République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Yahia Farés –Médéa-

Faculté de technologie

Département de génie des procédés et environnement

Projet de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master en génie des procédés pharmaceutiques

Thème :

Etude de la dégradation enzymatique d'un composé pharmaceutique

Dirigé par :

Pr. ABOUSEOUD Mahmoud

Présenté par :

ZEMOUR Bouthaina

Année universitaire : 2020/2021

Remerciement

Tout d’abord, je remercie Dieu le tout Puissant de m’avoir donné la volonté et la santé pour suivre mon parcours scolaire.

Je tiens à adresser mes sincères remerciements à Monsieur ABOUSEOUDMahmoud pour son contribution scientifique et pour l’intérêt permanent qu’il a manifesté

Mes remerciements s’adressent aussi aux membres de jury d’avoir accepté d’examiner et d’évaluer ce manuscrit.

Dédicaces

C’est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail aux personnesles plus chères au monde mes chers parents qui m’ont permis de continuer mes étudesdans les meilleures conditions et qui m’ont appris à ne jamais baissé les bras.

Je dédie aussi cette modeste réalisation à :

-Ma grande-mère Bakhta et mon grand-père El Haje

-Mes très chères sœurs Ikhlas, Anfel, Meriem, Soumia et à mon frère Adem.

-Mes chers oncles, tantes, cousins et cousines

- Tous les miens.

ملخص:

تهدف هذه الدراسة إلى إزالة الباراسيتامول من الماء بواسطة إنزيم البيروكسيداز الذي يحفز تحلل بيروكسيد الهيدروجين إلى ماء وأكسجين.

تعتمد هذه العملية على استخراج البيروكسيداز من اللفت وجعله يتفاعل مع محلول الباراسيتامول في وجود بيروكسيد الهيدروجين، ويتبع هذا التفاعل بقياس الامتصاص في نطاق الأشعة فوق البنفسجية في ظل ظروف تشغيل مختلفة. تم تقييم مردودية التفاعل بالنسبة الى التركيز الابتدائي. ومن أجل زيادة كفاءة هذا الإجراء، قمنا بدراسة تأثير عوامل معينة وهي درجة الحموضة (من 4 الى 9) ودرجة الحرارة (من 25 درجةمئوية إلى 60 درجةمئوية) وجرعة الإنزيم (من 0.5 ملإلى 2 مل) وتركيز الباراسيتامول (من 25 مجم / لترحتى 100 مجم / لتر) وتركيز بيروكسيد الهيدروجين (من 0.5 الى 2 ميلي مولار). ولعبت هذه العوامل دورا مهما في التأثير على اكسدة الباراسيتامول وازالته من الماء. توصلنا الي ان نسبة تحلل الباراسيتامول تكون عالية عند (الرقم الهيدروجيني = 4) حيث وصلت إلى 47.75٪ثم عند وصلت الى 57.81٪، ثم عند30 درجة مئوية وصلت إلى 64.48٪، وأخيرا عند الحجم 0.5 مل من الإنزيم بلغت 76.72٪.

تم الحصول على أفضل النتائج، حيث بلغت نسبة التخلص من الباراسيتامول (تركيز 50 مجم / لتر) من الماء خلال ساعة واحدة 76.72٪.

الكلماتالمفتاحية: بيروكسيداز اللفت، التحلل، الأدوية، التلوث

Résumé :

Ce travail vis à étudier l'élimination du paracétamol dans une solution aqueuse par l'enzyme de peroxydase, qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène.

La peroxydase de navet est extraite et mise contact avec une solution de paracétamol en présence de peroxyde d'hydrogène. L'évolution de la réaction est suivie en mesurant l'absorbance dans le domaine UV. Le rendement de la réaction a été évalué par rapport à la concentration initiale sous différentes conditions opératoires, en adoptant une approche de variation d'un seul facteur à la fois. Les effets de paramètres tels que le pH (de 4 jusqu'à 9), la température (de 25^0C jusqu'à 60^0C), la dose d'enzyme (de 0.5ml jusqu'à 2ml), la concentration de paracétamol (de 25mg/l jusqu'à 100mg/l) et la concentration de peroxyde d'hydrogène (de 0.5mM jusqu'à 2mM) ont été étudiés.

Pour une concentration initiale en paracétamol de 50mg/L, le rendement maximal (47.75%) est obtenu à pH=4, alors qu'il augmente jusqu'à 57.8% pour une dose de peroxyde C_{H2O2}= 1mM. La température optimale de 30^0C permet d'atteindre 64.48% de dégradation. Enfin, la dégradation maximale (76.7%) d'une solution ayant une concentration initiale en paracétamol de 50mg/L pour un volume 0.5ml de l'extrait enzymatique.

Mots clés : peroxydase de navet, dégradation, produits pharmaceutiques, pollution

Abstract:

This study aimed to remove paracetamol from water by the peroxidase enzyme,which catalyzes the decomposition of hydrogen peroxide into water and oxygen.

The turnip peroxidase is extracted and contacted with a solution of paracetamol in the presence of hydrogen peroxide. The progress of the reaction is followed by measuring the absorbance in the UV range. The yield of the reaction was evaluated against the initial concentration under different operating conditions, taking a one-factor-at-a-time variation approach. The effects of parameters such as the pH (from 4 to 9), the temperature (from 25^0C to 60^0C), the dose of enzyme (from 0.5ml to 2ml), and the concentration of paracetamol (from 25mg / l up to 100mg / l) and the concentration of hydrogen peroxide (from 0.5mM to 2mM) were studied. For an initial paracetamol concentration of 50mg / L, the maximum yield (47.75%) is obtained at pH = 4, while it increases to 57.8% for a dose of C_{H2O2} peroxide = 1mM. The optimum temperature of 30^0C achieves 64.48% degradation. Finally, the maximum degradation (76.7%) of a solution having an initial paracetamol concentration of 50mg / L for a 0.5ml volume of the enzymatic extract.

Key words: turnip peroxidase, degradation, pharmaceuticals, pollution

.

Sommaire

Sommaire

Remerciment

Dédicaces

Résumé

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale……..……...……...01

Partie théorique

Chapitre I : la pollution par les produits pharmaceutiques……..……03

I.1 Les produits pharmaceutiques……..……..……03

I.1.1. Définition……...……03

I.1.2. Origine d'un produitpharmaceutique…...…… 03

I.1.3. Consommation mondiale de médicaments ……04

I.2 La pollution par les composés pharmaceutiques……..…..07

I.2.1.Les sources..... 07

I.2.2.Les effets écotoxicologiques.....07

I.3 Les polluants émergents…….07

I.4. Méthodes de traitement des polluants émergents……..08

I.4.1. Traitement par l'adsorption ……...08

I.4.2. traitement par la séparation membranaire …….10

I.4.3. traitement par coagulation et floculation ……..11

I.4.4. Traitement par les procédés d'oxydation avancée ……12

Chapitre II : la dégradation enzymatique des produits…….18

II.1 Définition de l'enzyme…….18

II.2 La peroxydase……...18

II.2.1 Aperçus historique sur les peroxydases…….18

Sommaire

II.2.2 Définition de peroxydase……...18

II.3 Mécanisme de dégradation des composés pharmaceutiques……19

II.4. Les paramètres qui influent sur la dégradation par la peroxydase……...22

II.5. Exemples de dégradation enzymatique des produits pharmaceutiques ……..23

II.5.1. Dégradation de diclofénac et ibuprofène par l'enzyme de laccase (Lac)…….23

II.5.2. Dégradation par peroxydase couplée avec le glucose oxydase (GOD) …….…..24

Partie expérimentale :

Chapitre III : Méthodes et matériels…….……..25

I.1 Produits chimiques et matériel utilisés……...25

I.2.Le protocole expérimentale……....27

I.2.1. Préparation de solutions…….27

I.2.2. Préparation de l'extrait enzymatique……..28

I.2.3. Détermination de l'activité de peroxydase ……28

I.2.4. La détermination de la longueur d'onde à absorption maximale de la solution de paracétamol ……...29

I.2.5. Effets des paramètres qui influent sur la dégradation de paracétamol par la peroxydase……..30

I.2.6. Etude de la cinétique de dégradation enzymatique du paracétamol……..32

Chapitre IV : Résultats et discussions……...……..33

IV.1.L'activité enzymatique……...…33

IV.2. Longueur d'onde maximale de l'absorption de paracétamol……34

IV.3. Etude de la dégradation enzymatique du paracétamol par la peroxydase de navet…….....34

IV.4. Effets des paramètres qui influent sur la dégradation de paracétamol……...36

Conclusion générale ……...40

Liste des Figures

L'étudebibliographique

Le numéro	Le titre	La page
Figure I.1	Description d'une installation de production d'ozone	15
Figure II.1	Mécanisme réactionnel de la peroxydase hémique	19
Figure II.2	réaction de la peroxydase utilisant le gaïacol comme substrat	20
Figure II.3	la structure de peroxydase	20

L'étudeexpérimentale

Le numéro	Le titre	La page
FigureIV.1	Image représente le développement de la couleur de la solution	33
FigureIV.2	Graphe représente l'activité enzymatique	33
FigureIV.3	Spectre représente la longueur d'onde à absorption maximale de la solution de paracétamol.	34
FigureIV.4	Graphe représente courbe d'étalonnage	35
Figure.IV 5	Graphe représente effet de pH	36
FigureIV.6	Graphe représente effet de la température	36
FigureIV.7	Graphe représente effet de la concentration de H2O2	37
FigureIV.8	Graphe représente effet de la dose d'enzyme	38
FigureIV.9	Graphe représente la cinétique de dégradation enzymatique du paracétamol	39

Liste des Tableaux

L'étude bibliographique

Numéro	Titre	Page
Tableau I.1	Répartition géographique de la vente des médicaments à usage humain dans le monde en 2016 et projection pour 2021exprimées en milliards de dollars (Quintiles IMS, 2016).	5
Tableau I.2	Perspectives des principales classes thérapeutiques en termes de dépenses (exprimées en milliards de dollars) et de taux de croissance (Quintiles IMS, 2016)	5
Tableau I.3	exemples d'effets des polluants émergents	8

L'étude expérimentale

Numéro	Titre	Page
Tableau III.1	Appareils et instruments	25
Tableau III.2	Les solutions utilisées	26
Tableau III.3	Les caractéristiques de paracétamol	26
TableauIV.1	Essai préliminaire de dégradation du paracétamol à différentes concentrations initiales	35

Liste des abréviations

A : Activité enzymatique

Co : Concentration initiale (mol/L).

C : Concentration à l'instant t (mol/L).

DO : Densité Optique

FAD: Flavine adénine dinucléotide (oxydée)

FADH2 : flavine adénine dinucléotide (réduite)

GOD:glucose oxydase

g:gramme

mg : milligramme

H2O2 : peroxyde d'hydrogène

kDa :kilo Dalton

L :litre.

mM:milli molaire.

ml : millilitre.

min : minutes.

pH : Potentiel d'hydrogène.

R : Rendement %.

Sec : secondes.

STEP : Stationd'ÉPuration des eaux usées

T : Température (C°).

t : temps

Symboles grecques :

λ_{max}**:**Longueur d'onde maximale (nm).

Introduction Générale

La présence de résidus médicamenteux dans le milieu aqueux a été détectée dans les années 1980 et a conduit les scientifiques à s'interroger sur les conséquences sur l'environnement et la santé humaine de ces polluants. Plusieurs milliers de tonnes de médicaments à usage humain ou vétérinaire sont en effet utilisés sur chaque année dans le monde et rejetés, en nature ou après métabolisation, dans l'environnement.

La contamination environnementale par des résidus de médicaments est aujourd'hui clairement démontrée par de nombreuses études de terrain et font des rejets médicamenteux un problème environnemental émergent. Des résidus médicamenteux ont été retrouvés dans les eaux superficielles, eaux souterraines, eaux résiduaires, boues de station d'épuration mais aussi dans certains échantillons d'eau de boisson. Par rapport aux nombreux autres polluants environnementaux (pesticides, métaux lourds, hydrocarbures. . .), le risque sanitaire redouté est plus particulièrement lié à la spécificité des médicaments qui sont des substances présentant une forte activité biologique à de faibles concentrations. Si certains effets sur la faune et la flore sont aujourd'hui assez bien connus (résistance bactérienne liée aux antibiotiques ; effets perturbateurs endocriniens des hormones et molécules apparentées ; génotoxicité de nombreux médicaments anticancéreux...), les conséquences sanitaires de la pollution environnementale par les rejets de médicaments présentent encore de nombreuses inconnues et les méthodes pour les mettre en évidence sont difficiles, non standardisées et peu développées. Dans la majorité des cas, les résidus médicamenteux sont éliminés dans les réseaux d'eaux usées urbaines pour aboutir aux stations d'épuration des eaux usées (STEP) qui, par définition, ne sont pas conçues pour éliminer les médicaments, et dont l'efficacité est extrêmement variable, entre 0 % pour certains composés et plus de 90 % pour d'autres molécules**[1]**.

