaire est la détermination du nombre de cellules contenues dans un volume précis d'un milieu liquide. On exprime le résultat de la numération en concentration cellulaire, c'est-à-dire, en nombre des cellules par ml. La numération cellulaire est réalisée directement par comptage au microscope, à l'aide d'une lame de comptage spéciale (cellule de numération ou cellule de Mallasse).

2.2.3.2.2. Présentation de la cellule de mallasse

La cellule de mallasse est constituée d'une lame de verre épaisse qui porte à sa partie supérieure un réseau de lignes gravées perpendiculairement et qui délimitent 400 carrées de 0.05 mm de côté, et une lamelle qui repose sur deux renflements de la lame, ce qui délimite au-dessus du réseau un espace de 0.1 mm. Le volume au dessus de chaque carré est donc de 0.25×10- ml.

2.2.3.2.3. Méthode de comptage :

Selon Guiraud (1998), Les cellules algales peuvent être comptées en utilisant la cellule de numération.

- humections des deux plateaux latéraux
- faire adhérer parfaitement la lamelle aux plateaux latéraux et pour cela en plaçant la lamelle sur ces deux plateaux.
- placer la cellule de comptage sur une surface plane. -homogénéiser la suspension cellulaire, et prélever celle-ci à l'aide d'une seringue.
- remplir la chambre de comptage par capillarité, en plaçant la pointe de la seringue légèrement inclinée près de la lamelle sur la plate-forme centrale quadrillée.

- le remplissage doit être fait en une seule fois, sans bulles d'air, et sans faire déborder le liquide dans les rigole, laisser sédimenter les cellules sur le quadrillage quelques minutes, et passer à la numération microscopique. Selon Guiraud (1998), le nombre des cellules est compté dans p carrés, en générale 100 carrés : ni=n +n +n +…np.

Remarque : Après chaque utilisation, la lame porte-objet et la lamelle planée sont immergés dans un bain d'eau de javel pendant 5 minutes, puis rincées avec l'eau distillée et essuyées avec du papier (sans abimer la cellule, en particulier au niveau du quadrillage).

2.2.3.2.4. La numération microscopique :

Le nombre total de cellules à été déterminé par numération sous le microscope. - Observation à l'objectif ×10 pour repérer la position du quadrillage et vérifier l'homogénéité de la répartition des cellules à compter, le comptage s'effectue au microscope au grossissement ×40 (objectif à une profondeur de champ spécialement augmentée).**2.2.3.2.5. La formule de comptage :**

Après le comptage, la concentration cellulaire de la suspension de cellule algale est calculée : n=(n +n +n +……..+np)/p.Soient : n la moyenne ;ni P : le nombre des carrés (en générale 100 carrés). N : nombre de cellule par mlN : nombre de cellule par ml.P : le nombre des carrés (en générale 100 carrés).Le nombre N de la cellule par ml de la suspension est détermine selon Guiraud (1989).

N= 4×10 ¢ /m.

CHAPITRE 3.RESULTATS &DISCUSSION

CHAPITRE 3. RESULTATS & DISCUSSION

PARTIE 1

RESULTATS

3.1.1 Effet des produits pharmaceutiques sur la biomasse

3.1.1.1 Sur la biomasse des pousses

La biomasse des feuilles à significativement diminué (figure 3.1) lorsque on n a observé les concentrations de 50 mg et 50 µg et le combiné mg et µg des produits pharmaceutiques et aussi même l'effluent entrée e provoquer une diminution avec (2% à 28%), ampicilline et paracétamol (mg) diminué à 6%, diclofinec mg aussi diminué à 15%, amoxilline (mg) à 7%, pénicilline (mg) à 11%, paracétamol (µg) à pourcentage 25 % et ampicilline(µg) amoxilline (µg) diminue à 2%, diclofénec (µg) à10%, pénicilline (µg) à14%,et le combiné (mg) à 2%, et aussi le combiné (µg) à 18%, et l'effluent sortie à 3 %, par contre l'effluent sortie augmente avec 3%, par rapport témoins .

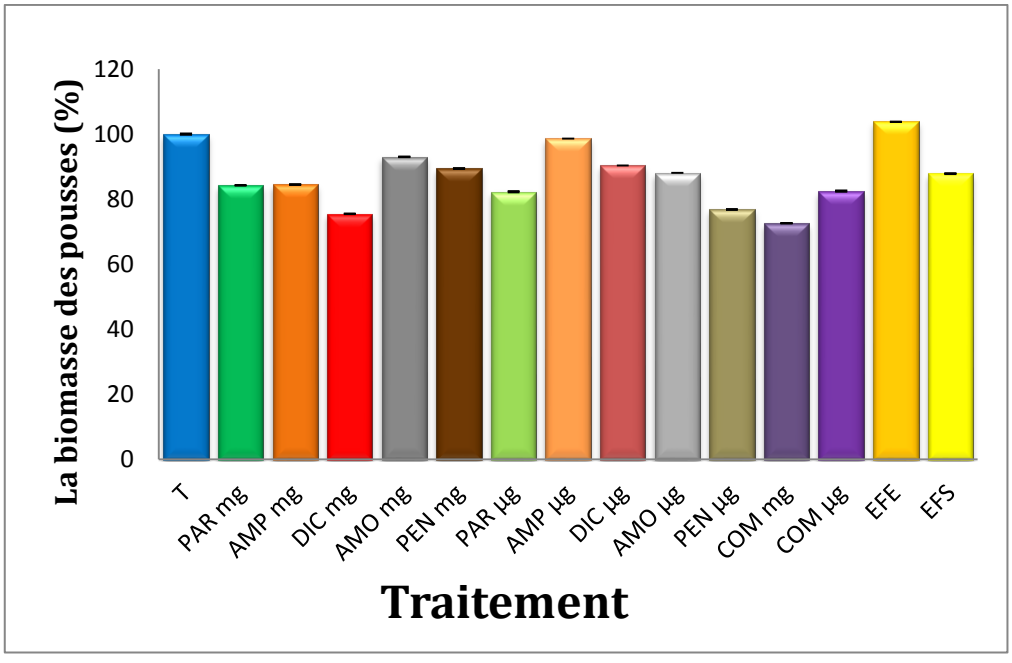


Fig. 3.1. Effet des produits pharmaceutiques, leur combinaison et l'effluent entrée et sortie sur la biomasse des pousses.

3.1.1.2 Sur la biomasse des racines

Les résultats obtenus (figure 3.2) montrent que le stresse des produits pharmaceutiques de deux concentration 50 mg et 50 µg, combiné (mg et µg) et l'effluent avant et après le traitement à provoquer une augmentation de (7 %_ 56%) par rapport aux témoins, donc la paracétamol mg et ampicilline mg augmente à 7%, ampicilline (mg) et l'effluent sortie et à 3%, et diclofinec (mg) à 20%, amoxilline (mg) à 24%, pénicilline (mg) et diclofénec à 31% ,paracétamol (µg) augmente à 56%, ampicilline (µg) à pourcentage 14%, amoxilline (µg) et le combiné (µg) à 43%, pénicilline (µg) à 56 %, le combiné (mg) augmente à 51% , et l'effluent entrée augmente à 19% , par rapport aux témoins.

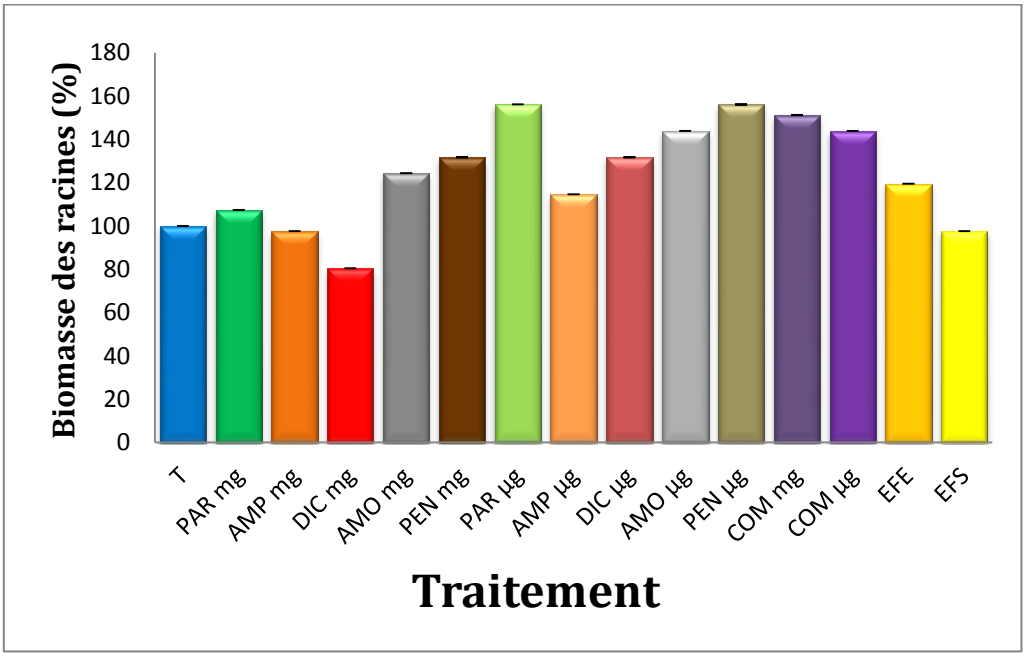


Fig. 3.2. Effet des produits pharmaceutiques, leur combinaison et l'effluent entrée et sortie sur la biomasse des racines.

3.1.2 Effet des produits pharmaceutiques sur la longueur des plantes

3.1.2.1 Sur longueur des pousses

Les mesures de la longueur des tiges de plantes aux cours de traitement sous un stress des substances pharmaceutiques et les effluents entrée et sortie qui reportées dans la figure(3.3), la croissance en longueur des tiges à été diminué aves (3 %_26 %) comparativement aux témoins, donc le paracétamol (mg) diminué à 13%, ampicilline (mg) à 8%, diclofénec (mg) à 26%, amoxilline (mg) et combiné (µg) et le effluent entée diminué à 4% , pénicilline (mg) à

10%, ampicilline (µg) à 12%, diclofinec (µg) à 9%, amoxilline (µg) et le effluent sortie à 11%, et pénicilline à 7%, par contre le combiné (mg) augment à 5%, par rapport au témoins.

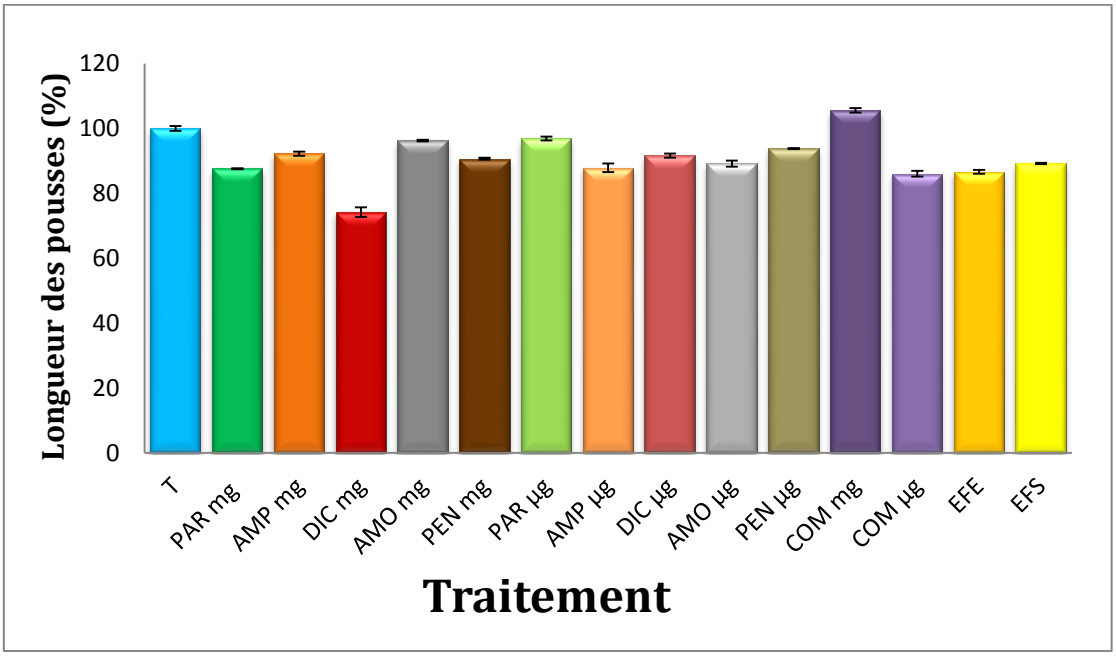


Fig. 3.3. Effet des produits pharmaceutiques, leur combinaison et l'effluent entrée et sortie sur la longueur des pouces.

