RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE Dr. YAHIA FARES DE - MÉDÉA -

FACULTÉ DES SCIENCES

DÉPARTEMENT : DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Mémoire de Master

Domaine : Science de la Nature et de la vie

Filière : Science Biologique

Spécialité/Option : Microbiologie Appliquée

Thème :

Etude de l'élimination du colorant, Rouge de Congo par biosorption en utilisant une biomasse algale (Cyanobactérie)

Présenté et soutenu par :

- **LAMRI Mourad**
- **ARRADJ Farouk**
- **YAGOUB Nassima Salima**

Proposé et Dirigé par :

Dr, TIR Mohamed

Dr, AINAS Mahfoud

Soutenu le 24/06/2024 devant le jury composé de :

Président : ATSAMNIA. D	MCA	Université de Médéa
Examinateur : KIRDI. B	MAA	Université de Médéa
Encadreur : TIR. M	MCA	Université de Médéa
Co-Encadreur : AINAS. M	MCA	Université de Médéa

Année universitaire : 2023 - 2024

Remerciement

*Avant toute chose, nous remercions **Allah** tout puissant, pour nous avoir donnée la force et la patience.*

*Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de recherche département de sciences biologiques **université Yahia Farés Médéa***

Ce présent travail de mémoire de fin d'étude n'a pu aboutir que grâce à la conjugaison des efforts de plusieurs personnes à qui on exprime notre profonde gratitude, a tous ceux qui nous ont encouragé à poursuivre nous études, ceux qui nous ont accompagnés dans ce parcourt, que ce sont dans notre travail de recherche jusqu'à terme du présent mémoire.

*Tout d'abord nous tenons à remercier notre promoteur Mr le docteur « **Tir Mohammed** » Et monsieur le Dr «**Ainas Mahfoud** » notre enseignant et notre promoteur pour avoir accepté de s'investir corps et âme avec rigueur scientifique pour la direction de ce mémoire, nous adressent NOS remercîments et notre gratitude.*

*Nos remerciant le président ainsi que **les Monsieur membres de jurys** pour l'honneur qu'ils nous ont fait d'accepter de jury ce travail.*

Et Nous tenons à remercier toutes les familles et amis qui nous ont soutenu et encouragé pendant toutes ces années d'études.

*Enfin nous voutons dire merci à tous **les enseignants du département de biologie**.*

Université de Yahia Farés

Dédicace

A mes très chers parents, source de vie,

D'amour et d'affection

A mes chers frères et leurs enfants, source de joie et de bonheur

A Mr ***Ainas*** *et Mr* ***Tir*** *et Mr* ***Lamri***

*A tous mes amis, tout particulièrement (Mourad****, Mahfoudh, Ziad, Oussama, Droupy, Wassim, Hocine, Majda, Wiem)***

Et enfin, A tous ceux que j'aime et qui m'aiment.

Merci à tous et à toutes

Obito

Dédicace

Dieu soit loué, beaucoup de bons et bénis remerciements à Lui, et après mon retour du point le plus éloigné en obtenant un diplôme d'études universitaires appliquées en biologie à l'université Saad Dahlab de Blida, lors de la saison 2007, après avoir interrompu mes études pendant une très longue période. Pendant une longue période de 15 ans, et grâce à Dieu et avec détermination, j'ai complété mon parcours académique, sans oublier les efforts de chacun (le personnel enseignant, mes collègues), qu'ils soient proches ou lointains, je vous dis merci beaucoup Cela fait partie de mon expérience. J'espère que cela vous motivera dans un avenir proche et augmentera votre détermination pour plus de succès.

A mes très chers parents (Abdelkader et Messaouda), source de vie,

D'amour et d'affection

A mes chers frères et mes seours (M/W et leur enfants Djaoued et Med Rassim, source de joie et de bonheur

A Mr ***Ainas*** *et Mr* ***Tir*** *et Mr* ***Farouk***

*A tous mes amis, tout particulièrement (****Farouk, Mahfoudh, Oussama, Hocine, Kamel, Terzi, Rachid, Youcef, Abdelaziz, Tahar, Mohadi , Ali, Hocine, Majda , Wiem , fifi ,fatma, basma balota)***

Et enfin, A tous ceux que j'aime et qui m'aiment.

Merci à tous et à toutes

Zorkot

Dédicace

Avec tous mes sentiments de respect de ma reconnaissance, je dédie ma remise de diplôme et ma joie :

À Mes chers ***parents,***

Vous m'avez donné la vie, la tendresse et le courage pour réussir.

Tout ce que je peux vous offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance que je vous porte

Vous êtes pour moi la lumière qui me guide vers le bon chemin et la réussite je vous offre ce modeste travail pour vous remercie de vous sacrifices conseilles s et pour l'affection dont vous m'avez toujours donné

À mon cher époux mon pilier et ma plus belle réussite qui m'a soutenue durant tout ce chemin et qui n'a jamais cesser à m'encourager à me supporter et me pousser toujours vers la réussite

À MES sœurs bien aimé la lumière qui éclairent mes journées et la source de mes beaux souvenirs qui m'ont toujours poussé vers le meilleur

À Mon petit frère adoré ***Abderhmen*** *qui a été toujours là pour me faire rire dans pires les moments de me soutenir et surtout de m'encourager*

À tous les membres de ma ***grandes familles*** *mes* ***beaux-parents*** *mes tantes* ***et mes cousines***

À tous mes chères copines qui ont été là pour moi et tous les gens qui m'aimients

Nassima

الملخص

تهتم هده الدراسة بإزالة صبغة الكونغو الحمراء، وهي ملوث منتشر في مياه الصرف الصناعي، باستخدام الكتلة الحيوية للطحالب (السبيرولين). الهدف هو تحديد فعالية السبيرولين في امتصاص الصبغة وتحسين الظروف التجريبية للحصول على اعلى نسبة إزالة للكونغو الأحمر.

في هده الدراسة، تم استخدام طريقة خطط التجارب لتقييم التأثيرات والتفاعلات بين أربعة معايير رئيسية منها: تركيز الكتلة الحيوية (A)، وكثافة الضوء (B)، ومدة التلامس (C) وتركيز الصبغة (D).

النتائج التي تم الحصول عليها من تحليل التباين (*ANOVA*)، تشير إلى أن القيم التجريبية تتكيف بشكل أفضل مع نموذج متعدد الحدود من الدرجة الثانية مع معامل التحديد، $R^2 = 0,94$.

وفي النهاية، نتائج التحسين الرقمي هي على النحو التالي:

A : 2 g/L; B : 7000 Lux; C : 3 Jours; D : 30 mg/L; R = 74,48 %.

الكلمات المفتاحية: احمر الكونغو، إزالة، ملوث، خطط التجارب

Résumé

L’objectif de ce travail est d’étudier l'élimination du colorant Rouge de Congo, un polluant courant dans les effluents industriels, en utilisant la biomasse algale (Spiruline). Le but est de déterminer l'efficacité de la Spiruline pour la biosorption du colorant et d'optimiser les conditions expérimentales pour maximiser cette élimination. Pour cela, la méthode des plans d'expériences a été utilisée afin d'évaluer les effets et les interactions entre quatre paramètres à savoir: la cconcentration de Biomasse (A), l’intensité de lumière (B) la durée de Contact (C) et la cconcentration de Colorant (D).

Les résultats obtenus à partir de l'analyse de la variance (ANOVA), montre que les valeurs expérimentales sont mieux adaptées au modèle polynomial du second ordre avec une coefficient de détermination, $R^2 = 0,94$. En fin, les résultats de l’optimisation numérique sont les suivants : A : 2 g/L ; B : 7000 Lux ; C : 3 Jours ; D : 30 mg/L ; R = 74,48 %.

Mots clé : Rouge de Congo, l'élimination, polluant, la spiruline, plans d'expériences.

Abstract

The work aims to study the removal of Congo Red dye, a common pollutant in industrial effluents, using algal biomass, specifically Spirulina. The goal is to determine the effectiveness of Spirulina for dye biosorption and to optimize the experimental conditions to maximize this removal.

In this study, the experimental design method was used to observe the effects and interactions between four key parameters: Biomass concentration (A), light Intensity (B), contact Time (C) and Dye concentration (D).

According to the results obtained from the analysis of variance (ANOVA), it was found that the experimental data were best fitted to the second-order polynomial model with a coefficient of determination (R^2) value of 0.9510. Finally, the results of the numerical optimization are as follows: A: 2 g/L; B: 7000 Lux; C: 3 Jours; D: 30 mg/L; R = 74,48 %.

Key words: Congo Red dye, Removal, Pollutant, the experimental design method

Table des matières

Liste des tableaux
Liste des abréviations
Liste de nomenclature
Liste des figures
I.2.2 Reproduction des cyanobactéries 4
I.2.3 Toxicité des cyanobactéries 5
I.3.1 Historique sur la spiruline : 5
I.3.2 Morphologie de la spiruline 6
I.3.3 Taxonomie : 8
I.3.4 Reproduction de la spiruline : 8
I.3.5 Toxicité de la spiruline : 9
I.3.6.1 Les protéines : 10
I.3.6.2 Les glucides : 10
I.3.6.3 Les lipides : 10
I.3.6.4 Les vitamines : 10
I.3.6.4.1 Les vitamines liposolubles : 10
I.3.6.4.2 Les vitamines hydrosolubles : 11
I.3.6.5 Les minéraux et Oligoéléments : 11
I.3.6.6 Les pigments : 11
I.3.7 Usages de la spiruline : 12
I.3.7.1 Approche nutritionnelle : 12
I.3.7.2 Approche thérapeutique : 13
I.2.8 Etude écologique 14
I.2.8.1 Culture de la spiruline : 14
I.2.8.2 Distribution géographique de la spiruline : 14
I.3.8.3 Milieu et condition de croissance : 14
I.4.1. Potentiel de la Spiruline pour la Bioremédiation 15
I.4.1.1 Absorption des Métaux Lourds : 15
I.4.1.2 Dégradation des Polluants Organiques : 15
I.4.1.3. Élimination des Nutriments Excédentaires : 15
1.5 Production de Biomasse Utilisable : 15
I.5.1. Mécanismes de Bioremédiation par la Spiruline 15
I.5.2.1 Biosorption : 15
I.5.2.2 Bioaccumulation : 16
I.5.2.3 Sécrétion d'Enzymes Dégradantes : 16
I.5.2.4 Chélation et Précipitation : 16
I.5.4. Avantages et Limites 16
II.3. Toxicité des colorants 24
II.3.1. Risques clairs 24
III.1. Introduction : 27
III.2. Objectif de travail : 27
III.3. Matériels et méthodes 27
III.3.1. Matériels biologiques 27
III.3.2. Culture de la spiruline au laboratoire 27
III.3.3. Matériel non biologique : 28
III.3.3.1. Appareillage et produits utilisés 28
III.3.3.2. Préparation de milieu de culture 29
III.4.2: Préparation de la solution mère de rouge de Congo : 32
III.4.4 : Méthodes de dosage par spectroscopie UV-Visible 34

III. 6. Méthodologie des plans d'expériences 35
III.6.1. Introduction 35
III.6.2. Vocabulaire 35
III.6.2.1. Facteur 35
III.6.2.2. La réponse 35
III.5.2.4. Effet d'un facteur : 36
III.6.2.5. Interaction 36
III.6.3. Technique d'analyse : 36
III.6.3.1. Analyse de la variance : 36
III.6.3.2. Probabilité P : 37
III.6.3.3. Coefficients de détermination (R^2) : 37
III.7.2. Détermination des teneurs en glucides et EPS 38
III.7.3. Détermination des teneurs en protéine : 38
Chapitre IV : 39
Résultats et discussion 39
IV.1. Introduction 40
IV.2.1. Construction du plan d'expériences : 40
IV.2.2. Rendement d'élimination du Rouge de Congo (RC) 40
IV.2.3. Matrice d'expérience 40
IV.3. Modélisation en surface de réponse (RSM) 42
IV.3.1. Analyse statistique 42
VI.3.1.1. Analyse de la variance (ANOVA) 43
VI.3.1.2. Analyse graphique 43
IV.3.2. Equation de régression du modèle quadratique : 45
IV.4. Etudes des effets des principaux facteurs sur le rendement d'élimination du RC 46
IV.4.1. L'effet de l'intensité lumineuse et la durée de contact 46
IV.4.3. L'effet de l'intensité lumineuse et la concentration de biomasse sur (RE) 48
IV.4.4. Effet de l'intensité lumineuse et la concentration de RC sur le rendement RE : 49
IV.4.5. Effet de la concentration de RC : 50
VI.5. Processus d'optimisation : 51
IV.6. L'influence de la lumière sur la composition biochimique de la biomasse algale 52
IV.7. Composition de spiruline en chlorophylle 53
Références bibliographiques 58

Liste des tableaux

Tableau (II.1):Principaux groupements chromophores et auxochromes, classés par intensité croissante.....Erreur ! Signet non défini.
Tableau (III.1) : Appareillage et produits utilisés **28**
Tableau(III.2) : composition chimique du milieu Zarrouk **29**
Tableau (III.3) :composition chimique de la solution A_5 .....**29**
Tableau (III.4): Composition chimique de la solution B_6.....**30**
Tableau (III.5) : Principales caractéristiques physico-chimiques du Rouge Congo **32**
Tableau (III.6) :Le plan d'expériences CCD **37**
Tableau (IV.1) :Valeurs de λmax du colorant .....Erreur ! Signet non défini.
Tableau (IV.2) : les solutions diluées du colorant. .....Erreur ! Signet non défini.
Tableau (IV.3) : Facteurs et intervalles de variation ……..…….....**59**
Tableau (IV.4) : Matrice d'expériences fourni par le plan CCD……**60**
Tableau (IV.5) : Analyse de la variance ANOVA pour le modèle rendement d'élimination de RC ……...**61**

Liste des abréviations

Abs : Absorbance

***A. platensis* :** *Arthrospira platensis*

A.Maxima: *Arthrospira Maxima*

C_0 : Concentration initial de solution de RC en (mg /l)

C_e : Concentration de solution RC résiduelle en (mg /l)

CB : Concentration de Biomasse

CC : Concentration de Colorant

CCD : Central Composite Design

DC : Durée de Contact

DNID : Diabète Non Insulinodépendant

RC : Rouge de Congo

DO : Densité optique

EDTA : Acide éthylène diamino tétracétique

IL : Intensité de Lumière

R% : Rendement d'élimination

REP : Rapport de l'efficacité protéique

RSM : La modélisation de surface de réponse

Ps : Poids sec

R^2 : Coefficient de Régression

P : Probabilité

SNV : Science de la nature et la vie

THM : Trihalométhanes

Tr : Toure par minute

U.V : Ultraviolet

A : Biomasse

B : Intensité

C : Durée

D : Concentration de RC

S : Significatif

NS : Non Significatif

Nomenclature

$CaCl_2$: chlorure de calcium

$FeSO_4$ ($7H_2O$) : sulfate ferreux, cristallin

K_2HPO_4 : phosphate dipotassique

K_2SO_4: sulfate de potassium

$MgSO_4$. ($7H_2O$) : sulfate de magnésium, cristallin

$NaHCO_3$: hydrogénocarbonate de sodium

NaCl : chlorure de sodium

$NaNO_3$: nitrate de sodium

NAOH : hydroxyde de sodium

H_3BO_3 : acide borique

$MnCl_2$.4 H_2O : chlorure de manganèse

$ZnSO_3$: sulfate de zinc

$CuSO_4$: sulfate de cuivre

MoO_3 : oxyde de molybdène

$K_2Cr(SO_4)_4$.24 H_2O: alun de chrome

$NiSO_4$.$7H_2O$: sulfate de nickel

$Ti_2(SO_4)$: sulfate de titanium

NH_4VO_3: vanadate d'ammonium

Na_2WO_4: tungstate de sodium

$Co(NO_3)_2$.$6H_2O$: nitrate de cobalt

Liste des figures

Figure I .1 : Observation au microscope optique des filaments de spirulineErreur ! Signet non défini.

Figure I.2 : Morphologie typiques des Arthrospira**. .....**Erreur ! Signet non défini.

Figure I.3. : Cycle biologique de la spiruline **.....9**

Figure I.4 : Cercle relatif du différent composant de la spiruline **.**Erreur ! Signet non défini.

Figure II.2 : Rouge de Congo en poudre **.....**Erreur ! Signet non défini.

Figure (III.1) : Le développement de la spiruline dans des conditions expérimentales. **.....**Erreur ! Signet non défini.

Figure III.2 : représente le milieu de culture (milieu ZARROUK)Erreur ! Signet non défini.

Figure III.3 : représente la solution de mère de rouge de Congo **.**Erreur ! Signet non défini.

Figure III.4 : représente un spectrophotomètre (UV-1600PC) **....**Erreur ! Signet non défini.

Figure III.5 : étalonnage de solution du RC**.....**Erreur ! Signet non défini.

Figure III.6 : Illustration de l'effet d'un facteur**.....**Erreur ! Signet non défini.

Figure III .7: Illustration d'une interaction .....Erreur ! Signet non défini.

Figure IV .1: Courbe d'étalonnage du RC à 530 nm.....Erreur ! Signet non défini.

Figure IV.2. Valeurs prédites en fonction des valeurs expérimentales du rendement d'élimination de RC.....Erreur ! Signet non défini.

Figure IV.3. Probabilité normale des résidus du rendement d'élimination (R, %) de RC. .....Erreur ! Signet non défini.

Figure IV.4. Diagramme de perturbation des variables de décisionErreur ! Signet non défini.

Figure III .5. L'effet de l'intensité par rapport la durée de contact.Erreur ! Signet non défini.

Figure IV.6: L'effet de temp de contact sur le RC. .....Erreur ! Signet non défini.

FigureIV.7 : Effet de l'intensité (lux) et la concentration de biomasse g/L sur le Rendement d'élimination.....Erreur ! Signet non défini.

Figure IV.8 : L'effet de l'intensité sur la concentration de RC.....Erreur ! Signet non défini.

Figure IV.9 : L'effet de la concentration de RC.....Erreur ! Signet non défini.

Figure IV.10 : Processus d'optimisation .....Erreur ! Signet non défini.

Figue. IV.11 : l'effet de la lumière sur les contenus de la biomasse en protéines et en glucide en %.....Erreur ! Signet non défini.

Figure IV.12: Taux de chlorophylle en fonction de l'intensité lumineuse..... Erreur ! Signet non défini.

Figure IV.13 : l'effet de l'intensité lumineuse sur le taux des exo polysaccharide (EPS) .....Erreur ! Signet non défini.

Introduction Générale

Introduction générale

L’eau est la matière première la plus importante sur notre planète, pour les êtres humains, les animaux, les plantes et les microorganismes. Pratiquement tous les phénomènes vitaux de la biosphère sont liés à la disponibilité de l’eau **[1]**. La pollution des eaux et sols, par certains produits chimiques d’origine industrielle (hydrocarbures, phénols, colorants,) ou agricole (pesticides, engrais,) constitue une source de dégradation de l’environnement et suscite à l’heure actuelle un intérêt particulier à l’échelle internationale Les colorants synthétiques organiques sont des composés utilisés dans de nombreux secteurs industriels tels que le domaine automobile, chimique, la papeterie et plus particulièrement le secteur textile, où toutes les gammes de nuances et de familles chimiques sont représentées. On constate qu’au cours des processus de teinture 15 à 20 % des colorants, et parfois jusqu’à 40% pour les colorants soufrés et réactifs, sont évacués avec les effluents liquides qui sont directement rejetés vers les cours d’eau sans traitement préalable **[2].**

Les rejets colorés posent un problème esthétique, mais également sanitaire car un grand nombre de ces colorants est toxique. Comme tous les composés organiques dangereux pour l’homme, les colorants synthétiques réclament des traitements spécifiques. Cependant les procédés classiques utilisés par les usines de traitements des eaux usées sont mal adaptés à la dépollution de ces polluants biocides **[2]**. Par conséquent, la dépollution des eaux contaminées par ces composés chimiques s'avère nécessaire aussi bien pour la protection de l'environnement que pour une éventuelle réutilisation de ces eaux non conventionnelles et en minimisant les pertes d’eau du fait de ce recyclage **[3]**.