Et vue leurs effets dangereux sur la santé et la vie écologique, Plusieurs études ont porté sur l'élimination des produits pharmaceutiques à l'aide de procédés physico-chimiques, microbiologiques ou d'oxydation avancée. Même si ces études conduisent à des résultats prometteurs, les traitements évalués ont montré qu'ils ne sont efficaces que pour éliminer certains groupes de composés pharmaceutiques. De plus, le coût d'exploitations élevées, les rendements variables obtenus et la formation potentielle de sous-produits dangereux constituent également un obstacle à l'application réussie de ces technologies**[16].**

En général, ces enzymes sont capables de catalyser des réactions spécifiques, la plupart du temps dans des conditions de fonctionnement modérées (p.ex. le pH et latempérature), ce qui entraîne une consommation d'énergie moindre et un processus plus respectueux de l'environnement. Ces biocatalyseurs peuvent convertir efficacement les polluants environnementaux sur une large gamme de concentrations à un rythme rapide sans risque d'être entraînés par ces composés**[16].**

Dans ce travail, nous avons étudié le procédé de dégradation enzymatique par la peroxydase de navetcomme une autre alternative pour traiter ces polluants. Et nous avons discuté d'une étude de :

- Les produits pharmaceutiques et leur impact sur l'environnement et quelques moyens de les retirer de l'environnement
- Les méthodes de la dégradation enzymatique des polluants organiques
- Etude de la dégradation du paracétamol par la peroxydase de navet et des facteurs affectant cette dégradation (le pH, la température, le volume d'enzyme, la concentration de H_2O_2).

Partie Théorique

Chapitre I : pollution par les produits pharmaceutiques

Chapitre I : pollution par les produits pharmaceutiques

Introduction :

Ce chapitre expose l'étude bibliographique concernant les polluants émergents (produits pharmaceutiques) et leur impact sur l'environnement, et les méthodes de traitement de ces polluants.

I.1. Les produits pharmaceutiques

I.1.1. Définition

Ce terme désigne toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à L'égard des maladies humaines ou animales, tous produits pouvant être administrés à L'homme ou à animal en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger, modifier leur fonction physiologique en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique**[2]**..

Les produits pharmaceutiques comprennent les médicaments, les réactifs biologiques, les produits chimiques officinaux, les produits galéniques, les objets de pansement, le radionucléide qui est l'isotope radioactif, la trousse qui est toute préparation issue de la reconstitution ou de la combinaison avec des radionucléides dans le produit pharmaceutique final, le précurseur qui est tous radionucléide permettant le marquage radioactif d'une autre substance avant administration a l'homme et tous les autres produits nécessaires à la médecine humaine et vétérinaire**[15]**.

I.1.2. Origine d'un produit pharmaceutique :

Les produits chimiques proviennent principalement d'une synthèse typiquement chimique ou biochimique. Il s'agit d'un processus d'extraction des matières actives de certaines plantes dites médicinales ou des organismes vivants, comme ils peuvent être d'origines minérales. Avant d'atteindre le stade de commercialisation des médicaments, leurs molécules doivent être analysé et soumis aux plusieurs essais appliqués aux animaux d'expériences ou des hommes volontaires afin de déterminer leurs propriétés

physicochimiques, leur efficacité, leur toxicité et leur pharmacocinétique, de leur introduction à l'organisme jusqu'à leur élimination **[2]**.

I.1.3. La consommation mondiale de médicaments :

L'accès aux données de consommation de médicaments est souvent insatisfaisant pour les études car les données publiées sont :

- globales pour un pays ou une région et les informations locales souvent inconnues ou peu accessibles ;

- financières (chiffre d'affaires, part de marché) et ne fournissent pas les masses de principe actif ;

- anciennes et non actualisées.

Cependant, plusieurs pays autorisent désormais l'accès public aux données de consommation apparente ou réelle des médicaments humains. Au niveau européen, dans le cadre d'Innovative Médicine Initiative (IMI), le programme de recherche PROTECT (Pharmaco epidemiologicalResearch on Outcomes of Therapeutics by a European Consortium) a permis de dresser un état des lieux des bases de données de consommation de médicaments en Europe, à partir des données actualisées en février 2015. La comparaison entre les pays reste néanmoins difficile car les sources ne sont pas identiques entre les médicaments à prescription médicale obligatoire, à prescription facultative, les molécules en vente libre (OTC), les médicaments dispensés en officine, les médicaments dispensés à l'hôpital.

I.1.3.1. Les médicaments à usage humain :

Alors que l'Europe, l'Amérique du Nord et le Japon représentaient environ 80 % du marché mondial pour moins de 15 % de la population en 2006, cette part est réduite à près de 65 % en 2011. Récemment, la Chine a pris la deuxième place derrière les États-Unis. Les projections pour 2021 indiquent que le trio de tête des pays consommateurs de médicaments à usage humain serait identique : les États-Unis, la Chine et le Japon. L'Allemagne serait le premier pays européen (Tableau I). En 2016, les médicaments les plus vendus, en chiffre d'affaires, concernent le traitement du cancer, des maladies cardio-vasculaires, de la douleur et du diabète. Les 10 premières familles d'indications représentent 50 % des dépenses

mondiales totales et illustrent les pathologies les plus fréquentes des pays industrialisés (Tableau II).

Tableau I.1 : Répartition géographique de la vente des médicaments à usage humain dans le monde en 2016 et projection pour 2021exprimées en milliards de dollars **[9]**.

	Année 2016 en milliards US $	**Année 2021 en milliards US $ (Projections)**
MONDE	1104,6	1455 – 1485
AMÉRIQUE du NORD	481,0	671 - 706
USA	461,7	645-675
Canada	19,3	27-31
EUROPE	151,8	170 - 200
Allemagne	43,1	49-59
France	32,1	33-37
Royaume Uni	27,0	34-38
Italie	28,8	34-38
Espagne	20,7	23-27
CHINE	116,7	140-170
JAPON	90,1	90-94
BRÉSIL	26,9	32-36
RUSSIE	11,6	14-18
INDE	17,4	26-30

Tableau I.2 : Perspectives des principales classes thérapeutiques en termes de dépenses (exprimées en milliards de dollars) et de taux de croissance**[9]**.

Famille de pathologies	**Dépenses 2016**	**Taux de croissance annuel moyen 2011- 2016**	**Dépenses 2021**	**Taux de croissance annuel moyen 2016- 2021**
Oncologie	75,3	10,9 %	120-135	9-12 %
Diabète	66,2	16,4 %	95-110	8-11 %
Auto-immunité	45,1	18,2 %	75-90	11-14 %
Douleur	67,9	7,1 %	75-90	2-5 %

Cardiovasculaire	70,5	-2,5 %	70-80	0-3 %
Respiratoire	54,4	3,4 %	60-70	2-5 %
Antibiotiques et vaccins	54,4	2,5 %	60-70	2-5 %
Santé mentale	36,8	-5,0 %	35-40	(-1)-2 %
VIH	24,6	11,5 %	35-40	6-9 %
Antiviraux hors VIH	33,2	38,1 %	35-40	0-3 %
Autres	230,2	5,5 %	360-415	4-7 %

Les antibiotiques représentent une classe de médicaments d'intérêt particulièrement surveillée au niveau mondial. En 2016, 29 pays de l'espace économique européen publiaient des données de consommation d'antibiotiques par les officines et 23 pays au sein des hôpitaux, accessibles sur le site internet du Centre européen de prévention et de contrôle des maladies**[9]**.

Selon l'OCDE, la consommation humaine d'antibiotiques au niveau mondial était relativement stable pour la période 2005-2014 avec une consommation moyenne de 20,5 DDJ/1000 habitants. En 2014, les antibiotiques représentaient environ 3 %, en chiffres d'affaires, des médicaments humains [**9]**.

I.1.3.2. Les médicaments à usage vétérinaire :

L'utilisation des médicaments à usage vétérinaire fait également l'objet de quelques publications quantitatives, qui se limitent principalement à la famille des anti-infectieux**.**

À l'échelle mondiale, Van Boeckel et al. (2015) fournissent de précieuses indications sur les tonnages d'antibiotiques utilisés pour l'élevage d'animaux à des fins alimentaires (pratique interdite en Europe en 2006) : en 2010, les auteurs ont estimé que 63 151 tonnes d'antibiotiques avaient été utilisées, avec une projection à 105 596 tonnes pour l'année 2030 ; 66 % de cette augmentation étant la résultante de l'augmentation du cheptel à traiter pour répondre à l'augmentation des besoins alimentaires mondiaux. La Chine contribuait, en 2010, à 23 % de cette consommation totale, suivie par les États-Unis (13 %), le Brésil (9 %), l'Inde (3 %) **[9].**

I.2.La pollution par les composés pharmaceutiques :

Les produits pharmaceutiques utilisés ou même expirés sont évacués dans l'environnement. Ils apparaissent beaucoup plus, dans l'environnement, sous forme des résidus dont leurs provenances sont les hôpitaux les domestiques et les usines **[2]**.

I.2.1. Les sources :

Les sources des polluants pharmaceutiques peuvent se distinguer selon trois origines différentes : les pollutions humaines, industrielles et agricoles. Les hôpitaux et les exploitations agricoles sont les principales sources de contamination de l'environnement. Bien qu'il existe d'autres voies d'accès de ces polluants dans la biosphère (rejets industriels et domestiques, etc.), l'homme reste toujours l'unique responsable de leur présence dans l'environnement, en tant que fabricant et distributeur **[2]**.

I.2.2. Les effets éco-toxicologiques :

Les polluants pharmaceutiques créent une réelle menace pour l'environnement. , et ils attirent de plus en plus l'attention et font l'objet d'une préoccupation environnementale mondiale grandissante. La particularité de ces composés est que même s'ils sont détectés à des faibles concentrations de l'ordre de quelques ng/L, ils peuvent présenter, selon plusieurs études éco toxicologiques, des effets cancérigènes, mutagènes ou perturbateurs du système endocrinien **[2]**.

I.3 Les polluants émergents :

Ce terme assez générique regroupe les polluants d'origine chimique ou biologique, généralement sans statut réglementaire. Il s'agit bien souvent de molécules pas nécessairement d'usage nouveau mais nouvellement recherchées et pour lesquelles les données sont rares. Parmi ces polluants émergents sont notamment concernés certains stéroïdes, des médicaments soumis ou non à des prescriptions médicales (antibiotiques, hormones) à usage humain ou vétérinaire, les produits de dégradation de détergents non ioniques (composés du nonyl- et octyl-phénol), des désinfectants, des phtalates, des

retardateurs de flamme, des antioxydants, les nanoparticules etc. La plupart de ces substances identifiées sont connues ou suspectées pour avoir des effets sur les fonctions endocriniennes et posent donc des problèmes vis-à-vis de la santé ou des écosystèmes**[3]**.

Tableau I.3 : exemples d'effets des polluants émergents **[3]**.

produits	effets	organismes
Anti-inflammatoires (ibuprofène, diclofenac)	Cytotoxicité Inhibition de la bioluminescence	Truite arc en ciel vibriofischeri
Antibiotiques (tétracycline)	Inhibition de la croissance	Algues
Produits industriels (Bisphénol A)	Perturbateur endocrinien : Baisse de la qualité du sperme, développement du cancer de sein et de la prostate etc.	Rat, souris, cellules
Hormone stéroïde (17-bêta-œstradiol)	Perturbateur endocrinien : Baisse de fécondité.	Poissons

I.4. Méthodes de traitement des polluants émergents :

I.4.1. traitement par l'adsorption :

Le principe de l'adsorption repose sur la propriété qu'ont les solides (absorbant) de fixer sur leur surface certains gaz (adsorbat). Le flux de gaz à traiter traverse une colonne d'adsorbant dans laquelle s'établit un front d'adsorption. La phase d'adsorption s'arrête lorsque le matériau est saturé et que le polluant n'est plus retenu en quantité suffisante. Cette technique est principalement utilisée pour le traitement des COV (Composés Organiques Volatils), et d'autres polluants tels que les métaux lourds, l'ammoniaque. Elle est aussi utilisée en combinaison avec la FGD à sec. L'un des facteurs ayant un impact sur l'efficacité d'épuration est la surface d'adsorption. De nombreux fabricants utilisent des poudres fines et poreuses afin d'augmenter cette surface et donc la performance de la technique. L'adsorption se fait en lit fixe, en lit fluidisé, sur concentrateur à roue ou encore par injection directe

d’adsorbants dans les effluents gazeux. Dans ce dernier cas, l’adsorbant est récupéré via la filtration sur média, la centrifugation ou par précipitation électrostatique. Ces procédés utilisent principalement trois types d’adsorbants pour le traitement des COV : **[4]**

• Les charbons actifs, de loin les plus utilisés ;

• Les zéolithes ;

• Les adsorbants à base de polymère

I.4.1.1 traitement par le charbon actif :

Le traitement par charbon actif appliqué essentiellement pour réduire les teneurs en composés organiques. Il peut aussi adsorber certains composés comme le mercure et l’arsenic et des métaux comme le zinc et le nickel.Parmi les substances susceptibles d’être traitées par charbon actif **[5]** :- les BTX, les composés organiques chlorés, fluorés, les métaux lourds

- **Les avantages :**

− Bonne espérance d'efficacité sur une large gamme de substances

− Complémentaire des traitements classiques préalables

− Bonne reproductibilité des essais laboratoire à l'échelle industrielle

− Nombreux types de charbon "technique" disponibles sur le marché

− Possibilité de régénérer plusieurs fois la même charge de charbon

− Souplesse de fonctionnement

− Adaptation facile en finition d'une filière existante (moyennant mise en place d'une protection par filtration pour éviter les colmatages)

− Un des procédés les moins onéreux (Peu d'équipements et d'instrumentation, simplicité du principe)

− Possibilités de location d'installations mobiles (ne serait-ce que pour valider la filière dans un premier temps)

- **Les inconvénients :**

− Gestion des eaux de lavages (si régénération à l'eau)

− 2 unités en parallèle si la continuité de fonctionnement est nécessaire (1 enrégénération, 1 en fonctionnement), ou utilisation de bonbonnes interchangeables

− Nécessité d'essais préalable en laboratoire (capacités d'adsorption, risques derelargage, CA le mieux adapté, estimation des coûts de fonctionnement)

− Le coût du charbon augmente avec sa "technicité"

− Non adapté au traitement des effluents chargés (saturation)

− Précautions à prendre au redémarrage après un arrêt prolongé (risques de relargage)

− Suivi analytique régulier pour anticiper les régénérations

− Performances très variables, fortement dépendantes des autres polluants présents Efficacités supérieures à 50% dans les cas favorables

− Procédé non sélectif - Risque de coûts de régénération ou de renouvellement élevés encas de fortes teneurs en polluants **[5]**.

