

N°Réf :.....

Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire préparé En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Thème :

Etude de la biodégradation d' un polluant organique (méthabenzthiazuron) en milieu aquatique

Présenté par :

- BOUREBET Mouna
- DJEHICHE Roumissa

Devant le jury composé de :

Présidente :	M ^{me} . MERZOUKI Sorya (MCB)	Centre universitaire de Mila.
Examineur :	M. BOUHALI Imad Eddine (MCB)	Centre universitaire de Mila.
Promotrice :	M. KHENNAOUI Badis (MCA)	Centre universitaire de Mila.

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciement

Ce mémoire a été réalisé au Laboratoire de Sciences de la Nature et de Vie dans le Centre universitaire de Mila.

En premier lieu, je remercie Dieu le Tout puissant de m'avoir donné la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude envers notre encadrant **Monsieur Khennaoui Badis**, maître de conférence de la Classe B au centre universitaire de Mila, pour son soutien constant et sa disponibilité tout au long de notre travail de recherche. Merci pour ces conseils, orientations et ses encouragements.*

*Nous tenons à remercier les membres du jury **Madame Merzouki Sorya et Monsieur Bouhali Imad Eddine** pour avoir accepté d'évaluer notre mémoire. Leurs commentaires et suggestions nous ont permis de mieux comprendre les enjeux de notre recherche et de renforcer la qualité de notre travail.*

*Nous souhaitons exprimer notre gratitude envers **Maître Boutalaa Saber et Maîtresse Bouchakrite Mofida** pour leurs enseignements, leur guidance et leurs conseils ont été essentiels pour notre réussite.*

*Nos remerciements vont aussi les ingénieurs de laboratoire **Ballague Assia, Meraihia Karima, Akboudje Warda et Bellchihebe Saliha** pour leur aide précieuse et leur soutien technique qui ont été cruciaux pour la réalisation de notre travail.*

Dédicace

Je dédie ce mémoire :

A mes chers parents ;

Ma mère pour son amour, ses encouragements et ses sacrifices.

Mon père, pour son soutien, son affection et la confiance qu'il m'a accordée.

A mes beaux frères .

A tous les membres de ma famille,

A tous mes amis.

Et tous ceux qui m'aiment....

Roumissa.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Mes très chers et magnifiques parents :

Mouhemed et Salima

*Sources de mes joies, secrets de ma force qui m'ont soutenu
tout au long de ma vie.*

Mes chers frères : Ahmed , Fars , Anis, Islam

Mes chers sœurs : Meriem , Nasrine

Ma chère grand-mère: Zahra

Mon cher fiancé: Zoubir

Tous ceux que j'aime

Mouna

Liste des tableaux

Tableau I-1 : Seuil de toxicité de polluants organiques	9
Tableau I-2 : Sources anthropiques des HAP.	11
Tableau I-3 : Test Microtox pour différents benzothiazoles	21
Tableau I-4 : Souches microbiennes et benzothiazoles sur lesquelles elles sont actives.	28

Liste des figures

Figure I-1 : Emission et cycle biogéochimique des polluants : dans l'eau, le sol, et l'atmosphère.	5
Figure I-2 : Structure chimique générale des PCB.	10
Figure I-3 : Cycle biogéochimique des HAP, polychlorobiphényles (PCB), pesticides et polluants totaux.	10
Figure I-4 : Structure chimique générale de phtalate.	12
Figure I-5 : Introduction des résidus de médicaments dans les eaux.	14
Figure I-6: Mécanismes de diffusion des pesticides dans l'air, l'eau et les sols, selon le Département Pyrénées Orientales.	17
Figure I-7: Structure de base des benzothiazoles.	17
Figure I-8: Structure de quelques benzothiazoles.	18
Figure I-9: structure chimique de MBT.	19
Figure I-10: Mécanisme de la digestion anaérobie des boues.	23
Figure I-11: Mécanisme de l'oxydation biologique aérobie	24
Figure I-12: L'objectif final de la biodégradation est de transformer des substrats organiques en produits minéraux, en faisant intervenir plusieurs enzymes exprimées soit par un micro-organisme unique, soit par un groupe de micro-organismes (consortium)	25
Figure I-13: Voie métabolique proposé pour MBT en présence de Rhodococcus rhodochrous.	29
Figure II-1 : Cuve d'échantillon de spectroscopie UV visible.	36
Figure II-2 : Spectrophotomètre JENWAY 6850	37
Figure II-3 : l'appareil centrifugeuse	39
Figure II-4 : l'appareil de pH mètre.	40
Figure II-5 : l'appareil d'autoclave	41
Figure II-6 : Spectre d'absorption UV-visible de MBT (10 mg /l) dans l' eau	42
Figure II-7 : <i>Escherichia coli</i> sous microscope électronique Grossissement $\times 15000$.	43
Figure II-8 : <i>Escherichia coli</i> sur milieu solide.	43
Figure II-9 : <i>Staphylococcus Aureus</i> sous microscope électronique a G X 10000.	43

Figure II-10 : <i>Staphylococcus aureus</i> sur milieu solide .	43
Figure II-11 : <i>Entérocoques feacalis</i> par microscope électronique à balayage (x4000).	44
Figure II-12 : <i>Entérocoques feacalis</i> sur milieu solide	44
Figure II-13 : Apparence microscopique d' <i>Aspergillus Niger</i> .	46
Figure II-14 : Colonies noires d' <i>Aspergillus niger</i> sur milieu Sabouraud après 7 jours d'incubation.	46
Figure II-15 : fermentation de l' <i>Aspergillus niger</i> .	47
Figure II-16 : Filtre a seringue (0.45µm)	48
Figure II-17 : Filtration des échantillons par un filtre à seringue .	48
Figure III-1 : Pourcentage résiduel de biodégradation du MBT de <i>E. coli</i> dans différentes concentrations (5mg/l et 2.5mg/l).	52
Figure III-2 : Pourcentage résiduel de biodégradation du MBT de <i>E. feacalis</i> dans différentes concentrations (5mg/l et 2.5mg/l).	53
Figure III-3 : Pourcentage résiduel de biodégradation du MBT de <i>S. Aureus</i> dans déférentes concentrations (5mg/l et 2.5mg/l).	53
Figure III-4 : Pourcentage résiduel de biodégradation du MBT de <i>Aspergillus Niger</i> dans la concentration initiale (2.5mg/l).	54
Figure III-5 : Pourcentage de biodégradation du MBT pour les trois souches bactériennes et <i>Aspergillus neiger</i> , dans les deux concentrations (5mg/l et 2.5mg/l).	55
Figure III-6 : Évolution de la croissance bactérienne de <i>E. Coli</i> dans déférentes concentrations (5mg/l et 2.5mg/l).	57
Figure III-7 : Évolution de la croissance bactérienne d' <i>E. Feacalis</i> dans les déférentes concentrations (5mg/l et 2.5mg/l).	57
Figure III-8 : Évolution de croissance bactérienne de <i>S. Aureus</i> dans les déférentes concentrations (5mg/l et 2.5mg/l).	58
Figure III-9 : Biomasse microbienne finale des trois souches bactériennes dans les deux concentrations (ug/100ml).	58
Figure III-10 : Évaluation du biomasse microbienne du champignon <i>Aspergillus niger</i> (mg/100ml).	59

Liste des abréviations

BPA :	Bisphénol A
BT :	Benzothiazole
BTSO3 (BTSA) :	Acide 2-benzothiazolylsulfonique
CO2 :	Dioxyde de carbone
DEP :	Diéthylephtalate
DMP :	Diméthyle phtalate
ENIMED :	Entreprise de produits pétroliers à Piana del Signore, Italie
H2O2 :	Peroxyde d'hydrogène
HAP :	Hydrocarbures aromatiques polycycliques
MBT :	2-Mercaptobenzothiazole
MES :	Matière en suspension
O2:	Oxygène
O 3 :	Ozone
OBT :	2-Hydroxybenzothiazole
OH :	Hydroxyde
OHBTBTH :	2-Hydroxybenzothiazole
PCB :	Polychlorobiphényles
PPCP :	Produits pharmaceutiques et des soins corporels
PVC :	Polychlorure de vinyle
SBSE :	Extraction par sorption sur barreau magnétique
Seine-Aval:	Ancien département français

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Sommaire

Introduction générale.....4

CHAPITRE I: Synthèse bibliographique

I.1. Pollution4

I.2. Pollution aquatique.....5

I.3. Type des pollutions aquatique.....6

I.3.1. Pollution chimique.....6

I.3.2. Pollution thermique6

I.3.3. Pollution radioactif6

I.3.4. Pollution hydrocarbure6

I.3.5. Pollution microbienne.....7

I.3.6. Pollution organique.....7

I.3.6.1. Les pollutions organiques facilement biodégradables7

I.3.6.2. Les pollutions organiques difficilement biodégradable7

I.3.6.3. Les pollutions organiques toxiques.....8

I.4. Polluants organiques dans les milieux aquatiques8

I.4.1. Définition :.....8

I.4.2. Type des polluants organiques dans les milieux aquatiques9

I.4.2.1. Polychlorobiphényles.....9

I.4.2.2. Hydrocarbures aromatiques polycycliques10

I.4.2.3. Phthalates11

I.4.2.4. Produits pharmaceutiques13

I.4.2.5. Bisphénols et nonylphénol.....14

I.4.2.6. Pesticides ou produits phytosanitaires :15

I.5. Famille des benzothiazoles.....17

I.5.1. MBT.....18

I.5.2. Présence dans l'environnement.	19
I.5.3. Toxicité du MBT	20
I.6. Méthodes de traitement des polluants organiques.....	21
I.6.1. Méthode physique.....	21
I.6.2. Méthode chimique	22
I.6.3. Méthode biologique	22
I.6.3.1. Les procédés biologiques anaérobies.....	22
I.6.3.2. Les procédés biologiques aérobies.....	23
I.6.3.3. La phytoremédiation	24
I.6.3.4. La biodégradation par les microorganismes	24
I.6.3.4.1. Principe de la biodégradation	25
I.6.3.4.2. Les facteurs influencent la biodégradation	26
I.6.3.4.3. Intérêts et inconvénients des biodégradations aérobie et anaérobie	26
I.6.3.4.4. Microorganismes de la biodégradation des benzothiazole	27
I.6.3.4.5. Biodégradation de 2-mercaptobenzothiazole	28

Liste du références bibliographiques

CHAPITRE II: Matériel et méthodes

II.1. Spectroscopie d'absorption UV-visible	35
II.1.1. Principe.....	35
II.1.2. Spectres optiques UV-Vis de MBT	36
II.1.3. Limites de validité de la loi de Beer-Lambert.....	37
II.1.4. Intérêts de la spectroscopie UV-Visible	38
II.2. La centrifugeuse	38
II.3. Filtration.....	39
II.4. pH-mètre	39
II.5. Autoclave	40
II.5.1. Principe.....	40
□ Matériels biologiques	41
II.6. Solution de MBT.....	42
II.7. Biodégradation par les bactéries	42
II.7.1. <i>Escherichia coli</i>	42

II.7.2. <i>Staphylocoque aureus</i>	43
II.7.3. <i>Entérocoques faecalis</i>	43
II.7.4. Culture des bactéries	45
II.7.5. La biodégradation par les bactéries	45
II.8. Biodégradation par les Champignons	45
II.8.1. <i>L'Aspergillus niger</i>	45
II.8.2. Ensemencement de champignon	46
II.8.3. Le milieu nutritif de champignon	47
II.9. Dosage de MBT par spectroscopie UV visible	47
Liste du références bibliographiques	

CHAPITRE III: Résultats et discussion

III.1.1. La biodégradation de MBT	52
III.1.1.1. Biodégradation de MBT par bactéries	52
III.1.1.2. Biodégradation de MBT par les champignons	54
III.1.2. L'évolution de biomasses	56
III.1.2.1. La biomasse bactérienne	56
III.1.2.2. Evolution de biomasse d' <i>Aspergillus niger</i>	59
Liste du références bibliographiques	
Conclusion générale	62
Résumé	

Introduction générale

Introduction générale

L'eau recouvre 72 % de la surface du globe. C'est ainsi qu'on surnomme la terre la planète bleue, environ 1% de l'eau de la planète est disponible pour l'homme. Elle est la composante essentielle de tous les êtres vivants.

La moitié des réserves d'eau douce du monde sont polluées mais cette pollution concerne indifféremment les pays développés et les pays en voies de développement.

Un milieu aquatique est dit pollué lorsque son équilibre a été modifié de façon durable par l'apport en quantités trop importantes soit de substances plus ou moins toxiques, d'origine naturelle ou issues d'activités humaines, soit encore d'eaux trop chaudes.

Les principaux polluants présents dans les eaux usées sont les agents contaminant tels que les engrais, les produits chimiques organiques, le pétrole, et les divers déchets industriels. Ils proviennent essentiellement des activités humaines (rejets industriel, agricole ou domestique). L'atmosphère contient aussi des polluants contaminant les eaux et le sol. La pollution de l'eau a des répercussions sur l'environnement mais aussi sur la santé des êtres vivants. Certains de ces polluants sont très stables et par conséquent difficiles à se dégrader. D'autres parviennent à se dégrader partiellement mais en produisant des composés intermédiaires très stables pouvant avoir un effet plus toxique que le polluant de départ.

L'effet de ces polluants sur la santé et de leurs risques écologiques nécessitent le développement de procédés efficaces capables de les dégrader. De ce fait, il est indispensable de mettre en place toutes les mesures nécessaires permettant de réduire ces transferts dans l'environnement en instaurant les bonnes pratiques agricoles et en développant des techniques de traitement adaptées pour éliminer les résidus phytosanitaires dans des conditions contrôlées.

Les procédés biologiques font partie de ces méthodes de traitements. Qui sont souvent utilisés pour remédier à ce genre de problèmes se basent sur des organismes vivants pour dégrader un polluant donné. Toutefois, l'efficacité des technologies connues pour ces traitements n'est pas satisfaisante pour tout type de pollution. Sur la base de cette technique, nous avons étudié la biodégradation d'un des polluants organiques, en particulier le 2-mercapetobenzothiazole 2-MBT, par certains micro-organismes dans un milieu aquatique.

L'objectif principal dans le cadre de ce travail de recherche était de découvrir des approches tant conceptuelles que techniques qui permettent de dépolluer une eau contaminée par ces polluants organiques.

- Nos objectifs spécifiques sont de:
 - Déterminer le taux de la biodégradation pour Le MBT.
 - Identifier les micro-organismes impliqués dans le processus de biodégradation.
 - Comprendre le mécanisme de la biodégradation, afin d'évaluer l'efficacité de la biodégradation pour réduire la pollution dans les milieux aquatiques.

Ce mémoire compte en plus d'une introduction deux grandes parties :

La première partie est une synthèse bibliographique divisée en deux chapitres, le premier est consacré à la présentation des différents types de polluants organiques , des méthodes de traitement pour les réduire et une explication détaillée de l'utilisation de la méthode de biodégradation ; ensuite, le deuxième porte le matériel utilisé dans laboratoire et leurs caractéristiques. Le troisième chapitre rassemble les résultats de l'étude de la biodégradation d'un polluant organique (MBT) en milieu aquatique.

Une conclusion générale termine ce manuscrit et propose des perspectives.

CHAPITRE I:

Synthèse

bibliographique

I.1. Pollution

La pollution est par définition une modification défavorable du milieu naturel qui apparaît en totalité ou en partie comme un sous-produit de l'action humaine. Cette pollution s'opère suite à une modification des flux d'énergie, des niveaux de radiation, de la constitution physico-chimique du milieu naturel et de l'abondance des espèces vivantes. La pollution modifie directement ou indirectement, à court ou long terme, l'utilisation qu'on peut faire d'une ressource (agricole, en eau, en produits biologiques ou encore au niveau de ses fonctions récréatives).

Globalement, trois principales causes de pollution peuvent être définies :

- La production d'énergie est la source de pollution qui va de pair avec la civilisation industrielle moderne. En effet, que ce soit l'usage des combustibles fossiles, ou l'exploitation de l'énergie nucléaire, l'activité de production d'énergie est fatalement liée à la production d'agents polluants : de l'extraction de la ressource (pétrolière ou nucléaire) à la consommation, ou encore à l'élimination des déchets secondaires.
- Les activités industrielles, en particulier métallurgiques et chimiques sont la deuxième cause de pollution de l'eau et une fois encore tant au niveau de la production que de la consommation. De nos jours, 120000 espèces chimiques différentes sont commercialisées, et ce chiffre s'accroît d'un millier par an. Toutes ces substances, d'une manière ou d'une autre, influent sur l'environnement et bien souvent il est difficile d'identifier leur mode d'action à l'avance.
- L'agriculture moderne est devenue une cause essentielle de la pollution des eaux et des sols (il est impératif de retenir que la pollution des sols entraîne forcément la pollution des eaux par des phénomènes de ruissellement). En effet, l'usage d'engrais chimiques et de pesticides à fortes doses peut être clairement apparenté aux armes chimiques. Les pollutions agricoles sont d'autant plus sournoises qu'elles sont diffuses dans les milieux et sont souvent répandues sur de vastes surfaces .

Dans l'environnement, tous les compartiments se lient. La figure (I-1) présente l'émission et le cycle biogéochimique des polluants dans l'environnement. L'air, les cours d'eau, les rivières, et les fleuves sont les vecteurs de transport efficaces et les mers et les océans sont les réceptacles ultimes des rejets. Ainsi les polluants organiques peuvent être dispersés partout dans l'environnement et ils peuvent menacer à la fois les ressources en eau potable, perturber le fonctionnement des écosystèmes aquatiques et la santé humaine via une exposition directe ou via la ressource en eau ou encore via la chaîne alimentaire. Il a par ailleurs été démontré que les eaux

continentales, eaux marines, eaux souterraines et les eaux de boisson contiennent une multitude de contaminants organiques parmi lesquels on trouve des HAP, des phtalates, des bisphénols, des pesticides, des hormones issues des traitements contraceptifs, des anticancéreux, des opioïdes, des anti-inflammatoires, et des antibiotiques [1].