De plus en plus de scientifiques de diverses disciplines s'intéressent à l'identification et à la suppression des polluants de l'environnement. Dans cette optique, on utilise fréquemment l'adsorption sur la spiruline, en particulier pour éliminer les substances toxiques, les micropolluants ou les substances inorganiques de l'eau.

La microalgue, Arthrospira platensis, une algue bleu-verte riche en protéines équilibrées et en nutraceutiques abondantes, est l'une des plus prometteuses sur le marché depuis la réussite de sa production commerciale dans les étangs ouverts dans les années 1980. La croissance des microalgues est fortement influencée par les conditions de culture, telles que le pH, l'intensité lumineuse, la température, la présence d'ions bicarbonate, la

source d'azote, le type de bioréacteur, la concentration initiale de biomasse, etc., dans les cultures ouvertes et fermées. De plus, la présence de lumière est un obstacle majeur à la croissance des micro-algues. Il est préférable que la lumière soit distribuée de manière uniforme sur tout le volume de l'unité de culture **[4]**.

Objectif de ce travail est d'étudier l'élimination du colorant Rouge de Congo par la microalgue spiruline platensis. Cette étude a été menu par l'application de la méthodologie de plan d'expériences.

Ce mémoire est structuré en quatre chapitres :

- Le premier chapitre est consacré à des généralités sur les microalgue
- Le deuxième chapitre présente une description des propriétés physico-chimiques des colorants synthétique et leurs dangers, leurs impacts sur l'environnement et les procédés de traitement des eaux contaminées par ces composés.
- Le troisième chapitre est consacré au matériels et méthodes,
- Le dernier chapitre présente l'ensemble des résultats de la modélisation en surface de réponse avec une analyse statistique des résultats.

Enfin, on termine notre travail par une conclusion générale.

Chapitre I :

Généralité sur les Cyanobactéries et la spiruline

I.1. Introduction

I.2. Présentation de cyanobactéries

Les cyanobactéries sont des micro-organismes photosynthétiques procaryotes, également connus sous le nom de Cyanophytes ou Cyanophycées. Du point de vue systématique, elles font partie du règne des Eubactéries, mais ont longtemps fait partie du règne végétal, car elles présentent à la fois des principes :

- De la bactérie, il n'y a pas de noyau et d'organites intracellulaires,
- De l'algue, il y a de la chlorophylle A et des phycobiliprotéines (pigments accessoires) et les capacités de photosynthèse **[5]**.

I.2.1. Historique

Les cyanobactéries, également connues sous le nom d'algues bleu-vert, sont des bactéries autotrophes à Gram négatif qui effectuent de la photosynthèse oxydative. Il y a environ 3,5 milliards d'années, elles ont fait leur apparition et sont, en grande partie, responsables de l'oxygénation de l'atmosphère terrestre **[6]**.

En Afrique du Sud, on a déjà trouvé des traces de cyanobactérie dans des stromatolithes, qui sont des restes de filaments d'algues pétrifiés dans du calcaire datant de 3,7 milliards d'années **[6]**. Elles seraient responsables de la plupart des découvertes de calcaires sur notre planète **[7]**.

Le chloroplaste est produit par l'endo-symbiose de ces cellules avec un hôte non photosynthétique [8]. Ces organites ont été mis au jour dans les années cinquante avec de l'ADN et des ribosomes. Plusieurs caractères confirment la similitude entre un chloroplaste d'une cellule eucaryote actuelle et une bactérie photosynthétique (Cyanobactérie) [9].

Le chloroplaste possède un ADN circulaire et non lié à des histones, contrairement aux bactéries. Cet ADN est responsable de la conception d'une partie des protéines chloroplastiques (organites semi autonomes). Une partie de la synthèse de ces protéines se produit dans le chloroplaste, grâce à la présence de ribosomes qui ressemblent aux ribosomes bactériens. Les chloroplastes se disent à un rythme différent de celui du noyau.

I.2.2 Reproduction des cyanobactéries

Les cyanobactéries se développent de manière lente. Les périodes pendant lesquelles les populations doublent peuvent varier de quelques heures à plusieurs jours. Ils sont

principalement influencés par les espèces et les conditions de l'environnement. Il s'agit d'une reproduction végétative, c'est-à-dire asexuée, qui se produit par scission simple ou multiple, bourgeonnement ou fragmentation de filament. Chez certaines espèces, des cellules spécialisées (akinètes) peuvent faire face à la dessiccation et « germer » lorsque les conditions favorables reviennent **[10]**.

I.2.3 Toxicité des cyanobactéries

Les cyanobactéries génèrent de nombreuses cyanotoxines qui affectent divers organes humains et animaux. Pendant la floraison, il y a peu de toxines extracellulaires, tandis que lorsque celles-ci diminuent, les cellules meurent et libèrent leurs toxines dans leur environnement. La quantité de substances toxiques extracellulaires augmente considérablement **[11,12]**. 50% des fleurs algales produisent des endotoxines qui pourraient être toxiques. Ce sont surtout la peau et les muqueuses, le foie et le système nerveux qui sont touchés **[13]**.

Les microcystines sont classées parmi les substances biologiques très toxiques dans le classement de la toxicité aiguë des cyanotoxines, basé sur les valeurs de DL50. Cependant, il a été récemment observé que certaines des toxines produites sont très stables, s'accumulent dans le cerveau et peuvent entraîner la mort par neurotoxicité après des décennies d'exposition chronique **[14]**.

Cependant la spiruline est un des espèces des cyanobactéries non toxinogène, de point vu héréditaire ne comporte pas sur son génome les gènes responsables de toxines, elle est exploitée dans différent domaines industrielle et environnementale.

I.3. Généralités sur la spiruline :

I.3.1 Historique sur la spiruline :

La spiruline est une espèce d'algues bleue-vertes appartenant à la famille des cyanobactéries, également appelées cyanobiontes ou cyanophycées selon les préférences. Elle peut être appelée indifféremment Arthrospira sp., Spirulina sp., Spirulina platensis ou Arthrospira platensis. Il s'agit d'une cyanobactérie filamenteuse appelée Spiruline. Depuis des centaines d'années, des populations primitives d'Afrique et du Mexique l'ont traditionnellement utilisée **[7]**. D'après les archives mexicaines, il a été découvert que la Spiruline était consommée pendant la période des Aztèques, bien avant l'arrivée des Espagnols, sous le nom de Tecuitlatl **[15]**.

Bien que déjà mentionnée par Wittrock et Nordstedt (1844) **[16]**, la spiruline ne fut réellement découverte qu'en 1940 au Tchad par un botaniste français nommé Dangeard.

Elle est encore consommée aujourd'hui par les Kanembous, une tribu du Tchad, sous le nom de Dihé. Depuis que la culture en masse des micro-algues a été introduite à la fin des années 50, elle est de plus en plus utilisée pour l'alimentation humaine **[11]**.

La première exploitation industrielle a eu lieu en 1976 par la société mexicaine Sosa Texcoco. Depuis lors, de nombreuses entreprises ont établi leur présence partout, comme la société Siam Algae à Bangkok en 1979, le principal producteur actuel Earthrise Farm aux États-Unis en 1983, la société Cyanotech Corporation à Hawaï, et bien d'autres encore. La consommation humaine de toutes les algues spirulines a été approuvée par le Conseil supérieur d'hygiène publique en France en 1984. D'après Fox (1999), il y a environ trente exploitations industrielles à travers le monde **[11]**.

I.3.2 Morphologie de la spiruline

La spiruline est une espèce de cyanobactéries, connue autrefois sous le nom d'algue bleue, puis de cyanophycée. On la retrouve dans la catégorie des bactéries Gram négatives.

Il s'agit d'une bactérie autophage **[17, 18]**. La spiruline est un filament pluricellulaire de couleur bleu-vert, mobile, non ramifié et spiralé.

On nomme ce filament le trichome, il a une forme hélicoïdale. Il n'est observable qu'en milieu liquide. On le retrouve dans le genre d'où la spiruline tire son nom. Spirulina maxima, une espèce mexicaine, présente des trichomes de 7 à 9 u de diamètre, de 70 à 80 u de long, légèrement effilés aux extrémités, formant une spirale régulière de 3 à 8 tours et de 40 à 60 u de diamètre **[4]**.

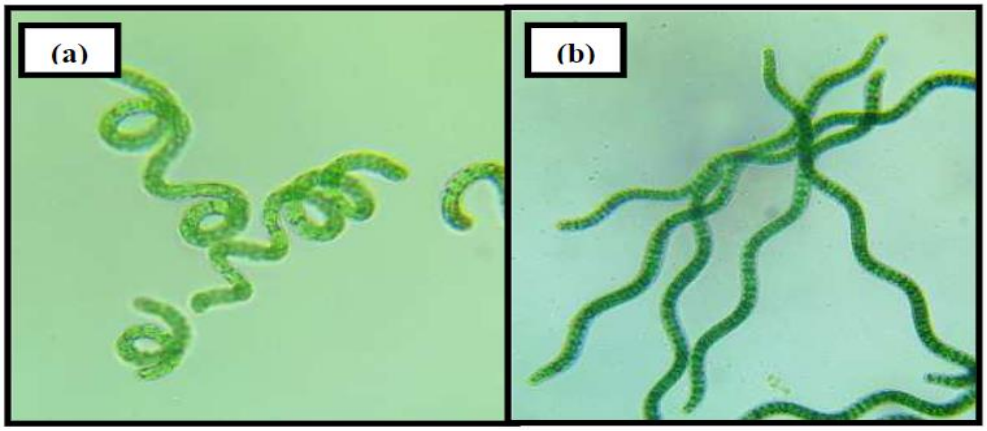


Figure I .1 : Observation au microscope optique des filaments de spiruline : *Spiruline platensis* (a) et *Spirulina maxima* (b) (Ahounou, 2018).

Les cellules qui forment les trichomes ont une longueur de 5 à 7 u et ne se rétrécissent pas devant les articulations.

La Spirulina platensis, une espèce du Tchad, est constituée de trichomes mesurant jusqu'à 350 mètres de long, avec un diamètre variant de 5 à 11 u, légèrement rétrécis au niveau des articulations. Le diamètre des tours de spire varie de 20 à 50 mètres, avec une légère diminution vers les extrémités **[19]**.

On peut distinguer morphologiquement les deux espèces voisines par un caractère d'orientation (figure I .1). L'étude microscopique d'Arhtrospira platensis révèle que les spires sont positionnées à droite. Toutefois, chez Spirulina maxima, leur direction est vers la gauche **[4,18]**.

La morphologie d'Arthrospira platensis est très flexible. Cela est dû à des éléments externes tels que la température et d'autres éléments physiques et chimiques, ainsi qu'à des facteurs génétiques forts **[18]**. Les souches ou variétés d'Arthrospira platensis sont spiralées, ondulées et droites. La Lonar (Inde) est une espèce de souches spiralées dont les filaments sont en forme de queue de cochon. En revanche, les souches ondulées sont celles dont les filaments sont en spirale étirée, comme la Paracas (Pérou). Les souches rectilignes sont celles dont les filaments sont si étirés qu'ils semblent presque rectilignes.

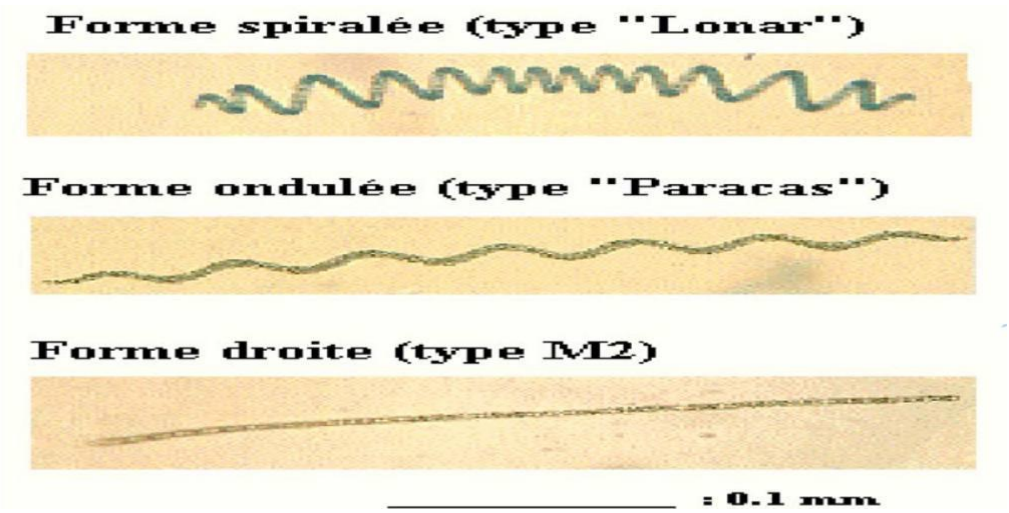


Figure I.2 : Morphologie typiques des Arthrospira **[20]**.

I.3.3 Taxonomie :

La spiruline est un terme commun qui désigne la biomasse séchée d'A. platensis **[11]**, une bactérie photosynthétique oxygénée qui représente les Cyanobactéries et les Prochlorales. Jusqu'en 1962, ces organismes photosynthétiques ont été initialement perçus comme des algues. Stanier et ses collègues observaient que cette algue bleu-verte ne possédait pas de compartiment cellulaire et l'appelaient pour la première fois cyanobactérie. Le Manuel de Bergey a accepté et publié cette désignation en 1974 **[21].**

De plus, une différence scientifique existe entre les genres Spirulina et Arthrospira. Arthrospira a été nommée par Stizenberger (1852) **[22]**, en raison de la présence de septes, de la forme hélicoïdale et de la structure multicellulaire. La forme aseptate du genre Spirulina a été confirmée par Gomont. Enfin, c'est Geitler qui réunissait les deux membres et les appela Spirulina sans prendre en compte le septum.

Selon lui, toutes les études scientifiques sur les microalgues ont été menées sous le nom de Spiruline, tandis que les 34 espèces originales utilisées comme aliments avec des propriétés sanitaires exceptionnelles appartiennent au genre Arthrospira **[23].**

I.3.4 Reproduction de la spiruline :

La reproduction est asexuée, c'est-à-dire végétative, et se produit par scission simple, par fragmentation de filament. Selon Ciferri **[24]**, le cycle biologique de la Spiruline comprend les étapes suivantes (Figure I.3)

En maturité, un filament se divise en cellules spéciales appelées nécridies, où le trichome se décompose. La particularité des cellules nécrologiques réside dans leur structure biconcavante et leur absence de pigments.

Suite à la fragmentation du filament, les cellules ou les chaînes courtes de cellules d'environ 2-8 cellules se divisent successivement, ce qui est connu sous le nom d'"hormogonie" **[24, 25]**. Elles sont extrêmement mobiles et génèrent un nouveau trichome par fission binaire.

Elles s'allongent et prennent généralement la forme de filaments non ramifiés. Dans les expériences, le temps maximal de production de spiruline est proche de 7 heures lorsque les conditions sont favorables **[26]**.

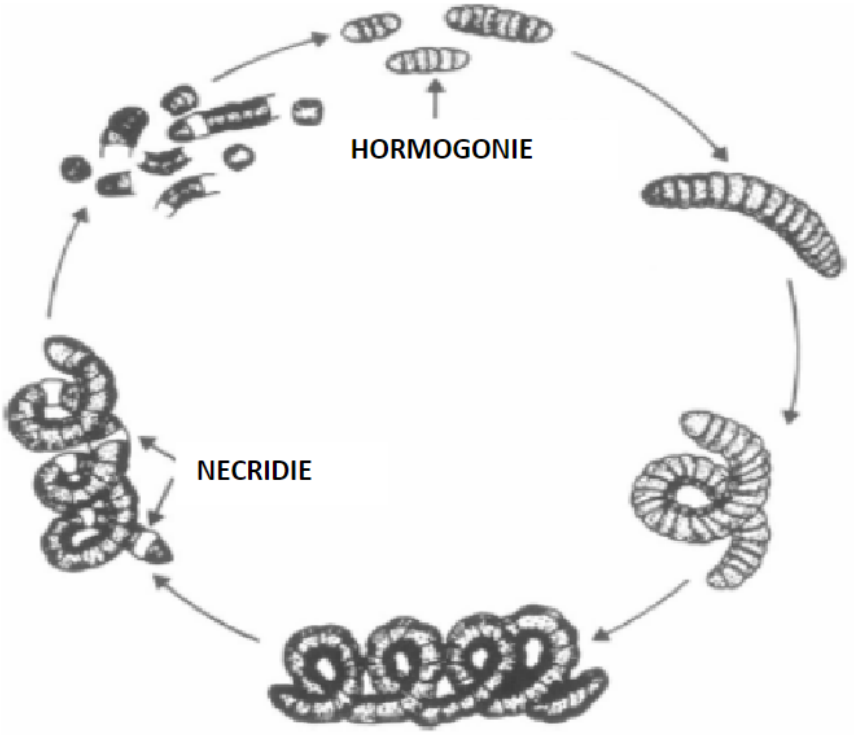


Figure I.3. : Cycle biologique de la spiruline **[27]**.

I.3.5 Toxicité de la spiruline :

La Spiruline n'est pas toxique car elle n'a pas les gènes qui assurent la synthèse des toxines de cyanobactéries **[28]**. Des tests d'alimentation indépendants en France, au Mexique et te au Japon n'ont pas montré de des résultats inattendus et aucun cas avéré d'intoxication par la Spiruline n'a été rapporté sur les humains, les rats, les porcs, les poulets, les poissons et les huîtres **[11]**.

Bien que ce micro-organisme ne dépasse pas les limites de concentration en métaux recommandées par les organismes internationaux, il est essentiel de maintenir une qualité optimale de l'environnement et de surveiller régulièrement cette culture des cyanobactéries afin de détecter les concentrations élevées de métaux en raison de l'utilisation d'engrais et de la pollution de l'eau **[29]**.

1.3.6 Composition biochimique de la spiruline :

I.3.6.1 Les protéines :

La biomasse de la Spiruline renferme une grande quantité de protéines. 10 à 11 % de la masse humide, soit 60 à 70 % de sa matière sèche, ces protéines sont riches en acides aminés essentielle à la nutrition humaine et animale **[30]**.

I.3.6.2 Les glucides *:*

La matière sèche est constituée entre 15 et 25 % de glucides. Les glucides simples (glucose, fructose et saccharose) sont très peu présents, et la majorité des glucides assimilables sont composés de polymères tels que les glucosanes aminés (1,9% du poids sec), les rhamnosannes aminés (9,7%) et Glycogène (0,5%) ,En ce qui concerne la nutrition, la seule substance glucidique qui présente une importance nutritionnelle chez Arthrospira est le méso-inositol phosphate, qui représente une source intéressante de phosphore organique et d'inositol (entre 350 et 850 mg/kg de matière sèche) **[31]**.

I.3.6.3 Les lipides :

Le poids sec total est composé de moins de 10% de lipides, qui peuvent être divisés en une fraction saponifiable (83%) et une fraction insaponifiable (17%) qui contient principalement des paraffines, des pigments, des alcools terpéniques et des stérols **[32]**.

I.3.6.4 Les vitamines :

La spiruline contient une large gamme de vitamines liposolubles et hydrosolubles :

I.3.6.4.1 Les vitamines liposolubles :

- **Le bêta-carotène**, également appelé provitamine A, est responsable de 80% des caroténoïdes que contient la spiruline. Il est notamment bio-disponible et joue un rôle essentiel dans la lutte contre les radicaux libres, la cécité causée par l'avitaminose A (les symptômes de la tache de Bitot) et certains types de cancers **[33]**.
- **Tocophérols (vitamine E)** : entre 50 et 190 mg par kg, ce qui équivaut à la quantité de germe de blé. L'effet anti-âge du bêta-carotène est renforcé par les propriétés antioxydantes de la vitamine E **[33]**.