I.4.1.2. traitement parles adsorbants à base de polymère :

Le produit le plus répandu est un copolymère du styrène et du divinylbenzène : le polystyrène forme des chaînes reliées entre elles par des ponts de divinylbenzène, ce qui confère une porosité interchaîne à la structure. Une caractéristique importante de ces adsorbants est qu'ils sont très hydrophobes. Ces produits peuvent être utilisés tel quel ou subir une carbonisation. On obtient alors des adsorbants voisins des charbons actifs. Si le polymère initial est préparé en fibres, on peut le tisser et obtenir des tissus de charbon actif.

Le diamètre de fibre étant de l'ordre de 10 microns, le temps de transfert est beaucoup plus rapide que pour tous les autres adsorbants. Sa surface spécifique peut atteindre pour les tissus de charbon actif 2000 m2 /g**[10]**.

I.4.2. traitement par la séparation membranaire :

L'utilisation de procédés de séparation membranaire pour le traitement de l'eau a augmenté au cours des dernières décennies. Parmi les différents types de membranes disponibles sur le marché, il a été prouvé que les membranes d'ultrafiltration (UF, taille de

pores 10 nm), de nanofiltration (NF, taille de pores 1 nm) et d'osmose inverse (RO, taille de pores <1 nm) éliminent efficacement les petites membranes. Polluants de taille tels que les composés pharmaceutiques. L'élimination des micropolluants pharmaceutiques dans la séparation membranaire peut se produire par divers mécanismes (adsorption, rejet à l'état d'équilibre, effets électrostatiques) qui dépendent des propriétés physico-chimiques du composé, de la solution d'alimentation et des caractéristiques de la membrane**[16]**.

En général, les études ont montré d'excellents rendements d'élimination pour tous les polluants cibles. Plusieurs antibiotiques, dont les β-lactamines, les quinolones, les tétracyclines et les sulfamides, ont été fortement éliminés (<90 %) après un traitement combiné par microfiltration (MF) et RO).Ont testé deux membranes RO différentes pour le traitement de composés perturbateurs endocriniens et de composés actifs pharmaceutiques obtenant une rétention élevée de SMX (70-82%) et CBZ (85-91%). De même, Mors et Jackson (2004) ont signalé une élimination complète de l'AMX des eaux usées par RO.

Malgré la bonne élimination signalée pour les produits pharmaceutiques cibles, il est important de remarquer que ce processus de traitement produit un nouvel effluent (c'est-à-dire le rétentat) où les contaminants sont concentrés. De plus, la sensibilité des membranes à la température et la présence de composés organiques et de sels dissous dans le milieu d'alimentation peuvent provoquer une détérioration et un encrassement des membranes qui diminuent généralement l'efficacité du procédé **[16]**.

I.4.3. traitement par coagulation et floculation :

La coagulation et la floculation représentent une partie importante des stations de traitement de l'eau et des eaux usées conventionnelles et sont généralement appliquées avant la sédimentation et la filtration dans un processus mieux connu sous le nom de clarification.

La coagulation implique l'ajout de produits chimiques, généralement des sels d'aluminium et de fer, qui réagissent avec les particules en suspension et colloïdales pour former des microparticules en réduisant leurs charges répulsives Ensuite, lors de la floculation, ces microparticules entrent en collision et forment des agrégats ou des flocs plus gros qui sont facilement éliminés par sédimentation.

Le processus combiné de coagulation-floculation est généralement utilisé dans le traitement de l'eau pour diminuer la turbidité et la couleur ainsi que pour l'élimination des

agents pathogènes. Cependant, cette technologie s'est avérée inefficace pour l'élimination des polluants pharmaceutiques. Une mauvaise élimination pourrait être liée à l'utilisation de coagulants conventionnels qui n'étaient pas spécifiquement conçus pour éliminer les micropolluants organiques émergents. Néanmoins, une élimination partielle des antibiotiques de l'ordre de 20 à 90 % selon la nature du composé a été obtenue en utilisant différents coagulants **[16]**.

I.4.4. traitement parles procédés d'oxydation avancée :

- **Définition**

Les procédés d'oxydation avancée (POA) utilisés pour les traitements des eaux et des effluents industriels, sont des techniques de traitement récentes faisant appel à des intermédiaires radicalaires qui sont principalement les radicaux hydroxyles (HO·). Ces entités produites sont : libres, hautement actives, réagir rapidement et de manière non sélective sur la plupart des composés organiques, réputés difficilement oxydables par voie biologique ou par des traitements chimiques conventionnels à température et pression ambiantes.

- **Espèces radicalaires**

La combinaison entre les réactifs dans ces procédés d'oxydation avancée peutengendrer des radicaux libres qui sont les suivants :

1-Les radicaux hydroxyles (HO·) : Qui sont les plus puissants par rapport aux autresentités radicalaires.

2-Les radicaux superoxyles $O_2^{-}\cdot$: Sont des ions très actifs mais reste toujours moinsimportants que le premier type (HO.).

3-Les radicaux d'hydroperoxyde ($HO_2\cdot$) ou de $HO_3\cdot$:proviennent des réactionssecondaires de l'association des radicaux hydroxyles avec un atome d'oxygène, desionssuperoxydes avec un proton ou de la dissociation non convenable du peroxyded'hydrogène, etc.

- **Cinétique des réactions des radicaux hydroxyles :**

Le radical •OH possède un caractère d'acide fort (E°HO•/H2O = 2,81 V/ENH) et il est responsable à l'oxydation des composés organiques par l'abstraction d'un hydrogène des radicaux libres organiques R· selon l'équation suivante :

HO°/H_2O HO° + H + e- →H2O2, 81 (V/ENH)

Les radicaux hydroxyles oxydent les molécules organiques avec des constantes de vitesse habituellement de l'ordre 10^7-10^{10} L $mol^{-1}S^{-1}$ en solution aqueuse. Et peuvent Former ainsi des radicaux peroxyde s'ils réagissent avec l'oxygène moléculaire. Initialisant, ainsi une série de réactions de dégradation oxydative qui peut conduire à La minéralisation complète des composés organiques. Cette il faut une réaction D'addition électrophile s'il perçante un substrat organique sur un mécanisme simple De transfert d'électrons dans cette équation.

HO• + PhX → HOPhX•
HO• + RX → R^{+}•+ HO^-

S'il recombinaison enter radical-radical il donne une produite des radicaux hydro peroxydes qui sont beaucoup moins réactifs et ne semblent pas contribuer à la dégradation oxydative des substrats organiques en présence d'un excès de H_2O_2, et les équations suivantes reprisant cette recombinaison.

HO• + HO• → H_2O_2 (I.4)

Le radical •OH est une espèce transitoire omniprésente dans la nature et est l'oxydant Le plus réactifs après le fluor, comparé aux autres entités oxydantes, les radicaux •OH et O• sont généralement moins réactifs que les •OH.

- **Les Caractéristiques du radical •OH**

Les radicaux hydroxyles restent toujours les entités oxydantes les plus puissantes qui se produisent in situ de la solution en appliquant les procédés d'oxydation avancée, ces entités sont caractérisées par :

*leur vie courte
*Très réactif
*Réaction non sélective
*Caractère électrophile
*Control cinétique de réaction
*Facile à produire
*Omniprésent dans la nature
*Oxydant puissant

I.4.4.1. traitement par ozonation :

La technique d'ozonation est capable d'éliminer une très grande diversité de micropolluants surtout ceux contenus dans les eaux usées, et de réduire de manière sensible la toxicité des effluents d'épuration pour les organismes aquatiques. L'ozonation est d'autre part facilement intégrable aux chaînes de traitement existantes **[6].**

- **Le principe d'ozonation :**

L'ozone est un gaz instable s'il est comprimé : il est donc nécessaire de le produire surle lieu de consommation. L'ozone est produit à partir de l'oxygène : 3 O2 ↔2 O3. C'est uneréaction endothermique (ΔHr° = 142,1 kj.mol-1 O3), il est nécessaire de lui fournir del'énergie. Cependant, comme la production d'ozone est favorisée à basses températures, ilfautéviter de fournir de la chaleur. La solution réside dans l'utilisation de déchargesélectriques. L'air ou l'oxygène pur passe entre deux électrodes, reliées à un générateuralternatif à haute tension. Les décharges électriques fournissent l'énergie nécessaire àl'oxygène pour se transformer en ozone (Doré, 1989). Cependant, les rendements sont faiblesenviron 5% avec de l'air et 10% avec de l'oxygène pur sont transformés en ozone. Ainsi laproduction d'ozone est de l'ordre de 100 g O3.kWh-1**[7]**.

L'utilisation de décharges électriques n'est pas sélective. En effet, d'autres moléculespeuvent être oxydées (eau, azote). L'oxydation de l'azote conduit à un composé

corrosif etl'oxydation de l'eau à des radicaux hydroxyles. Il est donc préférable d'utiliser de l'oxygène pur et sec **[7]**.

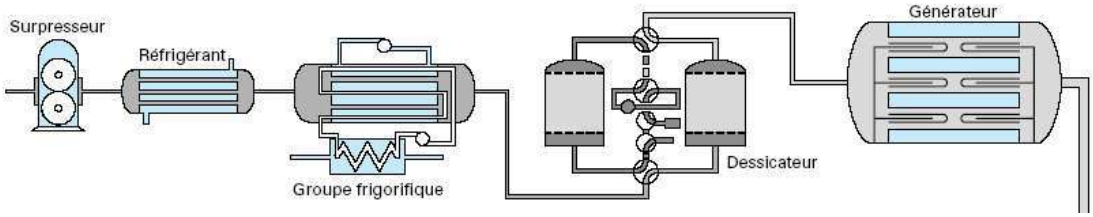


Figure I.1 : Description d'une installation de production d'ozone **[7]**.

I.4.4.2. traitement par les procédés photocatalytiques :

Les technologies photochimiques sont simples d'utilisation, propres et peu coûteuses. De plus, elles ont la particularité de pouvoir à la fois désinfecter et traiter les contaminants.

Le couplage des radiations UV avec des oxydants puissants tels que l'ozone et le peroxyde d'hydrogène permet de dégrader les polluants de trois manières différentes :

i) photo-dégradation (photodissociation) utilisant les rayons UV pour exciter les molécules polluantes et les dégrader ;
ii) oxydation par action directe des oxydants O3 et H_2O_2 ;
iii) oxydation par photolyse de l'oxydant induisant la formation de radicaux libres hydroxyles.