3.1.2.2. Sur la longueur des racines

Les mesures de la longueur des racines chez les plantes aux cours de traitement sous un stress des produits pharmaceutiques et l'effluent entrée et sortie qui reportées dans la figure (3.4). La croissance en longueur des racines à été augmenté avec (2%_30%) par rapport aux témoins. paracétamol (mg) augmente à 6%, diclofénec (mg) à15%, paracétamol et ampicilline (µg) à 1%, diclofinec (µg) à10%, pénicilline µg à 31%, et le combiné (mg /µg) à 13%, le effluent entrée à 3%, par contre pour pénicilline diminue à 22%, et amoxilline (mg) diminuer à 3%, par rapport aux témoins.

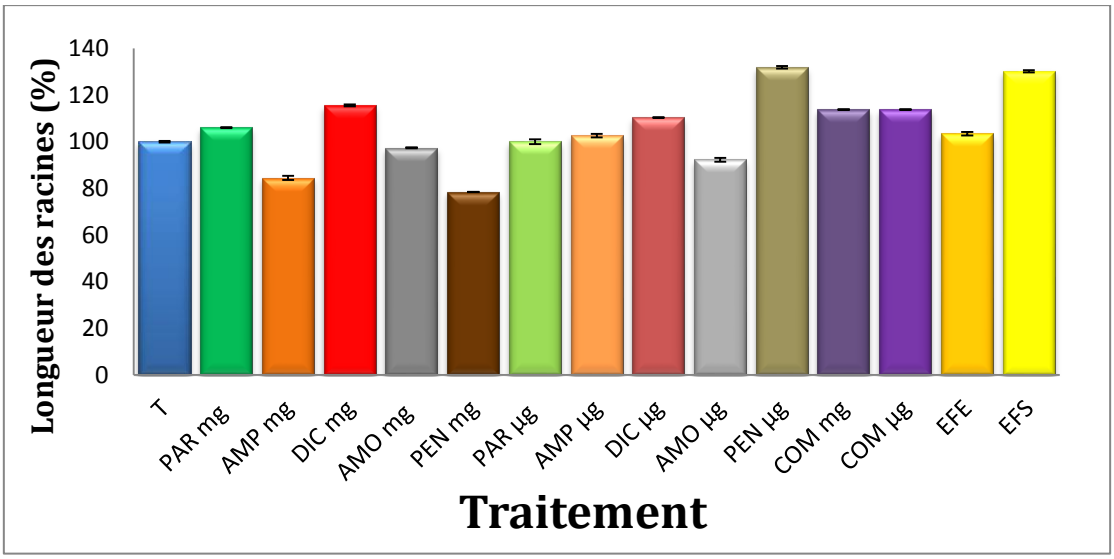


Fig. 3.4. Effet des produits pharmaceutiques, leur combinaison et l'effluent entrée et sortie sur la longueur des racines.

3.1.3 Paramètres biochimiques

3.2.1 Teneur en chlorophylle

L'examen des résultats de l'effet des produits pharmaceutiques sur chlorophylle reportées dans la figure (3.5) les deux concentrations (50 mg et 50 µg) et aussi même l'effluent entrée et sortie a provoquée une diminution du contenu en chlorophylle avec des pourcentages de (20 %_ 50%) comparativement aux témoins. Donc le paracétamol(mg) et ampicilline (µg) diminue à 36%, ampicilline (mg) à 39%, diclofénec (mg) à 50 ٪, amoxilline (mg) à 49%, pénicilline (mg) à 35%, et paracétamol (µg) à 41%, diclofénec (µg)à 35%, amoxilline (µg) à 59 %, pénicilline à79%, et le combiné (mg) diminue à 11%, le combiné (µg) à 42%, et l'effluent entrée à 51% , et l effluent sortie diminue à 58%, par rapport au témoin .

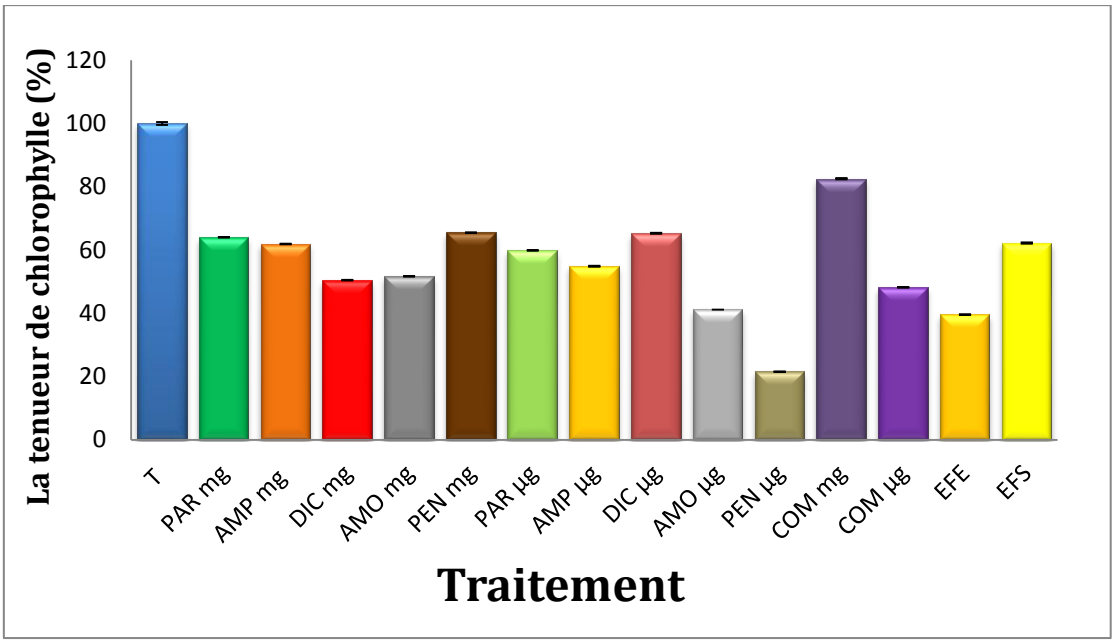


Fig. 3.5. Effet des produits pharmaceutiques, leur combinaison et l'effluent entrée et sortie sur la teneur en chlorophylle.

3.1.3.2 Effet des produits pharmaceutiques sur La teneur en H_2O_2

La réaction biochimiques analysée à travers la mesure de la quantité de H_2O_2 sous un stress des produits pharmaceutiques des deux concentrations 50 (mg) et (50 µg) et même l'effluents entrée et sortie montre qu'elle est une diminution importante dans les feuilles avec les valeurs des (50%-74%) par rapport aux témoins, donc le paracétamol (mg) diminué à 53 % ,ampicilline (mg) à 67%, diclofénec (mg) à 82%, amoxilline (mg) et pénicilline (µg) diminué à 72%, pénicilline (mg) à 71 %, paracétamol (µg) à58%, diclofénec (µg) à 60%, amoxilline (µg) à 74% , et pénicilline (µg) à72 %, par contre le combiné(mg) et le combiné (µg) et aussi les deux effluents sortie et entrée diminues a pourcentage de 58 %, par rapport aux témoins.

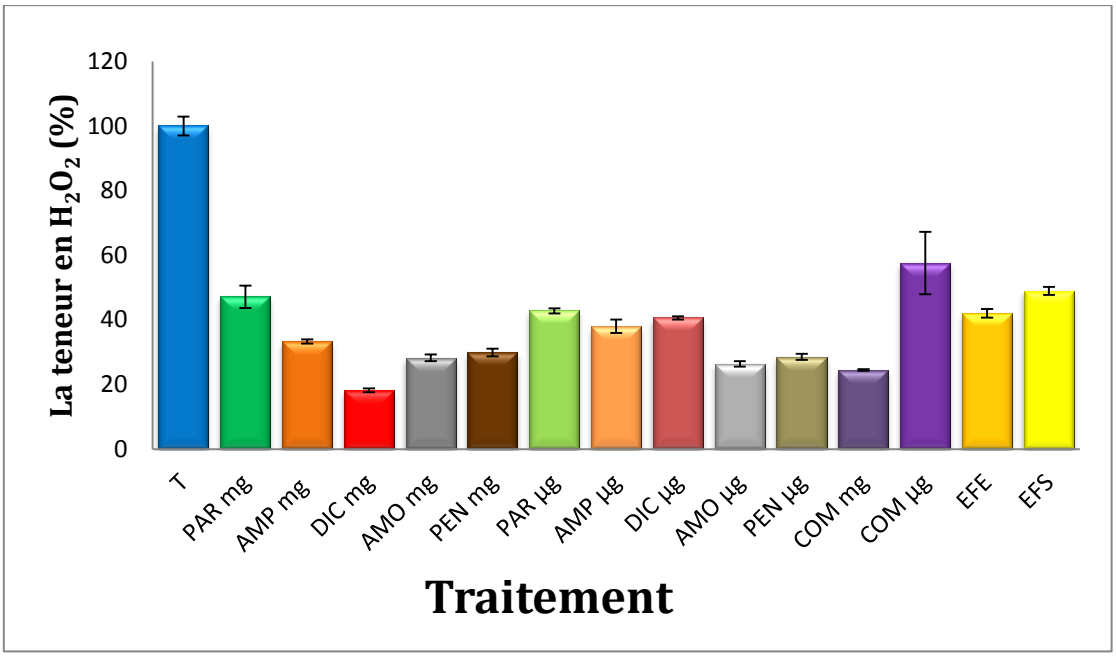


Fig. 3.6. Effet des produits pharmaceutiques, leur combinaison et l'effluent entrée et sortie sur la teneur en H_2O_2.

3.2.3. Effet des produits pharmaceutiques sur la teneur en MDA

Les résultats relatifs de paramètre MDA pour le stress des produits pharmaceutiques sont présentées dans la figure (3.7) leur observation montrent une augmentation non significative par rapport aux témoins, donc le paracétamol (mg) et diclofénec (µg) et pénicilline (µg) augmenté à 10%, et diclofénec (mg) et paracétamol (µg) et ampicilline (µg) et pénicilline (mg) augmenté à 5%, et amoxilline (µg) et ampicilline (mg) à 50%, par contre nous avons constaté une augmentation significative d'amoxilline (mg) et le combiné (µg) par rapport aux témoins.