I.3.6.4.2 Les vitamines hydrosolubles :

La spiruline est riche en divers vitamines hydrosolubles tel que :

- **La vitamine B1 ou Thiamine** connue par son effet anti-stress.
- **La vitamine B9**, également appelée acide folique, agit comme un anti-anémiant et un anti-cancérigène, et favorise la croissance du système nerveux et de la moelle osseuse.
- **La Vitamine B12,** la spiruline est la seule source connue de cette vitamine en tant que végétale. La spiruline présente un intérêt particulier dans le domaine de l'alimentation des personnes âgées dénutries, des anorexiques ou des végétariens stricts **[33]**.

I.3.6.5 Les minéraux et Oligoéléments :

Le calcium, le magnésium, le phosphore et le potassium sont les minéraux les plus intéressants présents dans la Spiruline. Les trois minéraux mentionnés précédemment se trouvent dans la Spiruline à des concentrations similaires à celles trouvées dans le lait. Le fer, le zinc et le sélénium sont les oligo-éléments les plus intéressants présents dans la Spiruline **[34]**.

I.3.6.6 Les pigments :

La spiruline contient une grande quantité de pigments qui lui confèrent sa couleur, notamment la phycocyanine et la chlorophylle. Plus de 15 % du poids frais et plus de 20 % du poids sec de l'algue sont composés de phycocyanine **[35, 36]**. La concentration de chlorophylle varie de 9 à 15 g/kg **[35]**.



Figure I.4 : Cercle relatif du différent composant de la spiruline **[35]**.

I.3.7 Usages de la spiruline :

En tant que complément alimentaire, Arthrospira est le procaryote phototrophique le plus cultivé, servant également de source d'aliments pour animaux et de produits chimiques fins **[37]**. Il est également utilisé en tant qu'agent thérapeutique **[38]**.

I.3.7.1 Approche nutritionnelle :

Le poids sec de la Spiruline est riche en protéines, qui représentent entre 50 et 70% de son poids. L'autre avantage de ces protéines est qu'elles sont facilement assimilables par l'organisme, ce qui évite l'utilisation de la cuisson qui détruit les nutriments et les vitamines présents. 47 % des protéines sont composées d'acides aminés essentiels **[39]**. L'absence de paroi cellulosique dans la cellule entraîne une meilleure digestibilité de la Spiruline, remplacée par une enveloppe de muréine fragile.

Le rapport : gain de poids de l'animal ou de l'individu par rapport au poids des protéines ingérées est responsable de l'efficacité protéique d'un aliment. Souvent, la protéine de référence est la lactalbumine ou la caséine, qui a un REP de 2,5. Lors d'expériences sur le rat, la Spiruline seule présente un REP de 1,9, tandis que l'association avec du riz dans une proportion égale à un REP de 2,4 **[10]**.

Selon le système d'extraction utilisé, les lipides totaux représentent entre 5,6 et 7% du poids sec de la spiruline, parfois jusqu'à 11%. Leur fraction saponifiable est de 83 % et leur fraction insaponifiable est de 17 %. La première fraction est composée d'acides gras : l'acide a-linolénique en représente 10 à 20% chez Spirulina maxima et jusqu'à 40% chez Spirulina platensis, ce qui représente jusqu'à 1,6-3,5 % de son poids sec total **[40]**.

Les meilleures sources d'acide gras essentiel sont donc la spiruline, ainsi que quelques huiles végétales peu connues comme l'huile d'onagre, de bourrache, de cassis. Il convient de rappeler que ces acides gras sont des précurseurs des prostaglandines qui jouent le rôle de médiateurs chimiques dans les réactions inflammatoires et immunitaires. Un manque prolongé de ces acides gras peut entraîner des thromboses, de l'arthrite, des accidents vasculaires cardiaques et cérébraux **[41]**.

Le fer est probablement le plus visible parmi les minéraux présents dans la Spiruline. L'anémie est causée par des carences en fer, en particulier chez les femmes enceintes et les enfants, et lorsque les sources alimentaires de fer sont rares. Parmi les meilleures sources de fer, les céréales complètes ne renferment que 150 à 250 mg par kg. De plus, elles contiennent de nombreux acides phytiques et polymères phosphatés qui restreignent considérablement la disponibilité biologique de leur fer. Par ailleurs, les sulfates ferreux

ajoutés deviennent toxiques à forte dose et provoquent parfois des diarrhées. La biodisponibilité du fer a été prouvée chez le rat et chez l'homme pour la spiruline avec un rapport de 16 mg /100g de poids sec de spiruline **[42,43]**.

I.3.7.2 Approche thérapeutique :

On serait tenté d'associer la spiruline à une image de potion magique, étant donné la diversité de ses propriétés médicales. Il s'agit tout de même d'un remède contre de nombreuses maladies. Nous n'en mentionnerons ici que quelques-unes. Après de nombreuses années de recherche visant à saisir l'origine du cancer, il apparaît aujourd'hui comme le résultat d'un processus qui conduit à la production de radicaux libres dans l'organisme, sous l'effet de divers facteurs tels que le stress physique et émotionnel, la pollution, etc.

L'ADN, les protéines structurales, les enzymes et les membranes cellulaires peuvent être endommagés par ces radicaux libres, ce qui peut entraîner la production de produits toxiques et éventuellement le développement du cancer. L'élimination de ces radicaux libres nécessite l'apport de vitamines antioxydantes, de caroténoïdes et d'autres micro-nutriments pour notre organisme. Le carotène, très présente dans la spiruline, est l'un des caroténoïdes majeurs qui jouent un rôle essentiel dans ce système de défense de l'organisme **[44]**. Le diabète découle de variations dans les niveaux sanguins d'insuline, une hormone produite par le pancréas qui permet de convertir le sucre présent dans le sang en énergie. Le diabète de type 1 chez les enfants est causé par un déficit d'insuline. Le diabète de type 2, également connu sous le nom de diabète non insulinodépendant (DNID), se produit lorsque l'organisme ne parvient pas à produire efficacement l'hormone **[45]**, c'est la forme la plus courante. On a démontré que la spiruline a un effet bénéfique sur ce type de diabète en diminuant le taux de sucre et de cholestérol dans le sang. Il est conseillé de prendre de la spiruline chaque jour afin de maintenir un équilibre glyco-lipidique chez les personnes atteintes de diabète **[46]**.

On connaît l'effet immunostimulant de la phycocyanine de la spiruline, qui est également employée en imagerie médicale en tant que traceur fluorescent. Après sa purification, son prix varie de 8000 à 40 000 $ par kilogramme. La justification de ce prix réside dans la clarté d'image obtenue même sans l'utilisation de marqueurs radioactifs **[47]**.

I.2.8 Etude écologique

I.2.8.1 Culture de la spiruline :

Le genre Arthrospira est caractérisé par son habitat naturel, ce qui le distingue des autres cyanobactéries. La Spiruline est effectivement un organisme ubiquiste et thermophile. Elle se trouve dans des environnements contenants entre 8,5 et 270 g/L de sel contenant du carbonate de sodium, du bicarbonate de sodium, etc. **[48]**. La spiruline vit principalement dans des eaux chaudes tropicales du monde entier, notamment dans les lacs alcalins d'Afrique autour du Tchad (Arthrospira platensis) et d'Amérique dans la vallée de Texcoco au Mexique (Arthrospira geitleri ou Arthrospira maxima). La plupart des autres êtres vivants ne peuvent pas vivre dans ses conditions environnementales très restrictives.

En outre, le développement des spirulines dans ces milieux renforce encore davantage l'effet d'exclusion grâce aux trois phénomènes suivants **[4,19]** :

- En absorbant les carbonates et les bicarbonates de son environnement, la spiruline a tendance à accroître l'alcalinité de celui-ci.
- Ses filaments pigmentés et flottants créent un écran qui empêche la lumière solaire des rares algues qui pourraient s'adapter au milieu de culture (comme la chlorelle, une microalgue comestible qui peut proliférer dans des cultures de spirulines trop peu concentrées).
- En sécrétant des molécules qui sont actives contre une variété de bactéries potentiellement présentes.

I.2.8.2 Distribution géographique de la spiruline :

Au naturel, on trouve de la spiruline dans des lacs de la ceinture intertropicale du globe. Ces lacs se trouvent entre 35° de latitude Nord et 35° de latitude Sud environ. Les profondeurs sont faibles et les vents légers les agissent. D'autres lieux sont envisageables, en particulier dans toutes les régions où se trouvent le flamant nain (Phoeniconaias minor) (Afrique et Asie) et le flamant de James 0, Phoenicoparrus jamesi (Amérique du Sud) **[49,11]**.

I.3.8.3 Milieu et condition de croissance :

La culture de la Spiruline nécessite de la lumière, de l'eau alcaline, un pH de 8,5 à 11 (pH optimal de l'ordre de 9,5), une teneur en azote et en carbone élevée, et une température variante entre 25 et 40°C. Elle est fabriquée dans des bassins, dans une eau peu profonde, toujours brassée afin de garantir une distribution régulière des nutriments.

La présence d'une forte intensité lumineuse sans agitation entraînerait la photolyse des microalgues. La combinaison d'une intensité lumineuse élevée et d'une agitation intense permettra une croissance optimale. Contrairement à cela, en présence de faible lumière et agitation, la croissance sera lente, mais la pigmentation sera plus prononcée, ce qui signifie que la couleur sera d'un vert plus foncé et le bleu de la phycocyanine **[4,19]**.

I.4. La bioremédiation [50]

Est un processus qui utilise des organismes vivants pour éliminer ou neutraliser des contaminants dans l'environnement. La spiruline, une cyanobactérie également connue sous le nom d'algue bleue-verte, est de plus en plus étudiée pour ses capacités de bioremédiation. Voici un aperçu de son potentiel et des mécanismes impliqués :

I.4.1. Potentiel de la Spiruline pour la Bioremédiation

I.4.1.1 Absorption des Métaux Lourds :

- La spiruline peut absorber et accumuler des métaux lourds tels que le cadmium, le plomb, le mercure et l'arsenic. Elle possède des sites de liaison spécifiques sur ses cellules qui facilitent la capture de ces métaux.

I.4.1.2 Dégradation des Polluants Organiques :

- Les enzymes produites par la spiruline peuvent dégrader certains polluants organiques, tels que les pesticides, les hydrocarbures et les colorants industriels.

I.4.1.3. Élimination des Nutriments Excédentaires :

- Dans les eaux eutrophisées (riches en nutriments comme l'azote et le phosphore), la spiruline peut utiliser ces nutriments pour sa croissance, réduisant ainsi la charge de nutriments dans l'eau.

1.5 Production de Biomasse Utilisable :

- La biomasse de spiruline obtenue après bioremédiation peut être utilisée comme biofertilisant, source de nourriture pour les animaux, ou même pour la production de biocarburants.

I.5.1. Mécanismes de Bioremédiation par la Spiruline

I.5.2.1 Biosorption :

Est un processus passif où les ions métalliques se lient à la surface des cellules de spiruline. Ce processus est rapide et dépend principalement de la composition de la paroi cellulaire de la spiruline.

I.5.2.2 Bioaccumulation :

Contrairement à la biosorption, la bioaccumulation est un processus actif où les métaux lourds sont absorbés par la cellule et accumulés à l'intérieur. Ce mécanisme est souvent régulé par des processus métaboliques.

I.5.2.3 Sécrétion d'Enzymes Dégradantes :

- La spiruline peut sécréter des enzymes qui dégradent les composés organiques toxiques. Par exemple, les peroxydases et les laccases produites par la spiruline peuvent décomposer les colorants et autres polluants organiques complexes.

I.5.2.4 Chélation et Précipitation :

La spiruline peut sécréter des substances chélatrices qui lient les métaux lourds, formant des complexes insolubles qui précipitent hors de l'eau.

I.5.3. Applications Pratiques

- **Traitement des Eaux Usées** : Utilisation de bassins de spiruline pour traiter les eaux usées industrielles ou municipales.
- **Dépollution des Sols** : Application de biomasse de spiruline sur des sols contaminés pour réduire la concentration de métaux lourds.
- **Purification des Effluents Agricoles** : Utilisation de la spiruline pour éliminer les excès de nutriments et les pesticides dans les eaux de ruissellement agricoles.

I.5.4. Avantages et Limites

I.5.4.1. Les avantages :

- Méthode écologique et durable.
- Faibles coûts opérationnels comparés à d'autres techniques de dépollution.
- Production de biomasse valorisable.

I.5.4.2. Les limites :

- Efficacité variable selon les conditions environnementales (pH, température, etc.).
- Besoin de conditions optimales de croissance pour la spiruline.
- Gestion de la biomasse contaminée après bioremédiation.

En conclusion, la spiruline présente un potentiel prometteur pour la bioremédiation grâce à ses capacités de biosorption, bioaccumulation, et dégradation des polluants. Cependant, des recherches supplémentaires et des développements technologiques sont nécessaires pour optimiser son utilisation à grande échelle.

Chapitre II :

Généralités sur les Colorants

II.1. Introduction

De nos jours, les colorants synthétiques sont rencontrés pratiquement dans toutes les sphères de notre vie quotidienne. La production mondiale de colorants organiques est estimée à 700 000 tonnes, dont 140 000 sont rejetées dans les eaux usées au cours des différentes étapes d'application et de confection. Ces rejets organiques posent un problème environnemental majeur. La nature xénobiotique des colorants les rend persistants dans l'environnement et réfractaires aux dégradations dans le milieu naturel où ils peuvent séjourner pendant des années.

II.2. Généralités sur les colorants

II.2.1. Définition d'un colorant

Un colorant est défini comme un produit qui a la capacité de colorer une substance de différentes façons. Les groupements qui lui donnent la couleur sont appelés chromophores, tandis que les groupements qui lui permettent de se fixer sont appelés auxochromes. Leur particularité réside dans leur aptitude à capter les rayonnements lumineux dans le domaine visible (de 380 à 750 nm). La lumière blanche se transforme en lumière colorée par réflexion sur un corps ou par transmission ou diffusion, puisque certains groupes d'atomes, appelés chromophores, absorbent sélectivement de l'énergie. Le chromogène est une molécule colorante. La couleur devient plus intense lorsque le groupement chromophore donne facilement un électron. Les groupements chromophores sont présentés dans le tableau **[45]**.

Tableau (II.1) : Principaux groupements chromophores et auxochromes, classés par intensité croissante

Groupements chromophores	**Groupements auxochrome**
Azo (-N=N-)	Amino (-NH2)
Nitroso (-NO ou –N-OH)	Méthylamino (-NHCH3)
Carbonyl (=C=O)	Diméthylamino (-N(CH3)2)
Vinyl (-C=C-)	Hydroxyl (-HO)
Nitro (-NO2 ou =NO-OH)	Alkoxyl (-OR)
Sulphure (>C=S)	Groupements donneurs d'électrons

Le colorant a une affinité particulière pour la fibre, en particulier pour les colorants qui ont une accentuation du caractère acide ou basique. Les caractéristiques spécifiques des colorants organiques augmentent leur longévité dans l'environnement et les rendent peu susceptibles de se dégrader par la biodégradation **[46]**.

II.2.2. Classification des colorants

Les colorants synthétiques sont classés en fonction de leur composition chimique et de leur utilisation sur divers substrats tels que les textiles, le papier, le cuir, les matières plastiques, etc.

II.2.3.1. Classification chimique

Les colorants sont classés en fonction de leur structure chimique en fonction de la nature du groupement chromophore.

- **Les colorants azoïques** :

  Ces colorants sont caractérisés par la présence d'un groupement azoïque (-N=N-) entre deux noyaux benzéniques dans la molécule (Figure II.1). Actuellement, cette catégorie de colorant est la plus utilisée en termes d'application, car elle représente plus de 50% de la production mondiale de colorants **[47,48].** Ces composés organiques cancérigènes sont réfractaires aux procédés de traitements habituellement mis en œuvre et sont très résistants à la biodégradation

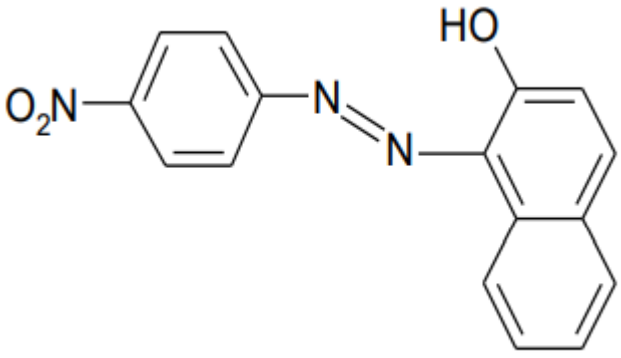


Fig.I.1. Exemple de colorant azoïque

- **Les colorants à base d'anthraquinone :**

  Les colorants anthraquinoniques sont les plus importants, après les colorants azoïques. Ils sont utilisés pour la coloration des fibres polyester, acétate et tri

acétate de cellulose. La molécule de base de ce groupe de colorants est l'anthraquinone qui présente le groupe chromophore carbonyle (>C═O) sur un noyau quinonique, qui est le chromogène **[47,48]**.

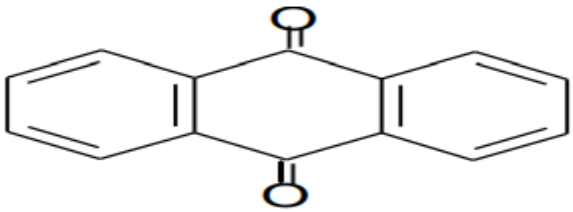


Fig.II.2. La molécule anthraquinone

- **Les Colorants indigoïdes :**

Leur nom est inspiré de l'indigo dont ils proviennent. Les homologues séléniés, soufrés et oxygénés du bleu indigo entraînent des effets hypsochromes importants, avec des couleurs pouvant varier à partir de l'orange vers le turquoise **[47,48]**.

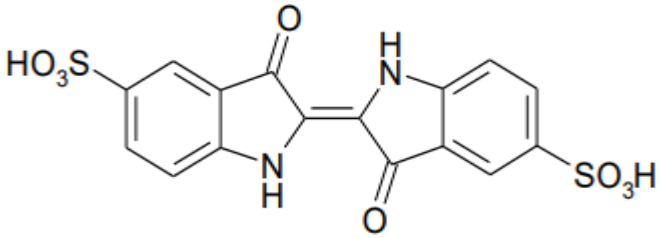


Fig. II.3. Structure du carmin d'indigo

- **Les colorants xanthènes** :

Ce sont des composés dotés d'une intense fluorescence. Peu utilisés en tant que teinture, leur faculté de marqueurs lors d'accidents maritimes ou de traceurs d'écoulement pour des rivières souterraines.

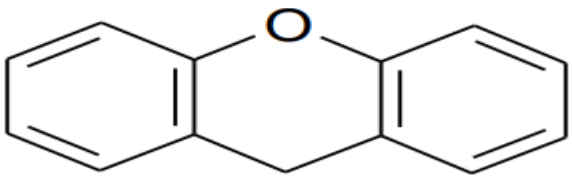


Fig. II.4. Structure d'un colorant xanthène

- **Les colorants à base de phtalocyanine :**

  La structure complexe de ces colorants repose sur l'atome central de cuivre. Les colorants de ce groupe sont fabriqués en réagissant avec du dicyanobenzéne en présence d'un halogénure métallique (Cu, cuivre). Ni, Co, Pt, etc.) **[47,48]**.