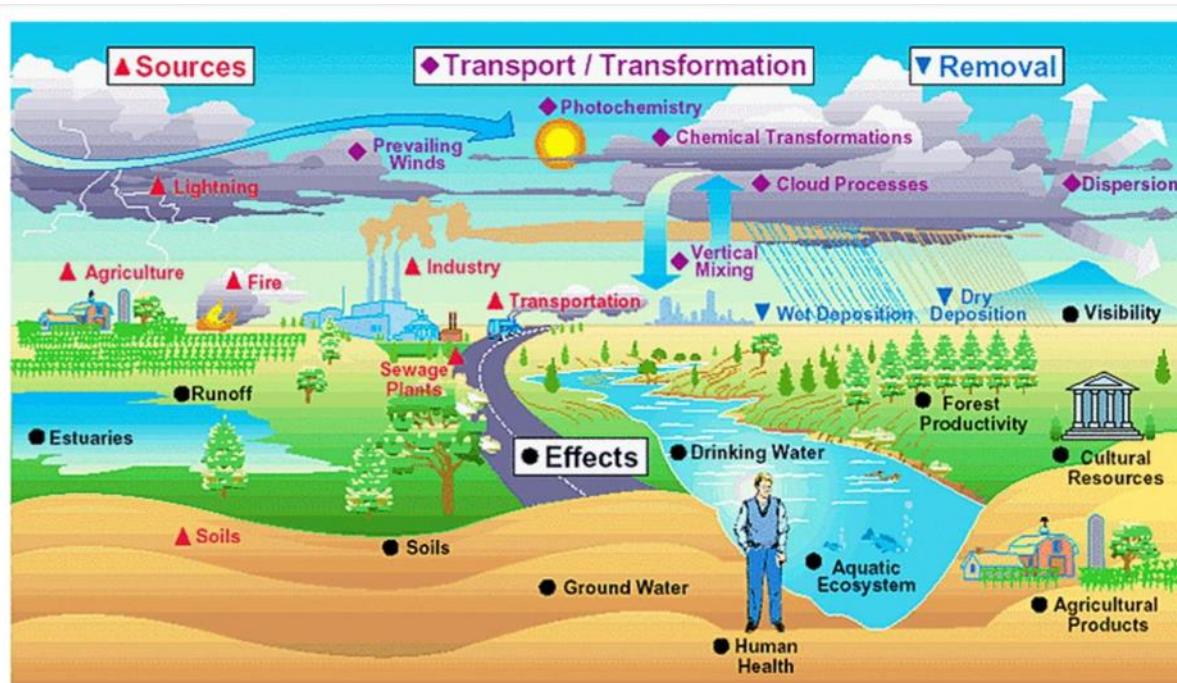


Figure I-1 : Emission et cycle biogéochimique des polluants : dans l'eau, le sol, et l'atmosphère.

I.2. Pollution aquatique

C'est l'introduction dans le milieu aquatique de toute substance susceptible de modifier les caractéristiques physiques, chimiques et/ou biologiques de l'eau et de créer des risques pour la santé de l'homme, de nuire à la faune et à la flore terrestre et aquatique, de porter atteinte à l'agrément des sites ou de gêner toute autre utilisation normale des eaux [2].

La pollution des eaux est provoquée par le rejet d'eau salie par nos activités domestiques (lavages et nettoyages divers, évacuation de nos urines et fèces, etc.) mais également par les diverses activités industrielles et agricoles, nécessaires pour fournir les aliments et biens dont nous avons besoin.

Une eau polluée est donc une eau qui a subi, du fait de l'activité humaine, directement ou indirectement ou sous l'action d'un effet biologique ou géologique, une modification de son état ou de sa composition qui a pour conséquence de la rendre impropre à l'utilisation à laquelle elle est destinée. Compte tenu de la complexité liée à sa définition, la pollution de l'eau ne peut provenir que de diverses [3].

I.3. Type des pollutions aquatique

On peut classifier la pollution aquatique comme suit :

I.3.1. Pollution chimique

Due à la présence de substances chimique dissoutes dans l'eau. Cette pollution est due essentiellement au déversement de polluants organiques et des sels de métaux lourd qui sont les plus menaçants rejetés souvent par les unités industrielles [4].

La pollution chimique (minérale) libère dans ces dernières divers Composés tels que les nitrates, les phosphates, des sels utilisés en agriculture ainsi que Divers résidus rejetés par la métallurgie (Pb, Cd, Hg) et d'autres activités (hydrocarbures) [5].

I.3.2. Pollution thermique

Les eaux rejetées par les usines utilisant un circuit de refroidissement de certaines installations (centrales thermiques, nucléaires, raffineries, aciéries..); ont une température de l'ordre de (70 à 80°C.) Elle diminue jusqu'à (40 à 45°C) lorsqu'elle contacte les eaux des milieux aquatiques entraînant un réchauffement de l'eau, qui influe sur la solubilité de l'oxygène [3]. Par exemple pour les eaux industrielles, le refroidissement de certaines technologies Augmente la température à 3000C et plus [6] .

I.3.3. Pollution radioactif

C'est celle qui est occasionnée par une éventuelle radioactivité artificielle des rejets qui trouvent leur source dans l'utilisation de l'énergie nucléaire sous toutes ces formes (installations et centrales d'exploitation de mine d'uranium, traitement des déchets radioactifs).

Les éléments radioactifs s'incorporent dans les molécules des organismes vivants. Plus on s'élève dans la chaîne alimentaire plus les organismes sont sensibles aux rayonnements [7]. Exemple : Plutonium .

I.3.4. Pollution hydrocarbure

La pollution par les hydrocarbures résulte de plusieurs activités liées à l'extraction du pétrole, à son transport et en aval à l'utilisation de produits finis (carburants et lubrifiants), ainsi qu'aux rejets effectués par les navires (marées noires).Les effets des hydrocarbures dans le milieu marin sont considérables. Ils dépendent largement de leur composition. En fait leurs activités peuvent s'exercer selon plusieurs modalités très différentes [8].

I.3.5. Pollution microbienne

L'eau peut contenir des microorganismes pathogènes (virus, bactéries, parasites). Ils sont dangereux pour la santé humaine, et limitent donc les usages que l'on peut faire de l'eau (industrie, utilisation domestique.....) [9]. Origine de cette forme de pollution : Les foyers domestiques, les hôpitaux, le lavage des déjections, les élevages, certaines industries agroalimentaires.

I.3.6. Pollution organique

La pollution organique constitue souvent la fraction la plus importante d'autant plus que dans son acceptation la plus large .

La pollution organique soluble est généralement traitée par des procédés biologiques qui permettent de l'éliminer à moindre coût. Mais certains types d'effluents ne peuvent pas être traités biologiquement :

- Les effluents contenant des produits toxiques qui peuvent inhiber l'action des microorganismes .
- Les effluents contenant une forte concentration en sels .
- Les effluents colorés de l'industrie textile [10].

D'après Kerspen (1998) il en existe trois :

I.3.6.1. Les pollutions organiques facilement biodégradables

Il s'agit de matières organiques provenant d'activités biologiques : matières fécales et urines, déchets de l'élevage et des industries agroalimentaires ; feuilles, plantes et animaux morts. La nuisance qui en résulte est due aux germes pathogènes que peut contenir ces matières organiques ou due à une forte concentration de ces déchets qui annihileront le phénomène d'auto épuration naturelle. Cette pollution est souvent la plus grave, du moins la plus répandue.

I.3.6.2. Les pollutions organiques difficilement biodégradable

Elles proviennent d'activités comme la fabrication de pâte à papier, de textiles, de cuir et peau ; ce Sont aussi les détergents qui produisent des mousses diminuant la capacité d'oxygénation du cours d'eau. La dégradation du milieu naturel par ce type de pollution est plus lente. Du fait de la dégradation difficile de ce type de pollution. Leur nuisance résulte de leur accumulation dans le milieu naturel.

I.3.6.3. Les pollutions organiques toxiques

Elles proviennent des industries pétrochimiques et des raffineries qui rejettent dans leurs effluents des quantités importantes de phénols et d'hydrocarbures. Certains pesticides utilisés en agriculture sont d'origine organique et l'on sait que ce sont des produits toxiques particulièrement nuisant pour la faune aquatique ; ils peuvent atteindre l'homme par accumulation dans la chaîne alimentaire[11].

I.4. Polluants organiques dans les milieux aquatiques

I.4.1. Définition :

Les polluants organiques sont les plus nombreux et les plus dangereux. Certaines de ces substances sont même cancérogènes ou mutagènes, d'où l'importance de les éliminer.

Ils peuvent être classés en phénols, hydrocarbures, colorants, détergents et pesticides, Formant de loin, la première cause de pollution des ressources en eaux. Ces matières organiques sont notamment issues des effluents domestiques (déjections animales et humaines, graisses, etc.) mais également des rejets industriels. Elles provoquent l'appauvrissement en oxygène des milieux aquatiques, avec des effets bien évidents sur la survie de la faune. Ce sont aussi tous les déchets carbonés tels que la cellulose produite par les papeteries, le sucre ou le lactosérum des industries agro-alimentaires. À l'inverse des matières en suspension (MES), elles constituent une nourriture de choix pour les micro-organismes de l'eau et provoquent leur prolifération. Les matières organiques se mettent alors à vider le milieu de son oxygène, ce qui s'avère fatal pour la vie aquatique et les micro-organismes vont le chercher dans les sulfates dissous (SO_4^{2-}), qu'elles réduisent en sulfure, qui se dégage sous forme de sulfure d'hydrogène, engendrant une odeur d'œufs pourris [12].

Le seuil de toxicité de polluants organiques est présenté sur le tableau (I-1) Suivant :

Tableau I-1 : Seuil de toxicité de polluants organiques [12]

polluants	Procédé aérobie	Nitrification	Procédé anaérobie
	<i>(valeur limite en mg/l)</i>		
Hydrocarbures	50	50	50
Phénol	50(1000) **	10	(*)
Dinitrophénol	5	(*)	5
Pentachlorophénol	5	(*)	5
Chloroforme	20	20	10
Chlorure de méthylène	50	(*)	(*)
Chlorure	15000	(*)	(*)
Nitrites	40	(*)	(*)
Sulfites	20	(*)	(*)
Ammoniac	1600	(*)	(*)

(*) : Résultats insuffisants

(**) : Après acclimation des bactéries.

I.4.2. Type des polluants organiques dans les milieux aquatiques

I.4.2.1. Polychlorobiphényles

Les polychlorobiphényles ou les PCB sont considérés à ce jour comme des polluants historiques car leurs utilisations actuelles, dans les anciens équipements, sont réduites. Ils sont des dérivés chimiques chlorés, connus aussi sous le nom de pyralènes, synthétisés et utilisés par les industries en France entre 1930 et 1979. Les PCB regroupent 209 composés de structures chimiques proches qui se différencient par le nombre et la position d'atomes de chlore, appelés les congénères. En raison de leur grande stabilité physico-chimique et de leurs caractéristiques électriques, les PCB ont été massivement utilisés comme isolants électriques dans les transformateurs et les condensateurs, comme fluides caloporteurs, voire comme lubrifiants. Ils ont été aussi utilisés dans les peintures, les encres et les mélanges de pesticides.

Ces diverses utilisations ont perduré jusqu'à ce que le danger, posé à la fois à l'environnement et à la santé humaine par leur utilisation, est devenu évident dans les années 70s. Pour faire face à ce problème, dès 1979, les pouvoirs publics ont imposé des mesures progressives visant à interdire la production et l'utilisation des PCB. Les principales sources de contamination sont désormais historiques.

Cependant, étant peu dégradables, les PCB se sont accumulés dans l'environnement et dans Les chaînes alimentaires [13] .

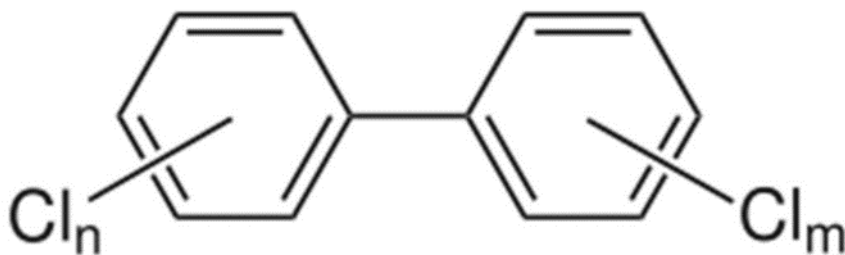


Figure I-2 : Structure chimique générale des PCB.

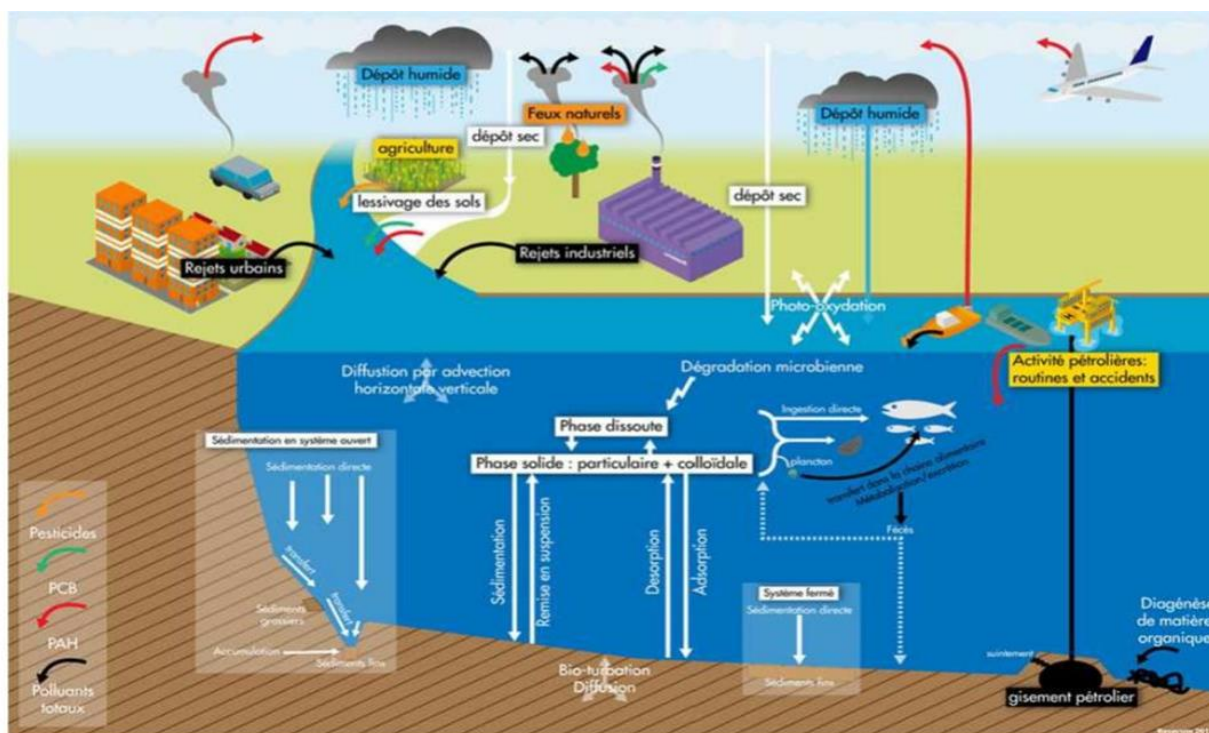


Figure I-3 : Cycle biogéochimique des HAP, polychlorobiphényles (PCB), pesticides et polluants totaux.

I.4.2.2. Hydrocarbures aromatiques polycycliques

Les HAP sont très étudiés, toxiques et sont les plus couramment détectés dans l'environnement en particulier en milieu urbain. Ils proviennent essentiellement de sources pétrolières et pyrolytiques.

Les HAP pyrolytiques sont générés lors de la combustion incomplète de matières organiques riches en carbone telles que les combustibles fossiles et le bois. Ces procédés comprennent l'incinération des déchets agricoles, la combustion du bois, du charbon ou des ordures ménagères, le fonctionnement des moteurs à essence ou diesel [14,15] .

Les HAP sont générés en proportions importantes lors de la combustion et en particulier celle de la biomasse. En plus des HAP, s'ajoutent leurs homologues méthyles (Me-HAP) dont les sources sont similaires. Les HAP et Me-HAP peuvent provenir des mêmes origines naturelles et anthropiques, seules leurs proportions diffèrent entre les différentes origines. Tandis que les HAP pétrogéniques, sont des HAP présents dans les combustibles fossiles, le charbon, ou issus de la maturation des matières organiques dans le sol qui sédimentent à pression élevée et à température réduite (<200°C). D'origine naturelle, ils se caractérisent par une forte proportion de HAP alkyles (Me-HAP) produits au cours d'une formation lente à basse température.

Les HAP pyrogéniques sont essentiellement liés à l'activité humaine et sont dominants dans le milieu urbain. Les gaz d'échappement provenant des combustions incomplètes des carburants et les déversements de produits dérivés des pétroles tels que les carburants, les huiles lubrifiantes ou les débris pneumatiques constituent une des sources majeures d'émission [16]

Ils peuvent également provenir de l'infiltration du pétrole brut et du charbon ou des déversements de pétrole. Le chauffage urbain et les activités industrielles représentent également une des sources majeures d'émission de HAP en milieu urbain [17,18]

Les sources des HAP sont diverses et variées et les listes ci-dessous présentent quelques une des principales sources des HAP anthropiques tableau (I-2).

Tableau I-2 :Sources anthropiques des HAP.

Sources industrielles	Sources domestiques
Production d'aluminium	Chauffage (gaz naturel, GPL, bois, charbon)
Fabrication de pneu	Cuisson avec le bois et charbon
Créosotes et préservation du bois	Tabagisme
Sidérurgie	Ecobuage
Industrie du bitume et goudrons	Cuisson des aliments (friture, barbecue)
Cimenteries	Sources mobiles
Moteurs à combustion	Transport routier (voiture, bus etc)
Industries pétrochimiques	Avions
Chauffage et électricité	Trains
Incinérateurs de déchets ménagers et industriels	Navires/bateaux

I.4.2.3. Phthalates

Les phthalates sont un groupe de produits chimiques dérivés (sels ou esters) de l'acide phthalique. Ils sont donc composés d'un noyau benzénique et de deux groupements carboxylates placés en ortho et dont la taille de la chaîne alkyle peut varier (figure I-4). Les phthalates se distinguent entre les groupes R¹et R² .

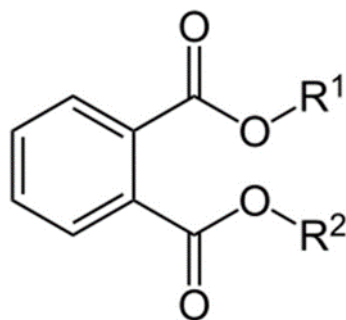


Figure I-4 : Structure chimique générale de phtalate.

Les phtalates ou des esters des acides phtaliques sont fabriqués industriellement et utilisés comme plastifiants dans la fabrication et la transformation des produits en plastique. Leur production a commencé dans les années 1920s et s'est intensifiée depuis 1950, depuis que ces composés ont été utilisés pour rendre flexible le polychlorure de vinyle (PVC). A ce jour, les phtalates sont utilisés dans une très large gamme d'applications industrielles à l'échelle mondiale. La production mondiale de matières plastiques a atteint 150 millions de tonnes par an, et 6-8 millions de tonnes de phtalates sont consommées chaque année. La consommation européenne de phtalates représente environ 1 million de tonnes. Leur production est passée de 1,8 million de tonnes en 1975 à plus de 8 millions de tonnes en 2011. Les phtalates sont utilisés dans une très large gamme d'applications et leur contenu peut représenter de 10 à 60% en poids de produits finaux.