I.4.4.2.1. Couplage peroxyde/ultraviolet (H_2O_2 /UV) :

La photolyse du peroxyde d'hydrogène, à des longueurs d'onde comprises entre 200 et 300 nm, provoque une coupure homolytique de la liaison O — O de la molécule de H_2O_2 et conduit à la formation de radicaux hydroxyles qui participent également, par des réactions secondaires, à la décomposition du peroxyde d'hydrogène (BUXTON et al. 1988, cité par CRISSOT, 1996) :

$H_2O_2 \xrightarrow{hv} 2OH^0$: Initiation

$OH + H_2O2H_2O \rightarrow HO_2^0$: Propagation

$HO_2^0 + H_2O_2 \longrightarrow OH^0 + H_2O + O_2$

$OH^0 + HO_2^- \longrightarrow HO_2^0 + OH^-$

$2HO_2 \longrightarrow H_2O_2 + O_2$: Terminaison

$OH^0 + HO_2^0 \longrightarrow H_2O + O_2$

$2OH^0 \longrightarrow H_2O_2$

Ce procédé est souvent utilisé pour la décontamination des eaux souterraines (ECKENFELDER et al. 1992), pour l'élimination des cyanures présents dans les nappes phréatiques, et pour l'élimination des polluants tels que trichloréthylène (TCE), tétrachloréthylène, benzène etc. (DORÉ, 1989). Cette association permet également d'assurer un effet rémanent dans le cas d'une décontamination bactérienne **[8]**.

I.4.4.2.2. Couplage ozone/ultraviolet (O3 /UV) :

L'ozone en solution aqueuse absorbe les radiations UV avec un maximum d'adsorption à 253,7 nm (VAN CRAEYNEST et al. 2004). Cette réaction conduit à la production de radicaux libres qui sont des espèces oxydantes très réactives et efficaces pour éliminer les polluants organiques et bactériens.

$O3 + H2O \longrightarrow 2OH^0 + O2$: Initiation

$O3 + OH \longrightarrow HO2^0 + O2$: Propagation

$O3 + HO2^0 \longrightarrow OH^0 + 2O2$

$OH^0 + HO2^0 \longrightarrow H2O + O2$: Terminaison

$OH^0 + OH^0 \longrightarrow H2O2$

Ce type de couplage a pour la plupart été employé pour l'élimination des composés organochlorés volatils (COCV). **[8]** ont étudié la performance du couplage O3 /UV pour l'oxydation de plusieurs COCV (CHCl3, CCl4, TCE, PCE, 1, 1,2-TCA etc.). Ils constatèrent que l'ozonation directe contribuait à l'oxydation des CHCl3, alors que la réaction par les radicaux hydroxyles (OH^o) contribuait à l'oxydation de CHCl3, 1, 1,2-TCA et, dans une moindre mesure, à l'élimination des TCE. Cependant, ni l'ozone ni les radicaux hydroxyles

n'étaient à même de fournir des résultats satisfaisants concernant l'élimination de CCl4. Par ailleurs,**[8].**

Ont étudié également le couplage UV/O3 à l'aide d'un réacteur pilote hybride comportant un système de contrôle de la pollution de l'air. Ils observèrent une dégradation significative de TCE, alors que très peu ou aucun effet n'avait été observé sur les composés non chlorés organiques volatils.

Par ailleurs, ce couplage (O3 /UV) a également été étudié pour le traitement d'effluents contenant divers types de polluants organiques tels que pesticides, perturbateurs endocriniens, composés pharmaceutiques, surfactants, colorants, nitrobenzène **[8]**.

I.4.2.2.3. Couplage réactif de Fenton/ultraviolet ($Fe2+/H_2O_2$ /UV) :

Le procédé Fenton, décrit précédemment, utilise le fer comme catalyseur pour ainsi produire, par l'intermédiaire du peroxyde d'hydrogène, des radicaux hydroxyles. Le procédé photo-Fenton est un POA hybride qui utilise une source d'irradiation, généralement un rayonnement UV, pour augmenter le taux de radicaux libres en stimulant la réduction du Fe_3^+ en Fe_2^+.

Lors de ce procédé, l'irradiation possède une double fonctionnalité. Celle-ci permet de décomposer par photolyse le peroxyde d'hydrogène pour former deux radicaux hydroxyles (système H2O2/UV) mais aussi d'augmenter l'activité catalytique du fer.

$Fe^{3+} + H_2O + h\upsilon Fe^{2+} + H^+ + OH^0$

En fait, la réaction limitant l'action catalytique du fer dans le procédé conventionnel de fenton (sans irradiation) est la réaction de réduction de Fe3+ (réaction plus lente). Ainsi, d'après la réaction ci-dessus, l'irradiation permet de régénérer plus facilement Fe2+ sans consommer du peroxyde d'hydrogène, tout en formant un radical hydroxyle. Le couplage du procédé Fenton à une source d'irradiation permet d'augmenter considérablement la production de radicaux libres et, ainsi, augmenter le taux de dégradation des contaminants organiques**[8]**.

Chapitre II : la dégradation enzymatique des produits pharmaceutiques

Introduction :

Ce chapitre expose les informations concernant la méthode de la dégradation enzymatique des polluants organiques.

1. Définition de l'enzyme :

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques qui augmentent la vitesse des réactions chimiques sans modifier les résultats, en agissant à de très faibles concentrations **[13]**, une seule molécule d'enzyme peut transformer jusqu'à plusieurs millions de molécules de substrat par minute **[11]**. La peroxydase figure parmi les enzymes les plus utilisées dans les procédés de dégradation des polluants organiques **[25]**.

2. La peroxydase :

2.1 Aperçus historique sur les peroxydases :

Les peroxydases font partie des premières enzymes étudiées lorsque Schönbein, en 1855, observa l'apparition d'une coloration intense en présence de peroxyde d'hydrogène (H_20_2), de gaïacol et d'extraits animaux ou végétaux. C'est en 1898 que Linossier introduisait le nom de « peroxydase » dont la proposition est la suivante : « je propose, pour éviter toute confusion, de réserver le nom d'oxydase aux corps capables de fixer l'oxygène de l'air sur un corps oxydable et de donner le nom de peroxydase aux corps dont la fonction est de décomposer le peroxyde d'hydrogène ou autres peroxydes analogues et provoquer ainsi des oxydations ». Depuis, des peroxydases du Raifort, ont servi de base à l'étude de ces enzymes chez les plantes, avec notamment la description de la première structure cristalline, la première séquence protéique a été décrite par Welinder (1979) suivi de celle retrouvée dans le tabac **[11]**.

2.2 Définition de peroxydase

Les peroxydases sont des oxydoréductases qui catalysent l'oxydation d'un substrat (donneur de protons) en présence du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), elles utilisent ce dernier comme accepteur d'électrons pour catalyser diverses réactions d'oxydation. Le cofacteur qui est l'hème est lié à la peroxydase, l'hème est un complexe entre un ion de fer et des molécules de protoporphyrine. La peroxydase catalyse le transfert d'oxygène de l'eau oxygénée à un substrat approprié et oxyde le substrat**[11].**

3. Mécanisme de la dégradation enzymatique des composés organiques par la peroxydase :

La réaction globale de la dégradation d'une molécule organique AH_2 peut êtreschématisé par l'équation suivante :

$2AH_2$ (substrat réduit) + H_2O_2 ⟶ 2AH (produit oxydé) + $2H_2O$

H_2O_2 : peut-être un peroxyde organique pour certaines peroxydases.

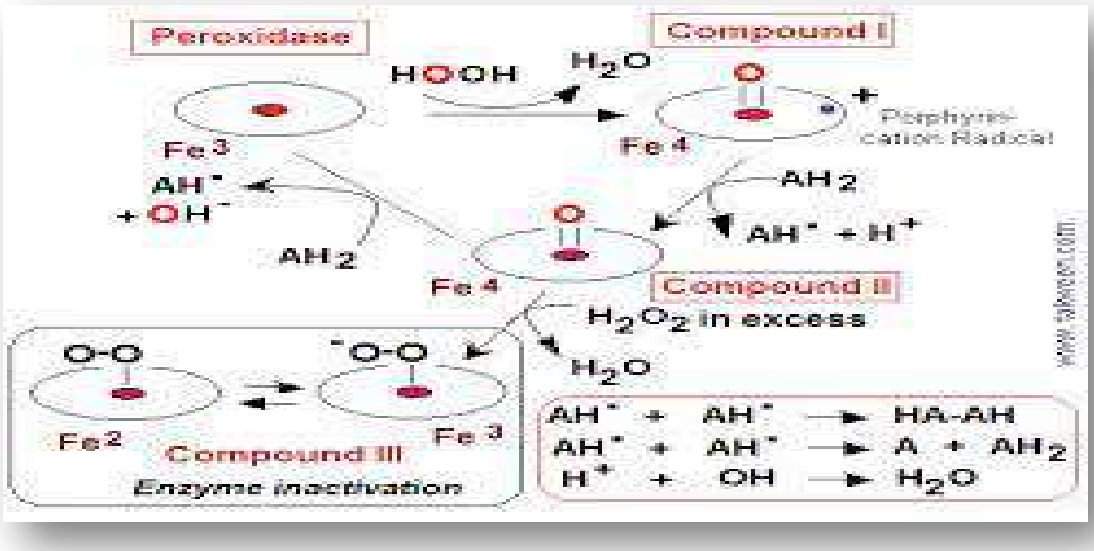


Figure II.1 : Mécanisme réactionnel de la peroxydase hémique**[12]**.

En utilisant, par exemple, le gaïacol comme substrat (donneur de proton H^+), la réaction donne naissance au tétra gaïacol, composé rouge rouille (absorbant la lumière à 470 nm, environ.)

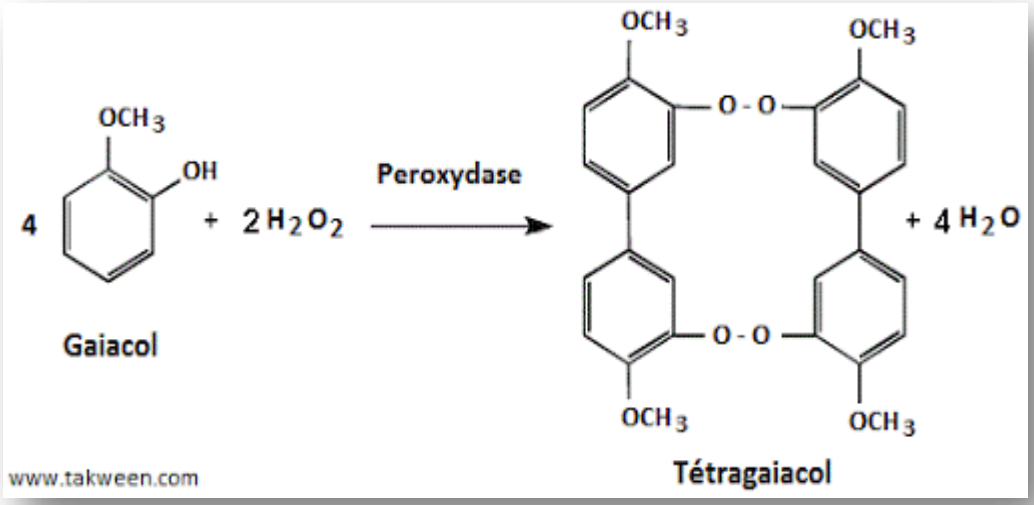


Figure II.2 : réaction de la peroxydase utilisant le gaïacol comme substrat**[12]**.

Les peroxydases sont des **hémoprotéines** contenant une composante glucidique. Leur groupement prosthétique est constitué par la protohématine IX qui est une **porphyrine** (4 noyaux pyrrols en cercle) liée à un atome de fer sous forme ferrique.

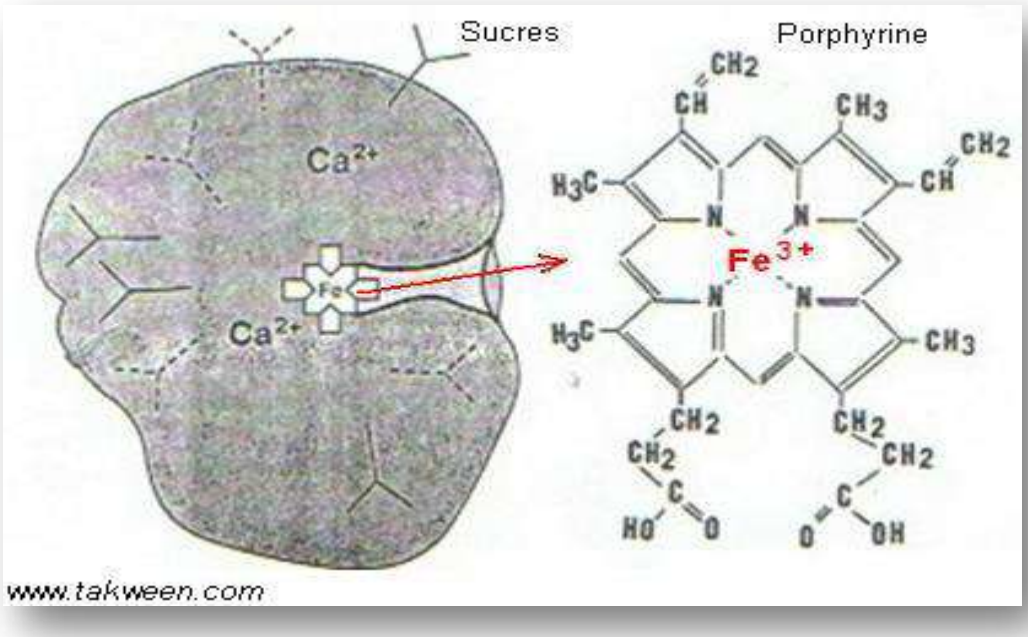


Figure II.3 : la structure de peroxydase**[12]**.