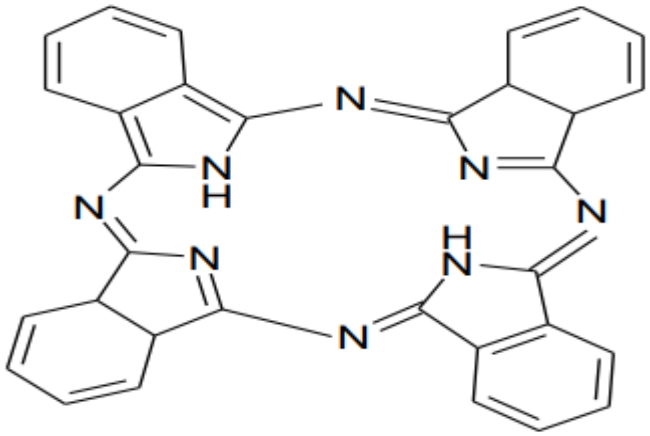


Fig. II.5. Structure de phtalocyanine de cuivre

- **Les colorants à base de nitré et de nitrosé :**

  Ces colorants font partie d'une catégorie de colorants extrêmement rares et relativement anciennes. Actuellement, ils sont toujours employés en raison de leur prix très abordable en raison de leur structure moléculaire simple, caractérisée par la présence d'un groupe nitro (-NO2) en position ortho d'un groupement électro-donneur (hydroxyle ou groupes aminés). **[47,48]**

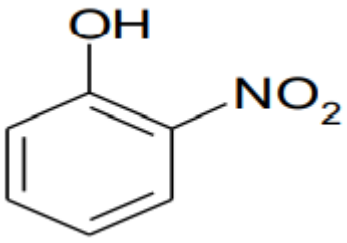


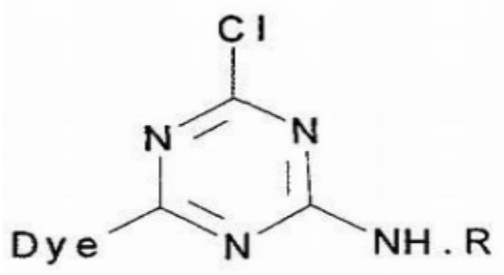
Fig. II.6. Structure moléculaire d'un colorant nitré et nitrosé

II.2.3.2. Classification tinctoriale :

La classification chimique présente un intérêt pour le fabricant de matières colorantes, le teinturier préfère le classement par domaines d'application. Ainsi, il est renseigné sur la solubilité du colorant dans le bain de teinture, son affinité pour les diverses fibres et sur la nature de la fixation.

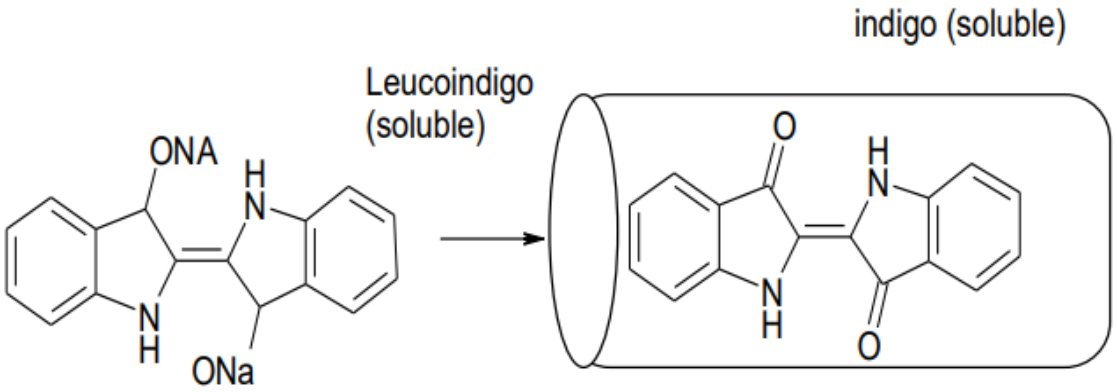
- **Colorants réactifs :**

  Les colorants réactifs constituent la dernière classe de colorant apparue sur le marché. Leur utilisation est très importante, notamment dans le domaine de l'habillement. Ils Contiennent des groupes chromophores issus essentiellement des familles azoïques, anthraquinoniques et phtalocyanine.



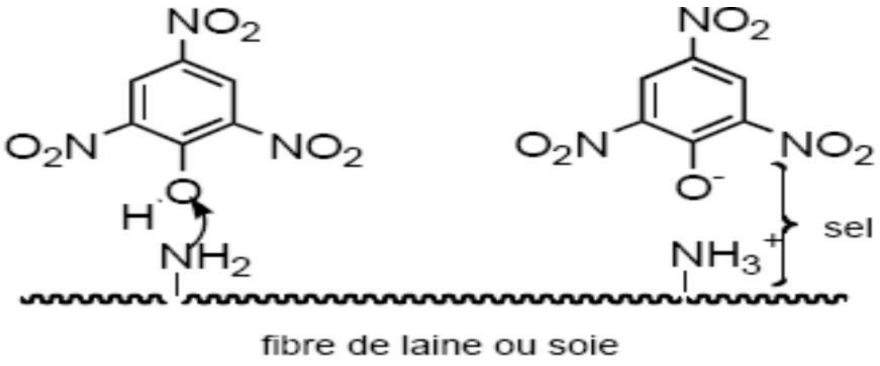
- **Les colorants pour les cuves :**

  Ils ne peuvent pas être dissous et nécessitent une transformation en leucodérivés par réduction alcaline. La fin de la teinture se produit lorsque le colorant est réoxydé in situ sous sa forme initiale insoluble. Les colorants de cuve, connus pour leur excellente résistance aux agents de dégradation, sont toujours employés, à l'instar de l'indigo, pour la teinture des articles en jean **[47,48]**.



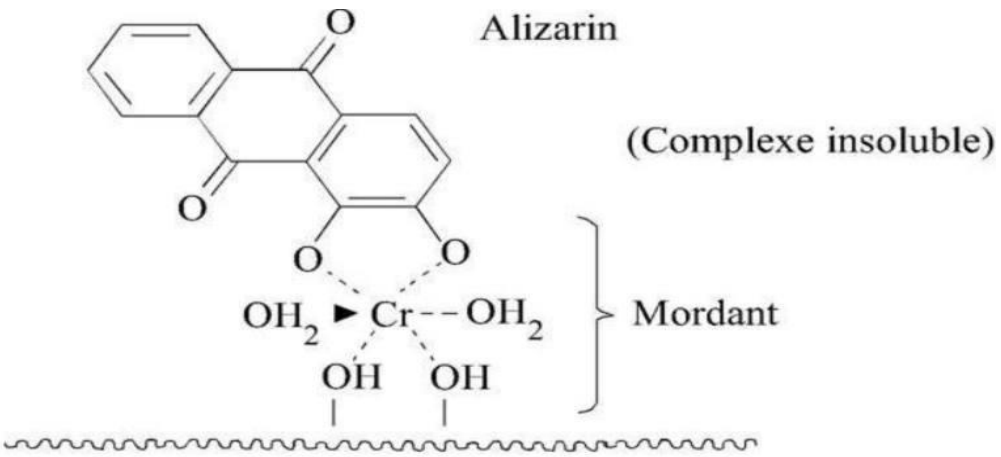
- **Les colorants à base d'eau (Les colorants directs) :**

  Ils ont la capacité de générer des charges positives ou négatives que les charges des fibres attirent électro-statiquement. La particularité de ces produits réside dans leur préférence pour les fibres sans utilisation de mordant, en raison de la structure plane de leur molécule **[47,48]**.



- **Les colorants à mordants :**

  En général, ils renferment un composé fonctionnel qui peut réagir intensément avec un sel d'aluminium, de chrome, de cobalt, de cuivre, de nickel ou de fer, créant ainsi divers complexes colorés avec le textile **[47,48]**.



- **Les colorants à base d'azote ou d'azote insolubles :**

  On forme directement ces colorants sur la fibre. Lors d'une première étape, on applique une solution de naphtol ou de copulant sur le support textile. Ensuite, on traite les précurseurs de la molécule, qui sont assez petits pour se diffuser dans les pores et les fibres, avec une solution de sel de diazonium, ce qui provoque immédiatement la formation du colorant azoïque par réaction de copulation **[47,48]**.

- **Les colorants dispersés :**

  Ces colorants ont une solubilité très faible dans l'eau et sont utilisés sous forme d'une poudre fine dispersée dans le bain de coloration. Lorsqu'ils sont teints à haute température, ils peuvent se propager dans les fibres synthétiques et s'y fixer.

II.2.4. Utilisation des colorants :

Les principales applications des colorants incluent les domaines suivants **[49]** :

- Le secteur du textile.
- L'industrie des pigments plastiques.
- Le secteur de l'architecture : les peintures (pigments).
- Le secteur de la pharmacie (colorants).
- Le secteur des cosmétiques.
- Le secteur agroalimentaire (colorants alimentaires).
- Dans le domaine de l'imprimerie (encre, papier).

II.3. Toxicité des colorants

II.3.1. Risques clairs

a) Exposition à l'eutrophisation

Les colorants, sous l'influence des microorganismes, produisent des nitrates et des phosphates dans l'environnement naturel. La présence excessive de ces ions minéraux peut être néfaste pour la vie des poissons et perturber la production d'eau potable. Les végétaux aquatiques consomment ces substances, ce qui accélère leur prolifération anarchique et entraîne une diminution de l'oxygène en inhibant la photosynthèse dans les parties les plus profondes des cours d'eau et des eaux stagnantes **[56]**.

b) La perte d'oxygène.

Quand des quantités considérables de matière organique sont introduites dans l'environnement aqueux par des rejets occasionnels, les mécanismes naturels de régulation ne peuvent plus compenser la consommation d'oxygène par les bactéries. Les micro-organismes dégradent seulement 7 à 8 mg de matière organique pour consommer l'oxygène présent dans un litre d'eau **[57]**.

c) Ton, turbidité, parfum

La présence de matières organiques dans les cours d'eau entraîne l'émergence de goûts désagréables, de prolifération bactérienne, d'odeur pestilentielle et de colorations anormales, étant donné que l'œil humain pouvait percevoir une coloration à partir de 5×10-

6 g/L. Outre leur aspect visuellement désagréable, les colorants ont la capacité de perturber la transmission de la lumière dans l'eau, entravant ainsi la photosynthèse des plantes aquatiques **[58]**.

I.1.4.2. Risques à moyen terme.

a) Continuité

Les colorants organiques synthétiques sont des substances qui ne peuvent pas être purifiées par des processus de dégradation biologique naturels **[59]**. Leur réactivité chimique est étroitement liée à cette persistance. De cette manière,

- ✓ Les composés insaturés ont une persistance inférieure à celle des composés saturés,
- ✓ Les alcanes ont une persistance inférieure à celle des aromatiques,
- ✓ La persistance des aromatiques augmente avec le nombre de substituants,
- ✓ Tandis que les substituants halogènes augmentent la persistance des colorants plus que les polymères alkyles.

b) Accumulation biologique

En l'absence de mécanismes spécifiques, soit pour empêcher la résorption d'une substance, soit pour l'éliminer une fois qu'elle est absorbée, cette substance s'accumule. Les espèces situées au sommet de la chaîne alimentaire, dont l'homme, sont exposées à des concentrations de substances toxiques pouvant être jusqu'à mille fois supérieures à celles initiales dans l'eau **[60]**.

C) Le cancer

La majorité des colorants ne sont pas directement toxiques, mais une partie importante de leurs métabolites l'est. Après la dégradation de la molécule initiale en sous-produits d'oxydation, ils ont des effets mutagènes, tératogènes ou cancérigènes : amine cancérigène pour les azoïques, leuco dérivé pour les triphénylméthanes **[61]**.

d) Des résidus de chloration (Sous-produits de chloration)

Les microorganismes pathogènes sont éliminés par le chlore qui réagit avec la matière organique pour produire des trihalométhanes (THM) pouvant atteindre des centaines de mg/L. Chez l'homme, les sous-produits de chloration sont à l'origine du cancer du foie, des poumons, des reins et de la peau **[60]**.

Chapitre III :

Matériels et méthodes

III.1. Introduction :

Ce chapitre présente les caractéristiques physico-chimiques du colorant étudié, Rouge de Congo, ainsi que les méthodes de caractérisation de type de Biomasse.

III.2. Objectif de travail :

Notre travail est d'étudier la capacité de biosorption de rouge de Congo en utilisant la biomasse algale (la Spiruline).

III.3. Matériels et méthodes

III.3.1. Matériels biologiques

Dans cette étude, nous avons utilisé l'algue bleue verte, *Arthrospira platensis*, qui fait partie de la classe des cyanobactéries.

Le laboratoire de la faculté des sciences de biologie de l'Université de YAHIA Farès (Médéa) a gracieusement offert la souche en culture dans des flacons de 500 ml, dans des conditions de culture bien précises.

La souche, originaire de la wilaya de Tamanrasset en Algérie, a été cultivée dans un environnement de culture enrichi en minéraux pour favoriser sa croissance, dans des flacons de 500 ml, maintenus dans des conditions d'éclairage, de température et de débit d'air similaires. On garantit un éclairage constant grâce à une lampe fluorescente blanche. On maintient la température à une valeur idéale de 32°C (±1°C) en utilisant des thermostats réglables. Le barbotage d'air est utilisé pour stimuler les cultures en utilisant des pompes à air avec un débit de 19 L/h.

III.3.2. Culture de la spiruline au laboratoire

On obtient la quantité de Spiruline requise pour l'étude en ajoutant quotidiennement une petite quantité de culture pure de 100 ml. Ainsi, de petits volumes de milieu de culture sont ajoutés quotidiennement les uns aux autres jusqu'à ce qu'un volume adéquat soit obtenu pour effectuer les étapes expérimentales (figure III.1).

Pour préserver la qualité des souches, il est nécessaire de les repiquer tous les quinze jours. Effectivement, cette période de repiquage est parfaite pour préserver la culture toute jeune avec un fort potentiel de transmission. Le repiquage est utilisé pour doubler une souche mère afin d'obtenir deux souches filles : une souche fournira une offre de souche

mère au bout de quinze jours, tandis que l'autre souche fille permettra une éventuelle mise en place d'une culture **[61]**.

La période de latence est causée par l'ajustement des cultures avant une reprise de la progression. L'âge de la culture entraîne une phase de latence plus longue, ce qui rend pertinent de repiquer la souche pendant la phase exponentielle.



Fig.III.1 : Développement de la spiruline dans des conditions expérimentales.

III.3.3. Matériel non biologique :

III.3.3.1. Appareillage et produits utilisés

Appareillage	Produits
3 types de Centrifugeuse	Rouge de Congo
Etuve (memmert)	Ethanol
Micropipette 100 -1000 Ul	L'acide sulfurique
PH mètre	Hydroxyde de sodium (NAOH)
Balance	Bradford
Spectrophotomètre UV-1600 PC	L'eau ultra pure
Congélateur	Eau distillé
Vortex	/
Les tubes à essai	/
Bain marie (memmert)	/
Microtube Eppendorf safe	/

III.3.3.2. Préparation de milieu de culture

Les cultures sont mises en place dans un environnement artificiel décrit par Zarrouk en 1966. Ce milieu renferme tous les nutriments qui pourraient être ingérés par Arthrospira platensis à des concentrations bien supérieures à celles nécessaires à **[62]**.

Le pH du milieu de culture testé est corrigé en ajoutant du NaOH. Il est conservé à l'abri de la lumière, sa composition est donnée dans le tableau (III.2) ci-dessous :

Tableau.I.2 Composition chimique du milieu Zarrouk **[11]**.

Composition	**Concentration ($g.L^{-1}$)**
$NaHCO_3$	16.80
K_2HPO_4	0.50
$NaNO_3$	2.50
K_2SO_4	1.00
NaCl	1.00
$MgSO_4$ ($7H_2O$)	0.20
$CaCl_2$	0.04
$FeSO_4(7H_2O)$	0.01
EDTA	0.08

À 1 L de la composition mentionnée précédemment, 1 ml de chaque solution d'oligo-éléments **A_5** et **B_6** a été ajouté.

Tableau III.3 : composition chimique de la solution A5 **[11]**.

Oligo-éléments	**Concentration ($g.L^{-1}$)**
H_3BO_3	2.86
$MnCl_2.4\ H_2O$	1.81
$ZnSO_3$	0.22
$CuSO_4$	0.08
MoO_3	0.01

Tableau III.4 : Composition chimique de la solution B6 **[11]**.

Oligo-éléments	Concentration ($g.L^{-1}$)
$K_2Cr\ (SO_4)_4.24\ H_2O$	960.10^{-4}
$NiSO_4.7H_2O$	478.10^{-4}
$Ti_2\ (SO_4)$	400.10^{-4}
$NH_4\ VO_3$	229.10^{-4}
$Na_2\ WO_4$	179.10^{-4}
$Co\ (NO_3)_2.6H_2O$	44.10^{-4}

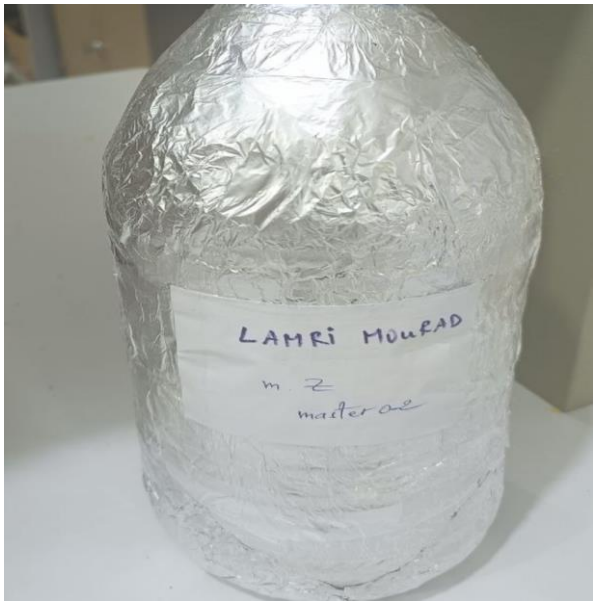


Figure III.2. Milieu de culture (**ZARROUK**)

III.4. Rouge de Congo

En 1884, un chimiste allemand, BÖTTIGER, a découvert le Rouge Congo (RC), qui a été employé pour la coloration des textiles, du papier, du plastique, etc. La coloration des cellules éosinophiles, des dépôts pathologiques de protéines, des cellules des muqueuses gastriques, de la kératine, des os embryonnaires, du cément des jeunes dents, des parois cellulaires d'algues filamenteuses, des polysaccharides... a également été utilisée rapidement en histologie avec un grand succès.

Ce colorant appartient à la catégorie des colorants polyazoïques car il contient deux chromophores de type azoïque, c'est-à-dire composés chacun de deux atomes d'azote doublement liés et différentièrent substitués.

III.4.1 Caractéristiques physico-chimiques Du colorant Rouge de Congo (RC)

Le colorant :« Rouge de Congo » utilisé au cours de cette étude possède les caractéristiques suivantes :

- Grande solubilité dans l'eau.
- Faible tension de vapeur, voire nulle.
- Analyse par spectrophotomètre UV-visible.