Actuellement, les phtalates sont présents dans de nombreux matériaux ou produits, y compris les produits en PVC, les matériaux de construction (peinture, colle, revêtement mural), les produits de soins personnels (parfums, hydratants, vernis à ongles, désodorisants, savons liquides, et laques pour les cheveux), les dispositifs médicaux, les détergents et les tensioactifs, les emballages, les jouets d'enfants, les encres d'imprimerie, les revêtements, les produits pharmaceutiques, les produits alimentaires, les textiles, les applications domestiques telles que les rideaux de douche, les carreaux de sol, les récipients et les emballages alimentaires, les produits de nettoyage, etc. [19].

Leur utilisation dépend de leurs masses moléculaires. Les phtalates de faibles poids moléculaires tels que le diméthyle phtalate (DMP), le diéthyle phtalate (DEP), et DnBP sont des composants des solvants industriels, des parfums, des adhésifs, des cires, des encres, des produits pharmaceutiques, des insecticides et des produits cosmétiques. En effet, les DMP et DEP permettent de ralentir l'évaporation des fragrances de parfum, d'allonger la durée de l'arôme, et une petite quantité de DnBP donne au vernis à ongles une propriété plus résistante à bas prix. Alors que les phtalates de plus hauts poids moléculaires, possédant de longues chaînes alkyles, sont

utilisés comme plastifiants dans l'industrie des polymères pour améliorer la flexibilité, la maniabilité et la manipulation en général ; 80% des phtalates sont utilisés à cet effet [19].

La contamination de l'environnement par les phtalates peut se produire à tous les stades de leur synthèse à leur transformation, aussi bien lors de dégradation de matière plastique en cours qu'après leur utilisation. En effet, les phtalates ne sont pas liés chimiquement mais physiquement à la matrice polymère. Ils peuvent alors être libérés facilement dans l'environnement, directement et/ou indirectement, pendant la fabrication, l'utilisation et l'élimination. Les phtalates sont maintenant omniprésents dans l'environnement. On les trouve dans l'atmosphère en phase liquide, gazeuse, dans les aérosols, dans les eaux usées, les boues des stations d'épuration, dans les eaux fluviales, les eaux et sédiments de rivière, les lacs et cours d'eau, dans les eaux et sédiment marins, et même dans les biotes. L'air intérieur où les gens passent 65-90% de leur temps est également fortement contaminé par divers phtalates libérés par les plastiques et les produits de consommation. La consommation des matières plastiques durant ces dernières décennies est tellement importante qu'un tas de déchets accumulés au large de l'Océan Pacifique Nord-est, est aussi grand qu'un continent [20].

I.4.2.4. Produits pharmaceutiques

Les produits pharmaceutiques à usage humain et vétérinaire et les produits de soins corporels, constituent une source de préoccupation environnementale majeure. Environ 3000 molécules actives sont commercialisées dans l'Union Européenne et la France fait partie des plus gros consommateurs de médicaments. Les résidus des produits pharmaceutiques et cosmétiques se retrouvent aujourd'hui de manière omniprésente dans les effluents hospitaliers, urbains et industriels, ainsi que dans les effluents d'élevage et des stations d'épuration[21.22].

L'introduction des résidus de médicaments dans l'environnement est présentée dans la figure(I 5).

Les résidus médicamenteux peuvent affecter à la fois le fonctionnement des écosystèmes et la santé humaine. En effet, bien que les effets des produits pharmaceutiques soient étudiés par le biais d'études de sécurité et de toxicologie, leurs effets potentiels sur l'environnement restent encore méconnus, et sont donc devenus des sujets d'intérêt pour la communauté scientifique [23].

Une étude récente a montré que les résidus médicamenteux pouvaient entraîner des perturbations endocriniennes, des modifications de comportement et des réponses génétiques [24]. Il a par ailleurs été montré que les eaux de surface, souterraines et les eaux de boisson contiennent

des hormones issues des traitements contraceptifs, des anticancéreux, des opioïdes, des anti-inflammatoires et des antibiotiques [25].

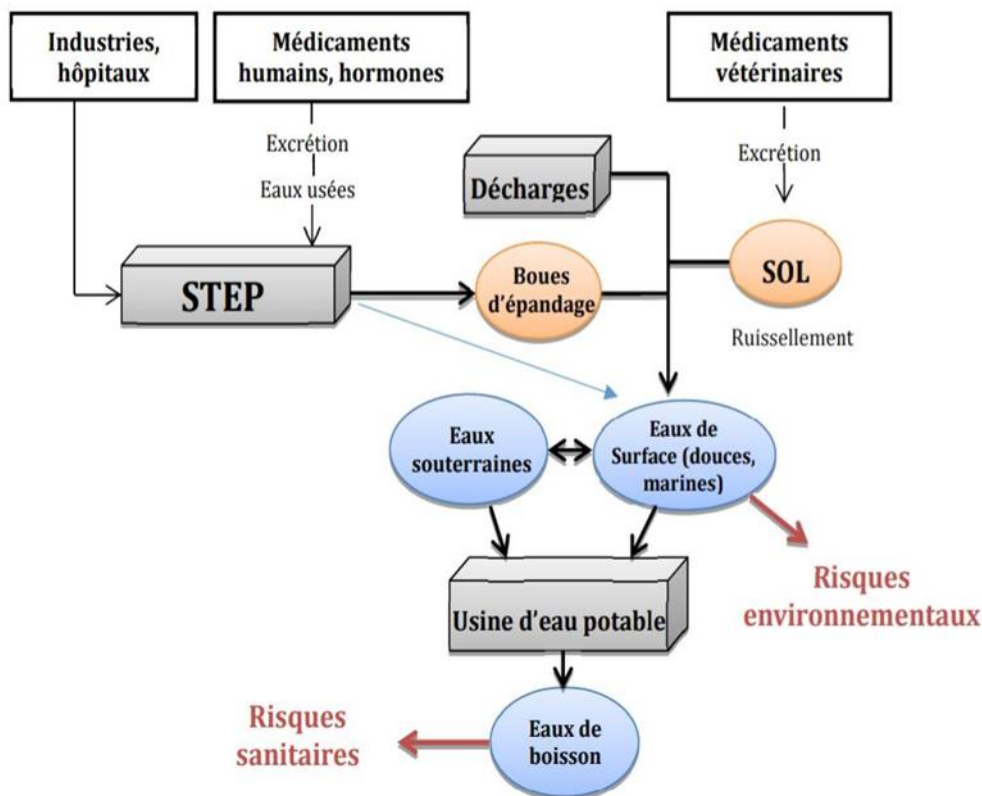


Figure I-5 : Introduction des résidus de médicaments dans les eaux.

Le problème des résidus médicamenteux et des cosmétiques dans l'eau est devenu une préoccupation croissante partout dans le monde. Ces molécules font l'objet de plusieurs programmes de recherche nationaux (Seine-Aval, ENIMED, AMPERES...) et internationaux (Rempharmawater POSEIDON, ERApharm ou encore ERAVMIS). Ceci souligne le besoin urgent d'améliorer les connaissances sur le comportement, le devenir et les impacts sanitaires des produits pharmaceutiques. Compte tenu de leur omniprésence et du fait que ces produits sont conçus pour être biologiquement actifs à de faibles concentrations, l'exposition chronique des organismes aquatiques et des hommes suscite par conséquent de nombreuses interrogations [26].

I.4.2.5. Bisphénols et nonylphénol

Les bisphénols sont une famille de composés organiques portant deux groupes phénoliques. En général, ces derniers sont liés par un pont méthylé. Il y a environ une vingtaine de bisphénols.

Les bisphénols sont produits industriellement en grande quantité pour être utilisés dans la synthèse de plastiques et de résines servant à la fabrication de nombreux produits de la vie quotidienne. La famille des bisphénols comprend des dizaines de composés. Les plus fréquents

sont le bisphénol A, AF, AP, B, BP, C, C II, E, FL, G, M, P, PH, TMC, Z, PPPBP, S, BPS-MAE et BPS-MPE.

Le plus utilisé et le plus connu est le bisphénol A (BPA). Les bisphénols sont utilisés essentiellement comme monomère pour la production de plastiques de type polycarbonate (~ 80%) et les résines époxy (~ 18%) [27].

Ils sont également utilisés dans la mise en œuvre des produits PVC, dans les papiers thermiques, comme plastifiant, liant, ou durcisseur. Les bisphénols sont aussi les composants des emballages alimentaires. Ils sont présents dans les cannettes, les boîtes de conserves, les bouteilles, les biberons, mais aussi les ciments dentaires, les lentilles, les cosmétiques, les appareils médicaux et dans d'autres produits non alimentaires tels que les laques, les peintures, les retardateurs de flammes, les composites, les encres d'imprimeries, les fluides hydrauliques, les papiers thermiques [20].

Pendant la polymérisation non complète et/ou la dégradation de polymère, le PBA est libéré des matériaux pour contaminer l'environnement. Beaucoup d'autres bisphénols constituent également un danger pour les humains et l'environnement. Le BPA est utilisé dans de diverses applications, il entre même dans la composition de cosmétiques, comme le rouge à lèvres, le maquillage pour le visage et les yeux et le vernis à ongles [28].

Similaire aux phtalates, les émissions de bisphénols dans l'environnement peuvent se produire à toutes les étapes. Ils peuvent être émis lors de la production, de l'utilisation des bisphénols eux-mêmes, lors d'utilisation des matériaux contenant des bisphénols et lors du recyclage du papier thermique. L'usage de matériaux contenant du BPA par les particuliers contribue également aux émissions de BPA dans l'environnement.

Le BPA dans l'environnement provient exclusivement des activités humaines ; il n'y a pas de sources naturelles de BPA. Ce dernier a été remplacé par d'autres bisphénols tels que les bisphénols F, S, M, B etc. [20].

I.4.2.6. Pesticides ou produits phytosanitaires :

Les pesticides appelés aussi les produits phytosanitaires sont une des familles de polluants organiques les plus connus et les plus emblématiques des recherches en milieu anthropisé.

Le terme pesticide est dérivé du mot anglais Pest qui signifie nuisible et le mot latin cida qui signifie tuer. Ils regroupent l'ensemble des fongicides, des herbicides, des insecticides, des algicides, des anti-rongeurs et des acaricides. Plus de 1000 pesticides de diverses structures et propriétés physico-chimiques, et ayant divers modes d'action sur les organismes nuisibles sont

commercialisés. Ils sont identifiés comme polluants d'origine agricole en raison de la dominance d'utilisation dans ce secteur, à environ 90%. A part les activités agricoles, les pesticides sont utilisés aussi pour la démolition, le traitement du bois et des sols, la désinfection des locaux, l'entretien des espaces verts, des voiries. Ils sont aussi utilisés par les particuliers. Si les pesticides sont apparus bénéfiques pour la protection des cultures et pour les entretiens divers, ils sont souvent très nocifs à la fois pour l'environnement, les animaux et pour la santé humaine.

Les pesticides utilisés dans l'agriculture sont actuellement une des principales préoccupations environnementales en raison de leur utilisation à très grande échelle, de leurs fortes toxicités, de leurs longues persistances dans l'environnement et de leurs capacités à se bioaccumuler dans la chaîne trophique. Une quantité très importante de pesticides est commercialisée chaque année dans le monde .

La contamination de l'eau par les pesticides a lieu soit directement pendant l'épandage, soit indirectement via le dépôt atmosphérique et le lessivage des sols (Figure I-5). L'air, l'eau et le sol de la région où l'utilisation de pesticides est répandue, sont contaminés. En effet, pendant la pulvérisation dans les champs, une partie des pesticides s'évapore dans l'air et une partie se dépose sur le sol. En fonction du mode d'action et des conditions climatiques, entre 25 et 75 % des pesticides appliqués seraient émis directement vers l'atmosphère.

Dans l'air, les pesticides subissent les processus de l'atmosphère comme la photolyse, la (photo)oxydation réduisant en partie les teneurs des molécules parents. La partie restante peut être transportée par le vent pour contaminer d'autres régions et/ou déposée ensuite à la surface de l'eau ou du sol. Ils peuvent être entraînés ensuite par le ruissellement vers les eaux de surface et/ou infiltrés vers la nappe phréatique. On estime qu'environ 2,5 millions de tonnes de pesticides sont répandues chaque année dans le monde. Le plus intéressant à noter est que lors de l'application, seulement 0,3% des pesticides atteignent leurs cibles et 99,7% sont dispersés dans l'environnement[29].

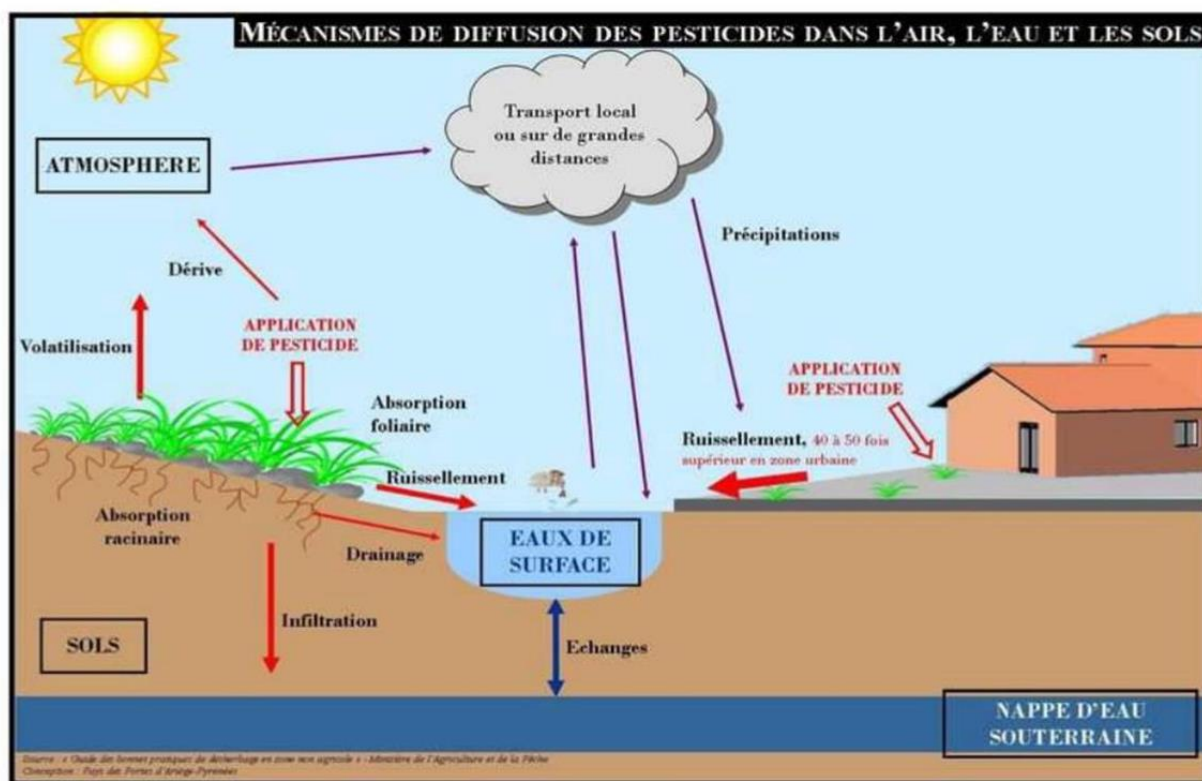


Figure I-6: Mécanismes de diffusion des pesticides dans l'air, l'eau et les sols, selon le Département Pyrénées Orientales.

I.5. Famille des benzothiazoles

La famille des benzothiazoles est vaste et ne comprend que peu de composés naturels. Par contre, ils sont synthétisés à grande échelle au niveau industriel, pour des applications variées. Ils sont dans leur majorité des xénobiotiques hétérocycliques dont la structure chimique de base est constituée de deux cycles : un cycle benzénique accolé à un cycle thiazole comme cela est représenté sur la figure (I-7) [30.31].

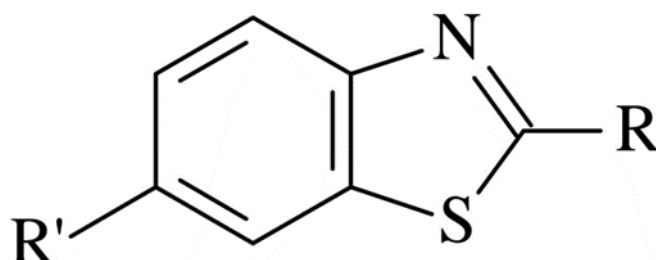


Figure I-7: Structure de base des benzothiazoles.

On les distingue en fonction du substituant R' sur le noyau aromatique et surtout en fonction de la nature du groupement R en position 2 sur le cycle thiazole. Les benzothiazoles sont le plus

souvent des composés issus de synthèse et ils sont utilisés dans de nombreux domaines du fait des multiples propriétés que leur confèrent les substituants R et R'. Les structures et l'utilisation d'un certain nombre d'entre eux sont consignées dans la figure(I-8) suivant :

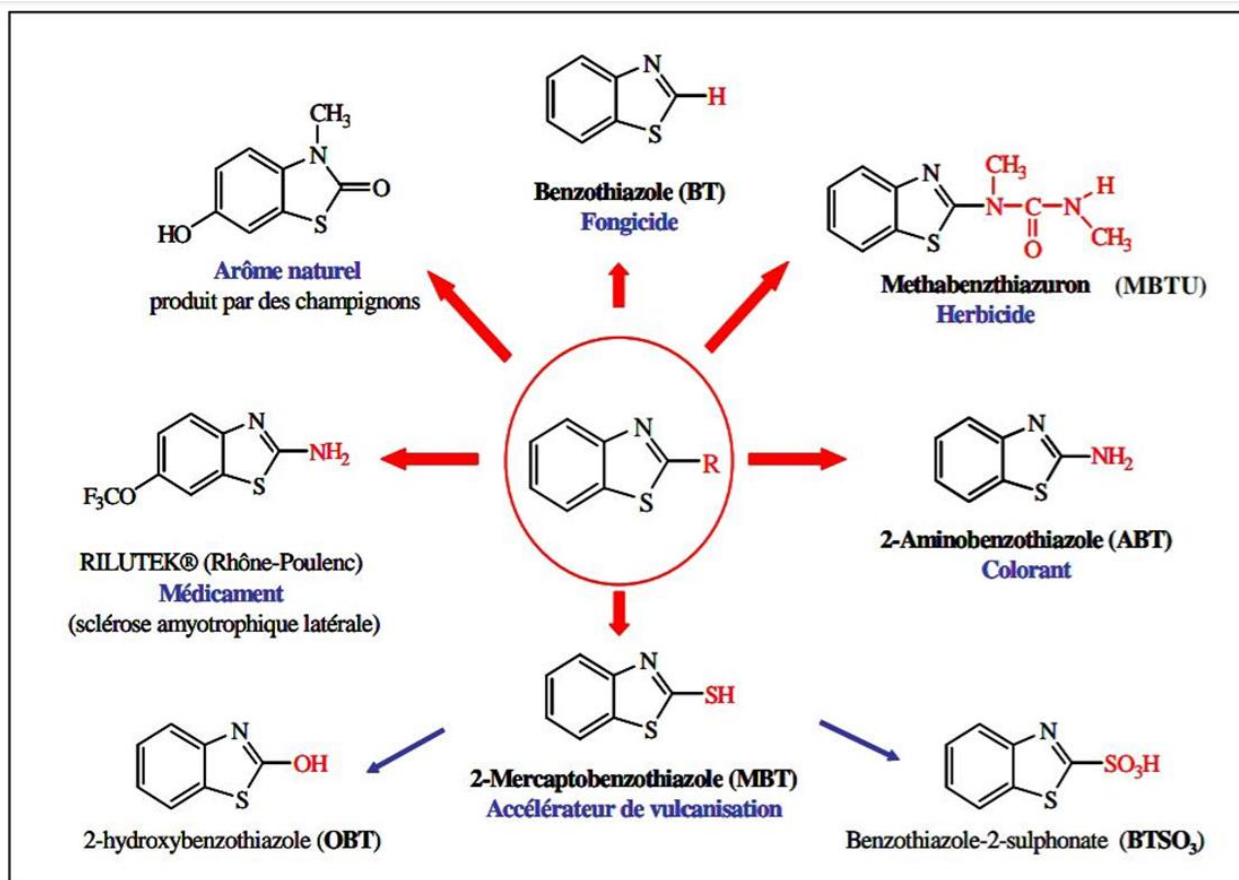


Figure I-8: Structure de quelques benzothiazoles.