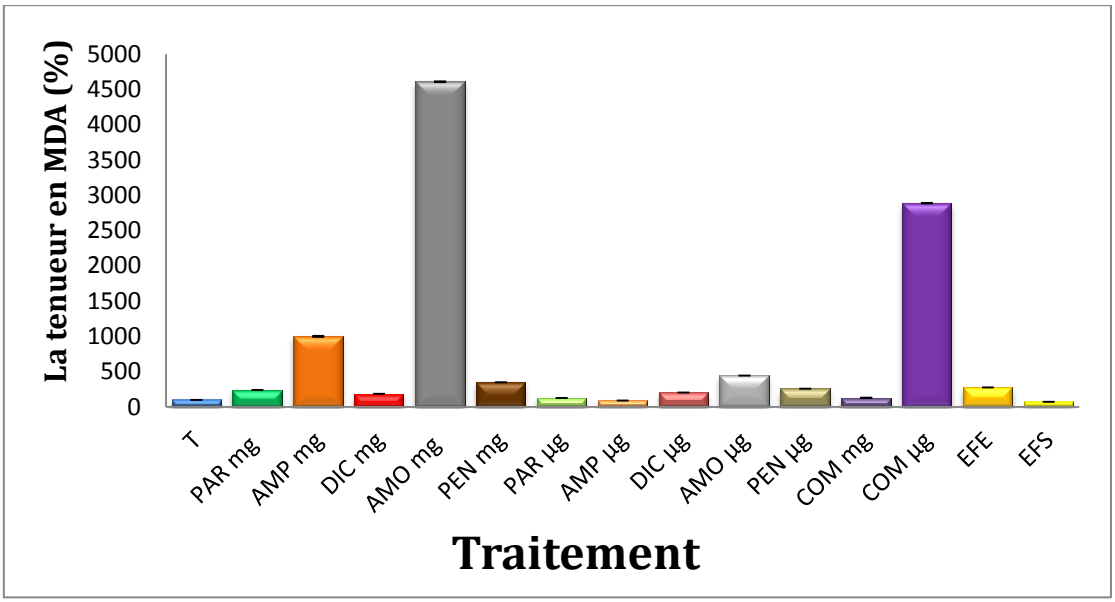


Fig. 3.7. Effet des produits pharmaceutiques, leur combinaison et l'effluent entrée et sortie sur la teneur en MDA.

3.1.4. Paramètre enzymatiques

3.1.4.1 Effet des produits pharmaceutiques sur l'activité de CAT

L'examen des résultats de l'effet des produits pharmaceutiques et l'effluent entrée et sortie sur la catalase dan la figure (3.8) ,révèle que ce stress réduit l'activité de la catalase par rapport aux témoins, Nous avons constaté une augmentation significative par ampicilline (µg) et pénicilline (µg) ,et diclofénec (µg) et paracétamol (mg), diclofénec (mg) et (µg), et les deux combiné (mg /µg), et paracétamol (µg) et l'effluent entrée et sortie par rapport le témoin.

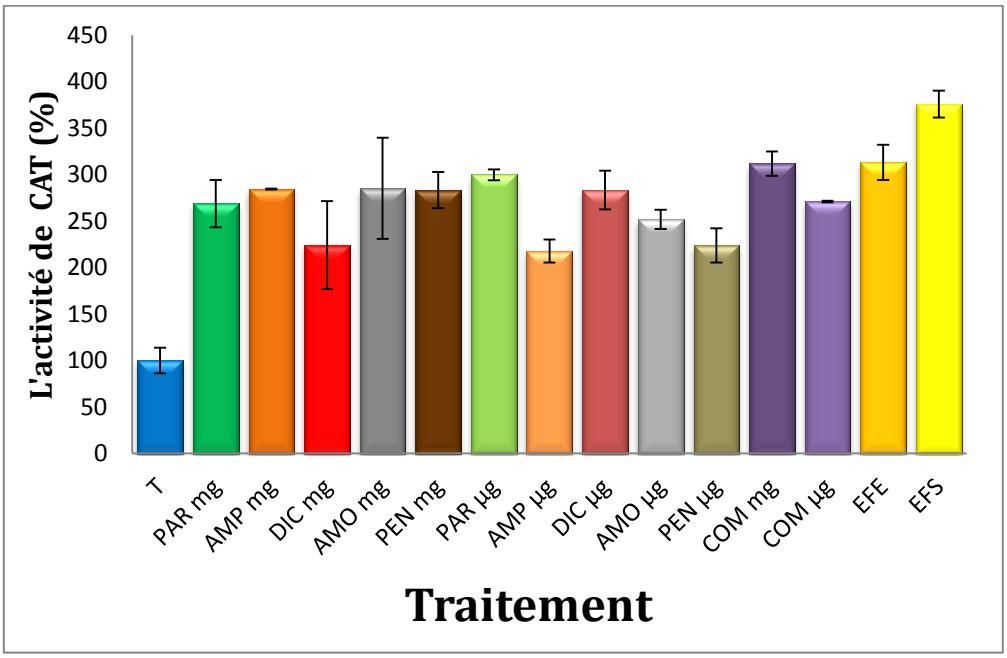


Fig. 3.8. Effet des produits pharmaceutiques, leur combinaison et l'effluent entrée et sortie sur l'activité de CAT.

3.1.4.2 Effet des produits pharmaceutiques sur l'activité d'APX

A la lumière des résultats obtenus dans la figure (3.9), on n a observé une augmentation des produit s pharmaceutiques ampicilline (mg) à pourcentage à 40%, et diclofénec (mg) augmenté à 31%, et paracétamol (µg) à 50%, et amoxilline (µg) et pénicilline (µg) de pourcentage 45%, le combiné (µg) à 10%, par rapport aux témoins. Par contre, les autres (amoxilline, et l effluent entrée, et pénicilline (mg), et le paracétamol (mg) à pourcentage 20% provoquée une diminution de la l'activité d'APX avec des valeurs non significative comparativement aux témoins.

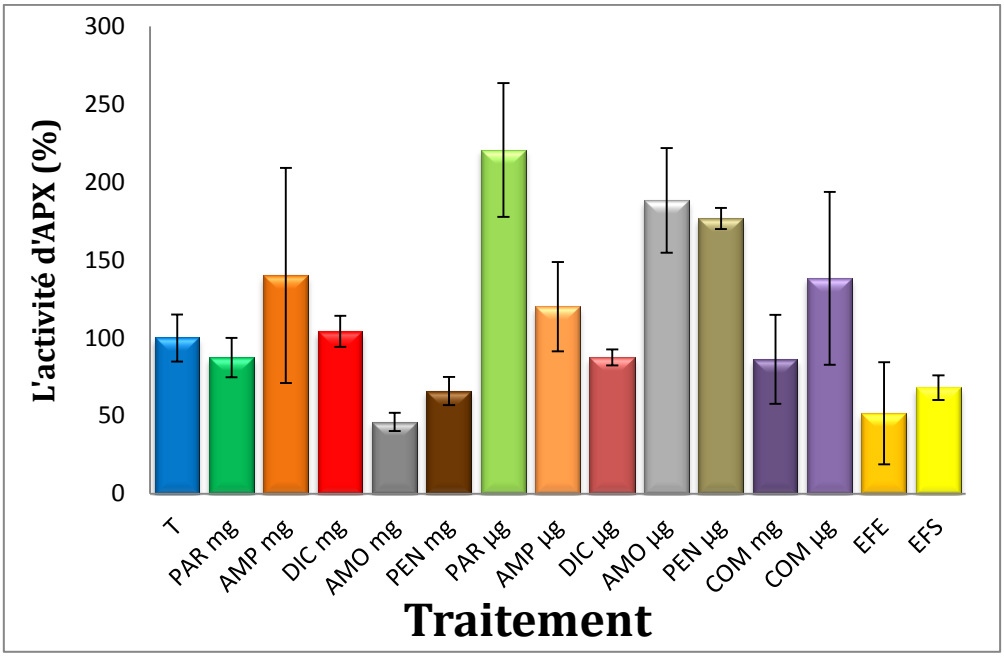


Fig. 3.9. Effet des produits pharmaceutiques, leur combinaison et l'effluent entrée et sortie sur l'activité d'APX.

3.1.4.3 Effet des produits pharmaceutiques sur l'activité de GST

Les résultats de paramètre GST aux cours de traitement sous un stress des substances pharmaceutiques et les effluents entrée et sortie qui reportée dans la figure (3.10). montre que toutes les accession étudiées répondent avec une diminution au stress de valeurs (15%_50%) comparativement aux témoins. donc le paracétamol (mg) diminué à 15%, et pénicilline mg à pourcentage de 33%, amoxilline (mg) à diminue à 27%, et pénicilline (µg) diminué à 50 %, et le paracétamol (µg) à 47%, et diclofénec mg à 16%, diclofénec (µg) à 25%, amoxilline (µg) à 5% , et pénicilline (µg) diminue à 50 % , le combiné (mg) et le combiné µg à 20% et aussi le effluents entrée diminue de pourcentage à 22 %, par contre , nous avons constaté une augmentation significative par ampicilline (µg) et pénicilline (mg).et le effluent sortie par rapport le témoin.

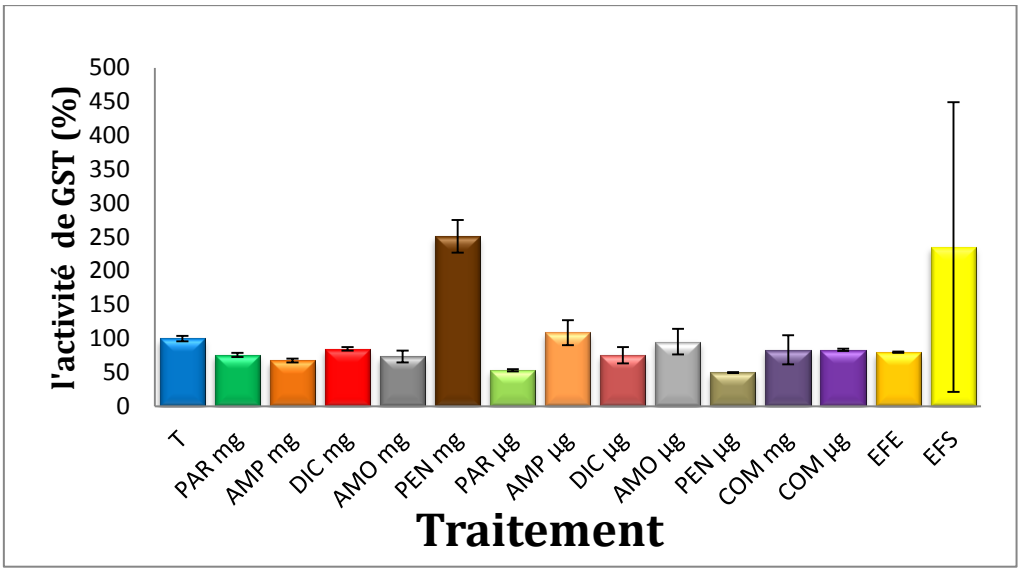


Fig.3.10. Effet des produits pharmaceutiques, leur combinaison et l'effluent entrée et sortie sur l'activité de GST.

3.1.5 Paramètre métabolites antioxydants

3.1.5.1 Effet des produits pharmaceutiques sur la teneur en GSH

L'évolution de la teneur de paramètre de GSH dans la figure (3.11) montre une diminution avec 40 % par rapport aux témoins . par contre, les autre produits comme ampicilline (mg), (mg) et diclofénec (mg et µg) à provoquée une diminution avec 3% comparativement aux témoins, et le paracétamol (µg) à 41 % , et ampicilline à 24%, diclofénec (µg) à 32%, amoxilline (µg) à 40% , et pénicilline (µg) à 33 % , le combiné (mg) à 70% , et aussi les deux effluents sortie et entrée diminues a pourcentage à 60 %, par contre , nous avons constaté une augmentation significative par ampicilline (µg) et pénicilline (µg) et le combiné (µg) par rapport le témoin .