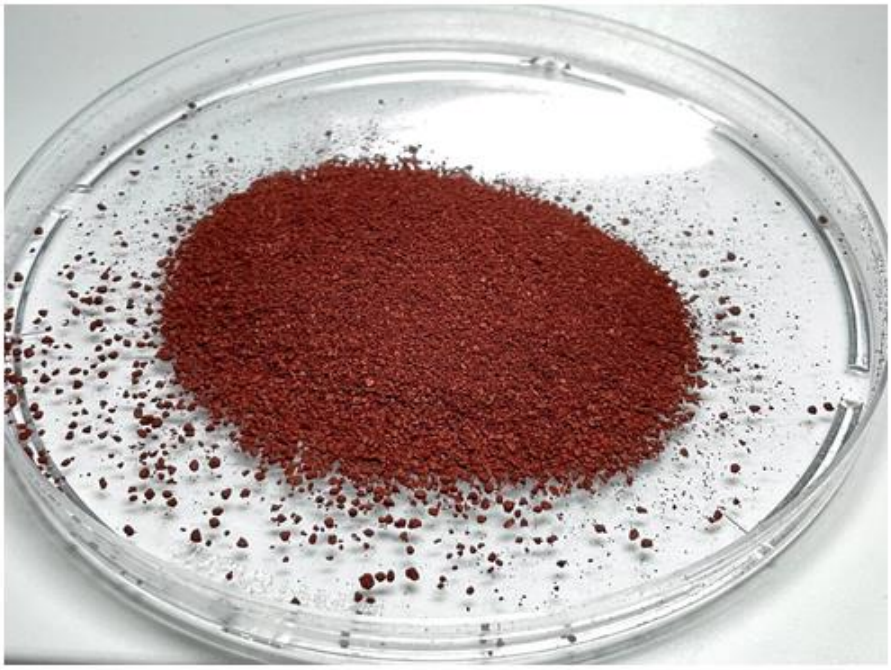
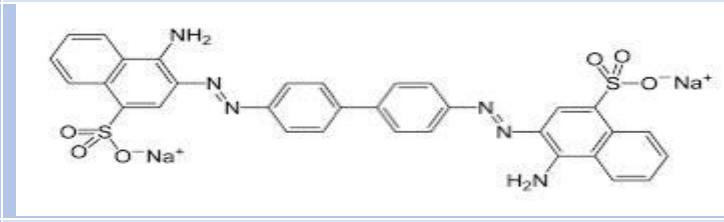


Figure III.2 : Rouge de Congo en poudre

L’ensemble des caractéristiques de Rouge de Congo sont rassemblées dans le tableau ci-dessous :

Tableau (III.5) : Principales caractéristiques physico-chimiques du Rouge Congo **[63,65]**

Nom	**Rouge de Congo (RC)**
Famille	Colorants directs
Formule brute	$C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$
Appellation chimique	The sodium Salt of benzidinediazo-bis-1-naphtylamine-4-sulfonic Acid
Masse molaire (g/mol)	696.66 g/mol
λ_{max}	500 nm
Structure	
Solubilité dans l'eau	Elevée
Utilité	Textile
Tension de Vapeur	Faible

III.4.2: Préparation de la solution mère de rouge de Congo :

Le colorant rouge de Congo que nous avons employé possède une masse molaire de 696,665 g/ mol et une pureté de 99,99%, selon les critères de sigma Aldrich. La formule chimique de ce produit est la suivante : **$C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$ [63,65]**.

Les étapes suivantes ont été suivies pour préparer la solution mère concentrée de 1 g/l dilué dans 250 ml de milieu Zarrouk

Ajouter 0.25 g de rouge Congo à un bêcher de 250 ml, ajusté avec le milieu Zarrouk, puis agiter pendant 15 minutes.

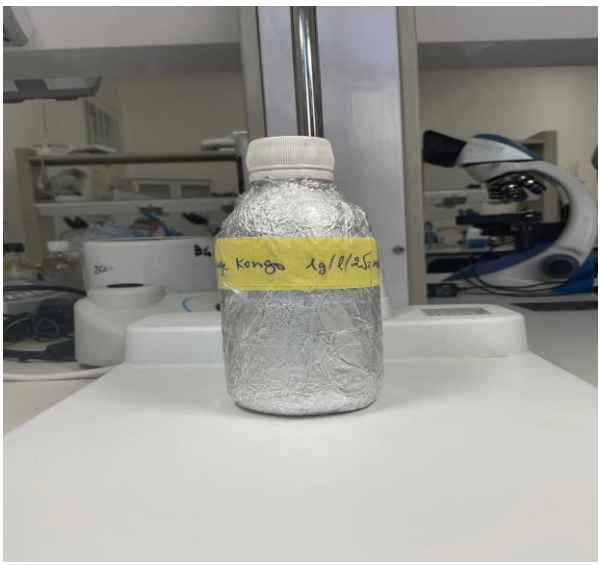


Figure III.3 : représente la solution de mère de **Rouge de Congo**

III.4.3. Etablissement du courbe d'étalonnage :

La courbe d'étalonnage qui représente la variation de l'absorbance en fonction de la concentration en colorant a été établie à une valeur λ_{max} = 530 nm en utilisant un spectrophotométrie UV-visible ((UV-120-02), de type Helios Gamma) pour une série de solutions de concentrations connues obtenues par dilution à partir d'une solution mère (C_0= 100 mg. L^{-1}). La courbe d'étalonnage établis à partir des solutions diluées du colorant sur la base de la longueur d'onde indiquée, montre (figure III-2) une bonne linéarité et la possibilité d'analyser ce colorant par cette méthode. La loi de Beer-Lambert, est respectée ainsi.

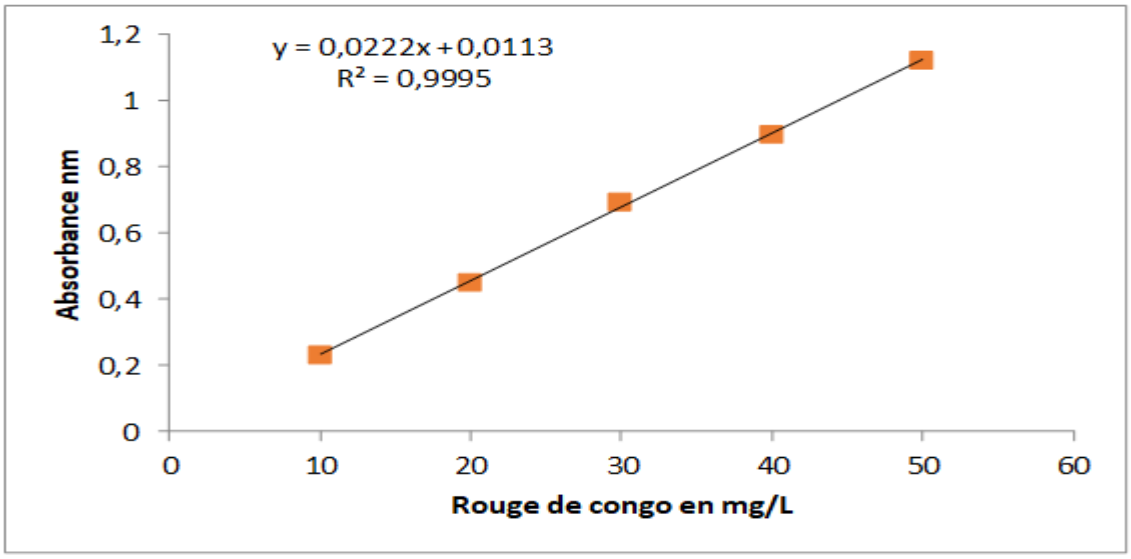


Fig. III.1. Courbe d'étalonnage du Rouge de Congo à 530 nm

III.4.4 : Méthodes de dosage par spectroscopie UV-Visible

Nous avons utilisé un spectrophotomètre qui permet de mesurer directement les densités optiques. Les tests sont réalisés à l'aide d'un spectrophotomètre (UV-1600PC), de type Helios Gamma, qui est piloté par un ordinateur. On obtient directement les longueurs d'onde maximales en utilisant un balayage automatique entre 200 et 800 nm.

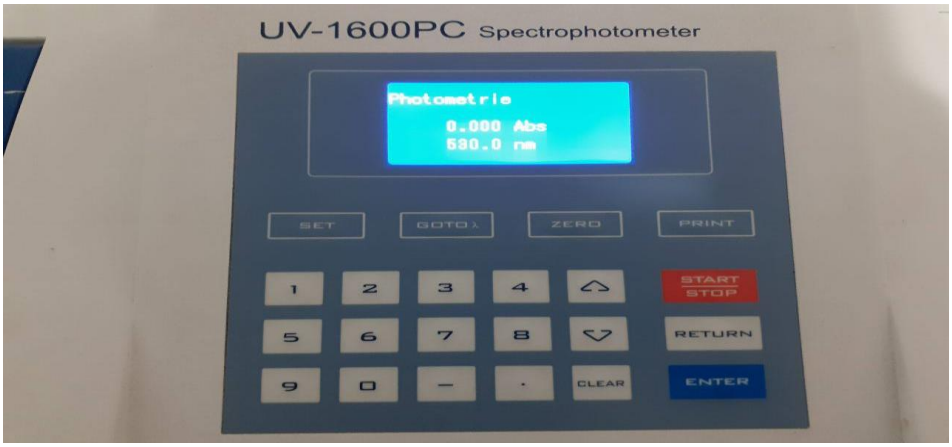


Figure III.4 : représente un spectrophotomètre (UV-1600PC)

III.5. Description des essais de biosorption de Rouge de Congo par la spiruline

Les essais de biosorption du colorant (Rouge de Congo) sur la biomasse (Arthrospira platensis) ont été réalisé dans des tubes de 15 ml. A cet effet, un volume de 15 ml d'une solution de colorant de concentration connue est mis en contact avec une masse déterminée de biomasse et l'ensemble est porté en agitation. A la fin des essais, les échantillons sont filtrés puis analysés par spectrophotométrie UV-visible.

Les essais d'élimination du Rouge de Congo ont été menées en appliquant la méthodologie de plans d'expériences ou l'influence de différents paramètres (concentration de biomasse, temps de contact et concentration initiale en colorant) sur la capacité de biosorption de la biomasse a été étudiée.

III. 6. Méthodologie des plans d'expériences

III.6.1. Introduction

De façon traditionnelle, un chercheur réalise des expériences de façon séquentielle en modifiant les paramètres successivement. Ce processus apporte des résultats, mais il demande la réalisation d'un grand nombre d'expériences. Afin de résoudre ce problème, il est nécessaire d'adopter une approche méthodique lors de la réalisation des essais.

L'objectif de la méthode des plans d'expérience est de structurer de manière économique et rationnelle une expérience qui repose sur divers paramètres. Cette approche garantit la qualité des résultats de l'expérience tout en fournissant le maximum de données pour un nombre réduit d'expériences à effectuer **[66]**.

Afin d'exploiter les plans d'expériences, il sera nécessaire d'adopter une méthodologie. Cette méthode se déroule en suivant les étapes suivantes **[67, 68]** :

- Formaliser le problème.
- Planifier.
- Expérimenter.
- Analyser les résultats.
- Améliorer la réponse.

III.6.2. Vocabulaire

III.6.2.1. Facteur

Les facteurs correspondent aux variables que l'on souhaite analyser et qui sont censées influencer le système. Ils peuvent varier en termes de quantité ou de qualité, de continuité ou de discrétion, de contrôle ou de non-contrôle **[69]**.

III.6.2.2. La réponse

Une réponse expérimentale est une réaction quantifiable que l'on constate lorsqu'on modifie les paramètres étudiés. Plusieurs réponses expérimentales peuvent éventuellement décrire un phénomène [70].

III.6.2.3. Matrice d'expérience

Contrôle d'une variable naturelle qualitative ou quantitative. Les facteurs sont restreints par deux niveaux, le bas (bas) et le haut (haut). Le niveau inférieur est représenté par le signe (-1) et le niveau supérieur par le signe (+1) [71].

III.5.2.4. Effet d'un facteur :

L'effet d'un facteur X correspond à la variation de la réponse Y lorsque X passe d'une valeur au niveau (-1) à une autre valeur au niveau (+1), comme indiqué sur la (figure III. 6). Graphiquement, plus l'inclinaison est forte, plus l'effet est important, et cela donne déjà des Indications.

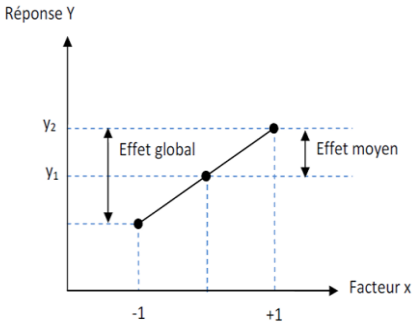


Figure III.6 : Illustration de l'effet d'un facteur

III.6.2.5. Interaction

La dépendance d'un facteur à la valeur prise par un autre facteur est connue sous le nom d'interaction. Sur un diagramme (Figure III.4), cette interaction se manifeste par le fait que les deux droites ne sont pas parallèles. À mesure que les droites s'éloignent de la parallèle, le degré d'interaction augmente.

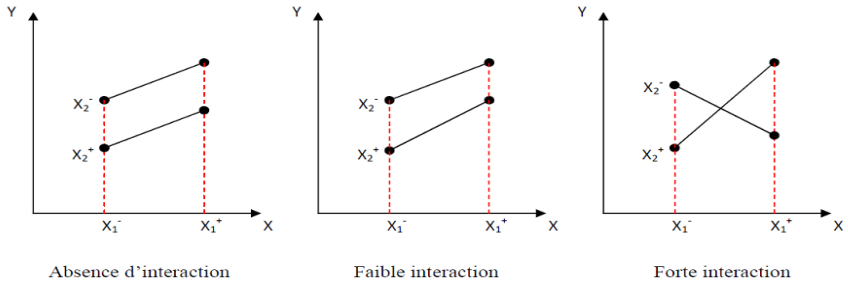


Figure III .7: Illustration d'une interaction

III.6.3. Technique d'analyse :

III.6.3.1. Analyse de la variance :

L'ANOVA joue un rôle crucial dans la détermination de la signification d'un effet ou d'un modèle mathématique. Le calcul de l'écart total entre les différentes mesures Yi du plan d'expériences et la moyenne de ces mesures est le principe de l'analyse de la variance **[72].**

III.6.3.2. Probabilité P :

La valeur de P est la statistique la plus significative dans le tableau de l'analyse de la variance. La valeur de cette valeur ne peut être comprise qu'entre 0 et 1. Si la valeur est inférieure à 0,05, on peut conclure que l'effet est important, tandis que si elle est inférieure à 0,01, on peut conclure que le facteur est très important.

III.6.3.3. Coefficients de détermination (R^2) :

Le coefficient de détermination R^2 est défini comme la proportion des variations de la réponse expliquée exclusivement par le modèle. Le R^2 représente donc une évaluation de la qualité du modèle, avec des valeurs allant de 0 à 1. Si la valeur est proche de 1, le modèle permet de retrouver les valeurs des réponses mesurées. Si elle est nulle, le modèle ne donne aucune explication.

III.6.4. Méthodologie de surfaces de réponses (RSM)

La méthodologie de surfaces de réponses constitue le $2^{ème}$ volet de la méthode des plans d'expériences. Cette méthode vise à déterminer d'une façon quantitative les variations de la fonction réponse vis-à-vis des facteurs d'influence significative. Les plans pour surfaces de réponse permettent d'établir des modèles mathématiques du second degré. Ils sont utilisés pour les variables continues.

Dans notre étude nous avons considéré l'influence de trois facteurs (Concentration de la biomasse, le temps de contact et la concentration du colorant, RC) sur l'efficacité d'élimination en utilisant la méthodologie de surfaces de réponses à l'aide du logiciel Design Expert, version 13.

III.7. Tests biochimiques

III.7.1. Détermination des teneurs en chlorophylle :

Pour déterminer la chlorophylle a et b et les caroténoïdes totaux, nous avons utilisé une méthode modifiée de wellburn. En bref, 1ml de culture d'algue a été centrifugé à 12000 tr/min pendant 5min.les surnageant ont été éliminés et 1ml d'éthanol a été ajouté aux pastilles et incubé à 60°C pendant 50 min dans un bain-marie. Les lysats ont été clarifiés par centrifugation à 10000 tr/min pendant 3min. Pour la chlorophylle a, la chlorophylle b et les caroténoïdes, l'absorbance de la solution pigmentaire extraite a été obtenue à 665 nm, 649 nm et 470 nm respectivement **[73]**.

III.7.2. Détermination des teneurs en glucides et EPS

Les teneurs en glucides solubles et des EPS du micro algues ont été estimées à la fin de la période de culture par la méthode UV-acide sulfurique. Les cellules d'algues centrifugées ont été mises en suspension dans 2ml d'eau ultra pure et maintenues dans un bain-marie bouillant pendant 2h pour extraire les sucres solubles. Le surnageant clair (0.5ml) après centrifugation (4800g, 15min) a été mélangé avec de l'acide sulfurique concentrique (1.5ml), (Vonshak, 1997). L'absorbance a été mesurée par spectrophotométrie à 540 nm par rapport à un blanc approprié et l'eau ultra pure été utilisé comme étalon **[74,75]**.

III.7.3. Détermination des teneurs en protéine :

La quantification des protéines de contenu cellulaires a été déterminée par la méthode de Bradford **[24]**, les concentrations en protéines mesuré à 595 nm en utilisant une courbe standard d'albumine sérique bovine tracée. Pour l'extraction des lipides cellulaires de Cultures d'A. platensis (Bradford, 1976). La fraction protéique de micro algue a été obtenue à par 5ml d'une suspension de culture centrifugeuse réfrigérante (5000 tr/min pendant 30 min, 4C◦), et le surnageant recueilli a été utilisé pour les processus ultérieurs de détermination des protéines. L'extrait collecté a été traité avec 5 ml de réactif de Bradford. L'absorbance a été mesurée à 595 nm après avoir mélangé l'échantillon **[76]**.

Chapitre IV :

Résultats et discussion

IV.1. Introduction

Dans ce chapitre on présente les résultats obtenus concernant l'élimination de Rouge Congo par la spiruline. Cette étude a été menée en fonction des paramètres suivants : la biomasse algale, le temps de contact, la concentration de polluant, et l'intensité de lumière.

IV.2. Résultats d'élimination de Rouge de Congo

IV.2.1. Construction du plan d'expériences :

Dans ce travail nous avons choisi le plan central composite design (CCD) pour la conduite de cette étude. Ce choix est notamment motivé par le faible coût demandé : Les quatre facteurs retenus pour le plan CCD (Tableau IV.1) sont la concentration en biomasse (A), l'intensité de la lumière (B), la durée (C) et la concentration de Rouge de Congo (D).

Tableau (IV.1) : Facteurs et intervalles de variation

Variables réelles	Unité	Variables codées	Niveau bas -1	Point central 0	Niveau haut +1
A : Concentration en biomasse	g/L	X_1	1	1,5	2
B : l'intensité de la lumière	Lux	X_2	3000	5000	7000
C : la durée	Jours	X_3	1	2	3
D : Concentration de RC	mg/L	X_4	10	20	30

IV.2.2. Rendement d'élimination du Rouge de Congo (RC)

Pour calculer le rendement d'élimination de RC (RE, %), on applique la formule suivante :

$$RE(\%) = \left[\frac{C_0 - C_e}{C_0}\right] \times 100 \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \quad (IV.1)$$

Avec :

C_0 : concentration initiale de solution de RC en (mg/l).

Ce : concentration de solution RC résiduelle en (mg/l).

IV.2.3. Matrice d'expérience

Le plan central composite design (CCD) pour quatre facteurs, composé de 29 essais dont six au centre du domaine (essais 17, 19, 22, 26, 27 et 28) et la réponse expérimentale (rendement d'élimination de Rouge de Congo) est représenté ci-après **(Tableau IV.2).**

Tableau (IV.2) : Matrice d'expériences fourni par le plan **CCD**

EXP	A : Biomasse	B : Intensité	C : durée	D : Conc (RC)	R
	g/L	Lux	Jour	mg/L	%
1	2	7000	1	10	51.82
2	1	7000	1	30	5.15
3	1.5	5000	4	20	42.72
4	1	3000	1	10	3.18
5	0.5	5000	2	20	2.27
6	2	7000	3	30	70
7	1	3000	3	30	5.15
8	1	3000	3	10	11.36
9	1	7000	1	10	5.91
10	2	3000	3	10	47.27
11	2	3000	1	10	40
12	2	3000	3	30	55.3
13	2	7000	3	10	74.09
14	2	3000	1	30	9.85
15	1.5	5000	0	20	4.32
16	1.5	1000	2	20	16.36
17	1.5	5000	2	20	12.72
18	2	7000	1	30	14.7
19	1.5	5000	2	20	12.72
20	1.5	5000	2	40	14.77
21	1	7000	3	30	13.63
22	1.5	5000	2	20	12.72
23	1.5	9000	2	20	10.23
24	2.5	5000	2	20	68.18
25	1	3000	1	30	5
26	1.5	5000	2	20	12.72
27	1.5	5000	2	20	12.72
28	1.5	5000	2	20	12.72
29	1	7000	3	10	29.09

IV.3. Modélisation en surface de réponse (RSM)

La modélisation de surface de réponse (RSM) est un outil de modélisation pour l'explication et l'estimation de la réponse et de l'influence de l'interaction entre les facteurs. Pour mettre en œuvre la méthodologie de surface de réponse (RSM), nous avons utilisé le logiciel de plan d'expériences, Design Expert (version 13). C'est un logiciel de traitement qui comprend plusieurs fonctionnalités. Il prend en charge les calculs d'analyse de la variance, les comparaisons des résultats statistiques et le traçage des graphes iso-réponses et surface de réponses.