Parmi les quelques benzothiazoles d'origine naturelle, nous retrouvons le BT et le MeBT dans les feuilles de thé (Vitzthum et al., 1975) et le MBT dans la canneberge (Anjou et Von Sydow, 1967). Le BT est aussi un arôme que produisent les champignons *Polyporusfrondosus* et *Aspergillus clavatus* (Seifert et King, 1982)[32] .

I.5.1. MBT

Le 2-mercaptobenzothiazole ou benzothiazoléthiol (MBT) est le composé le plus important de la famille des benzothiazoles. MBT, comme la plupart des benzothiazoles, est un produit de synthèse utilisé dans des domaines très variés de l'industrie mais certains benzothiazoles ont été identifiés à l'état naturel notamment dans les airelles [33] (*Vaccinium macrocarpon*) ou les feuilles de thé noir [34].

La structure chimique de MBT est composée d'un groupe mercaptoexocyclique possédante un atome d'hydrogène labile :

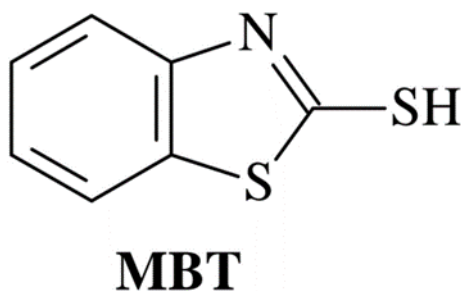


Figure I-9: structure chimique de MBT.

MBT existe sous forme de sels de sodium, de potassium, de zinc, ... et ses sels sont utilisés comme pesticides ou fongicides ; MBT est utilisé principalement comme accélérateur de vulcanisation dans l'industrie pneumatique . et aussi comme fongicide . MBT peut être aussi utilisé comme conservateur .ou comme agent anti-corrosion de métaux tels que le cuivre , le zinc ou de l'argent. MBT présente ainsi une activité biocide sur les microorganismes du sol aux concentrations trouvées dans la formulation normale des gommages ,et une activité antivirale .

Une importante quantité de MBT se retrouve dans les compartiments aquatiques au cours de la fabrication des produits caoutchouteux et aussi par le biais des produits finis qui en contiennent. En effet, MBT a été souvent identifié dans les eaux de rejet, dans les stations d'épuration et dans les eaux de surface. Sa présence pose un problème de santé publique dans la mesure où ce composé, au-delà d'une forte odeur désagréable, s'est avéré allergène et toxique pour les organismes aquatiques et très faiblement biodégradable [30].

I.5.2. Présence dans l'environnement.

Nous possédons assez peu de données sur les quantités de benzothiazoles produits chaque année qui peuvent se retrouver dans l'environnement (eaux de surface, eaux souterraines) ou encore dans les stations d'épuration des villes. Quelques chiffres concernent les dérivés de benzothiazoles utilisés dans la fabrication des gommages et particulièrement des pneus (type MBT). Ainsi dans les années 1980, la production totale de tels dérivés en Europe de l'Ouest était estimée à 38 000 tonnes [35]. En 1985, la production de MBT était de 25 000 tonnes aux Etats-Unis et l'Agence de Protection de l'Environnement Américaine estimait que près de 500 tonnes étaient relarguées dans la nature .

L'origine des dérivés de benzothiazole retrouvés dans l'environnement ou dans les stations de traitement des eaux est variée. En dehors des usines de production, le lessivage de produits manufacturés peut être une source de contamination indirecte. Ainsi par exemple, des études ont montré que le MBT n'est pas étroitement lié dans la matrice de caoutchouc et peut donc être

entraîné par lessivage. C'est ainsi que ce composé a été retrouvé dans du sérum humain ou des préparations médicamenteuses, la fuite provenant dans ce cas du plastique des seringues ou des bouchons. Le MBT peut être également relargié dans l'environnement via les stocks de vieux pneus et des voies à grande circulation. Après 5 étapes de lessivage réalisées sur des pneus, il a été montré que près de 50 % de la quantité initiale de MBT est entraînée[36]. , une autre source non négligeable provient des eaux usées domestiques, sans que l'on sache de quels types de produits les benzothiazoles sont excrétés.

Peu d'études ont permis une évaluation quantitative des benzothiazoles dans les eaux, car les techniques analytiques de dosage sont assez complexes. Seules les techniques récentes de LC-MS mises au point par l'équipe de Reemstma (2000) ont permis d'analyser les principaux dérivés de benzothiazole dans des stations d'épuration, des eaux de surface, des eaux usées domestiques et des eaux de lessivage de voies de circulations.

Plusieurs benzothiazoles ont été détectés dans les milieux aquatiques. A titre d'exemple le benzothiazole (BT) qui est un produit de la photolyse directe de MBT en lumière solaire a été trouvé dans les eaux de rivières, l'eau potable, les eaux de surface et les eaux souterraines [37].

I.5.3. Toxicité du MBT

La plupart des composés de la famille des benzothiazoles, et notamment le MBT, présente des propriétés nocives, voire même toxiques. Ce composé présente ainsi une activité biocide sur les microorganismes du sol aux concentrations trouvées dans la formulation normale des gommes , une activité antivirale ou encore des propriétés anti-Candida et antifongiques . Il y a aussi une étude approfondie de l'impact des benzothiazoles, en particulier du MBT sur les bactéries. Ils ont montré que le MBT était effectivement le plus toxique des composés étudiés bactériostatique hydrophobe, le MBT semble pouvoir s'accumuler dans les membranes cellulaires et détériorer leur intégrité, en particulier leur perméabilité. Il semble que la fonction thiol soit responsable de la toxicité de ce composé .

Pour l'homme, le MBT présente des effets allergènes qui rendent sa présence dans les gants en caoutchouc responsable de dermatoses sévères. Le MBT est d'ailleurs répertorié en tant qu'allergène dermatologique. Sa DL50 chez le rat est évaluée à 3,8 mg kg⁻¹. D'autres études ont montré une activité cancérogène et mutagène chez le rat et la souris. Une étude grandeur nature a révélé que les travailleurs exposés au MBT avaient un risque augmenté de mort par cancer de la vessie[31] .

Une autre étude menée dans notre laboratoire en collaboration avec le Laboratoire de Biologie des Protistes de l'Université Blaise Pascal de Clermont-Ferrand a permis d'évaluer l'écotoxicité de certains benzothiazoles ainsi que celle de leur dérivé hydroxylé en 6 sur le cycle benzénique en utilisant un micro-biotest, Microtox® [38].

Tableau I-3 : Test Microtox pour différents benzothiazoles

Benzothiazoles	CE ₅₀ (mg L ⁻¹)
Benzothiazole (BT)	0,36 ± 0,03
2-hydroxybenzothiazole (OBT)	1,801 ± 0,005
2,6-dihydroxybenzothiazole(diOBT)	6,38 ± 0,47
2-mercaptobenzothiazole (MBT)	0,21 ± 0,02
2- mercapto-6-hydroxybenzothiazole (6OH-MBT)	1,32 ± 0,14
2-aminobenzothiazole (ABT)	6,35 ± 0,72
2-amino-6-hydroxybenzothiazole (6OH-ABT)	16,01 ± 1,45
Méthabenzthiazuron (MBTU)	22,66 ± 2,39
6-hydroxyméthabenzthiazuron (6OH-MBTU)	132,33 ± 12,55
Acide 2-benzothiazolsulfonique (BTSO ₃)	294,87 ± 58,26

I.6. Méthodes de traitement des polluants organiques

Le traitement des polluants organiques est une méthode connue depuis les premiers siècles, et maintenant la désinfection continue de l'eau est devenue une chose courante [39].

Le traitement des polluants organiques nécessite souvent l'application simultanée ou séquentielle de plusieurs technologies et procédés. Cela comprend à la fois la purification des eaux usées et la purification de l'eau propre à la consommation humaine. Le procédé de traitement est choisi en fonction du type et de la source de contamination souhaitée [40].

Les différentes méthodes disponibles aujourd'hui pour le traitement de l'eau sont :

I.6.1. Méthode physique

Les méthodes physiques de traitement des polluants organiques utilisent des forces naturelles telles que la gravité, l'attraction électrique, les forces de Van der Waals et des barrières physiques pour éliminer les matériaux. En général, les mécanismes de traitement physique n'entraînent pas de modifications de la structure chimique de la substance cible. Dans certains cas, l'état d'agrégation change, comme lors de l'évaporation, et le matériau dispersé s'agrège souvent comme

dans la filtration. Les processus physiques de traitement des polluants organiques comprennent la sédimentation, la flottation, l'adsorption et l'utilisation de barrières physiques telles que des lacs, des filtres en profondeur et des membrane [41].

I.6.2. Méthode chimique

Les techniques d'oxydation chimique sont couramment utilisées lorsque les processus biologiques sont inefficaces. Par conséquent, ils peuvent être utilisés dans les étapes de prétraitement des processus biologiques. L'oxydation chimique est largement utilisée pour traiter les contaminants non biodégradables et/ou toxiques et les fortes concentrations d'eaux usées qui ne peuvent être traitées par d'autres procédés ou converties en produits biodégradables et/ou non toxiques. En effet, cette technologie repose sur l'oxydation directe ou indirecte des polluants organiques par des espèces oxydantes fortes telles que O_3 , H_2O_2 , O_2 et OH° . Ces espèces chimiques sont capables de dégrader des composés jusqu'au niveau de minéralisation. Par conséquent, l'oxydation chimique s'est avérée être une méthode efficace pour traiter les polluants organiques. Diverses méthodes ont ensuite été utilisées pour traiter les polluants organiques tel que l'ozonation, l'électro-fenton, les procédés plasma [42].

I.6.3. Méthode biologique

Les processus biologiques sont basés sur la biotransformation microbienne des contaminants. Notez l'utilisation de bactéries, de champignons et de phytoremédiation. Bien que ces techniques conviennent à de nombreux contaminants organiques, elles ne sont pas toujours applicables aux effluents industriels en raison de la forte concentration de contaminants organiques. contaminants, une toxicité entraînant la mort microbienne ou une très faible biodégradabilité. De plus, ces technologies produisent de grandes quantités de boues biologiques qui sont recyclées.

Le résultat net est une diminution de la quantité de contaminants organiques et une augmentation de la quantité de micro-organismes [42].

I.6.3.1. Les procédés biologiques anaérobies

La conversion anaérobie des matières solides organiques en sous-produits inoffensifs est très complexe et résulte de multiples réactions comme cela est indiqué sur le schéma ci-dessous,

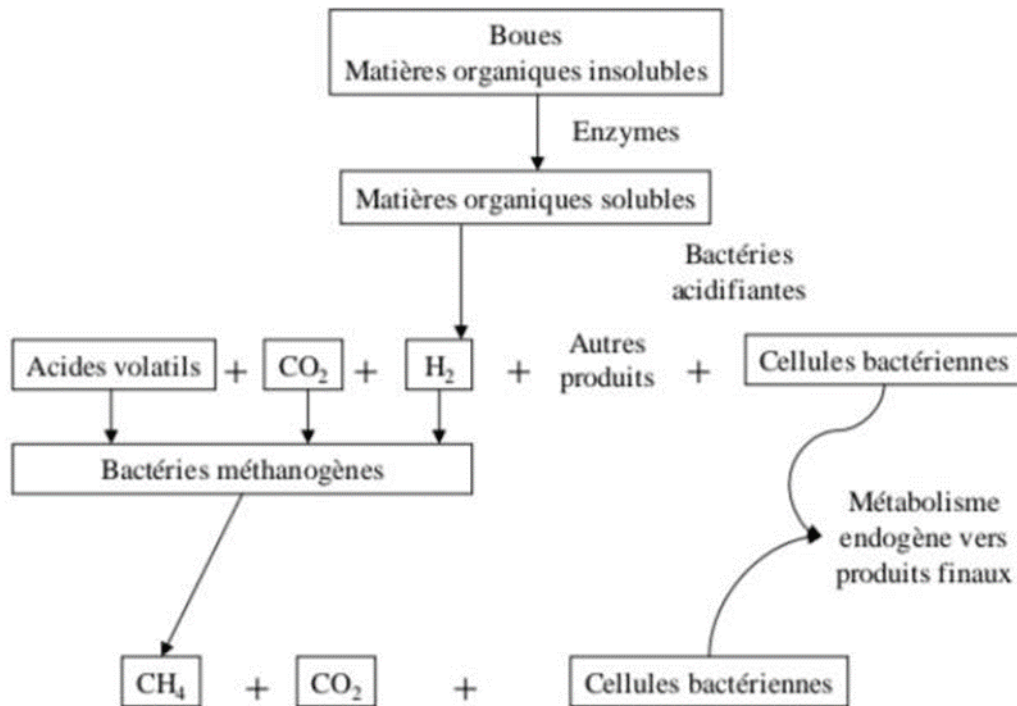


Figure I-10: Mécanisme de la digestion anaérobie des boues.

I.6.3.2. Les procédés biologiques aérobies

Pour la dégradation aérobie de la matière organique, deux processus consommateurs d'oxygène se développent parallèlement. Ce sont:

- Oxydation de la matière organique : Cette opération fournit l'énergie aux microorganismes (catabolisme), énergie nécessaire à la synthèse cellulaire et à la multiplication des microorganismes (anabolisme), le processus d'oxydation aboutit à un accroissement de la masse cellulaire totale.

Réaction de synthèse de la biomasse:

Enzymes

Micro-org + O₂+N+P ——— cellules nouvelles+CO₂+H₂O+ résidu réfractaires ou substrat.

- Auto-oxydation progressive de la masse cellulaire: respiration endogène .

Enzymes

Cellules +O₂— → CO₂+H₂O+N+P+résidu non biodégradable ou substrat.

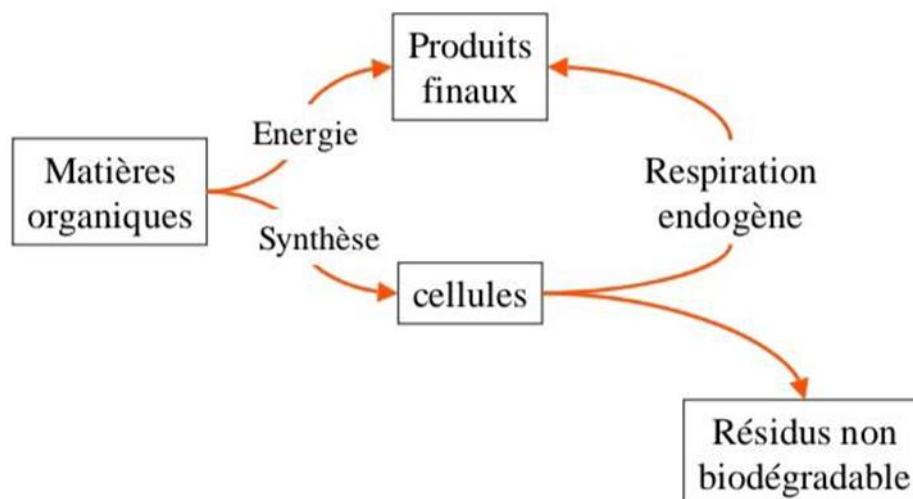


Figure I-11: Mécanisme de l'oxydation biologique aérobie

Les traitements aérobie sont les plus répandus, les traitements anaérobies restant réservés, aux cas de pollution fortement concentrée pour laquelle l'apport d'O₂ en quantité suffisante pose un problème[43].

I.6.3.3. La phytoremédiation

La phytoremédiation est l'utilisation des plantes pour réduire, dégrader ou immobiliser les contaminants organiques ou minéraux. Ces plantes aquatiques ou terrestres doivent résister au polluant et permettre son accumulation avec ou sans biotransformation. La phytoremediation peut être utilisée seule ou en association avec des micro-organismes. L'idée qui fait est de pouvoir coupler l'efficacité des végétaux à accumuler les polluants organiques, et la capacité des micro-organismes à les dégrader[44].

I.6.3.4. La biodégradation par les microorganismes

Cette méthode est très efficace pour éliminer les contaminants organiques et inorganiques de l'eau. Le nettoyage de l'eau à l'aide de microorganismes est réalisé en utilisant des bactéries, des champignons et des algues qui sont capables de dégrader les contaminants organiques et inorganiques [45].

Ces microorganismes sont capables de dégrader les hydrocarbures, les métaux lourds, les pesticides et les produits chimiques organiques.

I.6.3.4.1. Principe de la biodégradation

Le principe de la biodégradation s'explique par la dégradation des composés carbonés par les micro-organismes. Ceux-ci peuvent être soit des micro-organismes natifs déjà présents dans la zone à traiter et avec une présence négligeable de contaminants, soit des micro-organismes exogènes ajoutés à l'environnement contaminé ou isolés à partir d'échantillons de la zone selon les besoins contaminé, cultivé en laboratoire, identifié puis réintroduit dans l'environnement par un processus appelé bioaugmentation[46].

Des produits non-toxiques est facilement éliminables par les micro-organismes présents dans l'environnement. Cependant, il est important de noter que la biodégradation n'est pas toujours la meilleure solution pour éliminer les polluants toxiques, notamment dans les cas où la dégradation produit des substances encore plus toxiques. Dans ces cas-là, d'autres méthodes de dépollution doivent être utilisées.

La biodégradation est une processus d'oxydation conduisant à la formation des composants de poids moléculaire inférieur, connus sous le nom de biotransformation. Mais aussi réagit pour produire du dioxyde de carbone, de l'eau, des sels minéraux et de la biomasse pleinement (figureI-12))[46].