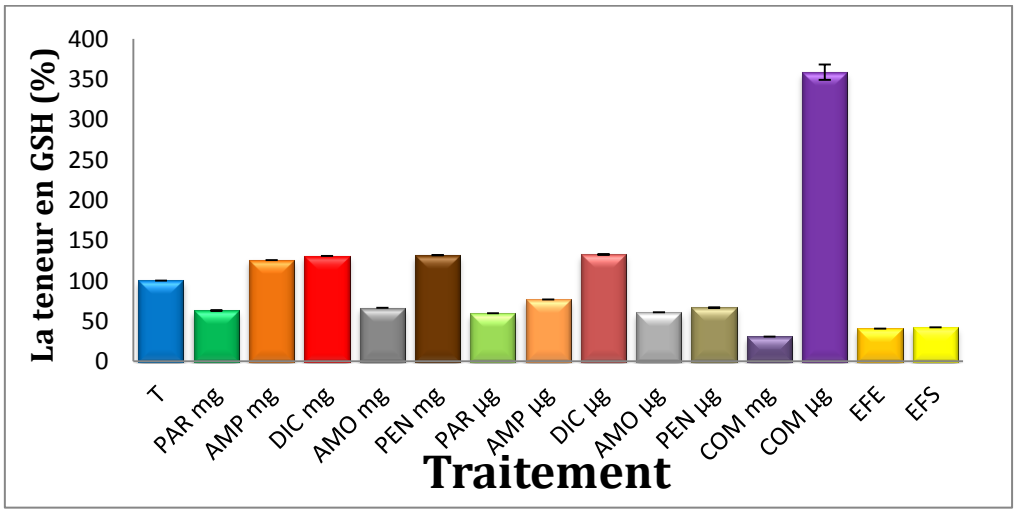


Fig. 3.11. Effet des produits pharmaceutiques, leur combinaison et l'effluent entrée et sortie sur la teneur en GSH.

3.1.5.2 Effet des produits pharmaceutiques sur la teneur en polyphénol totaux

Les résultats relatifs à ce paramètre (figure 3.12) ont montre que le stress a entrainé une diminution de (10 %_47%) comparativement aux témoins comme paracétamol mg à pourcentage 10%, et le combiné(mg) à 22%, et l'effluent sortie diminue à 11%, Par contre, une légère augmentation chez les plantes stressés avec paracétamol (mg et µg) de pourcentage19%, amoxilline (mg et µg) à (6%_15%) et pénicilline (mg) à 45%, ampicilline (µg) à17%, combiné (µg) augmenté à 2%, et l'effluent entrée et sortie augmenté à11%, par rapport aux témoins.

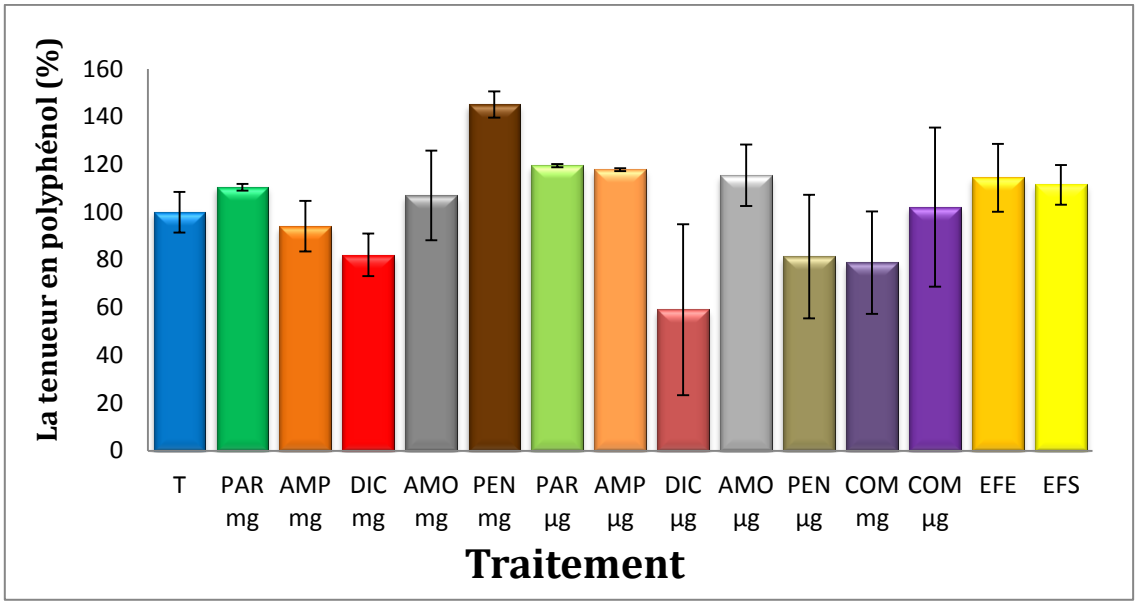


Fig.3.12. Effet des produits pharmaceutiques, leur combinaison et l'effluent entrée et sortie sur la teneur en polyphénol totaux.

3.1.5.3 Effet des produits pharmaceutiques sur la teneur en Flavonoïde

Concernant le contenu Flavonoïde les résultats obtenus dans la figure (3.13) montrent que le stress des produits pharmaceutiques et l'effluent entrée et sortie a provoquée une diminution avec un pourcentage d'intervalle (20%_68%) comparativement aux témoins, donc le paracétamol (mg) diminué à 21 %, ampicilline (mg) à 68%, diclofénec (mg) et amoxilline (mg) amoxilline (mg) diminue à pourcentage de 51%, et pénicilline (mg) diminué à 62% , ampicilline (µg) à 59%, paracétamol (µg) à 69%, diclofinec (µg) à 39%, amoxilline (µg) diminue de pourcentage 98%, et pénicilline (µg) 35%, et le combiné(mg) diminue à 67%, et le combiné (µg) à 7%, et l'effluent entrée diminue à 62%, sauf le l'effluent sortie augmenté à pourcentage 3%, par rapport au témoins .

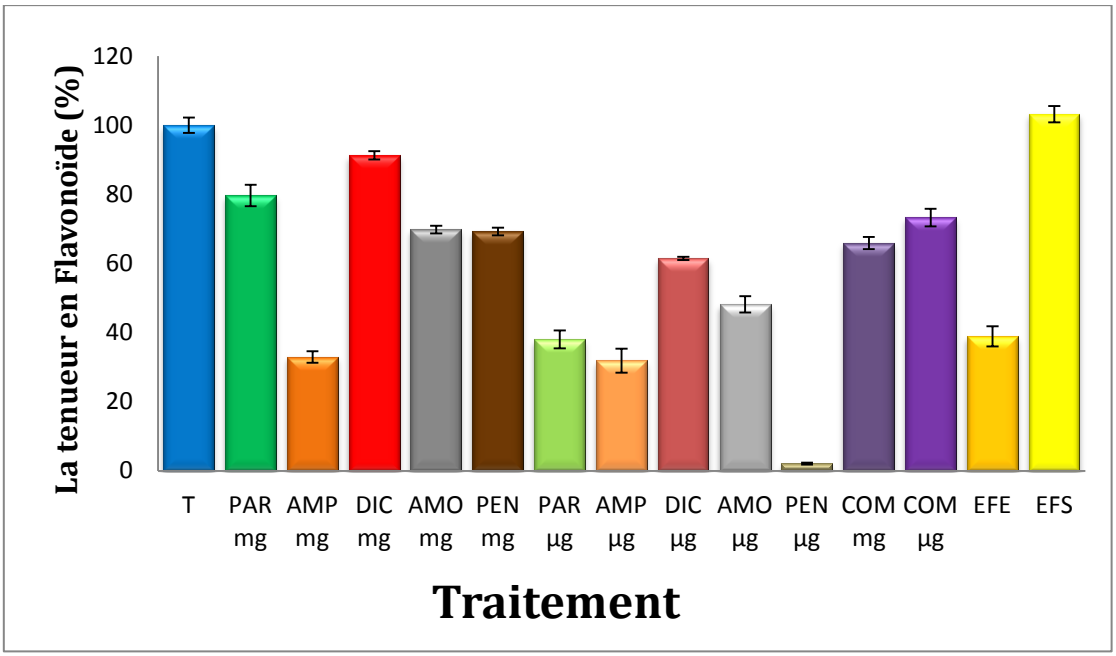


Fig. 3.13. Effet des produits pharmaceutiques, leur combinaison et l'effluent entrée et sortie sur la teneur en Flavonoïde.

DISCUSSION

Les polluants s'accumulent en permanence sous la forme de mélanges complexes dans les systèmes naturels à travers différentes sources anthropiques, notamment les industries, les mines, l'agriculture et les stations d'épuration des eaux usées (Sun, Dudley, Trumble, & Gan, 2018).

L'exposition des organismes aux xénobiotiques peut être quantifiée à l'aide de biomarqueurs, définis comme des changements moléculaires, cellulaires, physiologiques ou comportementaux (Lionetto et al. 2003).

La présente étude met en lumière l'absorption des produits pharmaceutiques largement prescrites dans une culture d'aubergine cultivée, ainsi que les mécanismes de toxicité et de détoxification induits par les plantes en réponse à cette exposition. L'approche expérimentale utilisée a permis d'évaluer les effets des produits pharmaceutiques, appliqués individuellement ou en mélange, tandis que les marqueurs de la physiologie du stress et l'analyse des principaux composants de détoxification des plantes ont été évalués (Sun et al., 2018).

Il convient de noter que le dispositif expérimental utilisé dans cette étude est représentatif du potentiel de réutilisation des eaux usées pour la culture hydroponique de l'aubergine, une approche de plus en plus pratiquée dans le monde.

Tous les produits pharmaceutiques absorbés par les plantes présentaient des effets significativement plus élevées dans les feuilles que dansles racines. De plus, les produits pharmaceutiques appliqués en mélange, simulant la complexité des produits pharmaceutiques trouvés dans un environnement agricole réel, ont affiché un schéma d'effet différent de celui affiché lorsqu'ils sont appliqués individuellement (Christou et al., 2016).

Ces résultats peuvent suggérer qu'une sélectivité par les plantes ou une compétition (voire une inhibition ou une activation) entre les produits pharmaceutiques pour leur absorption peut se produire, puisque les produits pharmaceutiques doivent traverser la membrane sélectivement perméable en suivant une voie symplastique dépendante de l'énergie (Kong et al., 2007 ; Malchi et al., 2014 ; Tanoue et al., 2012). Les résultats sont conformes aux travaux antérieurs soulignant que l'absorption par les plantes peut varier entre un mélange et une exposition à un seul composé (Tanoue et al., 2012).

Il y avait une réduction de la hauteur et de la biomasse des plantes en présence de produits pharmaceutiques qui était probablement corrélée à l'accumulation des produits pharmaceutiques dans les parties de la plante. La toxicité induite par les produits pharmaceutiques a été facilement distinguée d'une mauvaise récolte à mortelle. Le déclin de la croissance et de la biomasse est considéré comme le symptôme le plus évident de la toxicité induite par les produits pharmaceutiques chez les plantes (Hayat et al., 2014).

Les produits pharmaceutiques présents dans l'environnement peuvent avoir un effet à la fois positif et négatif sur les plantes. Un effet positif (hormèse) se produit à de très faibles concentrations dans l'environnement, tandis que des concentrations élevées d'antibiotiques entraînent des effets toxiques. Le premier symptôme visible de la toxicité des antibiotiques pour les plantes est un changement de couleur des organes photosynthétiques. Des changements dans la couleur des feuilles en vert clair ou jaune sous l'influence d'antibiotiques ont été observés chez le pois (Margas et al. 2016), Lemna gibba (Brain et al. 2004) et Lemna minor (Sikorski et al. 2014 ; Baciak et al. 2016).

Des études récentes ont montré que le contact avec les produits pharmaceutiquesétait capable d'induire un ensemble complexe de réponses physiologiques chez les plantes supérieures (Bartrons et Penuelas, 2017 ; Carvalho et al., 2014). Généralement, la teneur en pigments des feuilles, y compris la chlorophylle et les caroténoïdes, fournit des informations précieuses sur l'état physiologique d'une plante. Ici, une nécrose foliaire claire et une réduction de la teneur en chlorophylle et en caroténoïdes ont été observées à des concentrations plus élevées de produit pharmaceutique. Les résultats de cette étude et des études précédentes suggèrent que les produits pharmaceutiques peuvent affecter de manière significative la croissance des plantes.

Avant l'induction des effets morphologiques de la plante entière, le stress peut également entraîner des changements physiologiques, biochimiques et moléculaires au sein de la plante. Cependant, peu d'informations sont disponibles sur les effets toxiques chez les plantes d'un point de vue mécaniste.