IV.3.1. Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée en trois étapes.

- ✓ L'analyse de la variance (ANOVA),
- ✓ L'analyse des résidus
- ✓ L'étude des coefficients du modèle,

Tableau IV.3. Analyse de la variance ANOVA pour le modèle rendement d'élimination de RC

Source	Somme des carrés	DL	Moyenne des carrés	Valeur de F	Valeur de p
Modèle	12949.22	14	924.94	14.64	< 0.0001 **S**
A : Concentration en biomasse	7223.85	1	7223.85	114.31	< 0.0001 **S**
B : l'intensité de la lumière	234.50	1	234.50	3.71	0.0746 **NS**
C : la durée	2543.69	1	2543.69	40.25	< 0.0001 **S**
D : Concentration de RC	553.46	1	553.46	8.76	0.0104 **S**
AB	52.93	1	52.93	0.8375	0.3756 **NS**
AC	509.63	1	509.63	8.06	0.0131 **S**
AD	114.06	1	114.06	1.80	0.2005 **NS**
BC	145.08	1	145.08	2.30	0.1520 **NS**
BD	59.75	1	59.75	0.9455	0.3474 **NS**
CD	146.89	1	146.89	2.32	0.1496 **NS**
A^2	979.94	1	979.94	15.51	0.0015 **S**
B^2	8.96	1	8.96	0.1417	0.7122 **NS**
C^2	262.21	1	262.21	4.15	0.0610 **NS**
D^2	285.61	1	285.61	4.52	0.0518 **S**
Résidu	884.75	14	63.20	**R^2 = 0,9360**	
Totale	13833.96	28		**$R^2_{Ajusté}$ = 0,8721**	

S : Significatif **; NS** : Non Significatif

VI.3.1.1. Analyse de la variance (ANOVA)

Pour expliquer l'effet des paramètres opératoires sur le rendement d'élimination de Rouge de Congo, l'analyse de la variance est nécessaire. Les résultats de l'ANOVA présenté dans le tableau **IV.3**, montre que le modèle quadratique proposé est statistiquement très significatif à un niveau de confiance de 95% et une valeur de F =14,64 correspond à une probabilité P < 0,0001. D'après ces résultats, nous pouvons conclure que le modèle de régression semble modéliser correctement le rendement d'élimination de Rouge de Congo avec un coefficient de détermination R^2 = 0,9360. C'est-à dire que seulement 6 % des variations ne sont pas expliquées par le modèle. De plus, une valeur de $R^2_{Ajusté}$ = 0,8721, confirme la bonne significativité du modèle.

VI.3.1.2. Analyse graphique

La figure **IV.1** illustre la comparaison entre les valeurs prédites et les valeurs expérimentales pour le rendement d'élimination (R, %) du RC. L'analyse des résultats montre que la plupart des valeurs se situent près de l'axe diagonal, ce qui montre que le modèle trouvé représente de façon satisfaisante les rendements d'éliminations expérimentales du RC.

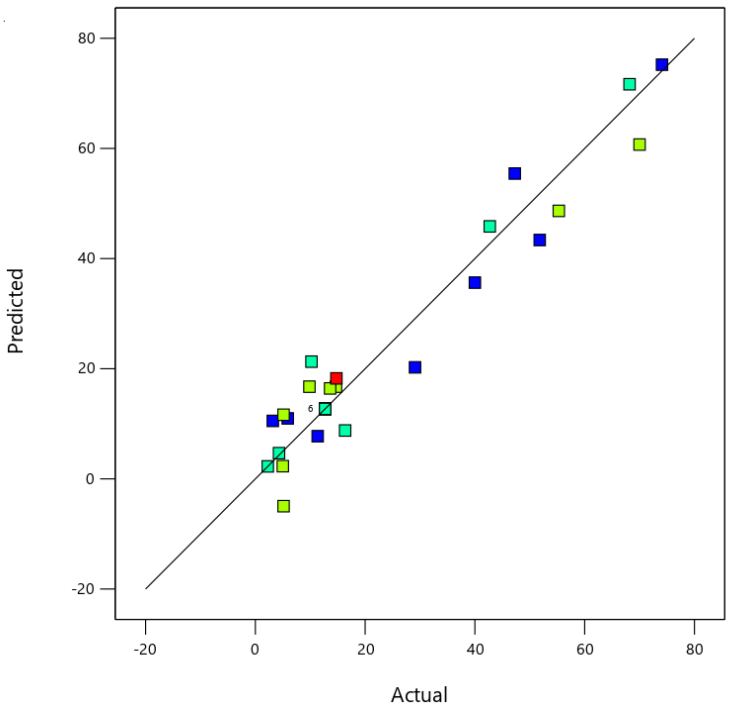


Figure. IV.1. Valeurs prédites en fonction des valeurs expérimentales du rendement d'élimination de RC

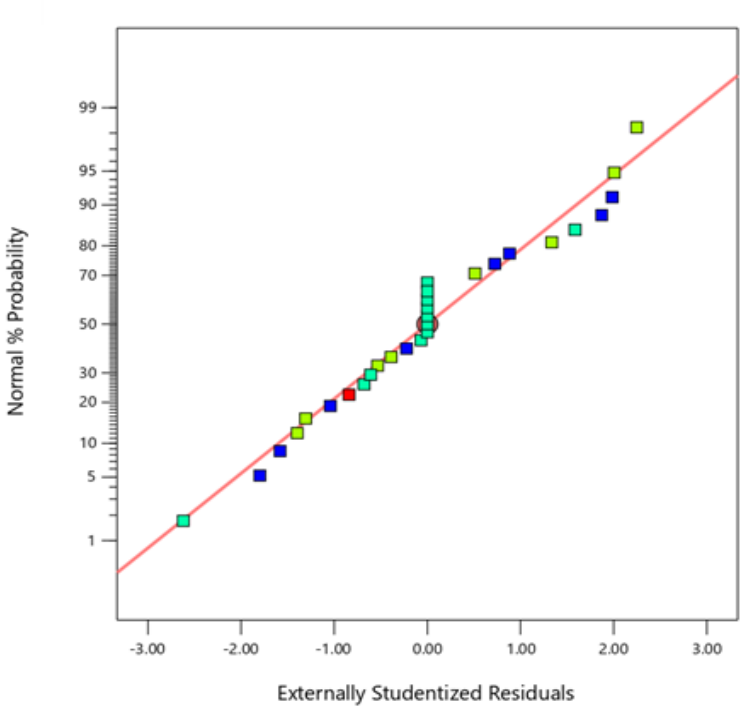


Figure. IV.2. Probabilité normale des résidus du rendement d'élimination (R, %) de RC.

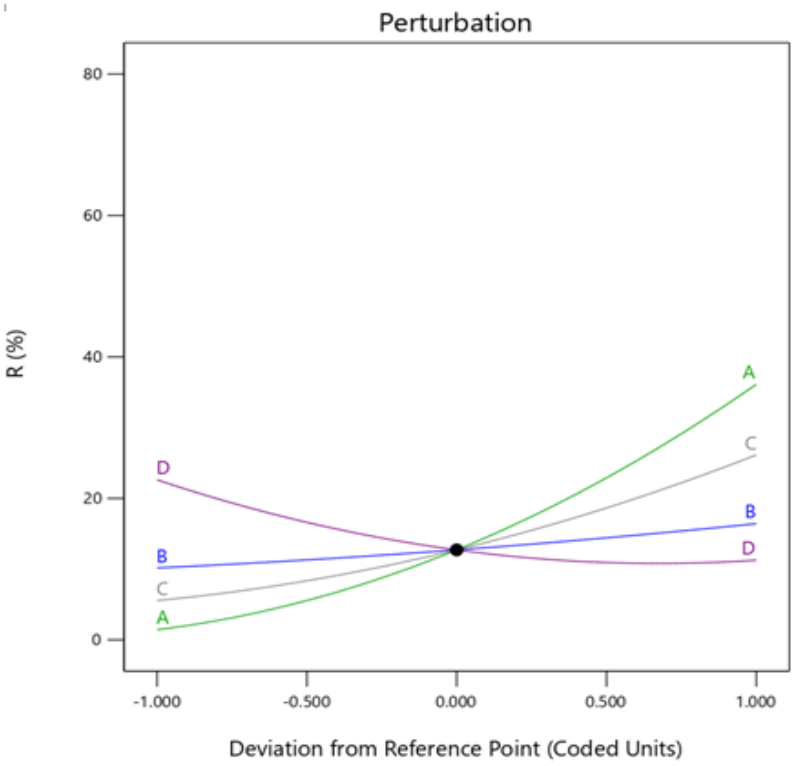


Figure IV.3. Diagramme de perturbation des variables de décision

Notre logiciel de plan d'expériences (*Design Expert, 13*) a fourni un autre diagramme, appelé graphique de probabilité normale (figure IV.3). Sur ce graphique on observe que les données résiduelles forment une ligne droite, ce qui montre que la distribution est normale.

La figure **IV.3** présente le diagramme de perturbation de toutes les variables de décision sur la réponse (R, %). Une comparaison des effets de toutes les variables confirme l'analyse d'ANOVA que la concentration de la biomasse (A) et la durée de contact (C) ont un effet plus significatif par rapport aux autres variables. D'autre part, la concentration du RC a un effet négatif sur le rendement d'élimination du RC.

IV.3.2. Equation de régression du modèle quadratique :

$$R(\%) = 1272 + 17.35\ X_1 + 3.13\ X_2 + 10.30\ X_3 - 5.68\ X_4 + 1.82\ X_1 X_2 + 5.64\ X_1 X_3 - 2.67\ X_1 X_4 + 3.01\ X_2 X_3 - 1.93\ X_2 X_4 + 3.03\ X_3 X_4 + 6.06\ X_1^2 + 0.58\ X_2^2 + 3.14\ X_3^2 + 4.23\ X_4^2$$

L'analyse des coefficients de régression estimés pour le modèle prédictif impliquant 4 facteurs principaux (A, B, C, D) et leurs interactions est effectuée pour comprendre l'impact de différents paramètres sur la réponse d'intérêt (rendement d'élimination du RC). De plus, les coefficients du modèle de signe positifs ont un effet synergique sur le rendement d'élimination du RC et les coefficients avec des signes négatifs ont un effet antagoniste sur le rendement d'élimination du RC.

- **Facteur A (Concentration de Biomasse) :** C'est le facteur ayant le plus fort impact positif (17.35) sur la variable de réponse. Cela indique que l'augmentation de la biomasse a un effet bénéfique important sur la variable prédite**.**
- **Facteur B (Intensité de la lumière)** : Ce facteur a aussi un effet positif mais plus modéré (3.13) par rapport à la biomasse. Une augmentation de l'intensité semble donc améliorer la variable de réponse, mais dans une moindre mesure**.**
- **Facteur C (Durée de contact)** : Comme la biomasse, la durée a un impact positif substantiel (10.30) sur la variable prédite. Prolonger la durée du processus semble donc être un levier intéressant.
- **Facteur D (Concentration du RC) :** Contrairement aux autres, ce facteur a un effet négatif (-5.68) sur la variable de réponse. Augmenter la concentration aurait donc un impact défavorable.

IV.4. Etudes des effets des principaux facteurs sur le rendement d'élimination du RC

IV.4.1. L'effet de l'intensité lumineuse et la durée de contact

Les résultats obtenus de l'analyse de la variance (ANOVA) montrent que l'interaction entre les deux variables (B, C) est non significative. Le rendement d'élimination augmente avec l'intensité lumineuse et la période de contact avec un maximum d'élimination de 34% Les résultats ne sont pas en accord avec celle décrite par Samar El-Mekkawi **[77]** qui montre une meulier élimination à temps de traitement courte. (Figure IV.4).

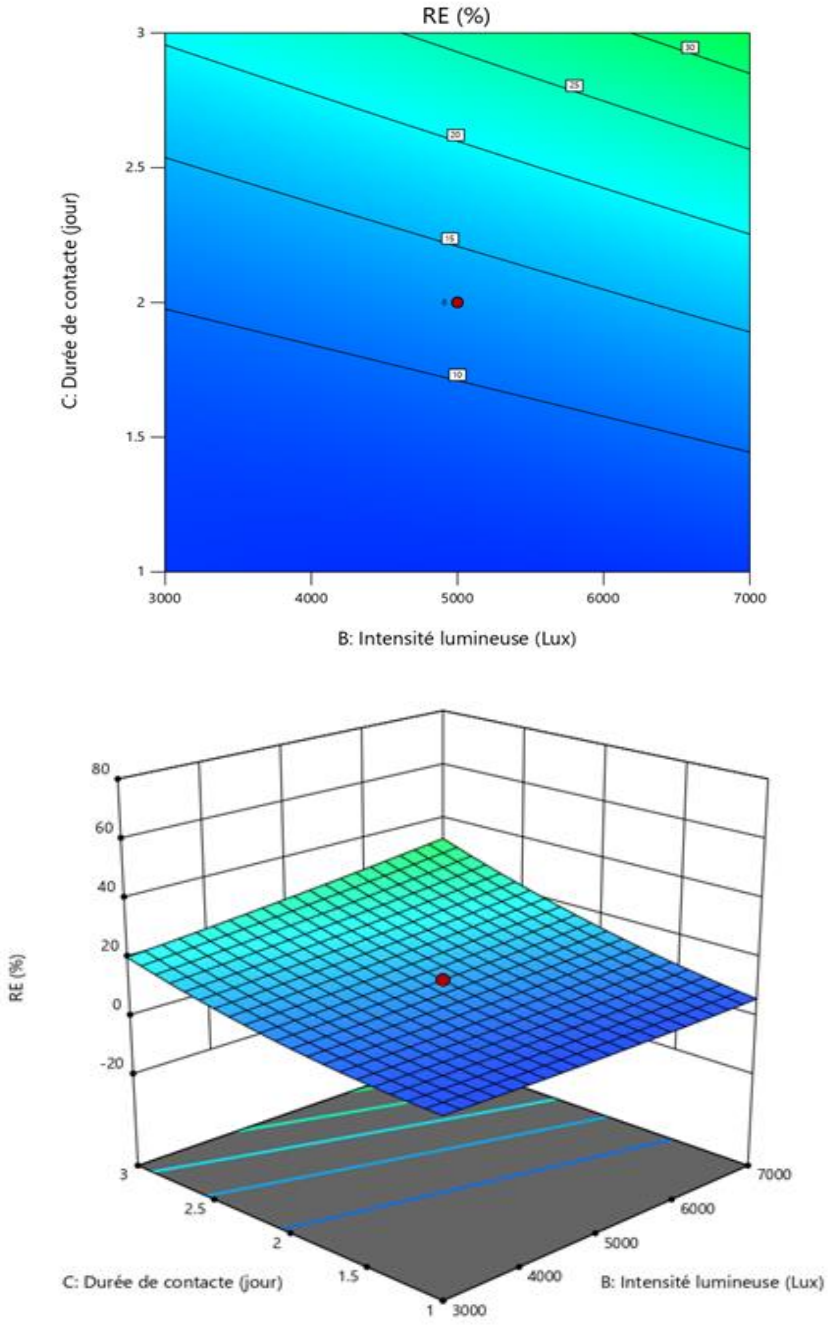


Figure IV .4. L'effet de l'intensité lumineuse la durée de contact.

IV.4.2. L'effet de la concentration de la biomasse et la durée de contact

Les résultats de l'ANOVA montrent une interaction positive entre les deux variables concentrations de biomasse et la durée de contact (A et C). L'efficacité d'élimination de RC augmente en fonction du temps de contact et la concentration de la biomasse c'est-à-dire 3 jours et 2g/L respectivement pour une meilleure élimination. Nous constatons que le rendement d'élimination de RC Par la biomasse ça prend beaucoup de temps (plus de 03 jours) en parallèle de concentration de la biomasse. (**figure IV.5)**.

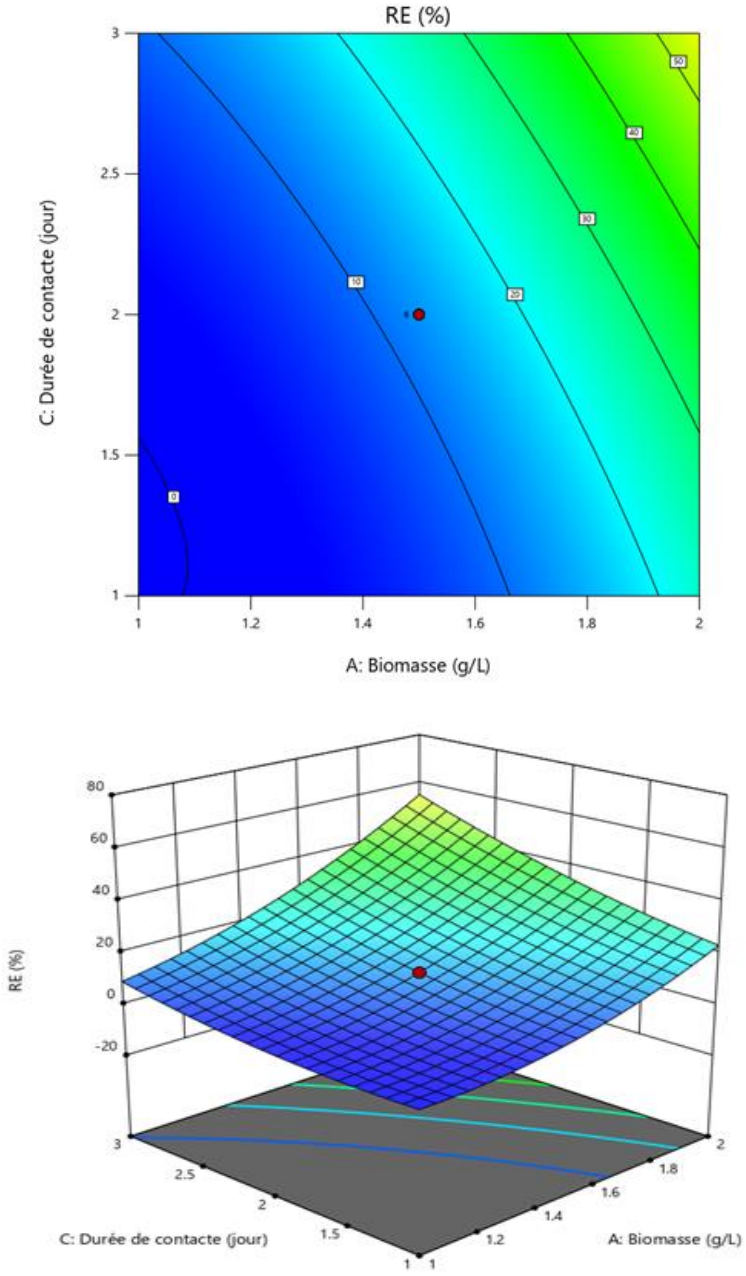


Figure IV.5: L'effet de temp de contact sur le RC.

IV.4.3. L'effet de l'intensité lumineuse et la concentration de biomasse sur (RE)

La figure IV.7 montre que le rendement de l'élimination de RC augmente proportionnelle avec la concentration de biomasse avec un rendement maximum de 40.5% à 2 g/l de biomasse et l'intensité(lux) 7000. Cela signifie que plus on augmente la concentration de biomasse et l'intensité, plus l'efficacité.