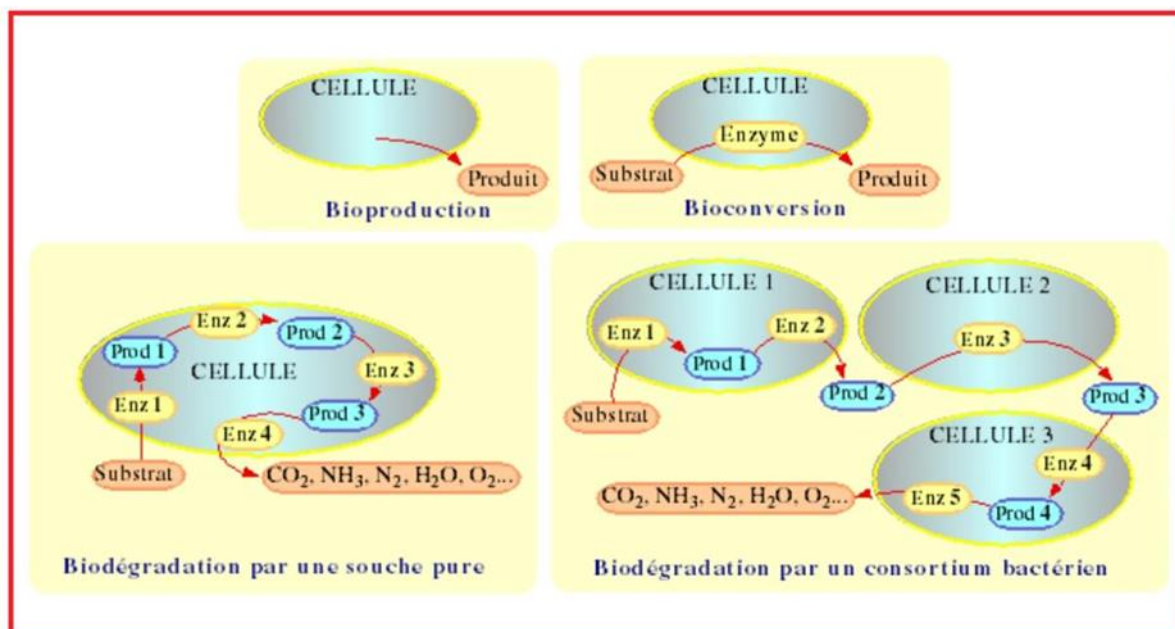


Figure I-12: L'objectif final de la biodégradation est de transformer des substrats organiques en produits minéraux, en faisant intervenir plusieurs enzymes exprimées soit par un micro-organisme unique, soit par un groupe de micro-organismes (consortium)[46].

I.6.3.4.2. Les facteurs influencent la biodégradation

Les micro-organismes sont très sensibles à leur environnement de croissance et réagiront changement environnemental. Le taux de biodégradation est Influencé par de nombreux facteurs de type microbien ; niveaux de contamination propriétés physicochimiques des polluants; pH ; salinité de l'environnement ; éléments nutritifs [47].

L'élimination biologique d'un substrat est fortement dépendante d'un certain nombre des facteurs physiologiques. De ce fait il est important de comprendre comment ces derniers ont une influence sur le profil de la biodégradation. En effet, sachant que l'environnement est un facteur déterminant dans une réaction de biodégradation, les conditions environnementales doivent être appropriées pour que cette réaction s'effectue à une vitesse optimale et de sorte qu'aucun facteur ne devienne limitant au cours du traitement. D'ailleurs, le choix des meilleures conditions physiologiques a toujours été l'une des principales préoccupations des scientifiques.

Plusieurs facteurs peuvent intervenir dans la biodégradation : il s'agit essentiellement de la concentration du polluant ainsi que celle des nutriments nécessaires à la croissance des microorganismes, de la source de carbone supplémentaire (glucose, extrait de levure,.....),de l'aération, du pH et de la température du milieu [48].

I.6.3.4.3. Intérêts et inconvénients des biodégradations aérobie et anaérobie

Les principaux avantages des biodégradations sont :

- Sont des procédés destructifs.
- Ces procédés sont très compétitifs en termes de coûts (ne nécessitant pas de transfert d'électrons, les traitements anaérobies sont généralement moins onéreux que les aérobies).
- L'influence des médias est meilleure.

Plusieurs inconvénients sont à mentionner :

- La biodisponibilité restreint l'entrée des polluants et, par conséquent, leur dégradation biologique.
- Évidemment, les techniques ne sont applicables qu'aux polluants biodégradables, non inhibés et non toxiques.
- les concentrations importantes en métaux, cyanures, ou contaminants organiques peuvent inhiber les biodégradations [49].

I.6.3.4.4. Microorganismes de la biodégradation des benzothiazole

- **Etudes effectuées avec des boues activées**

Les premières recherches sur la biodégradation des benzothiazoles ont été effectuées en utilisant des boues activées ou des cultures mixtes provenant directement des stations d'épuration d'usines impliquées dans la fabrication ou la consommation de ces composés.

Mainprize et al. (1976) ont été les premiers à démontrer la biodégradation complète de BTSO₃ (100 mg L⁻¹) par des boues activées. Repkina et al. (1983) ont mené une étude sur la dégradation aérobie du BT par des boues activées provenant d'une station d'épuration municipale. Lorsque les concentrations de BT sont inférieures à 300 mg/L, il y a une oxydation et nitrification biochimique du substrat et le BT est entièrement dégradé. Cependant, à des concentrations supérieures, le processus de nitrification est inhibé. Ils ont également tenté cette expérience avec le MBT seul, mais cela a échoué.

- **Etudes effectuées avec des souches pures**

Des souches microbiennes pures capables de dégrader et de transformer les benzothiazoles ont été recherchées dans le but d'identifier avec plus de facilité les voies métaboliques mises en jeu. Différents microorganismes capables de dégrader ces composés dans des conditions aérobies ont été isolés. Plusieurs appartiennent à la famille des Rhodococci.

En 1998, l'équipe de De Wever isole une souche pure capable de transformer des benzothiazoles, *Rhodococcus erythropolis* BTSO₃₁. Cette souche est capable de dégrader l'OBT, le BT (Figure 10) et le BTSO₃ séparément ainsi qu'en mélange. En revanche, elle ne dégrade pas le MBT, ce composé inhibant même la dégradation de l'OBT, du BT et du BTSA lorsqu'il est ajouté au mélange des trois benzothiazoles.

La littérature décrit maintenant quelques souches microbiennes pures capables de transformer les benzothiazoles. Le Tableau I-4 : en rassemble certaines[50].

Tableau I-4 : Souches microbiennes et benzothiazoles sur lesquelles elles sont actives.

Souches	Benzothiazoles dégradés	Références
Bactéries		
- <i>Pseudomonas</i> sp.	MBT	Drotar et al., 1987
- <i>Pseudomonas</i> sp. HKT 554	BT, MBT	Matsui et al., 2004
- <i>Corynebacterium</i> sp.	MBT	Drotar et al., 1987
- <i>Rhodococcus rhodochrous</i> OBT18	BT, OBT, ABT, MBT	De Wever et al., 1997, Besse et al., 2001, Haroune et al., 2001, 2004, Bunesco et al., 2008a
- <i>Rhodococcus erythropolis</i> BTSO ₃ 1	BT, OBT, BTSA	De Wever et al., 1998, Besse et al., 2001, Haroune et al., 2001
- <i>Rhodococcus pyrinidinovorans</i> PA	BT, OBT	Gaja et Knapp 1997, Haroune et al., 2002
Champignons		
- <i>Cunninghamella echinulata</i>	MBTU	Wallnöfer et al., 1976
- <i>Hypocrea pilulifera</i>	MBTU	Goettfert et al., 1978
- <i>Aspergillus niger</i>	MBTU	Malouki et al., 2003

I.6.3.4.5. Biodégradation de 2-mercaptobenzothiazole

Plusieurs études ont examiné la biodégradation de MBT dans l'environnement, soit par des microorganismes soit par l'action de boues actives. Malgré cela, ces études ont montré que MBT est plutôt récalcitrant, c'est-à-dire qu'il ne se dégrade pas facilement et n'est pas complètement minéralisé.

L'étude de Haroune et al. publiée dans la revue BioresourceTechnology en 2006 a examiné la capacité de la bactérie *Pseudomonas* sp. à biotransformer le 2-mercaptobenzothiazole (MBT), l'étude montre que cette bactérie est capable de métaboliser le MBT en trois principaux métabolites (6-hydroxybenzothiazole, cis-dihydroxybenzothiazole et le dérivé diacide de MBT) et ils ont proposé le mécanisme de biodégradation suivant:

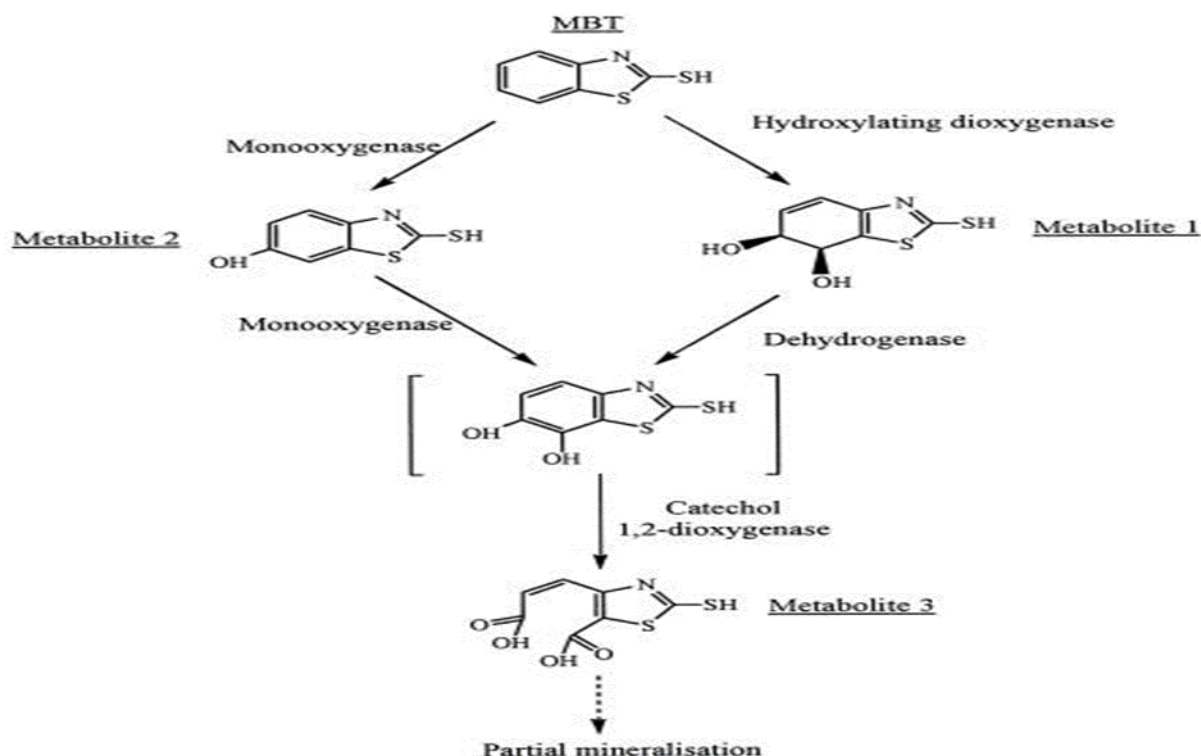


Figure I-13: Voie métabolique proposé pour MBT en présence de *Rhondococcus rhodochrous*.

Effectivement, le travail de Drotar et al. publié dans la revue *Environmental Science and Pollution Research* en 2016 a étudié la biodégradation de MBT par différents types de bactéries, notamment *Corynebacterium* sp, *Pseudomonas* sp et *Escherichia coli*.

Les chercheurs ont constaté que chaque espèce bactérienne avait sa propre capacité à métaboliser le MBT, produisant des métabolites différents dans le milieu de culture. En particulier, ils ont trouvé que *Corynebacterium* sp était capable de métaboliser efficacement le MBT en benzothiazole (BTH), tandis que *Pseudomonas* sp. et *Escherichia coli* produisaient du 2-hydroxybenzothiazole (OHBTH) comme métabolite principal.

Cette étude suggère donc que la biodégradation de MBT dépend fortement de la souche bactérienne utilisée et que la production de métabolites spécifiques peut varier considérablement en fonction de l'espèce bactérienne. Ces résultats pourraient avoir des implications importantes pour la dégradation bactérienne de MBT [51].

Liste du références bibliographiques

- [1] Tlili, Ines, et al. "Occurrence of 28 Human and Veterinary Antibiotics Residues in Waters, North-Eastern Tunisia by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry." *Chemistry Africa* 5.6 (2022): 2163-2172.
- [2] JORA., 2003. Journal officiel de la république algérienne. Loi n° 03-10 du 19 juillet 2003 relative à la protection de l'environnement dans le cadre du développement durable.
- [3] Koyaouili, Thierry-Jocker. Étude des procédés plasmas dans l' élimination des polluants organiques persistants dans les effluents aqueux . Diss. Paris 6, 2016 .
- [4] MEKHALIF Faiza , Réutilisation des eaux résiduaires industrielles épurées comme eau d'appoint dans un circuit de refroidissement, Mémoire de Magister, 2009.
- [5] Koller, Emilian. *Traitement des pollutions industrielles: eau, air, déchets, sols, boues*. Paris, France: Dunod, 2004.
- [6] MIZI Abdelkader, Traitement des eaux de rejet d'une raffinerie -région de Bejaia et valorisation de déchets oléicoles, Thèse de Doctorat, 2006.
- [7] MIZI Abdelkader, Traitement des eaux de rejet d'une raffinerie -région de Bejaia et valorisation de déchets oléicoles, Thèse de Doctorat, 2006.
- [8] Zineb BOUTAMINE, Élimination d'un polluant organique modèle par sonochimie et procédés d'oxydations avancées, Mémoire de Magister, Université Badji Mokhtar-Annaba, 2014.
- [9] MEKHALIF Faiza , Réutilisation des eaux résiduaires industrielles épurées comme eau d'appoint dans un circuit de refroidissement, Mémoire de Magister, 2009.
- [10] Julien Reungoat, Etude d'un procédé hybride couplant adsorption sur zéolithes et oxydation par l'ozone. Application au traitement d'effluents aqueux industriels. Laboratoire d'In²génierie des Systèmes Biologiques et des Procédés. Toulouse, décembre 2007.
- [11] Faurie C, Ferra C, Médori P, Dévaux J, Hemptinne J.L., 2002. *Ecologie approche scientifique et pratique*. 5ème éd. Éditions TEC & DOC .Paris. 405p
- [12] Koller, Emilian. *Traitement des pollutions industrielles: eau, air, déchets, sols, boues*. Paris, France: Dunod, 2004.
- [13] Merhaby D., Net S., Ouddane B., and Halwani J. Characterization of organic pollution in sediment in Port of Tripoli Lebanon: Study case. *Marine Pollution Bulletin*. 93, 284-293, 2015.
- [14] Yunker M.B., Macdonald R.W., Vingarzan R., Mitchell R.H., Goyette D., Sylvestre S. PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. *Org. Geochem.* 33, 489-515, 2002.

- [15] Wang Z., Chen J., Yang P., Qiao X., Tian F. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Dalian soils: distribution and toxicity assessment. *J. Environ. Monitor.* 9, 199-204, 2007.
- [16] Bomboi MT, Hernandez A, Marino F, Hontoria E. Distribution of hydrocarbon concentration from urban runoff. *Science of the Total Environment* 93, 465-480, 1990.
- [17] Soclo H.H., Garrigues P., Ewald M. Origin of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in coastal marine sediments: case studies in Cotonou (Benin) and Aquitaine (France) areas. *Marine Pollution Bulletin* 40, 387-396, 2000
- [18] El Haddad I. Fractions primaire et secondaire de l'aérosol organique : Méthodologies et application à un environnement urbain méditerranéen, Marseille. *Océan, Atmosphère. Université de Provence - Aix-Marseille I*, 2011.
- [19] Net S., Sempéré R., Delmont A., Paluselli A., Ouddane B. Occurrence, Fate, Behavior and Ecotoxicological State of Phthalates in Different Environmental Matrices (Critical Review). *Environmental Science & Technology*. 49, 4019-4035, 2015d.
- [20] Net-David, Sopheak. *Contaminants organiques en milieux aquatiques: développements analytiques, techniques et applications*. Diss. Université Lille1-Sciences et Technologies, 2016.
- [21] Farré M., Ferrer I., Ginebreda A., Figueras M., Olivella L., Tirapu L., Vilanova M., Barcelo D. Determination of drugs in surface water and wastewater samples by liquid chromatography–mass spectrometry: methods and preliminary results including toxicity studies with *Vibrio fischeri*. *Journal of Chromatography A*, 938, 187-197, 2001.
- [22] Heberer T. Occurrence, fate and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of the recent research data. *Toxicology Letters* 131, 5-17, 2002.
- [23] Boxall A.B.A. The environmental side effects of medication. *EMBO Reports* 5(12), 1110-1116, 2004.
- [24] Amiard J. et Amiard-Triquet C. Les biomarqueurs dans l'évaluation de l'état écologique des milieux aquatiques. Lavoisier, Paris, p 372. 2008.
- [25] Togola A. and Budzinski H. Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in aqueous samples. *Journal of Chromatography A*, 1177(1), 150-158, 2008.
- [26] Cleuvers M. Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 59(3), 309-315, 2004.
- [27] Halden R.U. Plastics and health risks, *Annu. Rev. Publ. Health* 31, 179-194, 2010.

- [28] Environnement Canada and Santé Canada. Évaluation préalable finale pour le Défi concernant le Phénol, 4,4'-(1-méthyléthylidène)bis (Bisphénol-A). Evaluation des substances existantes Volume, 90, 2008.
- [29] Khennaoui, Badis, and Abderrahmane Malouki Moulay. Elimination de deux polluants organiques par photo-induction en phase homogène et hétérogène et par adsorption sur des supports inorganiques locaux. Diss. Université Frères Mentouri-Constantine 1, 2018.
- [30] Pr, Examineur Pascal WONG-WAH-CHUNG . Elimination de polluants organiques par voies physico-chimique et photochimiques : Cas du méthabenzothiazuron et de 2-mercaptopbenzothiazole. Diss. Université Aix-Marseille, France, 2014.
- [31] Bunescu, Andrei .Photo-et biodégradation de dérivés du benzothiazoles : étude en système combiné. Diss. Université Blaise Pascal -Clermont-Ferrand II ,2006.
- [32] Choraï, Charlene .Etude du métabolisme de Rhodococcus rhodochrous lors de la photobiodégradation du 2-aminobenzothiazole : effet de l' immobilisation des cellules et rôles du fer .Diss. Clermont-Ferrand 2 ,2008.
- [33] K. Anjou and E. V. Sydow, Acta. Chem. Scand., (1967), 21, 2076-2082.
- [34] O. G. Vitzhum., P. Werkhoff and P. Hubert, J. Agric. Food. Chem, (1975), 23, 5, 999-1003.
- [35] Klopfer A., Gnirss R., Jekel M. and Reemtsma T., Occurrence of benzothiazoles in municipal wastewater and their fate in biological treatment. Wat. Sci. Technol., 2004, 50, 203-208.
- [36] De Wever H., Besse P. and Verachtert H., Microbial transformations of 2-substituted benzothiazoles. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2001, 57, 620-625.
- [37] J. H. Carey, M. E. Fox, B. G. Brownlee, J. L. Metcalfe, P. D. Mason and W. H. Yrre, Scientific Series 135 I. W. D. Ontario, Canada, (1983).
- [38] M. A. Malouki, C. Richard and A. Zertal, Journal of Photochemistry and Photobiology A : Chemistry, (2004), 167, 121-126.
- [39] Desjardins, R. Le traitement des eaux, Presses inter Polytechnique. 1997
- [40] Koyaouli, T.-J. Etude des procédés plasmas dans l'élimination des polluants organiques persistants dans les effluents aqueux, Paris 6. 2016
- [41] Woodard, F. Industrial waste treatment handbook, Elsevier. 2001.