Le fer peut contracter 2 autres liaisons (6 au total) ; une qui le lié à l'azote d'une histidine au niveau de la partie protéique et une autre liaison qui le lié à l'oxygène, lequel peut faire partie d'une molécule d'eau, d'une molécule d'oxygène, d'un peroxyde, etc.

Le noyau pyrrol est un hétérocycle pentagonal. Les multiples **doubles liaisons du groupement tétra pyrrolique sont conjugués,** ce qui explique le pouvoir d'absorption de la lumière par la porphyrine. Ainsi, les protéines à porphyrines sont appelées **chromoprotéines** et sont toutes **colorées en rouge** (peroxydases, hémoglobines, cytochromes). Elles absorbent certaines radiations du spectre solaire dans une étroite bande dans le proche ultraviolet (bande de soret). La spécifité de leurs spectres d'absorption est en rapport avec la structure moléculaire du groupement prosthétique. L'étude spectroscopique permet de les déceler, même à l'état de traces ou de distinguer des molécules très voisines.

Dans le domaine des applications, les peroxydases peuvent être utilisées dans plusieurs finalités dont les traitements des eaux usées. En effet, elles permettent d'éliminer les phénols (polluant toxique) en catalysant leur polymérisation (composés moins toxiques).

Les peroxydases purifiées à partir de nombreuses plantes sont constituées par une seule chaine polypeptidique. Elles ont des poids moléculaires de **30000 à 50000**. On peut les trouver dans un mêmetissu sous forme de nombreuses **iso enzymes**qu'il est facile de séparer et de purifier par électrophorèse en condition non dénaturantes et par chromatographie d'échange d'ions **[12]**.

- **Le rôle de la peroxydase dans l'élimination des produits pharmaceutiques :**

- **L'élimination de paracétamol par la peroxydase de raifort :**

Le mécanisme consiste à combiner l'activité biocatalytique de la peroxydase de raifort (HRP) avec l'adsorption sur membrane nanofibreuse. Une membrane nanofibreuseélectrofilée poly (alcool vinylique)/poly (acide acrylique)/SiO2 est préparée avec des diamètres de fibres de 200 à 300 nm. Le film est rendu insoluble par le procédé de liaison thermique. HRP, qui est pré-activé par le 1,1′-carbonyldiimidazole, il est attaché de manière covalente à la surface des nanofibres**.** Le taux d'élimination du paracétamol par HRP est jusqu'à (83,5 %) **[26]**.

- **L'élimination de carbamazépine et de diclofénac par le développement de nouveaux nanocomposites enzymatiques à base de HRP et de LiP pré-inactivés**

La synthèse a été développée via l'immobilisation et la stabilisation des enzymes sur un support solide. Les composites enzymatiques encapsulés sol-gel ont été caractérisés par microscopie électronique (MET, SEM), microscopie à force atomique, spectroscopie FTIR et analyse thermogravimétrique. La peroxydase de raifort (HRP) et la lignine peroxydase (LiP) ont été adsorbées sur des nanoparticules de magnétite et un sol-gel encapsulé dans une couche de silice de surface. L'encapsulation a amélioré la stabilité des biocatalyseurs dans le temps et la stabilité thermique. Les biocatalyseurs ont montré une sélectivité appréciable dans l'oxydation des polluants organiques de l'eau potable, le diclofénac et la carbamazépine avec une activité améliorée étant pharmaceutiquement spécifique pour chaque enzyme. En particulier, les nanocomposites à base de LiP et HRP encapsulés sol-gel ont été actifs pendant 20 cycles consécutifs pendant 20 jours à 55^0C (24 h/cycle). La stabilité des catalyseurs encapsulés sol-gel en milieu acide a également été améliorée par rapport aux enzymes natives. La carbamazépine et le diclofénac ont été dégradés à 68 % et 64 % par les composites sol-gel LiP respectivement à pH 5 et à température élevée. La destruction totale de la carbamazépine et du diclofénac a été obtenue à pH 3 (55^0C) en 3 jours **[25]**.

Les souches P. chrysosporium et S. chromofuscus sont démontré pour leur pouvoir de dégradation des colorants azotiques. Au cours de l'oxydation des colorants et de l'acide sulfanilique en utilisant l'extrait brut de peroxydases de P. chrysosporium (deux MnP et la LiP détecté dans l'extrait brut) et de S. chromofuscus, il n'y avait pas la consommation ou libération d'oxygène qui les a poussés à suggérer que l'eau ou H2O2 était l'agent d'hydroxylation qui agit sur les colorants. L'analyse des produits intermédiaires et les mécanismes de dégradation de colorant azoïque par les peroxydases ligninolytiques de P. chrysosporium et S. chromofuscus ont conduit à la conclusion que les peroxydases ligninolytiques convertissent le colorant azoïque à un radical cation qu'est sensible à l'attaque nucléophile des molécules d'eau ou de H_2O_2**[11]** .

4. Les paramètres qui influent sur la dégradation par la peroxydase :

Le pH :

Le pH initial est un paramètre très important dans ce procédé, Le pH optimal de fonctionnement de l'enzyme est celui pour lequel l'activité enzymatique est maximale**[22].**

Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 :

La peroxydase utilise le peroxyde d'hydrogène pour oxyder un substrat «chromogène», c'est-à-dire donnant un produit dosable par colorimétrie **[21].**

- **La température :**

La température optimale de catalyse est la température pour laquelle la vitesse de la réaction catalysée est maximale. Elle varie selon l'enzyme considérée, mais elle est caractéristique d'une enzyme donnée. Dans les cellules humaines, cette température optimale est proche de 37 degrés Celsius. Si la température du milieu augmente au-delà de 40 degrés, l'enzyme peut être dénaturée, c'est-à-dire qu'elle perd sa configuration spatiale et qu'elle cesse de catalyser la réaction chimique**[22].**

- **La dose d'enzyme :**

L'activité enzymatique augmente plus on augmente la quantité d'enzyme **[23].**

5. Exemples de dégradation enzymatique des produits pharmaceutiques :

5.1. Dégradation de diclofénac et l'ibuprofène par l'enzyme de laccase (Lac) :

La laccase est un complexe de phénol oxydase contenant du cuivre, qui peut oxyder des substrats riches en électrons d'origine phénolique et non phénolique avec une réduction concomitante de l'oxygène dans l'eau par un mécanisme de réaction catalytique radicale. Les laccases se trouvent dans les plantes supérieures, les champignons, les bactéries et les insectes, et le groupe d'enzymes le plus étudié à ce jour est d'origine fongique,

La laccase est l'une des enzymes utilisées dans l'élimination des substances pharmaceutiques dans l'environnement et les eaux usées

Le diclofénac et l'ibuprofène ont été choisis pour étudier leur dégradation de la laccase, car ce sont deux médicaments qui apparaissent abondamment dans les analyses des eaux usées en raison de leur forte consommation comme anti-inflammatoire et analgésique. Un échantillon représentatif en tant que substance active commune a été évalué expérimentalement pour l'évaluation de la dégradation biologique mineure, en utilisant la lactase brute des espèces Trametes. Les meilleurs résultats ont été obtenus lorsque l'enzyme brute a été précipitée par la méthode à 60 % d'acétone. Il a trouvé que l'activité spécifique

était de 0,67 (unités/mg) et a montré qu'elle peut être exploitée pour faire face à la réduction des déchets pharmaceutiques dangereux**[27]**.

5.2. Dégradation par peroxydase couplée avec leglucose oxydase (GOD) :

Il s'agit d'une flavoprotéine de 130 à 175 kDa qui catalyse, en présence d'oxygène comme accepteur d'électrons, la conversion du -D-glucose en D-glucono-δ-lactone, elle-même hydrolysée non enzymatiquement. , en tant que sous-produit, il génère du peroxyde d'hydrogène.

Son cycle catalytique se fait par l'oxydation du β-D-glucose en D-glucono-δ-lactone, qui s'accompagne par la réduction de l'anneau de flavine adénine dinucléotide (FAD) de la GOD en FADH2, l'oxygène oxyde alors la GOD qui retrouve son état initial et génère du peroxyde d'hydrogène.

Son utilisation en traitement des eaux a été rapportée pour l'élimination d'un colorant (vert de malachite), le peroxyde généré étant utilisé dans une réaction de Fenton, ou comme enzyme de support fournissant le peroxyde d'hydrogène pour un traitement par la versatile peroxydase **[14]**.

Partie Expérimentale

Chapitre III : méthodes et matériels

Chapitre III : méthodes et matériels

Introduction :

Ce chapitre expose le matériel, les réactifs utilisés, la procédure et le protocole expérimental concernant les tests effectués sur la dégradation du paracétamol par la peroxydase de navet.

III.1 Produits chimiques et matériel utilisés :

III.1.1 Produits chimiques :

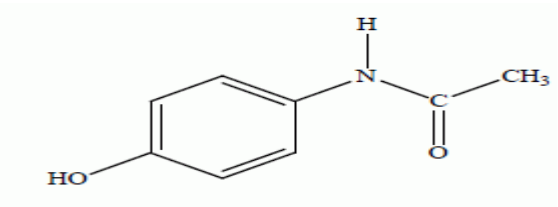
Tableau III.1 : Les produits chimiques

Composés	Formule	Pureté
Paracétamol	$C_8H_9NO_2$	commercial
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2	• d=1.13 g /ml • M=34 g/mol Pureté=35%
Guaïacol	$C_7H_8O_2$	• d=1.1029 • M=124g/mol • Pureté=100%
Eau distillée	H_2O	

Tableau III.2 : Les solutions utilisées

La solution	La composition
Tampon pH4	pH 4,00 (± 0,02 / 20°C) Citrate-NaCl-NaOH
Tampon pH5	pH 5,00 (± 0,02 / 20 ° C) Citrate-NaOH
Tampon pH7	pH 7.0 (± 0,02 / 20^0C), phosphate
Tampon pH9	pH 9.0(20^0C), Sodium tetra-borate

Les caractéristiques du paracétamol [2] :

Nom chimique	N-acétyl-para-aminophénol (NAPAP). Para-acétaminophénol. Acétaminophène. Hydroxy-4-acétanilide
Formule brute	C8H9NO2
Formule développée 	Sa formule développée est composée d'un cycle benzénique, à lequel des groupements hydroxyle et amide sont attachés
Classe chimique	Il appartient à la classe des dérivés de l'aniline
Propriétés physicochimiques	Le paracétamol est un acide faible par son pKa est de 9,5 à 25°C. Masse molaire 151,2 g/mol. Point de fusion à 168-172°C. Densité ; d=12. Le paracétamol se présente sous la forme d'une poudre cristalline blanche, inodore, de saveur amère. La solubilité dans l'eau à 20°C est de 1,2g pour 100ml. Sa liposolubilité est relativement faible.
Classe thérapeutique	Il est inclus dans la catégorie des analgésiques et antipyrétiques. et des anticoagulants
Forme galénique	Il existe plus de 600 produits contenant du paracétamol Commercialisés.

III.1.2 Matériel utilisé :

Tableau III.3 : Appareils et instruments

L'appareil	La marque
Agitateur chauffant	Stuart
L'étuve	Memmert
Spectrométrie UV-Vis	UVmini-1240
pH mètre	STARTER 3100

- **Verrerie classique**

III.2. Protocole expérimentale :

La méthodologie adoptée pour l'étude de la dégradation enzymatique du paracétamol par la peroxydase de navet consiste à extraire la peroxydase et de la mettre en contact avec une solution de paracétamol en présence de peroxyde d'hydrogène.

L'évolution de la réaction sera suivie par la mesure de l'absorbance dans le domaine UV sous différentes conditions opératoires. Le rendement de la réaction sera évalué par rapport à la concentration initiale.

L'étude sera menée en faisant varier un paramètre à la fois : le pH, la température, la concentration en peroxyde d'hydrogène, la dose d'enzyme et la concentration en paracétamol.

III.2.1. Préparation de solutions :

A / Préparation de la solution H_2O_2 de concentration (10 mM) :

Pour l'obtention de la solution 10mM, on met 8.6ml de cette solution dans 100ml d'eau distillée.

B/ Préparation de la solution gaïacol de concentration (10mM) :

Pour préparer une solution de 10mM, on prend 1,12 ml de cette solution et on dilue dans 100ml d'eau distillée.

C/ Préparation des solutions paracétamol :

La solution mère 500mg/l :

La solution est préparée à partir d'un sachet de paracétamol (commercial, Supramol) de concentration 500mg/l dans 1 litre d'eau distillée ou dans le tampon approprié.