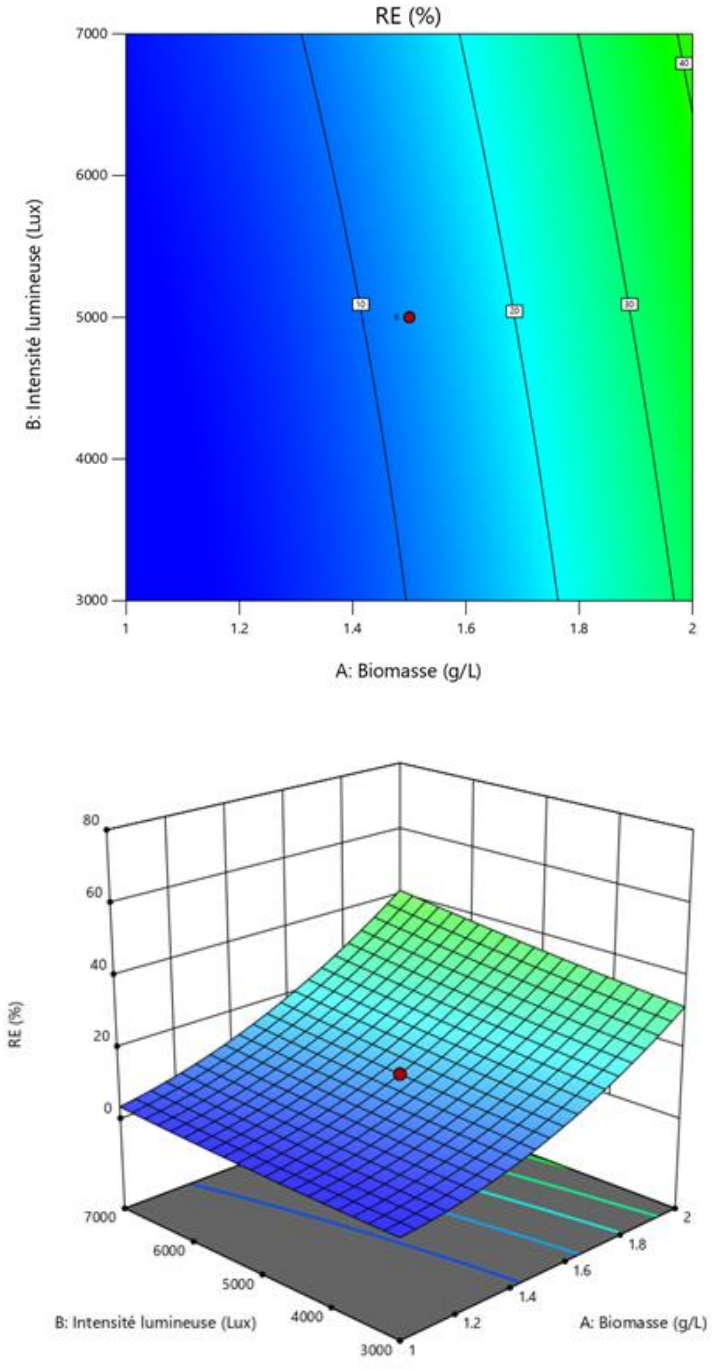


Figure IV.7 : Effet de l'intensité lumineuse et la concentration de biomasse sur le RE

IV.4.4. Effet de l'intensité lumineuse et la concentration de RC sur le rendement RE :

La figure IV.8 montre que le rendement de l'élimination de RC augment lorsque la concentration de RC est de 10 mg/L, plus l'intensité est forte (7000 lux). Avec un rendement maximum.

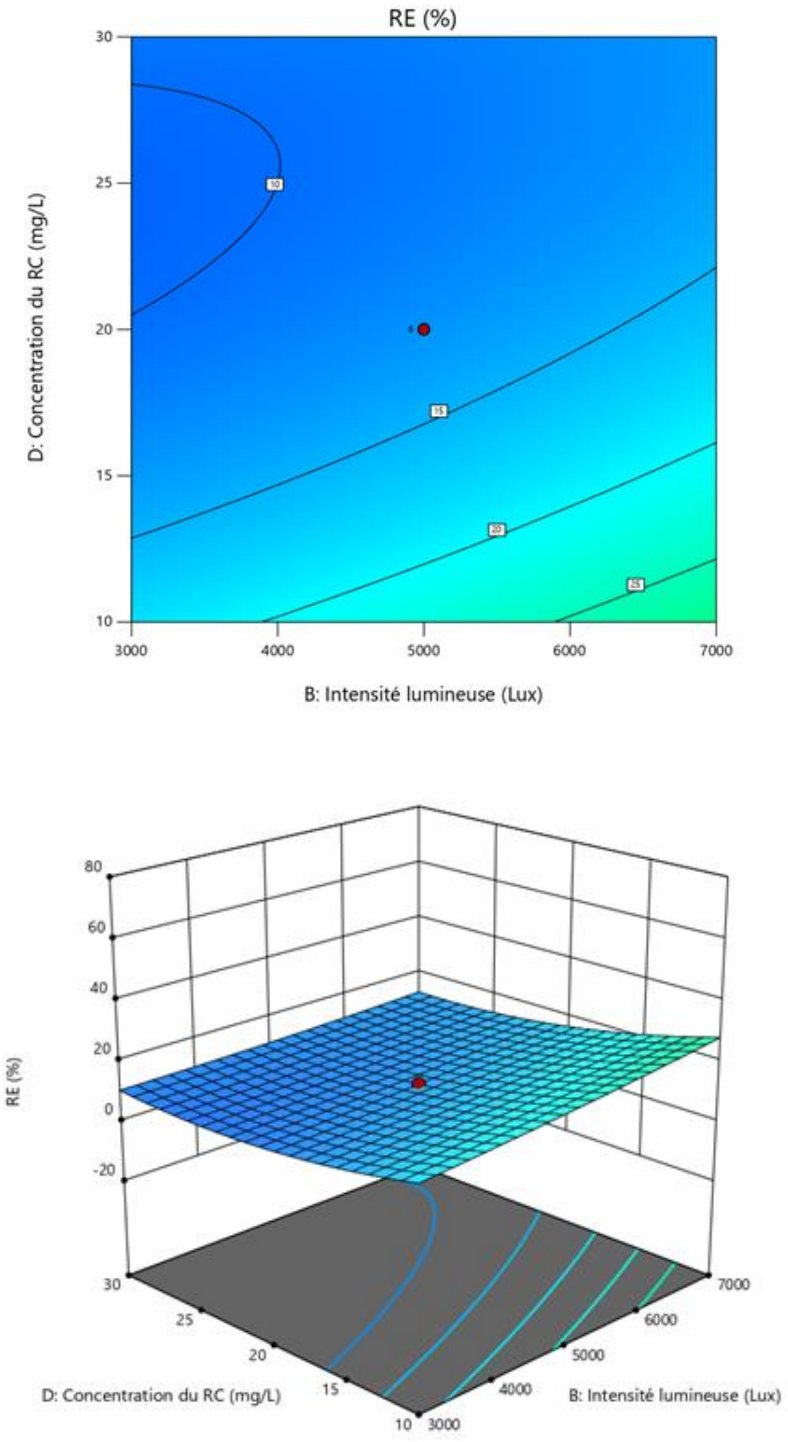


Figure IV.8 : L'effet de l'intensité lumineuse et la concentration de RC sur le RE.

IV.4.5. Effet de la concentration de RC :

La figure IV.9 présente l'effet de concentration de biomasse et la concentration de polluant sur le taux d'élimination de RC. Le rendement maximum d'élimination de RC est obtenu pour une concentration élevée de la biomasse et à faible dose de polluant, plus que la concentration de RC est élevée, plus le rendement d'élimination est faible. Les résultats obtenus sont controverse de celle Fadli soumya et Abbadeni kawther **(2018**) **[78]**.

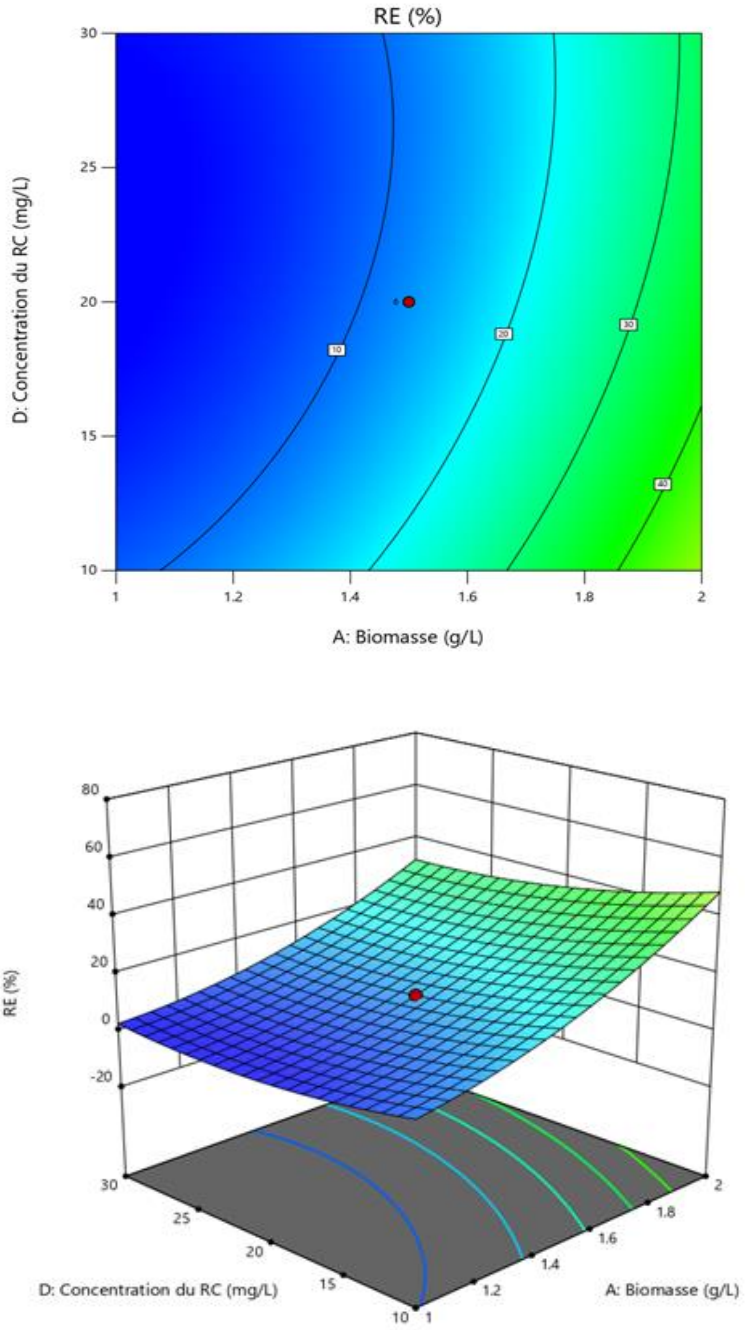


Figure IV.9 : L'effet de la biomasse et la concentration de RC sur le rendement RE.

VI.5. Processus d'optimisation :

L'utilisation du modèle mathématique de deuxième degré précédemment établi pour l'étude de l'élimination de rouge de Congo permet d'accéder à la combinaison des quatre facteurs opératoires conduisant au rendement d'élimination optimale. Cet optimum est obtenu soit par optimisation graphique (tracé des courbes iso-réponses et surfaces de réponses), soit par une optimisation numérique à l'aide de la fonction de désirabilité**.**

Dans notre étude nous avons opté à une optimisation numérique réalisée par le logiciel de plan d'expérience Design Expert V 13. Le plan optimal désiré pour obtenir un rendement d'élimination de RC maximal est donné dans la **figure IV.10.**

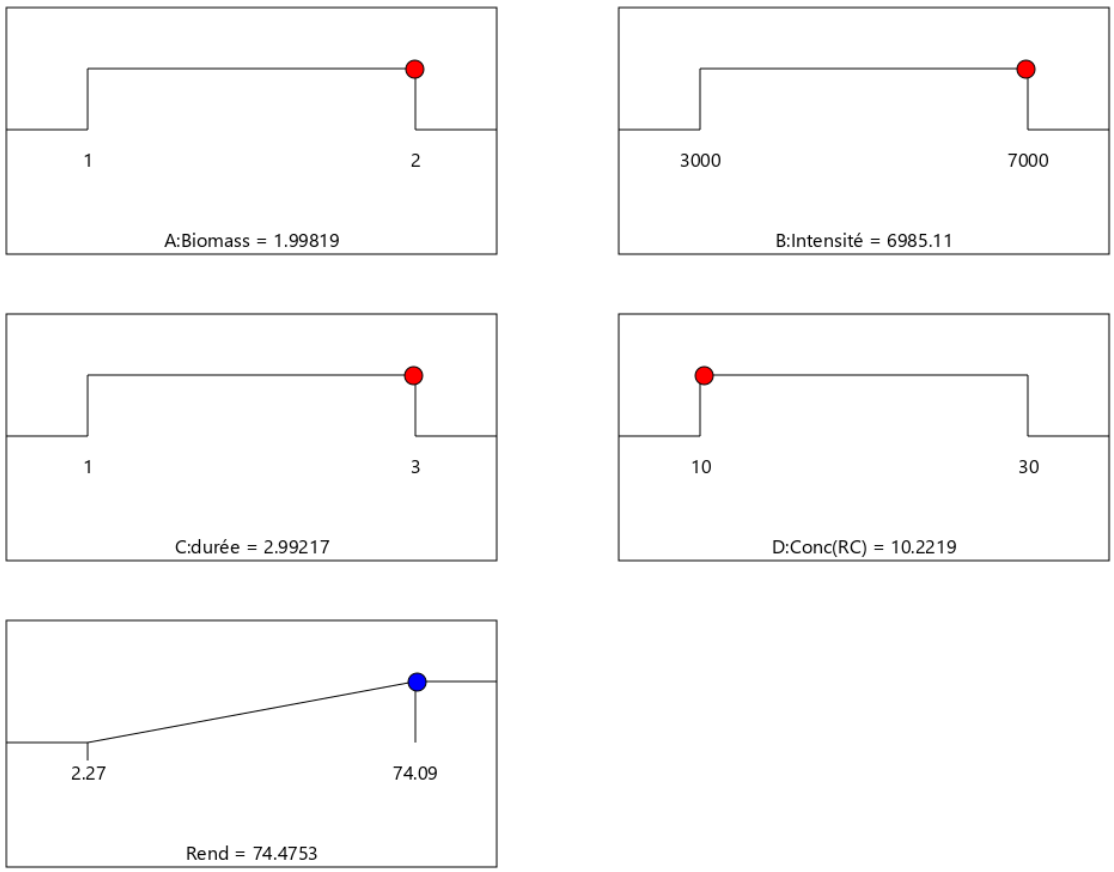


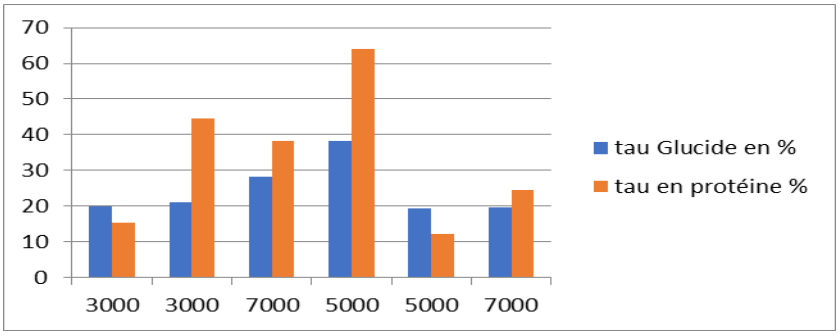
Figure IV.10 : Processus d'optimisation

IV.6. L'influence de la lumière sur la composition biochimique de la biomasse algale

Hu & Richmond, 1996 **[79]** ont indiqué que lorsqu'on utilise une densité de population optimale, il est possible d'approcher des valeurs théoriques substantielles de productivité photosynthétique et ce, par combinaison d'un trajet lumineux S/V court et un taux d'agitation vigoureux.

Le taux en protéine et le contenu cellulaire en glucide se sont révélés dépendants des variations de l'intensité lumineuse. On suit la réponse de productivité en fonction de l'intensité lumineuse **(figure. IV.11)**, les taux de croissance et la productivité de la biomasse se sont révélés dépendants des variations de facteurs appliqué. L'intensité lumineuse 3000-7000 lux En effet, de l'intensité lumineuse permet une nette amélioration de contenus cellulaire en protéine et en glucide. L'existence d'une telle réponse linéaire peut être interprétée par la probabilité élevée d'exposition des cellules à une intensité de lumière optimale de croissance à 50000 lux **[80].**

Hu & Richmond, 1996**[81]** ont indiqué que lorsqu'on utilise une densité de population optimale, il est possible d'approcher des valeurs théoriques substantielles de productivité photosynthétique et ce, par combinaison d'un trajet lumineux S/V court et un taux d'agitation vigoureux. A 3000 lux ; les faibles teneurs en protéine et en hydrate de carbone intracellulaire à par une mauvaise pénétration de la lumière dans les profondeurs du PBR ou le phénomène de photo-limitation **[82].** La chute de taux de protéine et de glucide peut s'expliquer par l'effet très important d'auto-ombrage à faible intensité lumineuse. Dans ces conditions on peut interpréter cet effet par le métabolisme cellulaire qui bascule de la photosynthèse vers l'hétérotrophie et la respiration cellulaire, lorsque la lumière devient limitante **[82].**



Figue. IV.11 : l'effet de la lumière sur les contenus de la biomasse en protéines et en glucide en %

Pour des valeurs d'éclairage supérieure 5000 lux on constate une réduction de taux de protéine de de glucide supérieur de 61.75 et 48.53 % respectivement, ce là peut être l'interpréter par la photolyse de biomasse et lyse cellulaire 7000 lux.

IV.7. Composition de spiruline en chlorophylle

Le stress environnemental affecte la fonction de PSII, directement ou indirectement, le contenu cellulaire en pigment représente un outil utile pour obtenir des preuves rapides des conditions de stress qui affectent l'activité photosynthétique de la culture et pour quantifier l'effet de stress sur le rendement des biomasses.

L'estimation quotidienne des teneurs en chlorophylle et phycocyanine dans une biomasse est exploitée dans les productions phototropiques des cultures et servie comme des signaux d'avertissement, qui doivent être connus le plus tôt possible à fin d'éviter une réduction significative de la productivité, dans certains cas peuvent aboutir à la perte de la culture dans quelques jours. **[83]**

Les résultats obtenus sur les taux en chlorophylle durant la fermentation de biohydrogène sont résumés dans la figure **VI.12**. A travers les résultats on constate que lorsque l'intensité lumineuse diminue, la teneur en chlorophylle de biomasse augmente. L'effet est bien remarqué avec la culture la plus dense 3 g/l, ce résultat concorde avec celle décrite par Vanshak et ses collaborateurs (1993, 1996) **[83,84]**

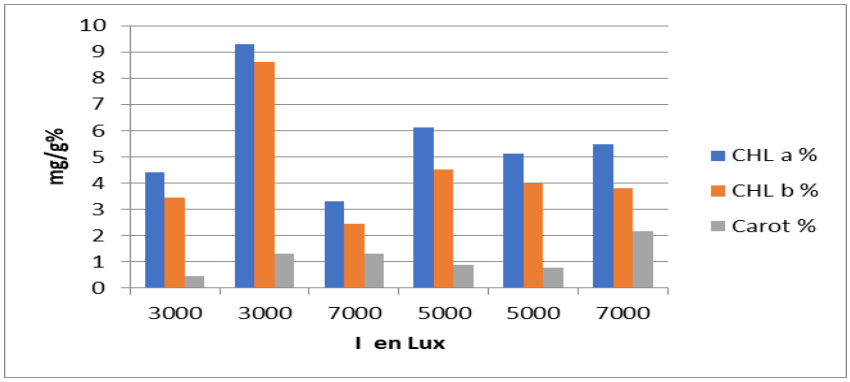


Figure IV.12: Taux de chlorophylle en fonction de l'intensité lumineuse

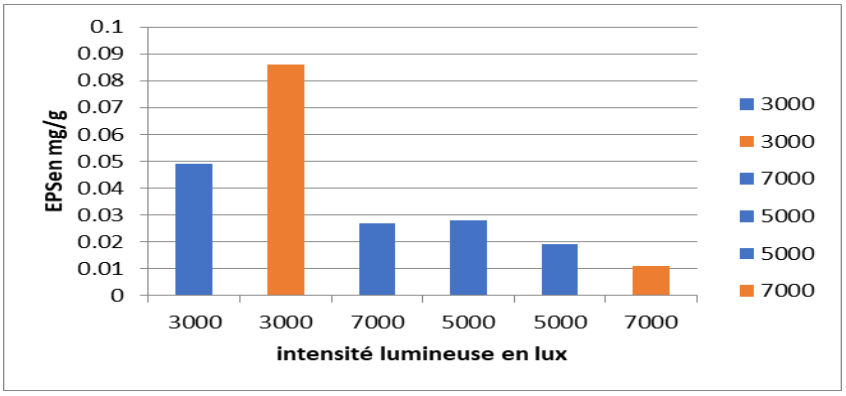


Figure IV.13 : l'effet de l'intensité lumineuse sur le taux des exo polysaccharide (EPS)

Conclusion générale

Conclusion Générale

Dans notre étude, nous avons réalisé une analyse approfondie de l'élimination du polluant rouge du Congo en utilisant la biomasse algale spiruline. Tout d'abord, nous avons conçu un plan d'expériences pour examiner les effets individuels de la concentration de biomasse, de la durée de contact, de l'intensité de la lumière et de la concentration de colorant, ainsi que leurs interactions sur l'efficacité de l'élimination du polluant.