- [42] Trifi, B. Traitement des polluants organiques persistants par décharges à barrières diélectriques (DBD) et par décharges glissantes (Glidarc), Université Pierre et Marie Curie-Paris VI.2012.
- [43] Dhaouadi, Hatem. "Traitement des eaux usées urbaines :Les procédés biologiques d' épuration ."(2008).
- [44] Agoussar, A. "Effet des pesticides sur la diversité bactérienne des champs agricoles et la capacité des bactéries à les dégrader.2018.
- [45] Pelmont ,J. Bactéries et environnement. Ed: Office des publications universitaire. 2. pp.733-756.Pseudomonas putida. J. Bacterial. 156: 89-94.1995.
- [46] Ouzzani,Jamal."La biodégradation des polluants organiques". l'actualité chimique(2002):52.
- [47] Boopathy, R.Facteurs limitant les technologies de biorestauration. Bioresour. Technol. 74,63-67.2000.
- [48] Lecomte, P. Les sites pollués : traitement des sols et des eaux souterraines. Tec et Dc, 2eme édition.1998.
- [49] Colombano,s. Saada, a. Guerin,v . Bataillard,p."Quelles techniques pour quels traitements-Analyse coûts-bénéfices."Rapport final BRGM-RP-58609-FR:403.2010.
- [50] Choroa, Charlène.Etude du métabolisme de Rhodococcus rhodochrous lors de la photobiodégradation du 2-aminobenzothiazole.Diss.Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II,2008.
- [51] Haroune, N., B. Combourieu, et al. "Metabolism of 2-mercaptobenzothiazole by Rhodococcus rhodochrous." Applied and environmental microbiology70(10): 6315-6319.2004.

CHAPITRE II:

Matériel et méthodes

Certains microorganismes peuvent vivre dans des eaux pollués. Ils peuvent contribuer à la diminution de la charge polluante par la biodégradation. Leur présence et leur capacité à dégrader les polluants sont dues à leurs adaptations aux conditions du milieu et à leurs métabolismes. C'est la raison pour laquelle nous nous sommes intéressés aux eaux polluées par les pesticides.

L'objectif de notre travail est d'utiliser des micro-organismes pour traitements des eaux pollués par différents polluants. Dans notre étude on a choisi ; le 2-mercaptobenzthiazole(MBT). Une première application a été réalisée sur le traitement d'eau polluée par le MBT par des souches bactériennes. Une seconde application de traitement a été réalisée par un champignon. Pour réaliser ce travail nous avons utilisé le matériel et les produits suivants.

➤ **Matériels utilisés**

L'expérience menée dans le cadre de cette recherche dans diverses conditions, nécessite les matériels de qualités analytiques. Les concentrations résiduelles de polluant et le taux de dégradation ont été mesurées comme suit.

II.1. Spectroscopie d'absorption UV-visible

Les propriétés optiques des échantillons dans les domaines de l'UV-visible ont été étudiées par la spectroscopie d'absorption UV-visible.

II.1.1. Principe

La spectroscopie d'absorption concerne des transitions de l'état fondamental vers un état excité. Elle consiste à mesurer l'atténuation d'un rayon lumineux incident d'intensité I_0 en fonction de la longueur d'onde lorsque celui-ci traverse un milieu homogène d'épaisseur l ; généralement en solution, contenant une espèce absorbante. Son principe est basé sur la mesure de la différence entre lumière incidente et lumière transmise par la solution.

En effet, Lorsqu'une lumière d'intensité I_0 passe à travers cette solution, une partie de celle-ci est absorbée par le soluté, et l'autre partie sera transmise avec une intensité I inférieure à I_0 . L'absorbance est une valeur positive, sans unité. Elle est d'autant plus grande que l'intensité transmise est faible. Elle est définie comme suit :

$$A = \text{Log}\left(\frac{I_0}{I}\right) = -\text{Log}T$$

T est transmittance définie par la relation :

$$T = \left(\frac{I}{I_0}\right)$$

Avec : I_0 est l'intensité lumineuse incidente et I est l'intensité lumineuse transmise.

La loi de Beer-Lambert indique que pour une longueur d'onde λ , l'absorbance d'une solution est proportionnelle à sa concentration et à la longueur du trajet optique l (épaisseur de la solution traversée par la lumière) :

$$A = \text{Log} \left(\frac{I_0}{I}\right) \varepsilon l C$$

A : Absorbance ou densité optique à une longueur d'onde λ (sans unité).

ε : Coefficient d'extinction molaire, il dépend de la longueur d'onde λ et de la nature chimique de l'entité ($L.mol^{-1}.cm^{-1}$).

l : Longueur du trajet optique dans la solution traversée, elle correspond à l'épaisseur de la cuve utilisée (cm) (Figure II 1).

C : Concentration de la substance absorbante (mol/L).

A titre de comparaison entre les différents échantillons synthétisés, le coefficient d'extinction molaire a été calculé à partir de la formule de Beer-Lambert :

$$\varepsilon = \frac{A}{l c}$$

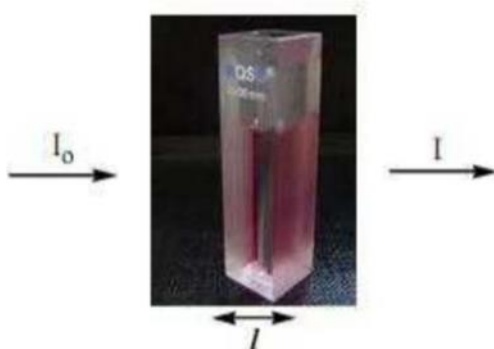


Figure II-1 : Cuve d'échantillon de spectroscopie UV visible.

II.1.2. Spectres optiques UV-Vis de MBT

Le spectrophotomètre UV-visible utilisé pour les mesures des spectres d'absorption de MBT utilisée est de modèle « JENWAY 6850 UV/Vis» (Figure II 2). Il s'agit d'un spectrophotomètre double faisceau. Un faisceau traverse l'échantillon pendant que l'autre traverse

une référence. L'excitation photonique a été fournie par une lampe à décharge au deutérium pour la partie UV et une lampe halogène tungstène pour la partie visible. Des cuves en quartz, matériau transparent au rayonnement UV, de 1 cm de trajet optique ont été utilisées comme support.



Figure II-2 : Spectrophotomètre JENWAY 6850

Avant les mesures, un blanc a été préalablement réalisé avec les deux cuves remplies d'eau distillée, solvant des suspensions réalisées. Les échantillons ont été analysés sur une large gamme de longueurs d'onde comprise entre 200 et 600 nm. L'homogénéité et la stabilité des suspensions réalisées ont été vérifiées en mesurant les spectres d'absorption d'un prélèvement. Le spectre présenté dans la partie des résultats (Chapitre III) [1]

Le grand domaine d'application de la spectroscopie UV-Visible est l'analyse quantitative basée sur la loi de Beer- Lambert. Le domaine du visible trouve son plus grand champ d'utilisation en analyse. Voici quelques exemples d'applications:

- Contrôle de pureté et éventuellement dosage de l'impureté.
- Détermination de la composition d'un mélange (basée sur l'additivité de la loi de Beer-Lambert).
- Etude d'isomérisation cis-trans ou de tautomérisation.
- Mesure de constantes de dissociation d'acides et de bases.
- Etude cinétique d'une réaction chimique.
- Etude théorique de complexes métalliques [2]

II.1.3. Limites de validité de la loi de Beer-Lambert

- Concentration pas trop élevée ($c < 0,01 \text{ M}$).
- La substance ne doit pas donner lieu à des associations variables avec le solvant.

- Lumière monochromatique (impossible dans l'absolu).
- Influence de la lumière parasite, éviter de travailler à $A > 1,5$
- Absence de fluorescence et diffusion négligeable.
- La substance ne doit pas donner lieu à des réactions chimiques sous l'effet du rayonnement incident [3].

II.1.4. Intérêts de la spectroscopie UV-Visible

- Large domaine d'application (Chimie minérale, organique, biochimie) ,90% des analyses médicales.
- Analyses quantitatives (loi de Beer-Lambert).
- Grande sensibilité : limite de détection $\approx 10^{-5}M$
- Précision : 1 - 5% erreur.
- Simplicité, rapidité [4].

Pour séparer les composants d'une solution hétérogène, nous pouvons utiliser: la centrifugation ou la filtration.

II.2. La centrifugeuse

La centrifugeuse ou le centrifugeur est un appareil de laboratoire produisant un mouvement d'accélération et de rotation à très grande vitesse appelée la force centrifuge (Figure II 3). Le procédé de centrifugation permet de séparer les composants d'un mélange en fonction de leur différence de densité. Le mélange à séparer peut être composé de deux phases liquides ou de particules solides en suspension dans un liquide.

La centrifugeuse est particulièrement utilisée dans les laboratoires de chimie, biochimie ou physique, ils sont principalement utilisés avec des tubes de 1,5 à 50 ml ou des poches de sang, Il existe des centrifugeuses réfrigérées et des centrifugeuses chauffantes.



Figure II-3 :l'appareil centrifugeuse

II.3. Filtration

La filtration est un procédé de séparation permettant de séparer les constituants d'un mélange qui possède une phase liquide et une phase solide au travers d'un milieu poreux qui constitue un filtre et retient la phase solide.

L'utilisation d'un filtre permet de retenir les particules du mélange hétérogène qui sont plus grosses que les trous du filtre (porosité). Le liquide ayant subi la filtration est nommé filtrat ou perméat, tandis que la fraction retenue par le filtre est nommée résidu.

On récupère après filtration soit le solide, soit le liquide, soit le liquide et le solide. La filtration est une technique très utilisée dans le domaine de l'agroalimentaire, de la chimie, de la pharmacie.

La filtration permet de purifier les solutions en éliminant les particules en suspension et stériliser les solutions en éliminant les microorganismes.

II.4. pH-mètre

Le pH des solutions a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre à microprocesseur de type « ADWA AD 8000 » (Figure II 4). L'étalonnage de l'appareil a été effectué avec des tampons commerciaux de pH= 4, pH= 7 et pH= 10. Le pH a été ajusté à différentes valeurs pour les milieux acides en utilisant l'acide sulfurique (H_2SO_4) et en utilisant la soude (NaOH) pour les milieux basiques [1].



Figure II-4 :l'appareil de pH mètre

II.5. Autoclave

L'autoclave est un stérilisateur à vapeur, il utilise la chaleur humide sous forme de vapeur saturée sous pression pour arriver à une température supérieure au point d'ébullition, jusqu'à 135-137°C, pour détruire les micro-organismes tels que les bactéries, virus, champignons et les spores (Figure II 5).

La stérilisation à la vapeur est non toxique, peu coûteuse, rapidement microbicide, sporicide et chauffe et pénètre rapidement les tissus, avec une taille, une forme et une fonctionnalité variable. L'autoclave peut stériliser des liquides des solides, des cavités, des matériels chirurgicaux et des instruments de laboratoire de différentes formes et tailles, il est adapté aux différentes applications scientifiques et industrielles

II.5.1. Principe

Le principe de base de la stérilisation en autoclave est l'exposition directe d'un objet à la vapeur, avec une température et une pression requise, pendant le temps spécifié. Ainsi, il existe quatre paramètres de stérilisation à la vapeur : la vapeur, la pression, la température et le temps.

- Vapeur idéale pour la stérilisation est la vapeur saturée sèche et l'eau entraînée.
- La pression sert de moyen pour obtenir les hautes températures nécessaires pour tuer rapidement les micro-organismes.
- Des températures spécifiques doivent être obtenues pour assurer l'activité microbicide. Les deux températures courantes de stérilisation à la vapeur sont 121°C (250°F) et 132°C (270°F).

- Ces températures doivent être maintenues pendant un minimum de temps pour tuer les micro-organismes. Les durées de stérilisation varient selon le type d'article (par exemple, métal par rapport au caoutchouc, plastique), si l'article est emballé ou non, et le type de stérilisateur [5].



Figure II-5 : l'appareil d'autoclave

➤ Matériels biologiques

- **Bactéries :**

Trois souches bactérienne ont été utilisées dans ce travail :

- *Escherichia coli.*
- *Staphylocoque aureus.*
- *Entérocoques faecalis*

- **Champignon :**

Un champignon a été utilisé dans ce travail :

- *Aspergillus niger.*

II.6. Solution de MBT

Une solution mère de concentration 10mg/l est préparée. Le 2-mercaptobenzothiazole se présente sous-forme de poudre jaune. Le composé étant peu soluble, la solution est agitée pendant 2 jours à l'obscurité.

Remarque :

Les concentrations utilisées dans l'incubation ont été prolongées d'environ 2 à 3 fois par rapport à la concentration initiale afin de permettre une détection plus précise des effets.

Dans notre travail la biodégradation de MBT (10mg/l) a été étudiée dans l'eau sous une longueur d'onde d'absorption de 313 ($\epsilon = 24000 \pm 200 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ et $\epsilon_{313 \text{ nm}} = 21500 \pm 200 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) [6].



Figure II-6 : Spectre d'absorption UV-visible de MBT (10 mg /l) dans l' eau .

II.7. Biodégradation par les bactéries

II.7.1. *Escherichia coli*

La première souche d'*E. coli* a été isolée en 1885 par le bactériologiste allemand Theodor Escherich, est une bactérie intestinale des organismes à sang chaud Gram négatif, du genre *Escherichia*, en forme de bâtonnet. *E. coli* est une bactérie aero-anaérobie facultative, appartenant au groupe des colibacilles, très commune chez l'être humain [7]. C'est une bactérie sporulée mesurant 2 à 4 μm de long sur 0.4 à 0.6 μm de péritriche large. C' est une bactérie fine et allongée à extrémités arrondies, mobile grâce à une ciliature (Figure II-7 , Figure II-8) [8].

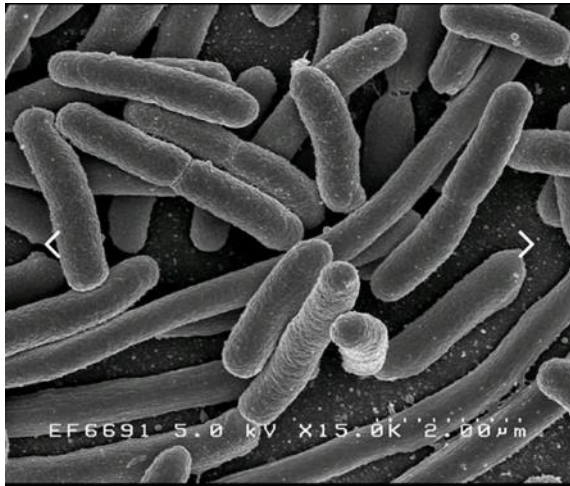


Figure II-7 : *Escherichia coli* sous microscope électronique Grossissement $\times$ 15000.

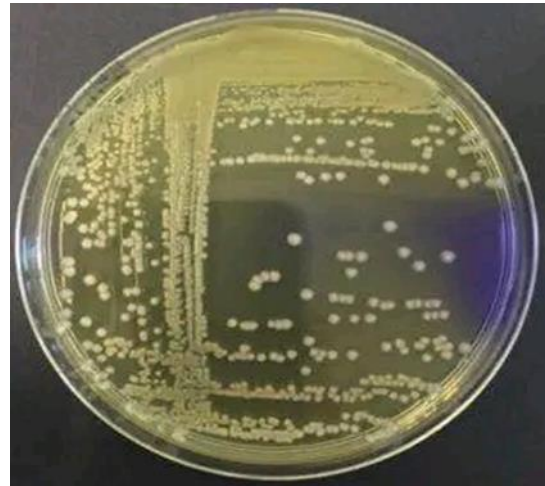


Figure II-8 : *Escherichia coli* sur milieu solide.

II.7.2. *Staphylocoque aureus*

La première différenciation de *Staphylococcus aureus* est faite par Friedrich Julius Rosenbach en 1884 à partir de culture sur milieu solide[9] .les staphylocoques apparaissent sous la forme de Cocci à Gram positif d'environ 0,5 à 1 μ m de diamètre. Ils peuvent être disposés de façon isolée, en diplocoques, en courte chaînette, ou en amas. Ils sont immobiles, non sporulés et ont généralement des capsules qu'ils perdent après culture (Figure II-9, Figure II-10) [10].

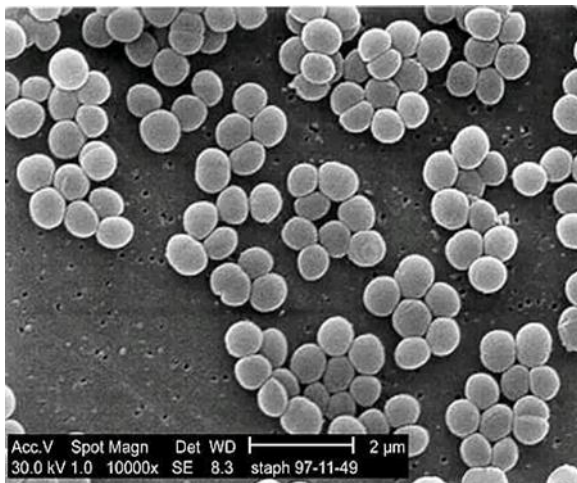


Figure II-9 : *Staphylococcus Aureus* sous microscope électronique a G X 10000.



Figure II-10 : *Staphylococcus aureus* sur milieu solide .

II.7.3. *Entérocoques faecalis*

Le premier à identifier les entérocoques en (1899), également le premier à utiliser le terme diplocoques, viennent Andrews et Horder, qui l'on décrit en 1906 sous le nom de *Streptococcus*

faecalis, pour désigner des bactéries potentiellement pathogènes des patients souffrant d'endocardites et des bactéries ayant la capacité de former des courtes chaînes. Ils sont largement répartis entre le tube digestif de l'Homme, les autres mammifères, les oiseaux, les plantes, le sol et l'eau [11]. Les Entérocoques ont une taille comprise entre 0,6 et 2 μm , ils sont généralement immobiles, rarement capsulés et non sporulés (Figure II-11, Figure II-12)[12].