Des solutions à des concentrations 25, 50, 75 et 100 mg/L sont obtenues par dilutions de la solution mère

III.2.2. Préparation de l'extrait enzymatique :

L'extraction se fait à partir du navet blanc**[17]**

- Prendre une racine de navet frais,
- Laver avec de l'eau courante puis à l'eau distillée.
- Eplucher et découper le fruit en petits morceaux.
- Peser approximativement une masse 100 g, puis broyer dans un mixeur. On obtient une solution avec suspension solide,
- Filtrer le mélange sur papier filtre ou sur une gaze pour obtenir l'extrait enzymatique, puis conserver le dans le réfrigérateur pendant 2 heures au minimum.
- La solution enzymatique utilisée pour les essais a été préparée à partir de5 ml de l'extrait dilué dans 100 ml de tampon pH7.

III.2.3. Détermination de l'activité de peroxydase :

L'activité de la peroxydase a été déterminée par la méthode colorimétrique avec le spectrophotomètre à longueur d'onde de **470nm** en suivant l'oxydation de l'acide 3-méthoxy-phénol (gaïacol) en présence de H_2O_2**[18].** Le milieu réactionnel était composéde :

- 0.5 ml solution enzymatique
- 0.5 ml de gaïacol 10mM
- 1ml de la solution tampon pH=5
- 0.5 ml de peroxyde d'hydrogène 10mM

La réaction est initiée par ajout du peroxyde d'hydrogène dans la cuve du spectrophotomètre contenant les autres composants.

On met le mélange dans le spectrophotomètre UV-Vis et on suit le développement de la couleur et on noter la densité optique (DO) toutes les 30 secondes pendant 3 minutes.

En traçant le graphe de l'absorbance en fonction du temps, on détermine l'activité, exprimée par la variation de la densité optique par rapport au temps ($\Delta(DO)/\Delta t$), à partir de la partie linéaire du graphe.

III.2.4.La détermination de la longueur d'onde à absorption maximale de la solution de paracétamol

La concentration de paracétamol (solution incolore) dans le milieu est suivie par spectrophotométrie dans le domaine Ultra-violet **[19]**.

Pour cela, la longueur d'onde pour obtenir le maximum d'absorption (λmax) a été déterminée en faisant unbalayage dans la zone UV (190-350nm), sur un échantillon de solution ayant une concentration déterminée mis dans une cuve de quartz.

III.2.5.1.Courbe d'étalonnage :

La courbe d'étalonnage, (D.O.) en fonction de la concentration en paracétamol, a été réalisée en variant la concentration du paracétamol de 25mg/L jusqu'à 100mg/L et pour chacune des solutions on mesure l'absorbance initiale à longueur d'onde maximale λmax.

III.2.5.2.Essais de dégradation enzymatique du paracétamol :

L'essai a été réalisé en introduisant dans quatre tubes à essai différents volumes de la solution mère de paracétamol (0.5, 1, 1.5, 2) ml pour obtenir la concentration souhaitée (25, 50, 75, 100) mg/l dans un volume 10 ml de mélangeajusté avec 1ml de tampon pH=7 et 1ml H_2O_2 (1mM). La réaction est initiée en ajoutant 1 ml de solution enzymatique diluée.

Après 1 heure de contact, la concentration résiduelle en paracétamol est estimée à partir de la courbe d'étalonnage, en mesurant la DO à λmax.

Le rendement de la réaction de dégradation du paracétamol R (%) a été estimé par la relation suivante :

$$R\ (\%) = (Co - C_t)/Co$$

Où :

Co (mg/l) : la concentration en paracétamol à t=0

C_t (mg/l) : La concentration en paracétamol à l'instant t

III.2.6. Effets des paramètres qui influent sur la dégradation de paracétamol par la peroxydase :

Les effets de variation de pH, température, dose de peroxyde, dose d'enzyme, concentration en paracétamol sur le rendement de la réactiona été étudié en adoptant une approche de variation d'un seul facteur à la fois, en fixant les autres facteurs à une valeur prédéterminée. La valeur de la variable donnant le meilleur rendement de dégradation sera adopté pour la suite de l'étude.

III.2.6.1.Effet de pH :

L'expérience a été menée avec des solutions de pH initial de 4, 5, 7 et 9.

On prend 4 tubes a essais et on met dans chaque tube la solution paracétamol 50mg/l **(**1ml de la solution mère 500mg/l et on complète avec le tampon jusqu'à 10mlen ajoutantà chaque tube un tampon différent (7ml) et :

- 1ml de l'enzyme (la solution mère).
- 1ml de H_2O_2 (1mM).

Le mélange est incubé pendant 1 heure à la température ambiante.

La concentration résiduelle en paracétamol est estimée en mesurant l'absorbance à λmax pour chacune des solutions. Le pH optimal sera celui donnant le meilleur rendement.

III.2.6.2. Effet de température :

Cette expérience a été effectuée en variant la température de la solution de (25^0C à 60^0C).

Dans quatre tubes à essai on met :

- 1ml de la solution mère de paracétamol (500mg/l).
- 1ml de l'enzyme (la solution mère).
- 1ml de H_2O_2 (1mM).

- **7**ml de tampon pH optimal.

Le mélange est incubé dans l'étuve à température fixée pendant 1 heure.

La concentration résiduelle en paracétamol est estimée en mesurant l'absorbance à λmax pour chacune des solutions. La température optimale sera celle donnant le meilleur rendement.

III.2.6.3. Effet de la concentration de H_2O_2 :

L'expérience aétéeffectuée en variant la concentration de H_2O_2 (5, 10, 15,20mM) dans le mélange et on suivant son effet sur la dégradation du paracétamol.

Le mélange réactionnel contient :

- 1ml de la solution mère de paracétamol (500mg/l).
- 1ml de l'enzyme (la solution mère).
- **7**ml de tampon aupH optimal.

Le mélange est incubé pendant 1 heure dans l'étuve réglée à la température optimale obtenue préalablement.

La concentration résiduelle en paracétamol est estimée en mesurant l'absorbance à λmax pour chacune des solutions. La concentration optimale en H_2O_2 sera celle donnant le meilleur rendement.

III.2.6.4. Effet de la dose d'enzyme :

L'expérience est répétée en faisant varier la dose d'enzyme dans le milieu réactionnel par ajout de différents volumes (0.5, 1, 1.5, 2 ml)et

- 1ml de la solution mère de paracétamol (500mg/l).
- **7**ml de tampon pH optimal.
- 1ml de H_2O_2à la concentration optimale.

Le mélange est incubé pendant 1 heure dans l'étuve réglée à la température optimale obtenue préalablement.

La concentration résiduelle en paracétamol est estimée en mesurant l'absorbance à λmax pour chacune des solutions. La dose optimale en peroxydase brut sera celle donnant le meilleur rendement.

Et pour connaître l'efficacité de l'enzyme sur cette dégradation on fait un test témoin (sans enzyme).

III.2.7. Etude de la cinétique de dégradation enzymatique du paracétamol :

La dégradation enzymatique pour différentes concentrations initiales enparacétamol a été suivie au-cours du temps sous les conditions optimales obtenues.

Pour cela, différentes solutions (100ml) paracétamol de concentrations (25, 50, 75,100 mg/l) ont été préparées au pH optimal dans des erlenmeyers de 250mL, auxquelles on ajoute les quantités adéquates pour obtenir les doses optimalesd'enzyme et de H_2O_2.

Les solutions sont disposées sous agitation dans un bain marie àla température optimale. La réaction est initiée en ajoutant le peroxyde d'hydrogène.

A des intervalles de temps de 5 min et pendant une heure, on prélève 3mL de la solution pour mesurer la densité optique et par la suite obtenir la concentration résiduelle en paracétamol.

Chapitre IV : Résultats et discussions

Introduction :

Ce chapitre présente les résultats et leurs interprétations concernant la dégradation de paracétamol par la peroxydase de navet.

IV.1. L'activité enzymatique :

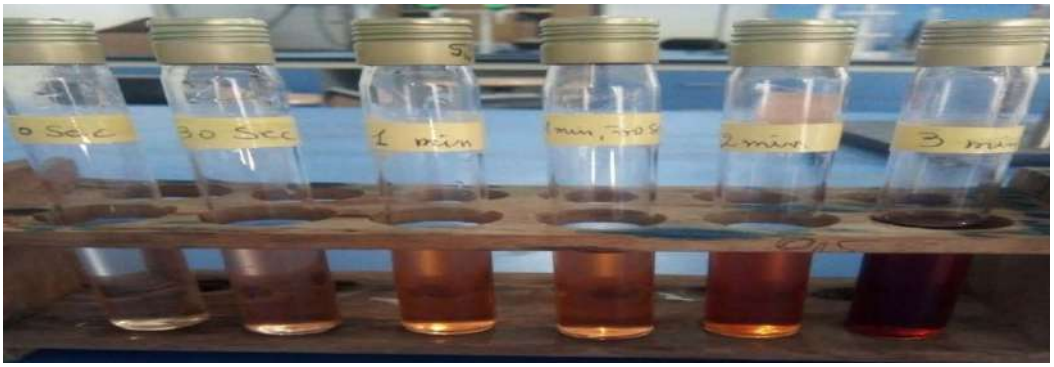


Figure IV.1 : développement de la couleur de l'activité enzymatique

La figure IV.1 présente le développement de la couleur de la solution de gaïacol avec le peroxyde d'hydrogène en présence de l'extrait de peroxydase, au cours des trois premières minutes. On constate que la couleur de la solution se concentre avec le temps.

La figure IV.1 donne les mesures de la D.O de la solution à 470nm.

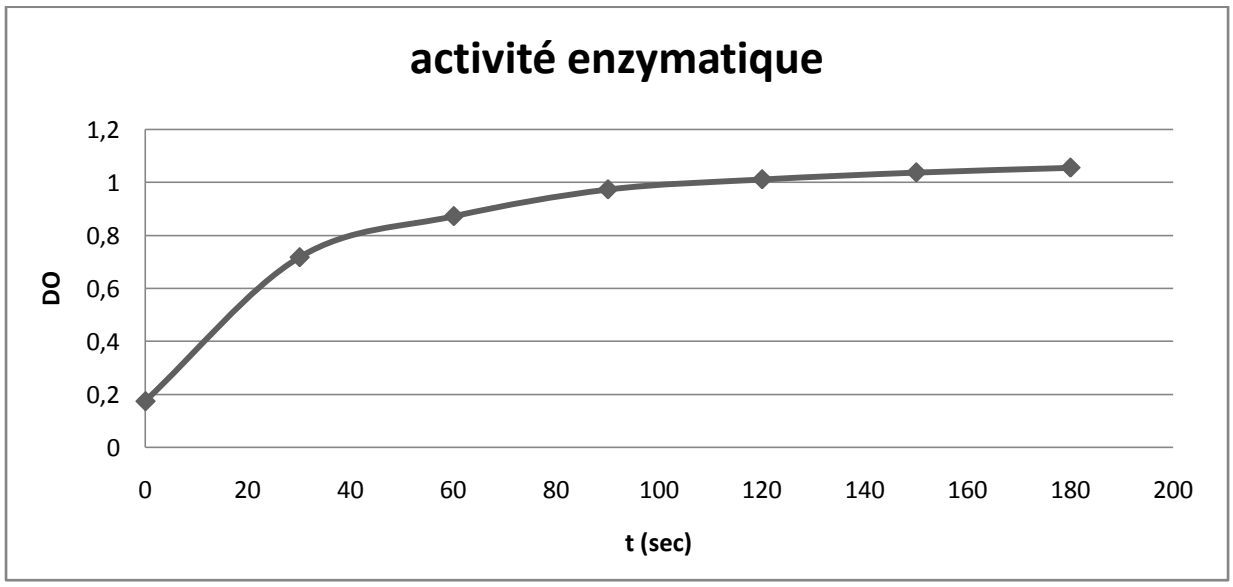


Figure IV.2 : Activité enzymatique de la peroxydase de navet mesurée à l'aide du test au guaiacol.

Calcul de l'activité enzymatique relativement à la variation de la densité optique :

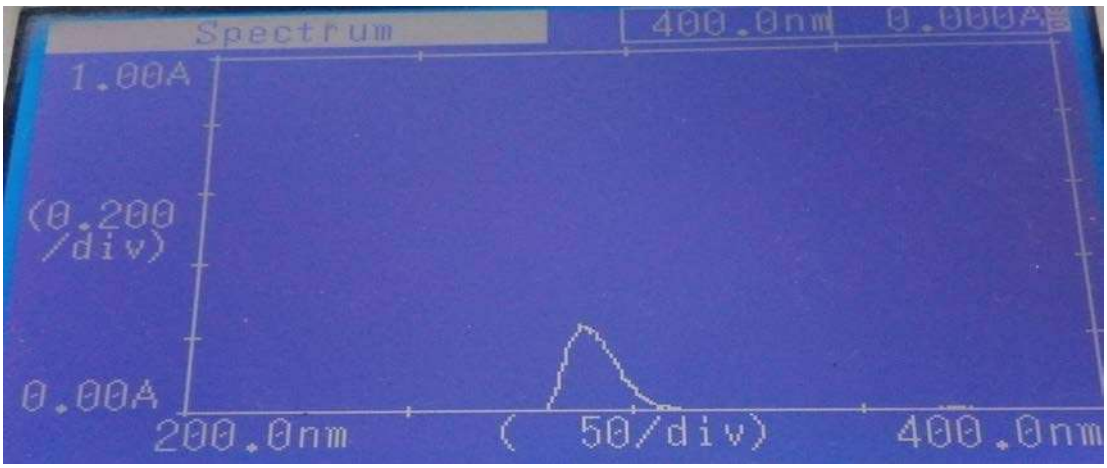
$A = \Delta DO/\Delta t$

$A = 0.718-0.175/30-0$

$A=0.0181\ s^{-1}$

IV.2. Longueur d'onde maximale de l'absorption de paracétamol:

Le spectre d'absorption de la solution de paracétamol enregistré dans le domaine UV (200-390nm) est représenté sur la figureIV.3.