Un résultat direct des changements cellulaires induits par le stress est l'accumulation accrue de ROS, imposant par conséquent un stress oxydatif aux biomolécules (Gill et Tuteja, 2010). Bien que des recherches supplémentaires soient nécessaires pour établir le stress oxydatif comme le principal mécanisme de toxicité du produit pharmaceutique pour les plantes

supérieures, il est clair que le stress oxydatif est impliqué dans le développement des symptômes toxiques induits par le produit pharmaceutique (Gill et Tuteja, 2010).

Dans cette étude, des changements dans les niveaux de ROS ont été observés par rapport au témoin après exposition aux produits pharmaceutiques, et la réponse s'est produite à des concentrations bien inférieures à celles des effets morphologiques. La surproduction de ROS peut endommager les cellules et est la conséquence finale du stress oxydatif.

Dans la présente étude, l'augmentation de la production de ROS a coïncidé avec l'augmentation des dommages membranaires et de la peroxydation lipidique dans les plants d'aubergine, indiquant la présence d'un stress oxydatif. Dans une étude antérieure, l'exposition à 50 mg et µg de diclofénac, de paracétamol, de amoxilline ou d'ampicilline n'induisait pas de peroxydation lipidique significative dans les feuilles de luzerne (Christou et al., 2016).

Le peroxyde d'hydrogène est une molécule de signalisation importante dans les cellules végétales qui peut endommager diverses structures cellulaires à des concentrations élevées. D'une part, le H2O2 à des concentrations élevées induit un stress oxydatif, qui endommage les composants cellulaires tels que les protéines, l'ADN ou les lipides (Møller et al., 2007).

D'autre part, H_2O_2 agit également comme un messager secondaire pour une signalisation plus en aval, conduisant à des réponses des plantes et à diverses fonctions de croissance et de développement (Choudhury et al. 2013). Après une perception spécifique, H_2O_2, l'une des principales espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans les plantes, se forme comme réaction initiale dans presque tous les compartiments de la plante au cours de différentes réactions enzymatiques.

Dans la présente étude, la concentration de H_2O_2 dans les feuilles traitées aux produits pharmaceutiques était significativement diminuer par rapport aux plantes témoins.

Les taux comparatifs de peroxydation lipidique dans les feuilles, en tant qu'indicateur des réponses au stress des plantes et des effets des dommages cellulaires dus à leur exposition aux produits pharmaceutiques sélectionnés, ont été évalués en termes de teneur en MDA (Christou et al., 2013).

Fait intéressant, les produits pharmaceutiques appliqués individuellement ont provoqué une accumulation significative de MDA dans les feuilles. Il convient de noter qu'une

augmentation marquée de la teneur en MDA (presque le double par rapport à celle observée lorsque les produits pharmaceutiques étaient appliqués individuellement) a été enregistrée dans les racines du traitement combinées, révélant les effets cumulatifs et additifs des cocktails produits pharmaceutiques biologiquement pertinents vers toxicité des plantes.

Les plantes ont développé un système compliqué de piégeage des ROS pour éviter que les composants cellulaires sensibles ne soient endommagés par les espèces réactives de l'oxygène. Les antioxydants enzymatiques, comme la catalase (CAT), la peroxydase (POD), la superoxyde dismutase (SOD), les glutathion peroxydases (GPX) et les ascorbate peroxydases (APX), et les antioxydants non enzymatiques, comme le glutathion, l'ascorbate, les tocophérols et les composés phénoliques, sont importants antioxydants qui jouent un rôle clé dans l'élimination du superoxyde (O2) et (H_2O_2). La capacité antioxydante des plantes est la somme des activités de tous les systèmes antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (Habig, Pabst, & Jakoby, 1974).

Parmi ces enzymes antioxydants est la catalase (CAT) qui jouent un rôle important dans la transformation et l'élimination du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en (H_2O). D'après nos résultats l'activité de cette enzyme a été affectée par les produits pharmaceutiques. Les doses ont diminué cette activité chez les feuilles d'aubergine.

Des études analogues ont montré que le traitement des plantes par les solutions provoquait une réduction de l'activité de cette enzyme chez la tomate (Doudechet al., 2008). Cette modification de l'activité de l'enzyme est dépendante de la sévérité du stress des produits pharmaceutiques, de la variété et du stade de développement (Ashraf et al., 2012).

L'activité ascorbate peroxydase est exprimée par une diminution chez les feuilles d'aubergine, Plusieurs auteurs ont trouvé que l'activité de cette enzyme est stimulée sous les conditions de stress biotique ou abiotique.

Cette élévation traduit leur rôle important dans la détoxification contre les ROS, et la tolérance de ces espèces vis-à-vis des différents types des contraintes environnementales. Des études rapportent que la diminution de cette activité est dépendante de la sensibilité des espèces, et les stades de développement des plantes et les différents types d'agents contaminant l'environnement (Doudech et al., 2008 ; Ashraf et al., 2012).

Les glutathionS-transférases (GST) constituent des composants importants de la phase II du système de détoxification des plantes (Schröder et al., 2007), car elles catalysent l'addition

nucléophile du thiol du glutathion réduit aux centres électrophoniques des composés organiques. Les conjugués de glutathion sont plus hydrophiles, facilitant ainsi leur exclusion.

La présence d'un grand nombre d'isoenzymes de GST, avec une sélectivité de substrat différentielle qui se chevauche, offre aux plantes la possibilité de détoxifier une large gamme de xénobiotiques réactifs (Abhilash et al., 2009 ; Vos et Van Bladeren, 1990). Dans cette étude, l'activité enzymatique de GST a été dosé dans les feuilles des plants d'aubergine exposés aux produits pharmaceutiques étudiés. Les GST sont accumulées de manière significative dans les feuilles des plantes exposées à tous les traitements, Les résultats sont conformes aux résultats antérieurs faisant état d'une activité enzymatique accrue de la GST dans les pousses des plantes *Typha latifolia* (Bartha et al., 2014).

Le glutathion est l'un des principaux antioxydants solubles de faible poids moléculaire, ainsi que le principal thiol non protéique des cellules végétales (Noctor et Foyer, 1998), contribuant au maintien de l'homéostasie et de la signalisation redox cellulaires. De plus, la conjugaison avec des xénobiotiques par le GSH peut être une voie commune pour le métabolisme végétal de divers produits chimiques fabriqués par l'homme (Neufeind et al., 1996).

Dans cette étude, la teneur en glutathion a augmenté à de faibles doses de produits pharmaceutiques, tandis qu'elle a diminué à des niveaux normaux au niveau de traitement produits pharmaceutiques le plus élevé.

La déplétion observée en GSH cellulaire pourrait contribuer au stress oxydatif induit par les produits pharmaceutiques et à la détoxification des xénobiotiques. Pendant ce temps, les différentes réponses du GSH dans les feuilles ont indiqué que les pourraient être le site principal pour exprimer la toxicité du produit pharmaceutique et induire la détoxification du produit pharmaceutique (Gill et Tuteja, 2010).

Il est donc impératif de poursuivre les recherches pour explorer les mécanismes et les voies de phyto-transformation des produits pharmaceutiques par les GST après absorption par les plantes.

Les composés phénoliques et notamment les flavonoïdes sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydants ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène. Ces composés participent très efficacement à la tolérance des plantes aux différents stress (Macheix, Fleuriet, & Jay-Allemand, 2005).

Les principaux résultats obtenus ont montré que : Les taux de polyphénols étaient élevés au niveau des feuilles de la *solanum canescens* sous stress par rapport à la plante témoin. Ces résultats sont cohérents avec ceux de (Sgherri, Quartacci, & Navari-Izzo, 2007) ou observent une augmentation des polyphénols sous l'effet du stress métallique chez *Vicia faba* L.

Les composés phénoliques interviennent dans de nombreux mécanismes pour permettre à la plante de s'adapter à son milieu (Macheix et al., 2005). Les composés phénoliques sont capables d'empêcher la peroxydation des lipides membranaires et de capter l'hydroxyle, le superoxyde et le peroxyle (Andersson, Hallberg, & Högberg, 1996). L'accumulation importante de polyphénols dans la plante stressée était une réponse au stress pharmaceutique contrairement à la plante non stressée ou le taux de polyphénols était faible, car selon (Macheix et al., 2005), l'accumulation de polyphénols pourrait jouer un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante.

Les polyphénols sont capables d'agir comme des antioxydants capables de piéger les radicaux libres, entraînant la suppression de la formation d'ERO par inhibition de certaines enzymes ou par chélation des ions métalliques, impliqués dans leur production, et la protection des systèmes de défense antioxydants de l'organisme (Boudiaf, 2006).

La teneur en flavonoïdes des feuilles de *Solanum* canescens était diminuer avec les concentrations des produits pharmaceutiques, cette diminution du taux de flavonoïdes a été observée au niveau des parties foliaires, cela pourrait s'expliquer par la résistance des plantes à ces concentrations. La réponse des plantes aux stress chimiques varie d'une concentration à l'autre (Gill et Tuteja, 2010).

Les résultats obtenus sur l'accumulation significative du flavonoïde dans la plante stressée ont été corroborés avec ceux de (Walton & Brown, 1999) qui lient les quantités accumulées de flavonoïdes à la tolérance au stress. L'accumulation de composés phénoliques, en particulier de flavonoïdes, a été démontrée chez de nombreuses espèces et dans différentes situations de stress biotique (War, Paulraj, War, & Ignacimuthu, 2012), également en conditions abiotiques (Korkmaz, Uzunlu, & Demirkiran, 2007).

Partie 2

Résultats

2.1 Effet de concentration de paracétamol sur la concentration des diatomées :

Les résultats obtenus de dénombrement des diatomées par la cellule de Mallassez sont présentés dans le tableau ci-dessous,

Tableau. 3.2. Dénombrement des diatomées par cellule de Mallassez.

	n : nombre de cellule comptée							
à égale à 5	1	2	3	4	5	Fd	N	D
Expérience C_0 0g/l (contrôlé)	00	00	00	00	00	20	$5\ 10^7$	0
Expérience C mg/L	5	6	2	2	6	20	$2\ 10^3$	1000
Expérience C µg/L	7	6	2	6	6	20	$2\ 10^5$	100
Expérience C ng/L	8	7	5	4	6	20	$3\ 10^7$	0

N densité de population ; D réduction décimale de population

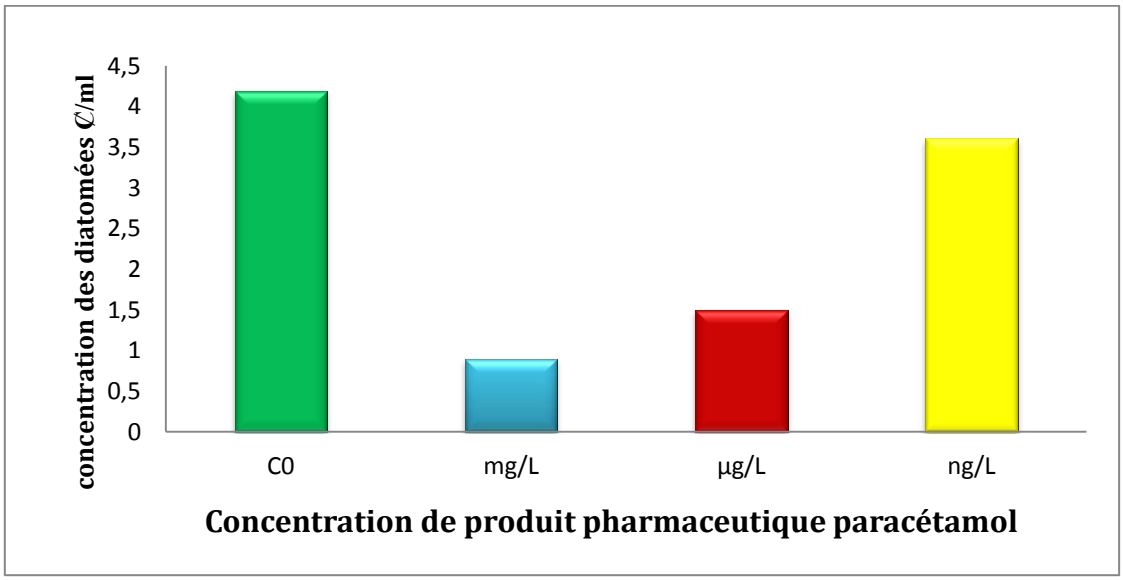


Fig.3.14. Effet de concentration de paracétamol sur la concentration des diatomées.