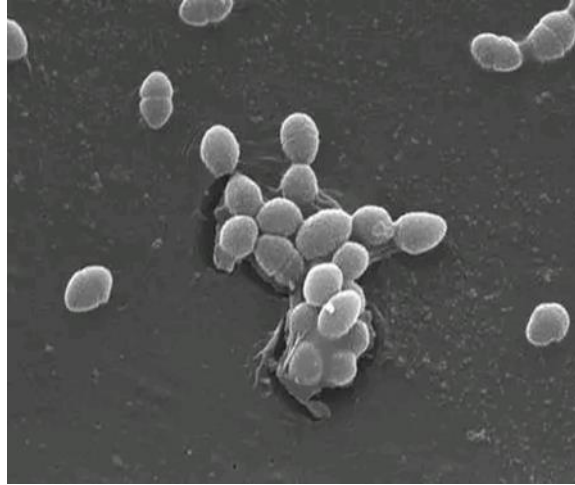


Figure II-11 : *Entérocoques faecalis* par microscope électronique à balayage (x4000).



Figure II-12 : *Entérocoques faecalis* sur milieu solide

II.7.4. Culture des bactéries

Dans des conditions d'asepsies, on coule la gélose nutritive dans des boîtes de Pétri. Ensuite, on ensemence la bactérie choisie sur milieu GN. L'incubation des boîtes est effectuée pendant 24 heures à 37°C.

La préparation des suspensions bactériennes consiste à prendre la crème de chaque bactérie et la suspendre dans l'eau physiologique stérile dans les tubes à essais tant que l'eau devient bien trouble.

II.7.5. La biodégradation par les bactéries

Le milieu de base minimal contenant du sel (MSM ou N milieu), comporte :

1g de KH₂PO₄ ; 1g de K₂HPO₄ ; 1g de NH₄Cl ; 0.2g de MgSO₄ ; 0.02g de CaCl₂ et 0.004g de FeCl₃. Tous les ingrédients ont été dissous dans 1 L d'eau distillée et ajustés à un pH de 7,2 avec 1,0 M de NaOH..

La solution a été utilisée pour l'enrichissement et la culture de bactéries dégradant le 2-MBT [13].

De ce fait, 2 concentrations ont été utilisées pour chaque bactérie :

- 5mg/L : en prépare 50 ml du milieu de base minimal +50 ml de MBT.
- 2.5mg/L : en prépare 75ml du milieu de base minimal +25 ml de MBT.

Ensuite, 100 microlitres ont été pris avec la micropipette de la suspension bactérienne et la mettre dans 100 ml du milieu de fermentation final avec MBT (le volume final souhaité va être 100ml dans une erlenmeyer de 250 ml).

II.8. Biodégradation par les Champignons

II.8.1. *L'Aspergillus niger*

L'Aspergillus niger est un champignon ascomycète filamenteux qui se développe souvent en moisissure sur des aliments ou dans des environnements humides. Il est le champignon le plus commun qui cause la détérioration des aliments et la biodégradation des autres matériaux [14].

Il possède alors des têtes conidiennes larges, brun rouge très sombre à noir, tout d'abord sphériques et secondairement radiées. Elles sont portées par de longs conidiophores (1,5 à 3 mm de long) qui présentent une paroi épaisse, lisse et incolore. La vésicule est globuleuse, brune, et de grande taille (40 à 70 µm de diamètre). Les phialides très serrées, sont insérées sur la vésicule par l'intermédiaire de métules disposées sur tout le pourtour de la vésicule. Les métules et les phialides sont légèrement teintées de brun [15].

Les colonies sont à croissance rapide sur tous les milieux de culture classiques (géloses au malt et Sabouraud). La température optimale de croissance varie généralement entre 25 et 30°C, mais *l'Aspergillus niger* peut se développer jusqu'à 42°C. les colonies d'*Aspergillus niger* sont granuleuses blanches au début, puis jaunâtres et à maturité elles deviennent noires (Figure II-13) [16].

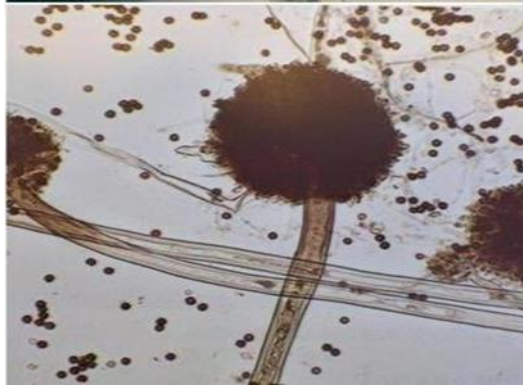


Figure II-13 : Apparence microscopique d'*Aspergillus Niger*.

II.8.2. Ensemencement de champignon

L'ensemencement a été réalisée sur boîte de Pétri contenant de milieu Sabouraud. La boîte de Pétri ensuite été incubée à 30°C dans un incubateur pendant 4-6 jours pour une sporulation maximale et des colonies (Figure II-14) [17].

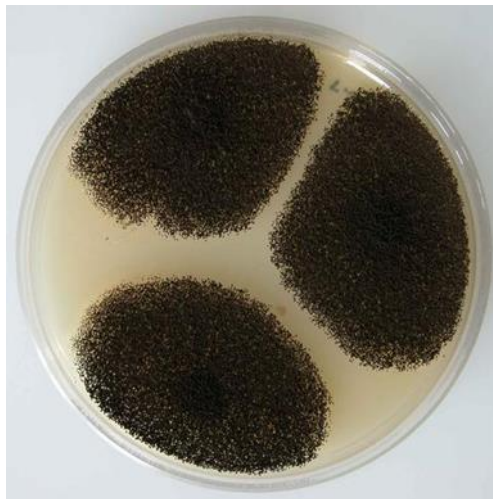


Figure II-14 : Colonies noires d'*Aspergillus niger* sur milieu Sabouraud après 7 jours d'incubation.

II.8.3. Le milieu nutritif de champignon

Il comporte ; 1g de KH_2PO_4 , ; 1g de K_2HPO_4 ; 4mg de FeCl_3 et 40mg de MgSO_4 tous les ingrédients ont été dissous dans 1 L d'eau distillée .

Dans des erlenmeyer de 250 ml on va mettre 75 ml du milieu nutritif avec 25 ml de solution initiale de MBT (donc la concentration finale est 2.5mg/l). L'incubation est réalisée à 30C pendant 24 jours, la biomasse a été quantifiée après avoir filtré les échantillons sur papier Wattman. Ce dernier a été séché à 105C pendant 24h, puis pesé dans une balance.



Figure II-15 : fermentation de *l'Aspergillus niger*.

II.9. Dosage de MBT par spectroscopie UV visible

Nous avons suivi la biodégradation du MBT, en effectuant régulièrement des prélèvements qui sont d'abord filtrés par des filtres à seringues (Figure II-16), puis mesurées l'absorbance par une spectroscopie UV visible dans une cuve du quartz. Et nous avons déterminé la concentration de MBT par l'utilisation de loi de Beer Lambert.



Figure II-16 : Filtre a seringue (0.45µm)

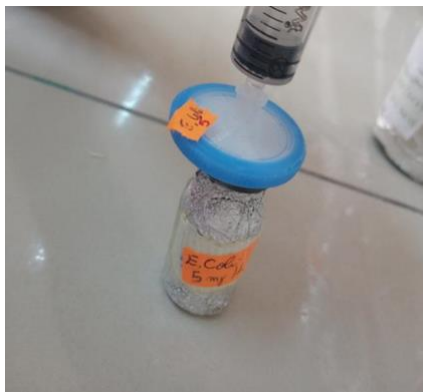


Figure II-17 : Filtration des échantillons par un filtre à seringue .

Liste du références bibliographiques

- [1] Khennaoui, Badis, and Abderrahmane Malouki Moulay. Elimination de deux polluants organiques par photo-induction en phase homogène et hétérogène et par adsorption sur des supports inorganiques locaux. Diss. Université Frères Mentouri-Constantine 1, 2018.
- [2] BAKHOUCHE, Mohamed. Techniques spectroscopique d'analyse : Spectroscopies IR, UV-Vis et spectrométrie de Masse.
- [3] Nouhi, Ayoub. Caractérisation Spectrale et Temporelle par Quenching de Fluorescence des Interactions Matière Organique-Eléments Métalliques. Diss. Toulon, 2017.
- [4] Picard, Jonathan, and Clément Doré. "Discussions sur les limites de la loi de Beer-Lambert". (2022).
- [5] S. Martin, E. Duncan, in *Implantable Sensor Systems for Medical Applications*, 2013.
- [6] Pr, Examineur Pascal WONG-WAH-CHUNG. Elimination de polluants organiques par voies physico-chimique et photochimiques : Cas du méthabenzothiazuron et de 2-mercaptobenzothiazole. Diss. Université Aix-Marseille, France, 2014.
- [7] Mainil, Jacques. "Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'Escherichia coli: I) les adhésines et facteurs de colonisation." *Ann Med Vet* 147.2 (2003): 105-26.
- [8] Avril J.L., Denis F., Dabernat H., Monteil H. (2000). *Bactériologie clinique*. 2ème édition Marketing, Paris. Pages 148-280.
- [9] Licitra G. Etymologia: Staphylococcus. *Emerg Infect Dis.* sept 2013;19(9):1553.
- [10] Fasquelle R. *Eléments de bactériologie médicale*. 9ème édition. Flammarion, Paris; 66 Bakary N'tji Diallo. Faculté de Pharmacie. Bamako Mali
- [11] Klein G, (2003). Taxonomy, Ecology and Antibiotic Resistance of Enterococci from Food and The Gastro-Intestinal Tract. *International Journal of Food Microbiology*, 88, 123-131.
- [12] Portenier I, Waltimo T.M.T, Haapasalo M, (2003). Enterococcus Faecalis– The Root Canal Survivor And ‘Star’ In Post- Treatment Disease. *Endodontic Topics* (6), 135–159.
- [13] Haroune, N., B. Combourieu, et al. « Metabolism of 2-mercaptobenzothiazole by Rhodococcus rhodochrous. » *Applied and environmental microbiology* 70(10) : 6315-6319. 2004.
- [14] Abarca M.L., Accensi F., Cano J. & Cabanes F.J. 2004. Taxonomy and significance of

black aspergilli. Antonie Van Leeuwenhoek 86, 33–49.

[15]Dijksterhuis, J., Wosten, H., (2013). Développement of *Aspergillus niger*. Studies in mycology, CBS-KNAW Fungal Biodiversity centre, Utrecht, the Netherlands an institute of the Royal Netherlands Academy of arts and sciences. 68p.

[16]Bensmail S.(2012). Optimisation de la production de la protéase acide par *Aspergillus niger* sur milieu solide : purification et caractérisation. Thèse de magistère. Université M'hamed Bougara de Boumerdès. 41-46 p.

[17]TOUATI R. (2016). Isolement et Identification des Moisissures d'une Zone Aride. Thèse de Master. Université des Frères Mentouri Constantine. 12-14 p.

CHAPITRE III:

Résultats et discussion

III.1.1. La biodégradation de MBT

III.1.1.1. Biodégradation de MBT par bactéries

Les figures 13, 14 et 15 montrent les pourcentages résiduels du MBT pour les trois souches ; *E. coli*, *E. faecalis* et *S. aureus*, respectivement.

D'après les résultats obtenus (**Figure III-1**) on remarque qu'il y a une diminution du pourcentage résiduel de MBT tout au long de la durée de la biodégradation pour les deux concentrations (5mg/l et 2.5mg/l). Avec la différenciation de pourcentages résiduels ; où pour la concentration initiale 5mg/l est de l'ordre de 27% et jusqu'à 17% pour la concentration initiale 2.5mg/l.

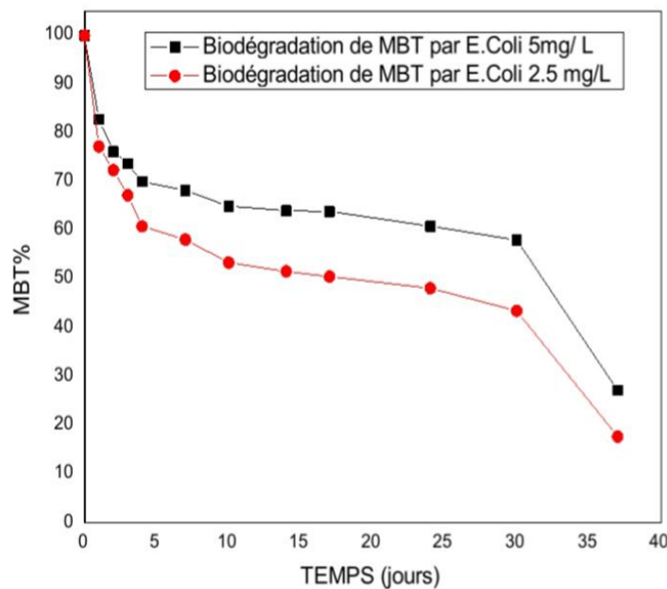


Figure III-1 : Pourcentage résiduel de biodégradation du MBT de *E. coli* dans différentes concentrations (5mg/l et 2.5mg/l).

La figure (**figure III-2**) montre que le pourcentage d'élimination est de 44% pour la concentration initiale 5mg/l et jusqu'à 28% pour la concentration initiale 2.5mg, avec une diminution du pourcentage résiduel de MBT tout au long de la durée de biodégradation pour les deux concentrations.

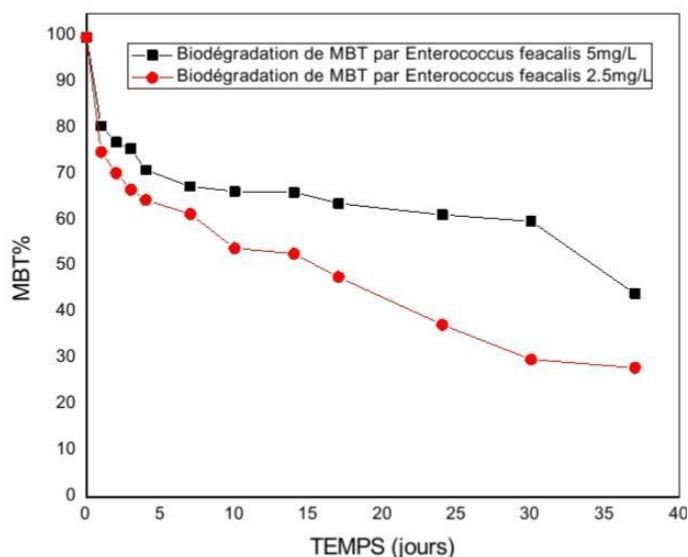


Figure III-2 : Pourcentage résiduel de biodégradation du MBT de *E. feacalis* dans différentes concentrations (5mg/l et 2.5mg/l).

D'après la figure (Figure III-3) on observe que, le pourcentage de dégradation de MBT est diminué jusqu'à 30% pour la concentration initiale 5mg/l et jusqu'à 20% pour la concentration initiale 2.5mg

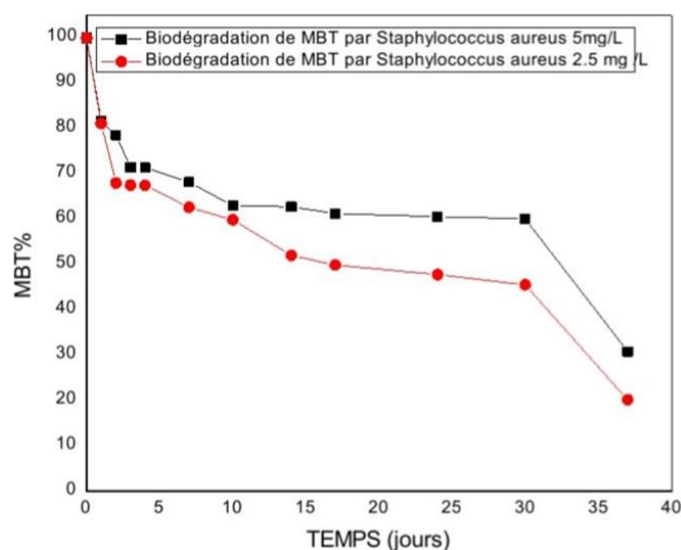


Figure III-3 : Pourcentage résiduel de biodégradation du MBT de *S. Aureus* dans différentes concentrations (5mg/l et 2.5mg/l).

Les différentes courbes des figures (III- 1 ,2 et 3) montrent pour l'ensemble des souches étudiées, une allure décroissante du pourcentage résiduel du MBT tout au long de la durée d'essai ce qui reflète la consommation du substrat. Il est à constater que le pourcentage de dégradation du MBT diffère d'une souche à l'autre, et d'une concentration à l'autre (Figure III-5) .

III.1.1.2. Biodégradation de MBT par les champignons

La figure (Figure III-4) montre les pourcentages résiduels du MBT pour *l'Aspergillus niger*.

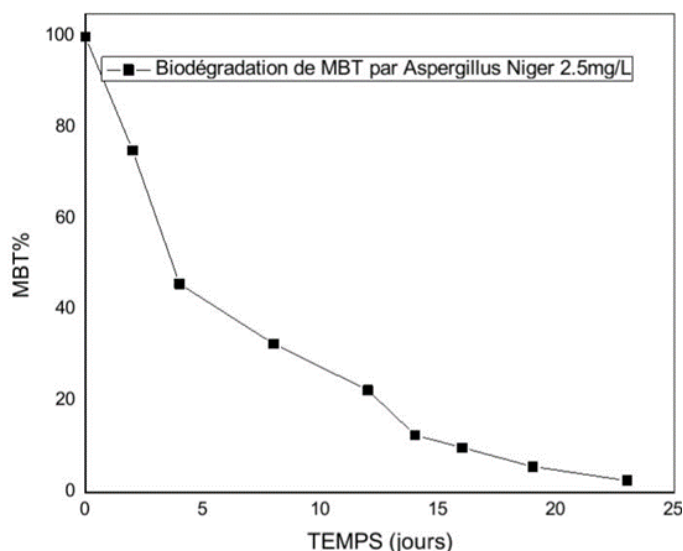


Figure III-4 : Pourcentage résiduel de biodégradation du MBT de *Aspergillus Niger* dans la concentration initiale (2.5mg/l).

D'après les résultats obtenus dans la figure (III-4), on remarque que le pourcentage résiduel de dégradation du MBT est décroissante au cours de temps, a cause de la consommation du substrat jusqu'à l'élimination totale (4%).