En contrôlant ces paramètres de manière systématique, nous avons pu observer comment chacun influence l'élimination du polluant. Nos résultats ont montré que la concentration de biomasse et la durée de contact étaient les facteurs les plus significatifs, avec des niveaux plus élevés de ces deux paramètres conduisant à une meilleure élimination du polluant. L'intensité de la lumière a également joué un rôle important, avec une augmentation de l'efficacité de l'élimination à des niveaux d'intensité plus élevés.

De plus, nous avons constaté des interactions complexes entre les différents paramètres, ce qui souligne l'importance de considérer l'ensemble du système lors de l'optimisation des conditions de traitement. Par exemple, une concentration de biomasse élevée pourrait compenser une durée de contact plus courte dans certaines conditions, tandis que dans d'autres, une combinaison spécifique de paramètres pourrait être nécessaire pour maximiser l'élimination du polluant.

En intégrant ces résultats, nous avons pu proposer des recommandations pour optimiser le processus d'élimination du polluant rouge du Congo par la biomasse algale spiruline. Ces conclusions offrent des perspectives précieuses pour le développement de méthodes de dépollution efficaces et durables, tout en soulignant la nécessité de recherches futures pour explorer davantage les mécanismes sous-jacents et affiner les techniques de traitement.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

[1] Z. Hassi, S. Lechelah, Synthèse des hydrotalcites et leurs applications dans le traitement des eaux, Master, Université d9El Oued (2011).

[2] E. Errais, Réactivité de surface d'argiles naturelles. Etude de l'adsorption de colorants anioniques, thèse de Doctorat, université de Strasbourg, (2011).

[3] M. Bouhamed, O. Dia, Etude de l'élimination du colorant Rouge Congo par adsorption sur des matériaux argileux naturels, Master, université d'el oued, (2012).

[4] Vonshak, A. Spirulina Platensis Arthrospira: Physiology, Cell-Biology and Biotechnology London, edition taylor et francis 2002. P.252.

[5] Jauzein, F., & Julie Vonarx, P. L. (n.d.). Planet-Vie Tous les contenus Cyanobactéries et cyanotoxines Cyanobactéries et cyanotoxines. https://planet-vie.ens.fr/thematiques/ecologie/gestion-de-l-environneme...

[6] Schopf, J. W. The Fossil Record: Tracing the Roots of the Cyanobacterial Lineage. in B. Whitton and M. Potts, editors. The Ecology of Cyanobacteria. Springer Netherlands, 2002, p. 13-35.

[7] Pentecost, A. Calcification Processes in Algae and Cyanobacteria. in R. Riding, editor. Calcareous Algae and Stromatolites. Springer Berlin Heidelberg; 1991, p. 3-20.

[8] Delwiche, C. and J. Palmer. The origin of plastids and their spread via secondary symbiosis. In D. Bhattacharya, editor. Origins of Algae and their Plastids. Springer Vienna. 1997, p. 53-86.

[9] Ogbonna, J. C. and Tanaka, H. Light requirement and photosynthetic cell cultivation - Development of processes for efficient light utilization in photobioreactors. Journal of Applied Phycology, 2000, Vol. 12, n°3-5, p. 207-218.

[10] Falquet, J. et Hurni, J-P. Spiruline : aspects nutritionnels. [Enligne] consulté le 20 janvier 2008 Disponible sur le site : < www.antenna.ch/documents/AspNutrpdf>

[11] Fox, R-D. Spiruline, Technique pratique et promesse. Aix en Provence, 13090 AIX-EN- ROVENCE France.: Edisud, 1999, p. 246.

[12] C. Svrcek, D. W. Smith, Cyanobacteria toxins and the current state of knowledge on water treatment options: a review, Journal of Environmental Engineering and Science. 2004, Vol. 3, N° 3, p. 155-184.

[13] Ministère de la santé et des services sociaux et Santé Canada, Risque à la santé publique découlant de la présence de cyanobactéries et de microcystines dans trois bassins

versants du Sud-ouest québécois tributaire du fleuve Saint Laurent, décembre, 2001. [En ligne]. [Date de consultation ouate 2017].

Disponible sur :<Disponiblesurhttp://meteopolitique.com/Fiches/eau/Cours-d-eau-acs/algues/documentation/cyanobacterie/a003.pd.

[14] Karamyar, VT. and Speth, RC., Animal models of BMAA neurotoxicity: a critical review; Life Sciance2008, Vol. 82, n° 5-6, p. 233-246.

[15] Farrar, W-V. and TechuitlatI, A. Glimpse of Aztec Food Technology. Nature, 1996 ; Vol. 21, p.341-342.

[16] Wittrock & Nordstedt. Algae aquae ducia exsicc, fascicule XIV N° 679 of Descriptiones systematice dispositae, 1899, p. 59.

[17] Salle, M., Dankoko, B., Badiane, M., Ehua, E. and Kuakuwi, N. La spiruline : une source d'alimentation à promouvoire. Médecine d'Afrique Noire. 1999, Vol. 46, n° 3, p. 87-92.

[18] Ogbonda, Kemka. H., Rebecca, E. and Aminigo, Gideon. O. A. Influence of temperature and pH on biomass production and protein biosynthesis in a putative Spirulina sp. Bioresource Technology. 2007, Vol. 98, n° 1, p. 207-221.

[19] Seckbach, Joseph. Algae and cyanobacteria in extreme environments. Editeur Dordrecht, Springer Verlag New York Inc 2007, p786.

[20] Belay, A., Ota Y., Miyakawa, K. and Shimamatsu, H. Current knowledge on potential health benefits of Spirulina. Journal of Applied Phycology 1993, Vol 5, n°2, p. 235-241.

[21] Stanier, R. Y. 1974. Division I. The Cyanobacteria, p. 22. In Buchanan, R. E. and Gibbons, E. (ed.), Bergey's manual of determinative bacteriology. The Williams & ins Co., Baltimore. Stanier R. Y .et Van Niel C. B. The concept of a bacterium. Archives. Mikrobiology. 1962, Vol.42, p. 17-35

[22] Gomont, M. Monographie des Oscillariées (Nostocacées Homocystées). Deuxième partie.

Lyngbyées. Annales des Sciences Naturelles, Botanique. 1892. Serie 7 ; n° 16, p. 91-264.

[23] Geitler, L. in Rabenhorst. L. (ed)kryptogamenflora deutchland, osterreich und der schzeitz. Akad. Verlag, 1932; 14, p916.

[24] Ciferri, O. Spirulina, the edible microorganism. Microbiol. Rev. 1983 Vol. 47, n° 4, p. 551-578.

[25] Balloni, I. W., Tomaselli, L., Giovannetti, L. and Margheri, M.C. (1980) Biologia fondamentale del genere Spirulina. In Materassi, R. (Ed.) Prospettive della Coltura diSpirulina in Italia, 1980. p. 49, Roma : CNR.

[26] Sguer; S. 2008. Spirulina plaensis et ses constituants intêrets nutritionnels et activitésthérapeutiques.[en ligne]. Thèse Universite Nancy1, 175p [Consultée mai 2017], Disponible sur site <http://docnum.univlorraine.fr/public/SCDPHA_T_2009_LAURENT-DARGENT_ JONATHAN.pdf>

[27] Sironval, C. La spiruline, une arme contre la malnutrition, histoire et perspectives » Spiruline, algue de vie ; bulletin de l'Institut Océanograhique de Monaco N° spécial 12 - Monaco, Musée océanographique. 1993, p203-210,

[28] Cittelli, Chini G. Rodolf L. Biondi, N. and Tredici, MR. Productivity and photosynthetic efficiency of outdoor cultures of Tetraselmis suecica in annular columns. Aquaculture. 2006, Vol. 26, n° 3, p. 932-943

[29] Pier, lovisi, C. L'Homme et la Spiruline : Un avenir commun ? Composition chimique, intérêts alimentaires et activités biologiques. Paris V- René Descartes, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Paris 2007. p162.

[30] Clément, G. Spirulina, a protein-richfoodalga, conférence du Caire avril 1975. Institut français Du Pétrole, division Applications, 1975b ; 1-18.

[31] QUILLET. M. (1975). Recherches sur les substances glucidiques élaborées par les spirulines. Ann. Nutr. Aliment. 29 :553-561.

[32] CLEMENT.G. (1975). Production et constituants caractéristiques des algues lina platensis et Spirulina maxima. Ann. Nutr. Aliment. (29) : 477-487

[33] BENSEHAILA.S. (2016). Etude de l'effet antimicrobien et antidiabétique des probiotique en association avec de la spiruline. Doctorat. Université de Hassiba ben bouali chlef. P 72-125

[34] Cruchot, H. La spiruline, bilan et perspectives, Thèse de doctorat, faculté de médecine et de pharmacie de BESANCON, Université de Franche-Comte, France, 2008. 249.

[35] Romay C., Armesto J., Remirez D., Gonzalez R., Ledon N. and Garcia I. Antioxidantand anti-inflammatory properties of C-phycocyanin from blue-green algae. Inflammation Research, 1998, Vol. 47, n° 1, p. 36-41.

[36] Richmond, Amos. Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phyco. logy

Edited by Editorial Offices: 9600 Garsington Road, Oxford OX4 2DQ, UK 2004. [

[37] Belay, A., Ota Y., Miyakawa, K. and Shimamatsu, H. Current knowledge on potential health benefits of Spirulina. Journal of Applied Phycology 1993, Vol 5, n°2, p. 235-241.

[38] Bujard, E., Braco, U., Mauron J., Mottu F., Nabholz, A., Wuhrmann. J et Clement, G., Composition and nutritive value of blue-green algae (spirulina) and their possible use in food formulations. » 3rd International Congress f Food Science and Technology, Abstracts. Washington, 1970.

[39] Anusuya, D.M. et Venkataraman, L.V. « Supplementary value of the proteins of the blue-green algae Spirulina platensis to ric and wheat proteins. » Nutrition. Reports. International, 1983, Vol. 28, p. 1029-1035.

[40] Venkataraman, L.V. Spirulina by 2001AD. Cyanobacterial biotechnology: proceedings of the International Symposium Oxford & IBH Publishing CO.PVT. LTD september, 1998, 18-21.

[41] Johnson; P. et Shubert E. Availability of iron to rats from Spirulina, a blue-green algae » Nutrition Research, 1986, Vo. 6, n°1, p. 85-94

[42] Fedkovik, Y., Astre C., Pinguet, F., Gerber, M., Ychou, M. et Pujol, H. Spiruline et cancer.Spiruline, algue d'océanographique vie. Bulletin de l'Institut Océanograhique de Monaco N° spécial 12 - Monaco, Musée. 1993, p. 117-119.

[43] Belay, Amba, The Potential Application of Spirulina (Arthrospira) as a Nutritional and Therapeutic Supplement in Health Management. The Journal of the American Nutraceutical Association. 2002, Vol. 5, n° 2, p. 27-48.

[44] Cqpet, F., Debaillie, R., Tafforeau, J. et Van Oyen H. Définitions et symptômes du Diabète : situation actuelle et éléments pour le développement d'une politique de santé ; Centre de Recherche Opérationnelle en Sante Publique - Episerie, 1999, n° 19 ; p, 8-12.

[45] Mani U.V., Sangeeta S., Iyer U.M. and Subramanian S.R. « Studies on the effect of spirulina supplementation in Control of Diabetes Mellitus » Cyanobacterial biotechnology: proceedings of the International Symposium, september 18-21 Oxford & IBH Publishing CO.PVT.LTD.1996, 301-304.

[46] Henrikson R. Earth Food Spirulina (Ronore Enterprises, Inc.) 1999.

[47] Sironval, C. La spiruline, une arme contre la malnutrition, histoire et perspectives » Spiruline, algue de vie ; bulletin de l'Institut Océanograhique de Monaco N° spécial 12 - Monaco, Musée océanographique. 1993, p203-210,

[48] Doumengue, F. and Durand-Chastel, H. La Spiruline, algue de vie. Bulletin de l'Institut Océanograhique de Monaco, n° special 1993, Vol. 12, p, 222.

[49] Prat, R. et Vonarx, V. La structure de chloroplaste : La théorie endosymbiotique [Enligne] Consulté le 10 aout 2017.

[50] Letters in Applied Microbiology, Volume 75, Issue 4, 1 October 2022, Pages 701–717, https://doi.org/10.1111/lam.13564

[51] Brevet APG-RCC :PCT / FR 99 /00748 du 31 mars (1999).

[52] M. Capon, V. Courilleu, C. Valette, Chimie des couleurs et des odeurs, Nantes, Culture et technique, (1999).

[53] A. Abdessemed, Etude de l9élimination de l9éthyle violet par adsorption sur la kaolinite et le charbon actif et par des méthodes photochimiques en milieu aqueux, Magister, université Mentouri, Constantine, (2009).

[54] N. Barka, l9élimination des colorants de synthèse par adsorption sur un Phosphate naturel et par dégradation photocatalytique sur TiO2 supporté, thèse de Doctorat, université Ibn Zohr Agadir, (2008).

[55] M.N Crepy. "Dermatoses professionnelles aux colorants", Fiche d9allergologie dermatologie professionnelle hôpital Cochin, (2004).

[56] E. Errais, Réactivité de surface d9argiles naturelles. Etude de l9adsorption de colorants anioniques, thèse de Doctorat, université de strsbourg, (2011).

[57] S.E. Manahan, Environmental chemistry, 6e Ed, U.S.A.: Lewis's publisher, (1994).

[58] N.J. Willmott, J.T. Guthrie, G. Nelson, The biotechnology approach to colour removal from textile effluent. JSDC, 114, 38-41, (1998).

[59] U. Pagga, D. brown, the degradation of dyestuffs part II: behaviour of dyestuffs in aerobic biodegradation tests. Chemosphere, 15, 4, 479-491, (1986).

[60] Zawlotzki Guivarch, traitement des polluants organiques en milieu aqueux par procédé électrichimique d9oxydation avancée, electro-fenton, application à la minéralisation des colorants synthétiques, thèse de Doctorat, Université de Marne- La- Vallée, (2004).

[61] Archive institutionnelle de l'ifremer, dans la base Archimer [en ligne]. Consulte aout 2017 ; disponble sur :< http://www.ifremer.fr/doc.

[62] OULD BELLAHCEN.T., BOUCHABCHOUB A.1., MASSOUI.M., EL YACHIOUI.M.2013.Culture et production de spirulina platensis dans les dans les eaux usees domestiques.14 :107-122.

[63] M. Bouhamed, O. Dia, Etude de l'Èlimination du colorant Rouge Congo par adsorption sur des matériaux argileux naturels, Master, université d'eloued, (2012)

[64] O.Baghriche, Contribution de mÈthodes destructives (Photolyse et P.O.A's) et non destructives l'Èlimination de deux colorants (Bleu de methylËne et rouge Congo) en solution aqueuse, Magister , universitÈ mentouri constantine faculte des sciences exactes, (2005).

[65] VENKAT S., VIJAY BABU P V., (2013). Kinetic and equilibrium studies on the removal of Congo red from aqueous solution using Eucalyptus wood (Eucalyptus globulus) saw dust, Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, Vol 44, p81–88.

[66] J. Demonsant, (1996). Comprendre et mener des plans d'expériences, AFNOR, Paris.

[67] J. Goupy, (1999). Plans d'expériences pour surface de réponses, Ed : Dunod. Paris.

[68] J. Goupy, (2005). Pratiquer les plans d'expériences. Ed : Dunod. Paris. Pp 551.

[69] J.J. Rousselle, Thèse de doctorat. Les contours actifs, une méthode de segmentation application à l'imagerie médicale. Université François Robelais, 2003.

[70] J.J. Droesbeke, J. Fine, G. Saporta, Plans d'expériences : applications à l'entreprise. Editions TECHNIP, 1997.

[71] J.J. Rousselle, Thèse de doctorat. Les contours actifs, une méthode de segmentation application à l'imagerie médicale. Université Frençois Robelais, 2003.

[72] H. Angellier, Thèse doctorat. Nanocristaux d'amidon de maïs cireux pour applications aux composites. Université Grenoble 1, 2005.

[73] Wang Q, Liu W, Li X, Wang R, Zhai J. Carbamazepine toxicity and its co-metabolic removal by the cyanobacteria Spirulina platensis. The Science of the Total Environment. 2020; 706:135686

[74] Venshak Avigar taraman, L. V Spirulina Platensis (Arthrospira): Physiology, Cell Biology and Biotechnologym, Edited by Avigad Vonshak 1997.

[75] Cakmak, I.; Marschner, H. Magnesium Deficiency and High Light Intensity Enhance Activities of Superoxide Dismutase, Ascorbate Peroxidase, and Glutathione Reductase in Bean Leaves. Plant Physiol. 1992, 98, 1222–1227, doi:10.1104/pp.98.4.1222.

[76] (Mohammed et al., 2023) Bradford, M.: A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of

Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding, Analytical Biochemistry, 72 (1976), Nos. 1–2, pp. 248–254.

[77] Samar A. El-Mekkawi1*, Rehab A. Abdelghaffar2, Fatma Abdelghaffar2 and S. A. Abo El-Enin, 2021.Application of response surface methodology for color removing from

dyeing effluent using de-oiled activated algal biomass. El-Mekkawi et al. Bull Natl Res Cent (2021) 45:80.

[78] Fadli soumya et Abbadeni kawther (2018) Fadli soumya et Abbadeni kawther. 2018. Elimination d'un produit organique rouge de Congo par la biomasse Pleurotus mutilus. Master, Universite de Blida.

[79] Hu, Q., Guterman, H. & Richmond, A. Physiological characteristics of Spirulina platensis cultured at ultrahigh cell densities. Journal of. Phycology., 1996b, n°32, p. 1066–1073

[80] Hu Qiang, Yair Zarmi & Amos Richmond. Combined effects of light intensity, light-pathand culture density on output rate of Spirulina platensis (Cyanobacteria). European Journal of Phycology, 1998, Vol. 33, p. 165–171

[ ]

[82] Richmond, Amos. Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phyco. logy Edited by Editorial Offices: 9600 Garsington Road, Oxford OX4 2DQ, UK 2004. [En ligne] 02/08/2017, Consulté sur le site.

[83] Jensen, K., and Knutsen, G., Influence of light and temperature on photoinibition photosynthesis in Spirulina platensis. Journal of Phycology, 1993, Vol. 5, n° 5, p. 495– 504.

[84] onshak, A., Kancharaksa, N., Bunnag, B., Tanticharoen, M., 1996 Role of light and photosynthesis on the acclimation process of the cyanobacteria Spirulina platensis to salinity stress. Journal of. Applied Phycology, 1996, Vol. 8, n° 2, p. 119–124.