Les résultats obtenus montrent l'effet de produit pharmaceutique (paracétamol) sur l'espèce de diatomées qui est entrainé une diminution dans les trois concentrations mg/L, µg/L et ng/L chez l'espèce stressées par rapport aux concentrations contrôlés C_0 (témoins), cette diminution est plus importante chez les diatomées soumises aux concentrations mg/L de paracétamol avec de valeur 3,29 cellule/ml. En effet, une moyenne diminution dans la concentration µg/L avec de valeurs 2,69 cellule/ml et on n a observé une légère diminution dans la concentration de ng/L avec 0,58 cellule/ml comparativement aux concentrations contrôlés.

2.2 Effet de concentration de paracétamol sur la diversité des diatomées :

L'étude de morphologie cellulaire des diatomées sans et avec le traitement de produit pharmaceutique paracétamol qui sont présente en les photos ci-dessous ;

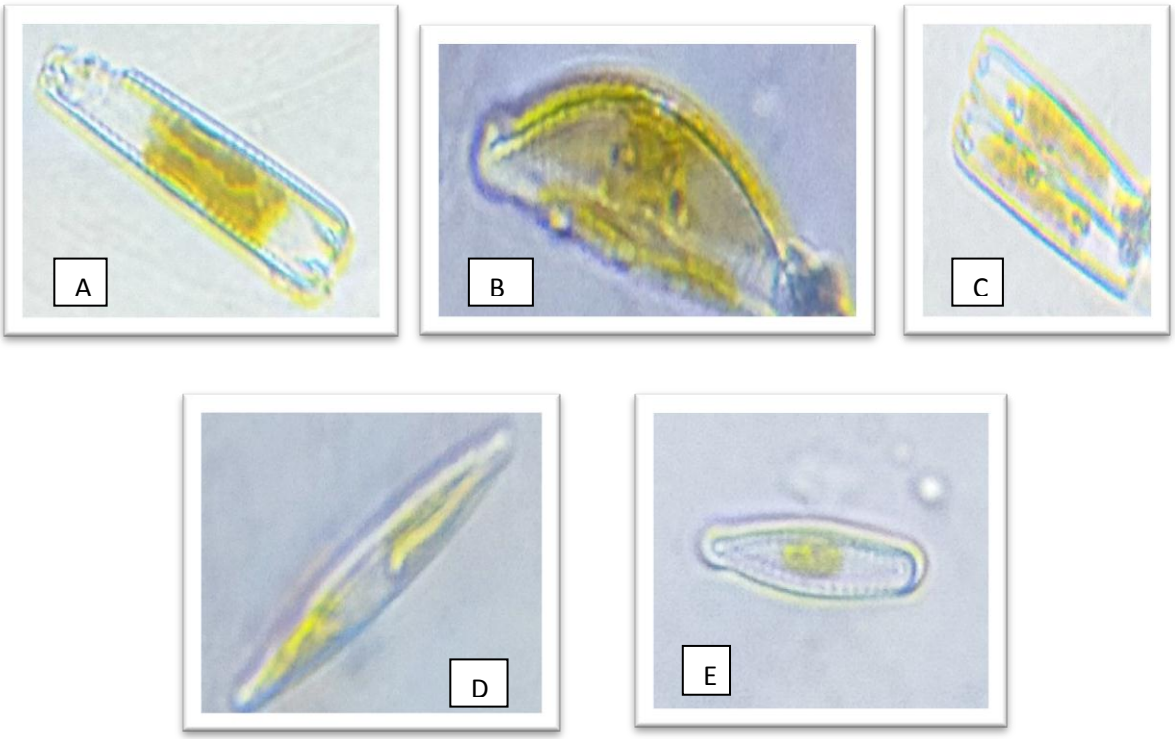


Fig. 3.15. Morphologie des diatomées sans traitement. A,*Tabellaria*, B,*Mastogloie*, C,*Araphides*, D, *Naviculacees*, E,*Anomoeoneis*.

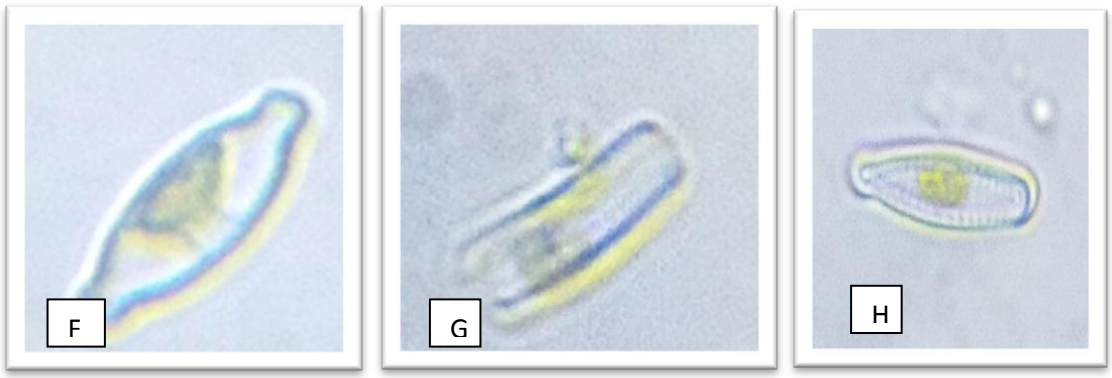


Fig. 3.16. Morphologie des diatomées avec le traitement. F,*Mastogloia*, G,*Tabellaria* H,*Anomoeoneis*.

La diversité diatomique diminuer aux cours de traitement de produits pharmaceutique pour les trois concentrations mg/l, µg/l et ng/l, comparée à la diversité observée pour la concentration contrôlés C_0 (témoin). La diversité diatomique semble donc être affectée par le toxique étudié.

2.3 Effet de concentration Paracétamol sur la morphologie de la population des diatomées

Nous avons comparés les formes avec l'impact de produit pharmaceutique paracétamol sur la communauté en fonction de traitement qui est présente en les photos ci-dessous,

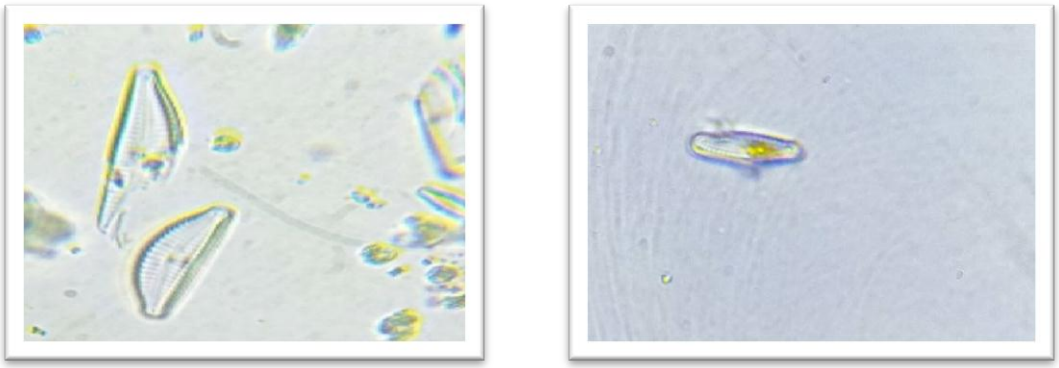


Fig. 3.17. Photo montrant une forme normale de diatomées (gauche) et une forme anormale suite au traitement à paracétamol (droite).

Sur l'ensemble de comptages les individus observés, nous avons dénombré des malformations des contours de la valve en fonction de traitement Fig.3.17, avec un nombre de déformations pour les échantillons traités par paracétamol.

Discussion

L'impact de produits pharmaceutique (paracétamol) avec les trois concentrations mg/l, µg/l et ng/l sur les espèces des diatomées a permis d'obtenir certain résultats intéressants. Au niveau de la biomasse, une diminution été mise en évidence après 7 jours d'exposition de cultures à 50 mg/l, 50 µg/l et 50 ng/l de paracétamol, observé par le test éco-toxicologie.

D'autre études ont montré que d'autre produits pharmaceutiques inhibaient la croissance après 6 jours d'exposition à 30 µg/l (Debenest et al., 2009). Ces résultats contrastent également avec d'autres études qui montrent une augmentation de la croissance à de faibles concentrations, ce qui traduit un mécanisme d'adaptation qui permet de maintenir une activité photosynthétique suffisante et ainsi de convertir l'énergie lumineuse en énergie chimique afin d'éviter un stress oxydatif (Seguin, Druart, & Le Cohu, 2001).

Du point de vue de la composition des espèces, cette étude confirme la résistance d'espèces comme *N. palea*, *G. parvulum*, *E. minima* aux produits pharmaceutiques. Ces mêmes espèces semblent être également résistantes aux métaux lourds (Morin, Coste, & Hamilton, 2008). Au sein des communautés benthiques de diatomées, les espèces adaptées aux milieux eutrophestendent à être plus tolérantes aux herbicides que d'autres (Debenest, Silvestre, Coste, & Pinelli, 2010).

Enfin, la diversité est significativement diminuer pour le substrat « lame seule » comparé à la concentration contrôlée, alors que la biomasse était plus faible. Nous pouvons avancer l'hypothèse de compétition et de dynamique de colonisation du substrat. En effet, la concentration contrôlée (témoin) étant déjà colonisé au début de l'expérience, certaines espèces installées depuis un temps occupent la niche écologique d'une autre empêchant sa colonisation. Tandis que les « lames seule » étant vierges au départ, les niches écologiques sont libres. Ce qui définira la communauté et la diversité c'est la compétitivité et la résistance d'une espèce par rapport à une autre.

Au regard des résultats du traitement à paracétamol, nous constatons que la diversité est faible après le traitement qu'avant, ce résultat peut être expliqué, à faible concentration, nous pouvons voire le développement de certaines espèces tolérantes conjointement avec la présence d'espèces sensibles qui n'ont pas encore disparu (Debenest et al., 2010).

Le produits pharmaceutique (paracétamol) avec les trois concentrations au moyen de test éco-toxicologiques provoquait de déformation de type 1. Cette espèce pourrait être utilisée comme

un bioindicateur de pollution a ce composé. Le nombre de déformation régresse sans pour autant devenir significativement différent sur cette courte durée de 7 jours. Nous nous trouvons donc dans une phase ou la résilience des efforts de l'altération est encore forte. D'autre étude montré le même phénomène de rétablissement progressif de paramètres tels que le poids sec, la concentration en chlorophylle *a*,…. Pour l'ensemble de la communauté, après le transfert d'un biofilm naturel issu de rivières polluées vers l'amont des rivières respectives (Dorigo, Berard, Rimet, Bouchez, & Montuelle, 2010; Morin, Pesce, Tlili, Coste, & Montuelle, 2010).

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Avec le développement rapide de l'industrie moderne, la pollution de l'environnement est devenue de plus en plus dangereuse en raison des déchets industriels, en particulier de l'industrie pharmaceutique, qui nuisent à l'environnement et à la santé humaine.

Dans travaille réalisé au cours de cette mémoire s'inscrit dans le cadre générale l'écophysiologie, cet essai à été réalisé sur une seul variété d'aubergine (*salamum melogena*), sous mises a deux doses 50mg et50µg, leur combinaison (mg) et(µg), l'effluent entrée et sortie et un traitement n'ayant pas reçu de médicament constitue le témoin ,l'étude vise a élucider l' effet du stress des médicament (paracétamol, Diclofinec, amoxilline, pénicilline , ampicilline) sur le développent de la variété d'aubergine, en vue d identifie leur niveau de tolérance au stress.