FigureIV.3 : Spectre représentant la longueur d'onde à absorption maximale de la solution de paracétamol.

A partir le spectre on remarque que le pic qui à la longueur d'onde de 288.5 nm donc :

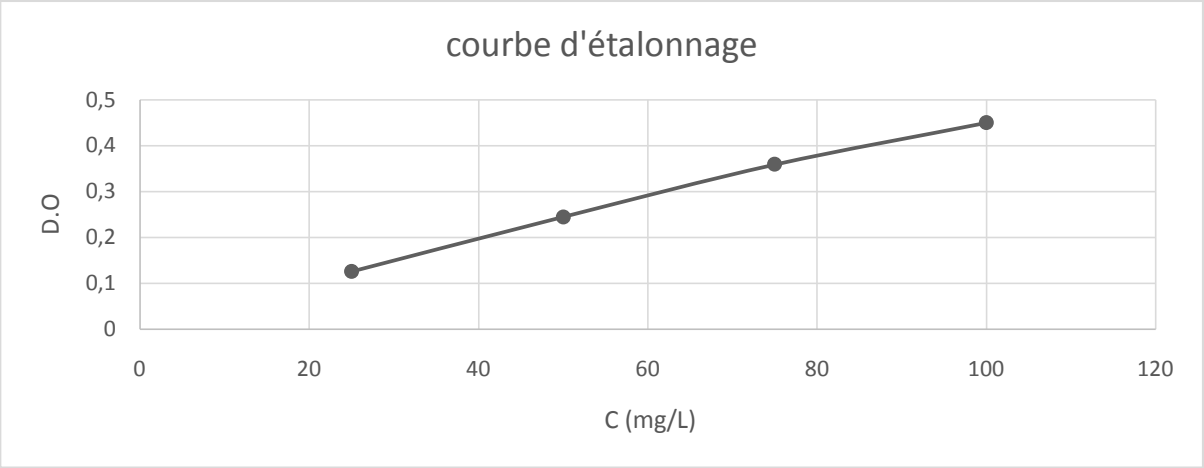
$\lambda max=288.5$ nm

À : D.O = 0.226

IV.3. Etude de la dégradation enzymatique du paracétamol par la peroxydase de navet

IV.3.1. Essai préliminaire de l'effet de la concentration initiale du paracétamol :

La courbe d'étalonnage : Le tracé de la courbe d'étalonnage (D.O.) à la longueur d'onde 288.5nm est représenté sur la figure IV.4.



FigureIV.4 : courbe d'étalonnage donnant la D.O. à 288nm en fonction de la concentration en paracétamol.

La courbe obtenue donne une droite qui passe par l'origine, la droite formée permet de calculer les concentrations résiduelles des solutions obtenues après l'absorption de paracétamol par la peroxydase de navet.

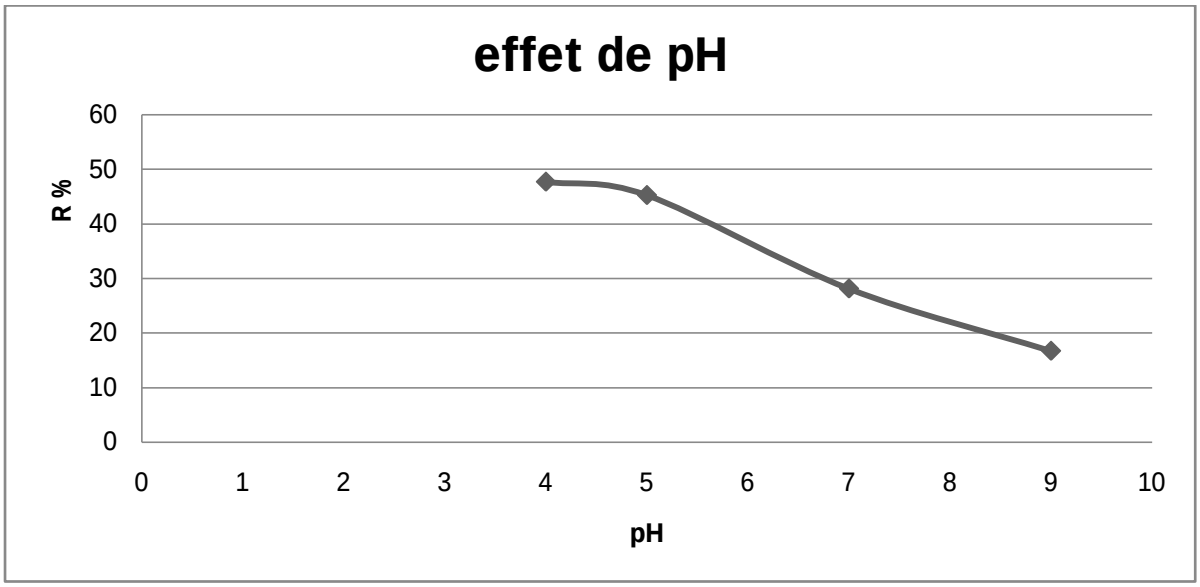
TableauIV.1 : Essai préliminaire de dégradation du paracétamol à différentes concentrations initiales

C (mg/l)	25	50	75	100
R (%)	100	73.46	47.3	37.5

A partir des préliminaires, on remarque que plus la concentration de paracétamol est élevée, plus le taux de dégradation est faible, la dégradation est totale pour la concentration initiale de 25 mg/l. Ceci peut être dû à une dose faible d'enzyme, de H_2O_2 ou des paramètres pH et température. Cet essai permet de cerner approximativement l'intervalle de l'étude.

IV.4. Effets des paramètres qui influent sur la dégradation de paracétamol :

IV.4.1. Effet de pH :



FigureIV.5 : effet de pH sur le rendement de dégradation de paracétamol.

Les résultats sur la figure IV.5indiquent une augmentation de la dégradation de paracétamol pour une valeur de pH égale à 4, à cette valeur limite un meilleur rendement d'élimination de paracétamol est obtenu (47.75 %).Par la suite, il diminue pour atteindre un rendement de 16.73%.Chaque enzyme a un pH optimal auquel la vitesse de réaction est maximale. Ainsi, le pH optimal pour une enzyme dépend de l'endroit où elle fonctionne normalement.

IV.4.2. L'effet de la température sur la dégradation de paracétamol :

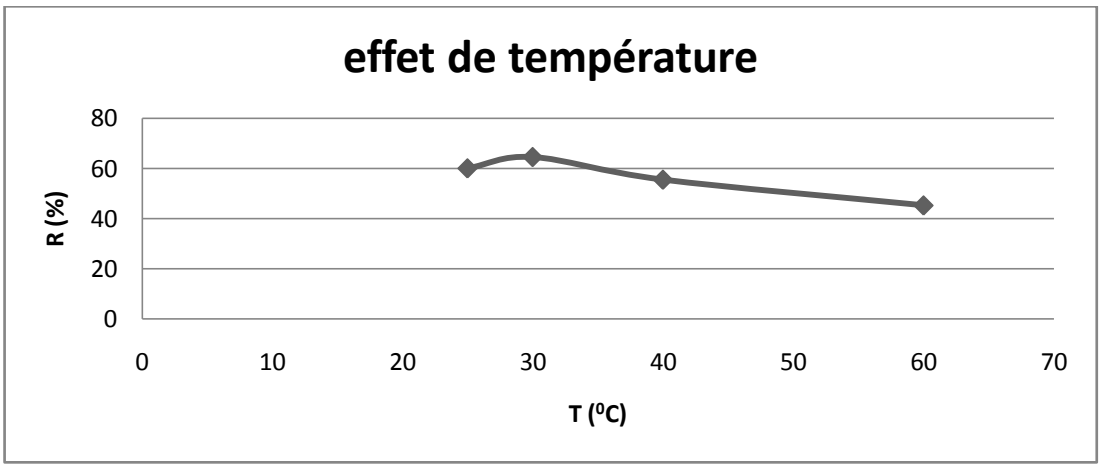
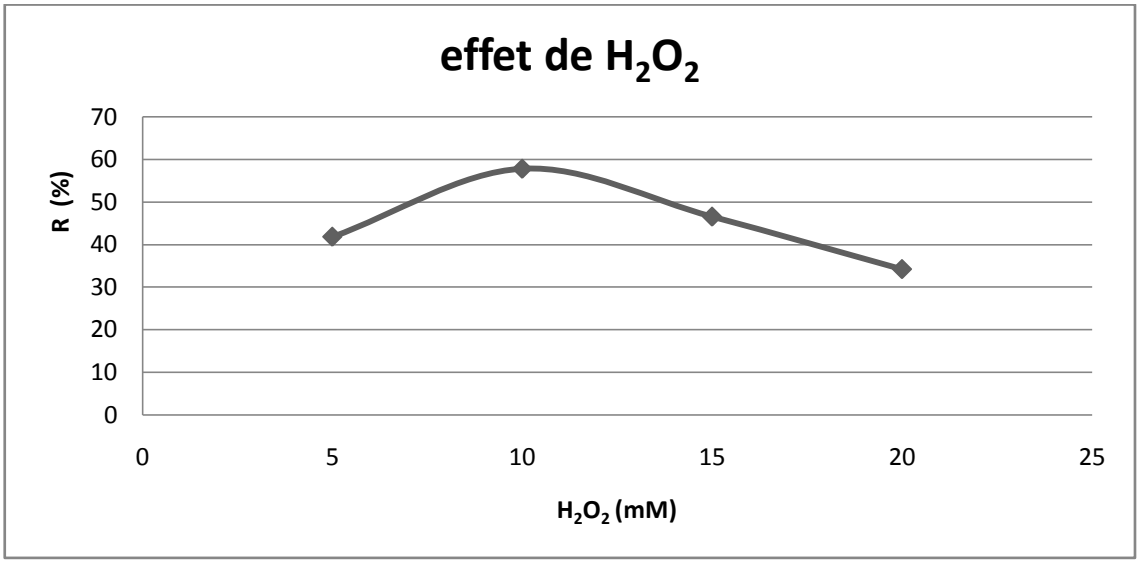


Figure IV.6 :effet de la températuresur la dégradation de paracétamol

Dans cette figure les résultats indiquent une augmentation de la dégradation de paracétamol pour une température de 30^0Cqui atteint à 64.48% (à pH : 4, C_{H2O2}=1mM, V_{enzyme}=1ml).Ensuite, avec l'augmentation de la température, l'effet de l'enzyme sur la dégradation du paracétamol diminue. Cela explique que les températures très élevées dénaturent les enzymes, ce qui signifie qu'un excès d'énergie brise les liaisons qui maintiennent leur structure, les empêchant de fonctionner de manière optimale.

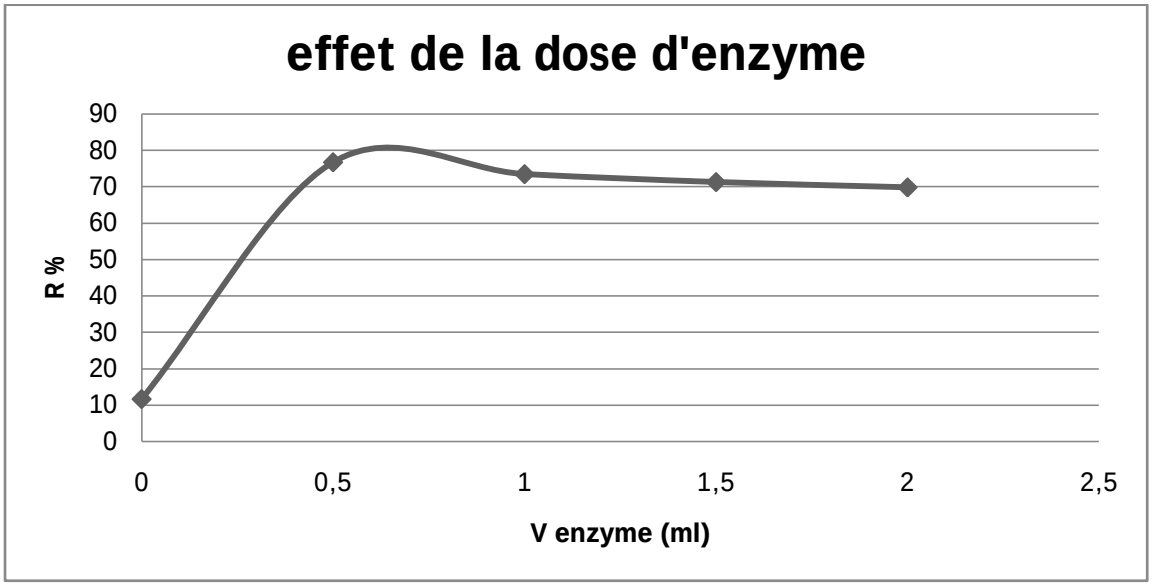
IV.4.3.Effet de la concentration de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 sur la dégradation de paracétamol :



FigureIV.7 : effet de la concentration de H_2O_2 sur la dégradation de paracétamol

Les résultats sur la figure IV.7, indiquent une augmentation de rendement de la dégradation à la concentration de 1mM, donc la concentration optimale qui nous utilisons la dans l'essai de dégradation est 1mM.