Les effets néfastes de la toxicité du produits pharmaceutiques et leur combinaison en s'accumulant dans les plantes et en attaque directement la croissance et le développement des plantes d'aubergine. Les résultats ont révélé que les plantes utilisaient leur arsenal antioxydant afin de surmonter et de récupérer des dommages oxydatifs subis dans les feuilles en raison de l'exposition aux produits pharmaceutiques. Les effets additifs des cocktails produits pharmaceutiques renforcent la nécessité d'expériences de conductance sur le terrain utilisant des flux d'eaux usées traitées. Les résultats actuels fournissent de nouvelles preuves physiologique et biochimiques mettant en évidence les produits pharmaceutiques étudiés en tant que facteur de stress abiotique émergent, et soulignent la nécessité de poursuivre les recherches sur les flux d'eaux usées dans les environnements agricoles naturels.

Au cours de ce travail, nous avons démontré que malgré la présence de la oxydation enzymatique, les plante n'a pas pu résistent.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Abdel-Aal, E.-S. M., Young, J. C., & Rabalski, I. (2006). Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple, and red cereal grains. *Journal of agricultural and food chemistry, 54*(13), 4696-4704.
2. Aebi, H. (1984). [13] Catalase in vitro *Methods in enzymology* (Vol. 105, pp. 121-126): Elsevier.
3. Afonso-Olivares, C., Torres-Padrón, M., Sosa-Ferrera, Z., & Santana-Rodríguez, J. J. (2013). Assessment of the presence of pharmaceutical compounds in seawater samples from coastal area of Gran Canaria Island (Spain). *Antibiotics, 2*(2), 274-287.
4. Albero, B., Tadeo, J. L., Escario, M., Miguel, E., & Pérez, R. A. (2018). Persistence and availability of veterinary antibiotics in soil and soil-manure systems. *Science of the total environment, 643*, 1562-1570.
5. Al-Rifai, J. H., Gabelish, C. L., & Schäfer, A. I. (2007). Occurrence of pharmaceutically active and non-steroidal estrogenic compounds in three different wastewater recycling schemes in Australia. *Chemosphere, 69*(5), 803-815.
6. Anderson, M. E. (1985). [70] Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples *Methods in enzymology* (Vol. 113, pp. 548-555): Elsevier.
7. Andersson, C.-M., Hallberg, A., & Högberg, T. (1996). Advances in the development of pharmaceutical antioxidants *Advances in Drug Research* (Vol. 28, pp. 65-180): Elsevier.
8. Andersson, C.-M., Hallberg, A., & Högberg, T. (1996). Advances in the development of pharmaceutical antioxidants *Advances in Drug Research* (Vol. 28, pp. 65-180): Elsevier.
9. Ashraf, M. A., Ashraf, M., & Shahbaz, M. (2012). Growth stage-based modulation in antioxidant defense system and proline accumulation in two hexaploid wheat (Triticum aestivum L.) cultivars differing in salinity tolerance. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants, 207*(5), 388-397.
10. Bartosz, G. (2003). Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology, 9*(1), 5-21.
11. Bartrons, M., & Peñuelas, J. (2017). Pharmaceuticals and personal-care products in plants. *Trends in plant science, 22*(3), 194-203.
12. Benchaabane, H., & Chadouli, S. (2019). Etude paramétrique et cinétique de la dégradation et de la minéralisation de l'amoxicilline par oxydation anodique. Application sur un rejet pharmaceutique réel (SAIDAL Medéa). *Mémoire Master, Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana*.
13. Benjira, M. A. (2019). *Classification automatique des diatomées.* Université du Québec à Trois-Rivières.
14. Boreen, A. L., Arnold, W. A., & McNeill, K. (2003). Photodegradation of pharmaceuticals in the aquatic environment: a review. *Aquatic Sciences, 65*(4), 320-341.
15. Boudiaf, K. (2006). Etude des effets anti-xanthine oxydoréductase et anti-radicalaires des extraits des graines de Nigella sativa. *Mémoire de magister en biologie, Université de Ferhat Abbas Sétif*.
16. Boudiaf, K. (2006). Etude des effets anti-xanthine oxydoréductase et anti-radicalaires des extraits des graines de Nigella sativa. *Mémoire de magister en biologie, Université de Ferhat Abbas Sétif*.
17. Bound, J., & Voulvoulis, N. (2004). Pharmaceuticals in the aquatic environment—a comparison of risk assessment strategies. *Chemosphere, 56*(11), 1143-1155.
18. Bouvier, M., Durand, F., & Guillet, R. (2010). Médicament et environnement: La régulation du médicament vis-à-vis du risque environnemental. *Rapport du conseil général de l'environnement et du développement durable*.
19. Bradley, P. M., Barber, L. B., Kolpin, D. W., McMahon, P. B., & Chapelle, F. H. (2007). Biotransformation of caffeine, cotinine, and nicotine in stream sediments: Implications for use as wastewater indicators. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal, 26*(6), 1116-1121.

20. Buser, H.-R., Poiger, T., & Müller, M. D. (1999). Occurrence and environmental behavior of the chiral pharmaceutical drug ibuprofen in surface waters and in wastewater. *Environmental science & technology*, *33*(15), 2529-2535.
21. Carrara, C., Ptacek, C. J., Robertson, W. D., Blowes, D. W., Moncur, M. C., Sverko, E., & Backus, S. (2008). Fate of pharmaceutical and trace organic compounds in three septic system plumes, Ontario, Canada. *Environmental science & technology*, *42*(8), 2805-2811.
22. Carvalho, P. N., Basto, M., Almeida, C. M. R., & Brix, H. (2014). A review of plant–pharmaceutical interactions: from uptake and effects in crop plants to phytoremediation in constructed wetlands. *Environmental Science and Pollution Research*, *21*(20), 11729-11763.
23. Choudhury, F. K., Rivero, R. M., Blumwald, E., & Mittler, R. (2017). Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. *The Plant Journal*, *90*(5), 856-867.
24. Christou, A., Antoniou, C., Christodoulou, C., Hapeshi, E., Stavrou, I., Michael, C., . . . Fotopoulos, V. (2016). Stress-related phenomena and detoxification mechanisms induced by common pharmaceuticals in alfalfa (Medicago sativa L.) plants. *Science of the total environment*, *557*, 652-664.
25. Christou, A., Antoniou, C., Christodoulou, C., Hapeshi, E., Stavrou, I., Michael, C., . . . Fotopoulos, V. (2016). Stress-related phenomena and detoxification mechanisms induced by common pharmaceuticals in alfalfa (Medicago sativa L.) plants. *Science of the total environment*, *557*, 652-664.
26. Collette-Bregand, M., James, A., Munshy, C., & Bocquene, G. (2009). Contamination des milieux aquatiques par les substances pharmaceutiques et cosmétiques-Etat des lieux et perspectives.
27. Conley, J. M., Symes, S. J., Kindelberger, S. A., & Richards, S. M. (2008). Rapid liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the determination of a broad mixture of pharmaceuticals in surface water. *Journal of Chromatography A*, *1185*(2), 206-215.
28. de García, S. O., García-Encina, P. A., & Irusta-Mata, R. (2017). The potential ecotoxicological impact of pharmaceutical and personal care products on humans and freshwater, based on USEtox™ characterization factors. A Spanish case study of toxicity impact scores. *Science of the total environment*, *609*, 429-445.
29. Debenest, T., Pinelli, E., Coste, M., Silvestre, J., Mazzella, N., Madigou, C., & Delmas, F. (2009). Sensitivity of freshwater periphytic diatoms to agricultural herbicides. *Aquatic Toxicology*, *93*(1), 11-17.
30. Debenest, T., Silvestre, J., Coste, M., & Pinelli, E. (2010). Effects of pesticides on freshwater diatoms. *Reviews of environmental contamination and toxicology*, 87-103.
31. Deng, Y. Y., Blok, K., & Van Der Leun, K. (2012). Transition to a fully sustainable global energy system. *Energy Strategy Reviews*, *1*(2), 109-121.
32. Desbrow, C., Routledge, E., Brighty, G., Sumpter, J., & Waldock, M. (1998). Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 1. Chemical fractionation and in vitro biological screening. *Environmental science & technology*, *32*(11), 1549-1558.
33. Djedid, K., Rezak, N., Bettahar, N., & Bahmani, A. Utilisation de matériaux macroporeux dans le traitement des eaux polluées. *Revue des Energies Renouvelables ICESD*, *11*, 12.
34. Djemai, C., Boukrouk, A., & Rouibah, K. E. (2020). *Contribution à l'étude de l'élimination de polluants émergents de type pharmaceutiques par adsorption.* Université de Jijel.
35. Dorigo, U., Berard, A., Rimet, F., Bouchez, A., & Montuelle, B. (2010). In situ assessment of periphyton recovery in a river contaminated by pesticides. *Aquatic Toxicology*, *98*(4), 396-406.
36. Doudech, N., Mhamdi, M., Bettaieb, T., & Denden, M. (2008). Tolérance à la salinité d'une graminée à gazon: Paspalum notatum Flüggé. *Tropicultura*, *26*(3), 182-185.
37. Douglas, M. S., Smol, J. P., & Blake Jr, W. (1994). Marked post-18th century environmental change in high-arctic ecosystems. *science*, *266*(5184), 416-419.
38. Ericson, H., Thorsén, G., & Kumblad, L. (2010). Physiological effects of diclofenac, ibuprofen and propranolol on Baltic Sea blue mussels. *Aquatic Toxicology*, *99*(2), 223-231.
39. Fairgrieve, W. T., Masada, C. L., Peterson, M. E., McAuley, W. C., McDowell, G. C., & Strom, M. S. (2006). Concentrations of erythromycin and azithromycin in mature Chinook salmon Oncorhynchus tshawytscha after intraperitoneal injection, and in their progeny. *Diseases of aquatic organisms*, *68*(3), 227-234.

40. Fernández, C., Carbonell, G., & Babín, M. (2013). Effects of individual and a mixture of pharmaceuticals and personal-care products on cytotoxicity, EROD activity and ROS production in a rainbow trout gonadal cell line (RTG-2). *Journal of Applied Toxicology, 33*(11), 1203-1212.
41. Finlay, B. J. (2002). Global dispersal of free-living microbial eukaryote species. *science, 296*(5570), 1061-1063.
42. Ghania, C., Amira, B., & Romeissa, T. (2015). ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE QUELQUES VARIETES DE BLE TENDRE (TRITICUM AESTIVUM) ET D'ORGE (HORDEUM VULGARE) ET LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES. *European Scientific Journal, 11*(30).
43. Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry, 48*(12), 909-930.
44. Gilroy, È. (2012). AM; Balakrishnan, VK; Solomon, KR; Sverko, E.; Sibley, PK Chemosphere Behaviour of pharmaceuticals in spiked lake sediments—Effects and interactions with benthic invertebrates. *Chemosphere, 86*, 578-584.
45. Guerra, P., Kim, M., Shah, A., Alaee, M., & Smyth, S. (2014). Occurrence and fate of antibiotic, analgesic/anti-inflammatory, and antifungal compounds in five wastewater treatment processes. *Science of the total environment, 473*, 235-243.
46. Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of biological Chemistry, 249*(22), 7130-7139.
47. Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of biological Chemistry, 249*(22), 7130-7139.
48. Halling-Sørensen, B., Nielsen, S. N., Lanzky, P., Ingerslev, F., Lützhøft, H. H., & Jørgensen, S. (1998). Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment-A review. *Chemosphere, 36*(2), 357-393.
49. Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of biochemistry and biophysics, 125*(1), 189-198.
50. Hernando, M. D., Mezcua, M., Fernández-Alba, A. R., & Barceló, D. (2006). Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. *Talanta, 69*(2), 334-342.
51. Hignite, C., & Azarnoff, D. L. (1977). Drugs and drug metabolites as environmental contaminants: chlorophenoxyisobutyrate and salicylic acid in sewage water effluent. *Life Sciences, 20*(2), 337-341.
52. Hu, Z.-Z., Narayanaswamy, M., Ravikumar, K., Vijay-Shanker, K., & Wu, C. H. (2005). Literature mining and database annotation of protein phosphorylation using a rule-based system. *Bioinformatics, 21*(11), 2759-2765.
53. Isidori, M., Bellotta, M., Cangiano, M., & Parrella, A. (2009). Estrogenic activity of pharmaceuticals in the aquatic environment. *Environment international, 35*(5), 826-829.
54. Isidori, M., Lavorgna, M., Nardelli, A., Pascarella, L., & Parrella, A. (2005). Toxic and genotoxic evaluation of six antibiotics on non-target organisms. *Science of the Total Environment, 346*(1-3), 87-98.
55. Jones, O., Voulvoulis, N., & Lester, J. (2001). Human pharmaceuticals in the aquatic environment a review. *Environmental technology, 22*(12), 1383-1394.
56. Jonnala, R. S., Irmak, S., MacRitchie, F., & Bean, S. R. (2010). Phenolics in the bran of waxy wheat and triticale lines. *Journal of Cereal Science, 52*(3), 509-515.
57. Kemper, N. (2008). Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. *Ecological indicators, 8*(1), 1-13.
58. Klavarioti, M., Mantzavinos, D., & Kassinos, D. (2009). Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation processes. *Environment international, 35*(2), 402-417.
59. Kolpin, D. W., Furlong, E. T., Meyer, M. T., Thurman, E. M., Zaugg, S. D., Barber, L. B., & Buxton, H. T. (2002). Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999− 2000: A national reconnaissance. *Environmental science & technology, 36*(6), 1202-1211.

60. Korkmaz, A., Uzunlu, M., & Demirkiran, A. R. (2007). Treatment with acetyl salicylic acid protects muskmelon seedlings against drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum, 29*(6), 503-508.
61. Korkmaz, A., Uzunlu, M., & Demirkiran, A. R. (2007). Treatment with acetyl salicylic acid protects muskmelon seedlings against drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum, 29*(6), 503-508.
62. Kümmerer, K. (2010). Pharmaceuticals in the environment. *Annual review of environment and resources, 35*(1), 57-75.
63. Kümmerer, K., & Schuster, A. (2008). Substance flows associated with medical care–significance of different sources *Pharmaceuticals in the Environment* (pp. 43-59): Springer.
64. Lam, M. W., & Mabury, S. A. (2005). Photodegradation of the pharmaceuticals atorvastatin, carbamazepine, levofloxacin, and sulfamethoxazole in natural waters. *Aquatic Sciences, 67*(2), 177-188.
65. Lebeau, A. (2010). *Résistance de la tomate, l'aubergine et le piment à Ralstonia solanacearum: interactions entre les géniteurs de résistance et la diversité bactérienne, caractérisation et cartographie des facteurs génétiques impliqués chez l'aubergine.* Université de la Réunion.
66. Li, W. C. (2014). Occurrence, sources, and fate of pharmaceuticals in aquatic environment and soil. *Environmental pollution, 187*, 193-201.
67. Lichtenthaler, H. K., & Wellburn, A. R. (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents: Portland Press Ltd.
68. Lin, A. Y. C., & Reinhard, M. (2005). Photodegradation of common environmental pharmaceuticals and estrogens in river water. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal, 24*(6), 1303-1309.
69. Macheix, J.-J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*: PPUR presses polytechniques.
70. Macheix, J.-J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*: PPUR presses polytechniques.
71. Madikizela, L. M., Ncube, S., Tutu, H., Richards, H., Newman, B., Ndungu, K., & Chimuka, L. (2020). Pharmaceuticals and their metabolites in the marine environment: sources, analytical methods and occurrence. *Trends in Environmental Analytical Chemistry, 28*, e00104.
72. Magnér, J., Alsberg, T., & Broman, D. (2009). Bag-SPE—a convenient extraction method for screening of pharmaceutical residues in influent and effluent water from sewage treatment plants. *Analytical and bioanalytical chemistry, 395*(5), 1481-1489.
73. Maroga Mboula, V. (2012). *Devenir de polluants émergents lors d'un traitement photochimique ou photocatylitique sous irradiation solaire.* Nantes, Ecole des Mines.
74. Maroga Mboula, V. (2012). *Devenir de polluants émergents lors d'un traitement photochimique ou photocatylitique sous irradiation solaire.* Nantes, Ecole des Mines.
75. Maskaoui, K., Hibberd, A., & Zhou, J. L. (2007). Assessment of the interaction between aquatic colloids and pharmaceuticals facilitated by cross-flow ultrafiltration. *Environmental science & technology, 41*(23), 8038-8043.
76. Møller, I. M., Jensen, P. E., & Hansson, A. (2007). Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annu. Rev. Plant Biol., 58*, 459-481.
77. Monteiro, S. C., & Boxall, A. (2010). Occurrence and fate of human pharmaceuticals in the environment. *Reviews of environmental contamination and toxicology*, 53-154.
78. Morin, S., Coste, M., & Hamilton, P. B. (2008). Scanning electron microscopy observations of deformities in small pennate diatoms exposed to high cadmium concentrations 1. *Journal of Phycology, 44*(6), 1512-1518.
79. Morin, S., Pesce, S., Tlili, A., Coste, M., & Montuelle, B. (2010). Recovery potential of periphytic communities in a river impacted by a vineyard watershed. *Ecological Indicators, 10*(2), 419-426.
80. Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and cell physiology, 22*(5), 867-880.

81. Nandi, B. K., Goswami, A., & Purkait, M. K. (2009). Adsorption characteristics of brilliant green dye on kaolin. *Journal of hazardous materials, 161*(1), 387-395.
82. Nantaba, F., Wasswa, J., Kylin, H., Palm, W.-U., Bouwman, H., & Kümmerer, K. (2020). Occurrence, distribution, and ecotoxicological risk assessment of selected pharmaceutical compounds in water from Lake Victoria, Uganda. *Chemosphere, 239*, 124642.
83. Paxeus, N. (2004). Removal of selected non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), gemfibrozil, carbamazepine, b-blockers, trimethoprim and triclosan in conventional wastewater treatment plants in five EU countries and their discharge to the aquatic environment. *Water science and technology, 50*(5), 253-260.
84. Pépin, J.-M. (2006). *Impacts écotoxicologiques de certains médicaments dans l'environnement.* éditeur non identifié.
85. Poiger, T., Buser, H. R., & Müller, M. D. (2001). Photodegradation of the pharmaceutical drug diclofenac in a lake: pathway, field measurements, and mathematical modeling. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal, 20*(2), 256-263.
86. Purdom, C., Hardiman, P., Bye, V., Eno, N., Tyler, C., & Sumpter, J. (1994). Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. *Chemistry and Ecology, 8*(4), 275-285.
87. Ra, J. S., Oh, S.-Y., Lee, B. C., & Kim, S. D. (2008). The effect of suspended particles coated by humic acid on the toxicity of pharmaceuticals, estrogens, and phenolic compounds. *Environment international, 34*(2), 184-192.
88. Sairam, R. K., Rao, K. V., & Srivastava, G. (2002). Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant science, 163*(5), 1037-1046.
89. Santos, L. H., Araújo, A. N., Fachini, A., Pena, A., Delerue-Matos, C., & Montenegro, M. (2010). Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *Journal of hazardous materials, 175*(1-3), 45-95.
90. Seckbach, J., & Kociolek, P. (2011). *The diatom world* (Vol. 19): Springer Science & Business Media.
91. Seckin, B., Turkan, I., Sekmen, A. H., & Ozfidan, C. (2010). The role of antioxidant defense systems at differential salt tolerance of Hordeum marinum Huds.(sea barleygrass) and Hordeum vulgare L.(cultivated barley). *Environmental and Experimental Botany, 69*(1), 76-85.
92. Seguin, F., Druart, J.-C., & Le Cohu, R. (2001). *Effects of atrazine and nicosulfuron on periphytic diatom communities in freshwater outdoor lentic mesocosms.* Paper presented at the Annales de Limnologie-International Journal of Limnology.
93. Sgherri, C., Quartacci, M. F., & Navari-Izzo, F. (2007). Early production of activated oxygen species in root apoplast of wheat following copper excess. *Journal of Plant Physiology, 164*(9), 1152-1160.
94. Sgherri, C., Quartacci, M. F., & Navari-Izzo, F. (2007). Early production of activated oxygen species in root apoplast of wheat following copper excess. *Journal of Plant Physiology, 164*(9), 1152-1160.
95. Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture, 16*(3), 144-158.
96. Smirnoff, N. (2005). Ascorbate, tocopherol and carotenoids: metabolism, pathway engineering and functions. *Antioxidants and reactive oxygen species in plants, 2005*, 53-86.
97. Smith, G. R., & Burgett, A. A. (2005). Effects of three organic wastewater contaminants on American toad, Bufo americanus, tadpoles. *Ecotoxicology, 14*(4), 477-482.
98. Spanbauer, T. L. (2015). Sizes, shifts, & structures: A statistical exploration of changes in diatom morphologies and communities.
99. Stumm-Zollinger, E., & Fair, G. M. (1965). Biodegradation of steroid hormones. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 1506-1510.
100. Sun, C., Dudley, S., Trumble, J., & Gan, J. (2018). Pharmaceutical and personal care products-induced stress symptoms and detoxification mechanisms in cucumber plants. *Environmental Pollution, 234*, 39-47.
101. Sun, C., Dudley, S., Trumble, J., & Gan, J. (2018). Pharmaceutical and personal care products-induced stress symptoms and detoxification mechanisms in cucumber plants. *Environmental Pollution, 234*, 39-47.

102. Ternes, T. A. (1998). Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water research, 32*(11), 3245-3260.
103. Ternes, T., Bonerz, M., & Schmidt, T. (2001). Determination of neutral pharmaceuticals in wastewater and rivers by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A, 938*(1-2), 175-185.
104. Theriot, E., & Herbarium, D. (1992). FE Round, RM Crawford, and DG Mann, The Diatoms. Biology and Morphology of the Genera: Society of Systematic Biologists.
105. Tixier, C., Singer, H. P., Oellers, S., & Müller, S. R. (2003). Occurrence and fate of carbamazepine, clofibric acid, diclofenac, ibuprofen, ketoprofen, and naproxen in surface waters. *Environmental science & technology, 37*(6), 1061-1068.
106. Unuabonah, E., Adebowale, K., Olu-Owolabi, B., Yang, L., & Kong, L. (2008). Adsorption of Pb (II) and Cd (II) from aqueous solutions onto sodium tetraborate-modified kaolinite clay: equilibrium and thermodynamic studies. *Hydrometallurgy, 93*(1-2), 1-9.
107. Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant science, 151*(1), 59-66.
108. Verstraeten, I. M., Heberer, T., & Scheytt, T. (2002). Occurrence, characteristics, transport, and fate of pesticides, pharmaceuticals, industrial products, and personal care products at riverbank filtration sites *Riverbank filtration* (pp. 175-227): Springer.
109. Waleng, N. J., & Nomngongo, P. N. (2022). Occurrence of pharmaceuticals in the environmental waters: African and Asian perspectives. *Environmental Chemistry and Ecotoxicology, 4*, 50-66.
110. Walton, N. J., & Brown, D. E. (1999). *Chemicals from plants: perspectives on plant secondary products*: World Scientific.
111. Walton, N. J., & Brown, D. E. (1999). *Chemicals from plants: perspectives on plant secondary products*: World Scientific.
112. War, A. R., Paulraj, M. G., War, M. Y., & Ignacimuthu, S. (2012). Herbivore-induced resistance in different groundnut germplasm lines to Asian armyworm, Spodoptera litura (Fab.)(Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Physiologiae Plantarum, 34*(1), 343-352.
113. War, A. R., Paulraj, M. G., War, M. Y., & Ignacimuthu, S. (2012). Herbivore-induced resistance in different groundnut germplasm lines to Asian armyworm, Spodoptera litura (Fab.)(Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Physiologiae Plantarum, 34*(1), 343-352.
114. Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry, 64*(4), 555-559.