IV.4.4. L'effet de la dose d'enzyme sur la dégradation de paracétamol :



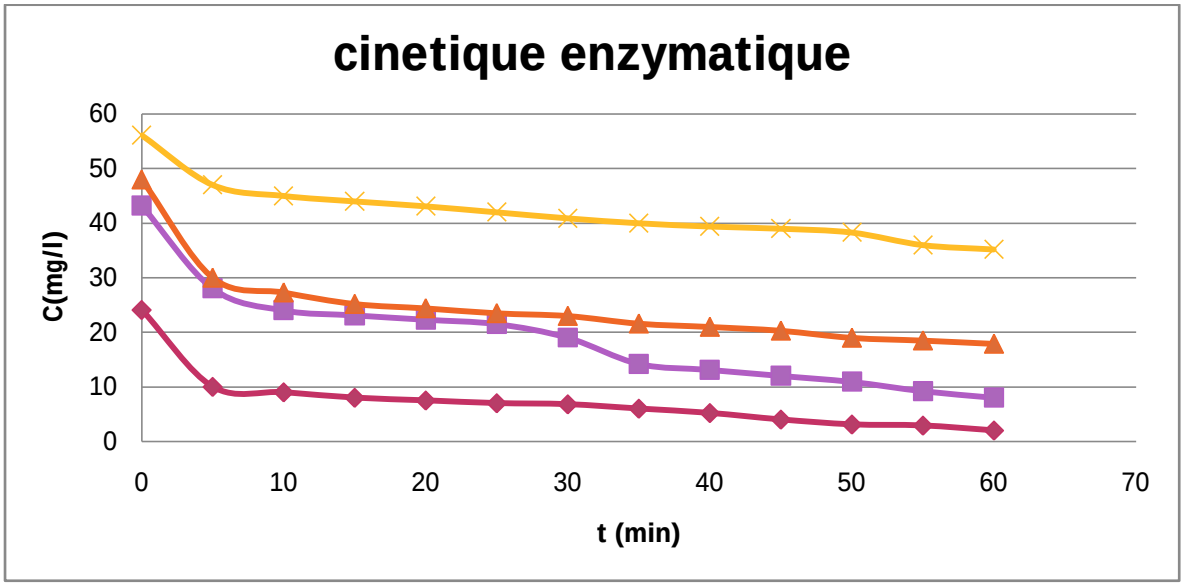
FigureIV.8 : effet de la dose d'enzyme la dégradation de paracétamol

.Les résultats illustrés dans la figure IV.8 indiquent un très bon rendement de la dégradation de paracétamol où il dépassé70% pour les volumes (0.5, 1, 1.5) ml de l'enzyme, et atteint à 69.81%pour le volume de 2ml, les résultats sont presque égaux pour les volumes précédents d'enzyme. Cela explique que lorsque l'enzyme atteint une certaine concentration, le taux de son effet devient constant. Le volume optimal de l'enzyme pour la bonne dégradation est de 0.5 ml.

Après avoir étudié l'effet de ces paramètres, nous concluons qu'ils ont un effet notable sur la dégradation du paracétamol car le taux de dégradation a augmenté de47.75% à 76.7%.

Le procédé de dégradation du paracétamol par la peroxydase de navet est réalisé d'une manière optimale sous les conditions suivantes (pH : 4, température : 30^0C, concentration de H_2O_2 : 1mM, la dose d'enzyme : 0.5ml).

Ces résultats sont comparables avec ceux obtenus par d'autres auteurs**[24]**, en utilisant la peroxydase de raifort (HRP) à pH 4 et à température 30^0C, et les taux d'élimination du paracétamol ont atteint un maximum de 77,5 %.



FigureIV.9 : Cinétique de dégradation enzymatique du paracétamol sous les conditions optimales (pH : 4, température : 30^0C, concentration de H_2O_2 : 1mM, la dose d'enzyme : 0.5ml.)

A partir des résultats illustrés sur la figure II.9, on remarque que la concentration de paracétamol diminue avec le temps. Comparativement, pour la concentration de 25mg/l la concentration de paracétamol diminue à 2 mg/l, la concentration de 50mg/l diminue à 8 mg/l, la concentration de 75mg/l diminue à 17.9 mg/l, la concentration 100 mg/l diminue à 35.2 mg/l (après une heure).Cela indique l'efficacité du peroxyde de navet pour éliminer le paracétamol.

Conclusion générale

Conclusion Générale

Le but de ce travail était d'évaluer la dégradation du paracétamol à l'aide de la peroxydase de navet. Une approche de variation d'un seul facteur à la fois a été adoptée pour étudier l'influence de certains facteurs affectant ce processus, à savoir le pH, la concentration en peroxyde d'hydrogène, la concentration en paracétamol, la dose d'enzyme et la température.

Il a été constaté à travers les résultats que l'efficacité augmente en conditions moyennement acides à pH=4, à température 30 °C, à concentration en peroxyde d'hydrogène de (1 mM), et à volume de 0.5ml de la solution mère de l'enzyme. Sous ces conditions optimales, le rendement de dégradation de paracétamol était de 76.2% pour une concentration initiale en paracétamol de 50mg/L.

L'étude cinétique de la dégradation à différentes concentrations initiales en paracétamol (25, 50 75, 100) mg/l) a permis de démontrer que le rendement maximal est atteint au bout d'une heure, sous les conditions optimales des facteurs qui affectent la dégradation du paracétamol.

Donc, nous concluons que ce procédé élimine partiellement le paracétamol en solution aqueuse sous des conditions très modérées et avec des matériaux naturels et peu coûteux. Et donne un rendement acceptable pour la dégradation du paracétamol.

L'extraction de la peroxydase de navet qui ne coûte pas cher et qui ne demande qu'une source naturelle et presque gratuite pour son actioncatalytique de dégradation des substrats,est un bon travail et une bonne innovation. Il pourra être largement appliqué dans les prochains travaux de l'épuration des eaux et pourquoi pas à l'utiliser dans les unités de traitement des eaux dans les industries.Où il peut protéger l'environnement et être moins cher que d'autres méthodes traditionnelles.

Références

Références

[1] : Thierry Moreau Defarges, Michel Guerbet, Jacques Massol, Impact des médicaments sur l'environnement : état des lieux, évaluation des risques, communication. Thérapie. Vol 66 - N° 4. P. 335-340. 2011.

[2] :M^{elle}AbdedaiemDjahida et M r M'zouri Abbes, Dégradation d'un polluant organique par des procédés d'oxydation avancée, mémoire de master, Université Ahmed Draïa– Adrar, soutenu en 2020.

[3] : Nicole Baran, Anne Togolaet Laurence Amalric. Polluants émergents : un risque pour les eaux souterraines ?, 2008

[4] : TECHNIQUE DE L'ADSORPTION, Techniques de réduction des émissions atmosphériques industrielles, Fiche technique sept 2018.

[5] : Etude sur les coûts de la réduction des rejets de substances toxiques – Fiches Traitements, Agence de l'Eau (maître d'ouvrage), étude réalisée par IRH en 2011

[6] : Dr Adriano Joss, Marc Böhler, Fiche d'information – Ozonation, Eawag : L'Institut de recherche sur l'eau du domaine des EPF, Avril 2012.

[7] : LABANI ALI, Dégradation des chlorophénols par des procédés photocatalytique homogènes et hétérogènes, mémoire de master, université Ferhat Abbas, soutenu le 23 /09/2012.

Références

[8] : François Zaviska, Patrick Drogui, Guy Mercier et Jean-François Blais. Procédés d'oxydation avancée dans le traitement des eaux et des effluents industriels. Revue des sciences de l'eau Journal of Water Science. Volume 22.N°4, 2009.P. 535–564. 5 juil. 2021.

[9] : Médicaments et environnement, Rapport de l'Académie nationale de Pharmacie, adopté par le Conseil d'Administration du 10 avril 2019.

[10] : Bouabdallah Fouzia, utilisation des biomatériaux dans le traitement des eaux, mémoire master. Université ABOU-BEKR BELKAID – TLEMCEN. Soutenue le 25 juin 2018.

[11] : CHERIFI FATIMA, Les peroxydases chez les bactéries, mémoire de master, Université Abderrahmane Mira de Bejaïa, 2014-2015.

[12] : Site web des enseignent, peroxydase, travail pratique, détermination du mécanisme de catalyse et étude de la structure 3D : module biochimie, génétique et amélioration des plantes. Université cadi Ayyad MARRAKECH.

[13] : Dr. SEDDIKI, ENZYMOLOGIE, Cours L3 Génétique 2019-2020.Université Oran 1 Ahmed Ben Bella.

[14] : Imad Eddine TOUAHAR, SYNTHÈSE DE BIOCATALYSEURS VERSATILES POUR L'ÉLIMINATION DE POLLUANTS ÉMERGENTS DES EAUX USÉE, mémoire de maîtrise, université de SHEROOKE, Mai 2014.

[15] : Nadia CHEKIR, application des procédés d'oxydation avancés et des rayonnements solaires au traitement des polluants émergents, thèse de Doctorat, Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene, soutenu le 18/02/2015

Références

[16] : Ana Luisa ParraGuardado,enzymatic degradation of recalcitrant pharmaceutical micropollutants. Thèse, université Montpellier, 2019.

[17] : TP, Influence de la concentration de substrat sur l'activité enzymatique, http://morandsvt.fr

[18] : Mamounata DIAO, RamatouHawan DEMBELE, Kiessoun KONATE et Mamoudou H. DICKO1, Etude comparative des peroxydases de dix (10) plantes supérieures couramment rencontrées au Burkina Faso,International Journal of Biological and Chemical Sciences Vol. 13 N^{o}. 6 (2019).

[19] : Aline Gratien. Spectroscopie ultraviolet-visible et infrarouge de molécules clés atmosphériques. Thèse. Université Paris-Est, 2008.

[20] : J.M. Choubert, Y. Penru, B. Mathon, A. Guillon, M. Esperanza, et al. Élimination de substances prioritaires et émergentes des eaux résiduaires urbaines par Rapport final du projet MICROPOLIS-PROCEDES, Rapport de recherche irstea.pp.167. 2017

[21] : Guy DURLIAT. Catalyse enzymatique de la dismutation du peroxyde d'hydrogène. Bulletin de l'union des physiciens. Vol 90. N°781. P345.Février 1996.

[22] : maxicours. Les enzymes sont influencées par le milieu, https://www.maxicours.com

[23] : Evaluation de l'activité enzymatique des Enzymes michaeliennes et des enzymes allostériques. Biochimie. Bases et Applications en biotechnologies. Http://www.takween.com

[24] : Ran Xu, Yi fang Si Fengting Li Bingru Zhang. Enzymatic removal of paracetamol from aqueous phase,Environmental Science & Pollution Research. Vol.22.N°5.P3838-3846. 9p. Mar2015.

Références

[25]:evgen V. Pylypchuk, Geoffrey Daniel ,Vadim G. Kessler and Gulaim A. SeisenbaeIva Removal of Diclofenac, Paracetamol, and Carbamazepine from Model Aqueous Solutions by Magnetic Sol–Gel Encapsulated Horseradish Peroxidase and Lignin Peroxidase Composites. Nanomaterials.Vol.10.N°2.P.282, 2020.

[26] : Xu, R., Si, Y., Li, F. *et al.* Enzymatic removal of paracetamol from aqueous phase: horseradish peroxidase immobilized on nanofibrous membranes Environ *SciPollut.* Vol.22. N°5. PP.38-46, 2015.

[27]: Yusnidar Yusuf, Fitriani, FitriYuniarti, PRELIMINARY STUDY ONENZYMATIC DEGRADATION OF MODEL OF PHARMACEUTICALWASTE BY LACCASE FROM TRAMETES SP. Journal of Critical Reviews.Vol.7 N°1. PP.205-208, 2020.