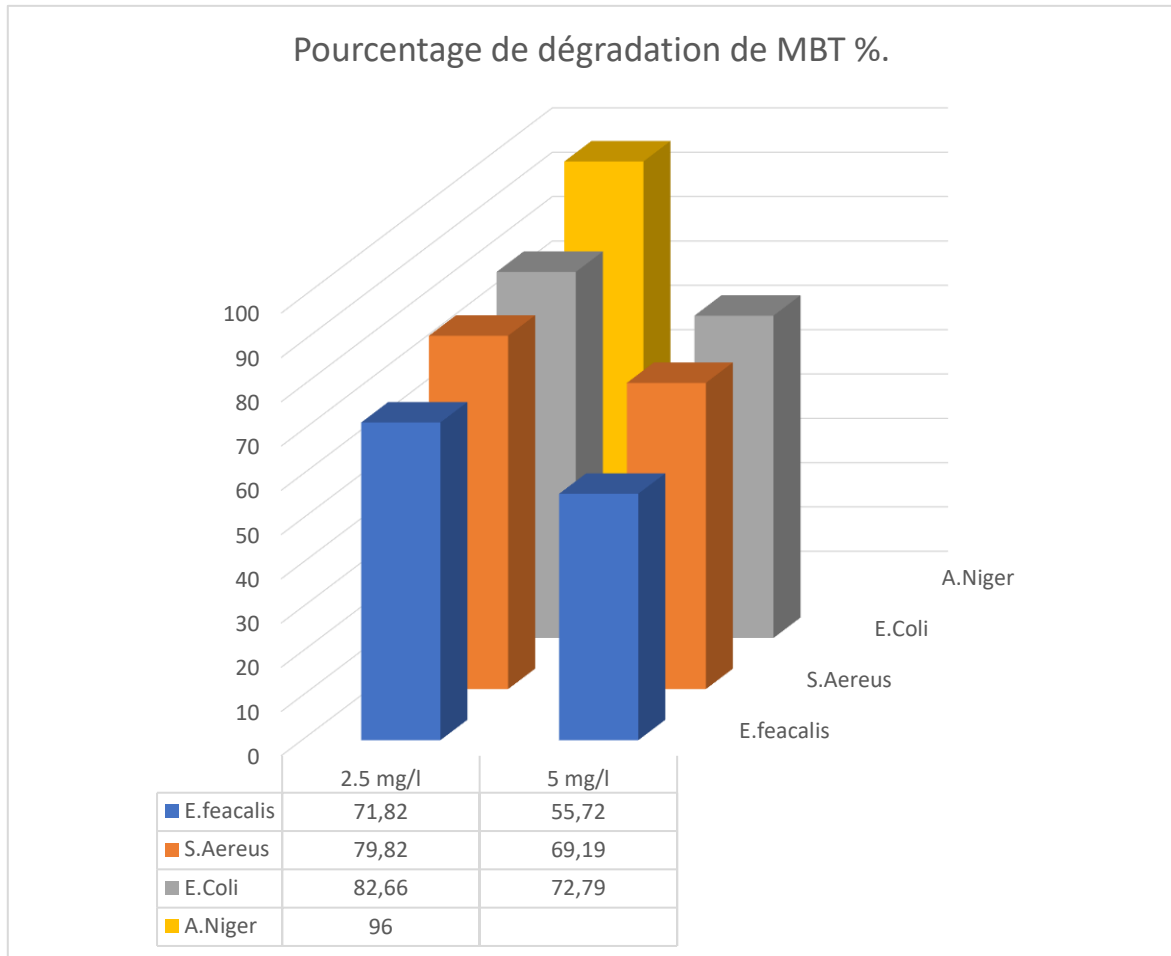


Figure III-5 : Pourcentage de biodégradation du MBT pour les trois souches bactériennes et *Aspergillus neiger*, dans les deux concentrations (5mg/l et 2.5mg/l).

D'après les résultats (Figure III-5) obtenus on remarque que :

1-Pour les trois souches bactériennes on remarque que, le pourcentage de dégradation du MBT de la concentration initiale 2.5mg/l est plus grande par rapport au pourcentage de dégradation du MBT de la concentration initiale 5mg/l.

- *E. Coli* : l'expérience qui utilise la souche *Escherichia coli* comme bactérie testée présente le plus grand pourcentage de dégradation du MBT pour les deux concentrations utilisées.
- *S. aureus* : la souche *Staphylocoque aureus* présente un bon pourcentage de dégradation du MBT pour les deux concentrations utilisées.

- *E. faecalis* l'expérience qui utilise la souche *Enterococcus faecalis* comme souche bactérienne présente le plus faible pourcentage de dégradation du MBT pour les deux concentrations utilisées.

D'après nos résultats, bien que les trois souches soient capables de dégrader le MBT, leurs efficacités sont différentes. Plusieurs auteurs ont testé des souches dans la biodégradation du MBT, parmi eux on trouve une étude menée par Zhou et al. (2009), qui ont mis en évidence la capacité de la souche bactérienne *Pseudomonas putida* X4 à dégrader le MBT [1]. Les résultats ont montré par une étude menée par Yao et al. (2015) pour évaluer l'efficacité de la biodégradation du MBT par une souche bactérienne de *Pseudomonas* sp. Cette étude a montré que la souche bactérienne était capable de dégrader jusqu'à 84,5 % du MBT en 14 jours de culture [2].

Les résultats montrent aussi une différence dans l'efficacité de dégradation du MBT par les trois souches, cette différence peut être due à l'espèce bactérienne et/ou à la concentration initiale du MBT.

2-Pour le champignon on remarque que, l'expérience qui utilise *Aspergillus niger* présente un pourcentage de dégradation du MBT très importants, de l'ordre de plus de (96%).

Ce même résultat est trouvé par plusieurs auteurs parmi eux on trouve :

-L'étude de Zhou et al. (2017) : cette étude a évalué la biodégradation du MBT par un champignon filamenteux *Aspergillus fumigatus*. Les résultats ont indiqué que le champignon était capable de décomposer efficacement le MBT en composants plus simples, avec des taux de dégradation allant jusqu'à 88 % [3].

-De plus, L'étude de Wu et al. (2020) : cette étude a examiné la capacité de trois espèces de champignons (*Trametes versicolor*, *Phanerochaete chrysosporium* et *Pleurotus ostreatus*) à dégrader le MBT. Les résultats ont montré que les trois espèces de champignons étaient efficaces dans la dégradation du MBT, avec des taux de dégradation allant jusqu'à (92 %) [4].

III.1.2. L'évolution de biomasses

III.1.2.1. La biomasse bactérienne

Concernant la croissance bactérienne, on trouve les résultats ci-dessous. D'après les résultats (Figure III-6 ,7et 8) obtenus on remarque que :

Il y a une augmentation de croissances bactériennes tout au long de la durée de biodégradation due à la consommation du substrat organique (MBT) .

Toutefois, les cinétiques de croissance diffèrent d'une souche à une autre, et varient par rapport à la concentration initiale du MBT.

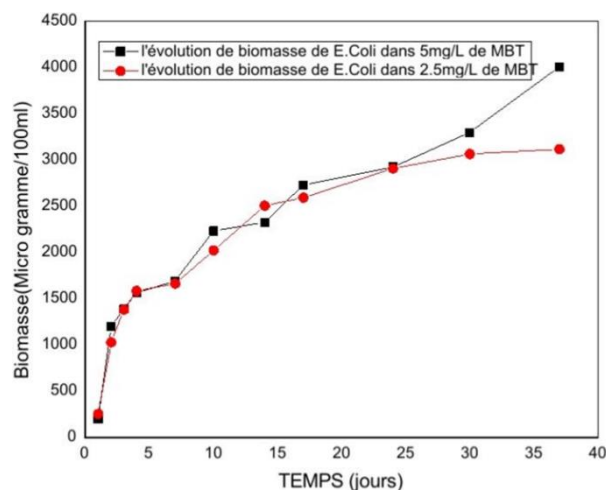


Figure III-6 : Évolution de la croissance bactérienne de E. Coli dans différentes concentrations (5mg/l et 2.5mg/l).

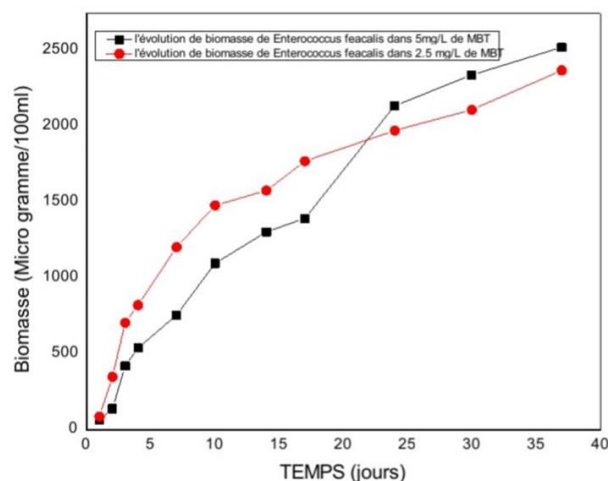


Figure III-7 : Évolution de la croissance bactérienne d'E. Feacalis dans les différentes concentrations (5mg/l et 2.5mg/l).

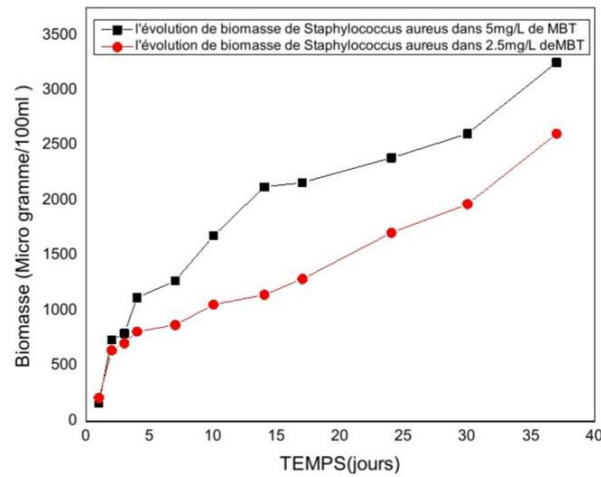


Figure III-8 : Évolution de croissance bactérienne de *S. Aureus* dans les différentes concentrations (5mg/l et 2.5mg/l).

La biomasse de *E. coli* est la plus grande par rapport au *S. aureus*. Tandis que, la biomasse de *E. faecalis* est la plus faible par rapport aux autres souches et pour les deux concentrations. Ainsi, les résultats montrent très clairement que la production de biomasse bactériennes dans la concentration 2.5 mg/l est faible que la concentration 5mg/l (Figure III-9).

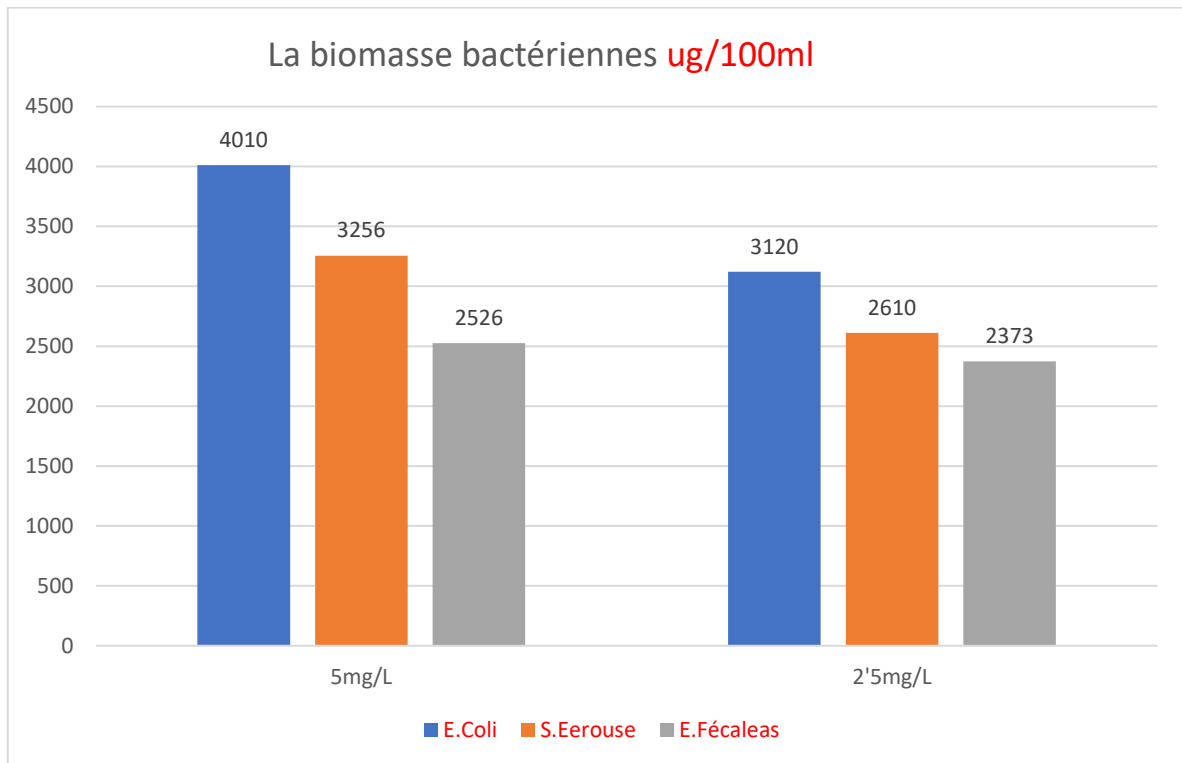


Figure III-9 : Biomasse microbienne finale des trois souches bactériennes dans les deux concentrations (ug/100ml).

Ce même résultat est trouvé par plusieurs auteurs parmi eux on trouve :

Dans une étude antérieure, Badea et al. (2008) ont étudié la biodégradation du MBT en utilisant des bactéries isolées à partir de sols contaminés par des hydrocarbures. Les résultats ont montré que les bactéries étaient capables de dégrader efficacement le MBT en utilisant une voie métabolique impliquant l'utilisation de la peroxydase [5] .

Une étude récente menée par Aitkenhead-Peterson et al. (2020) a étudié l'efficacité de la dégradation du MBT par des bactéries isolées à partir de sols contaminés par des huiles usées. Les résultats ont montré que les bactéries étaient capables de dégrader le MBT en utilisant une voie métabolique impliquant l'utilisation de la peroxydase [6].

III.1.2.2. Evolution de biomasse d' *Aspergillus niger*

La figure (III-10) montre l'évaluation du biomasse de *Aspergillus niger* dans la concentration initiale (2.5mg/l). on observe qu'il y a une augmentation très importante de croissances d'*Aspergillus niger* tout au long de la durée de biodégradation due à la consommation du substrat organique (MBT) .

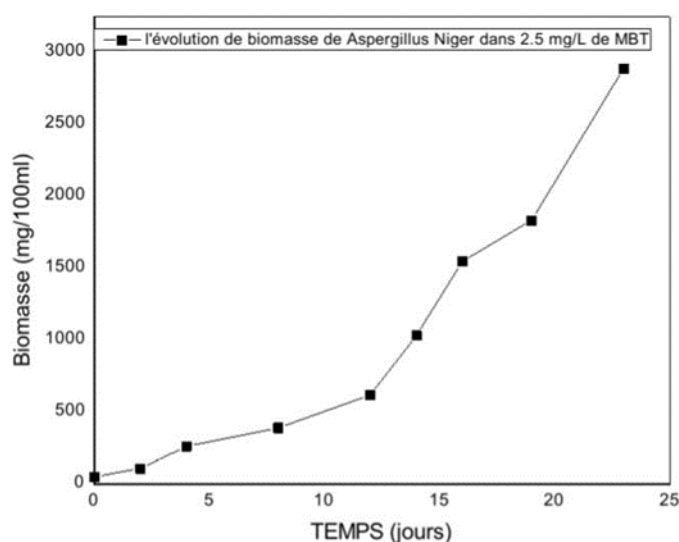


Figure III-10 : Évaluation du biomasse microbienne du champignon *Aspergillus niger* (mg/100ml).

Ces résultats sont confirmés par les travaux de Li et al. (2017) : cette étude a exploré la dégradation du MBT par le champignon blanc *Pleurotus ostreatus*. Les résultats ont indiqué que le MBT pouvait être dégradé efficacement par le champignon, qui a été capable de décomposer le MBT en composés plus simples et utilisée pour leur croissance [7]. Aussi l'étude de Cassir et al. (2012) : des champignons lignolytiques ont été utilisés pour la biodégradation du MBT [8], et Li

et al. (2015) : a examiné la capacité de deux types de champignons (*Phanerochaete chrysosporium* et *Trametes versicolor*) à dégrader le MBT. Les résultats ont montré que les deux espèces de champignons étaient capables de décomposer le MBT en ses composants de base [9].

Liste du références bibliographiques

- [1] Zhou, H., Wang, Y., Yang, L., Huang, X., & Li, Q. (2009). Isolation and characterization of a benzothiazole-degrading bacterium from a contaminated soil. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 15(1), 85-88.
- [2] Yao, H., Zhu, Y., Wang, S., Cao, Y., & Chen, Z. (2015). Biodegradation of benzothiazole by a bacterial strain, *Pseudomonas* sp. *Journal of Environmental Sciences*, 33, 22-28.
- [3] Zhou, J., Lu, D., Sun, J., & Hon, L. S. (2017). Biodegradation of methylbenzothiazole by *Aspergillus fumigatus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(7), 2999-3009.
- [4]Wu, X., Yang, X., Li, J., Zhao, P., Ding, C., & Li, Q. (2020). Biodegradation of 2-methylbenzothiazole by three fungal species. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(7), 6830-6840.
- [5] Badea, S. L., Socaciu, C., & Badea, N. (2008). Biodegradation of 2-mercaptobenzothiazole by bacteria isolated from hydrocarbon-contaminated soils. *Chemosphere*, 71(1), 107-114.
- [6]Aitkenhead-Peterson, J. A., McDowell, A. C., Sharp, J. O., & Grunden, A. M. (2020). Isolation and characterization of microorganisms capable of 2-mercaptobenzothiazole degradation. *Environmental Pollution*, 259, 113898.
- [7] Li, X., Sun, H., Chen, J., Song, L., & Wu, J. (2017). Biodegradation of methyl benzoate by *Pleurotus ostreatus* and its transcriptional response. *Chemosphere*, 173, 452-458.
- [8]Cassir, M., Hamzi, R., Belkhou, R., Minaoui, H., Bouhria, M., & Hamdi, M. (2012). Fungal ligninolytic activity for the biodegradation of methylparaben, butylparaben, and triclosan in aqueous medium. *Journal of Basic Microbiology*, 52(6), 661-669.
- [9]- Li, Z., Ding, C., Xia, X., Li, B., & Xi, B.(2015). Biodegradation of 2-Mercaptobenzothiazole by *Phanerochaete chrysosporium* and *Trametes versicolor*. *Water, Air, & Soil Pollution*, 226(6),(2015). Biodegradation of 3-methyl-1,2,4-benzotriazine-1,4-dioxide by two white-rot fungi (*Phanerochaete chrysosporium* and *Trametes versicolor*). *Journal of HazardousMaterials*, 283, 419-426.

Conclusion générale

Conclusion générale

Le traitement des eaux fait partie des principales occupations de nombreux états, d'une part pour la potabilisation de l'eau et d'autre part pour la décontamination et la désinfection des effluents industriels et urbains chargés en polluants chimiques. Ces polluants issus de différentes industries, chimiques, pharmaceutiques, cosmétiques, pétrolières, agroalimentaires, etc, sont à l'origine de nombreuses perturbations de la faune aquatique et constituent un risque pour la santé humaine. Certains de ces polluants sont stables et par conséquent difficiles à se dégrader.

Notre étude consistait à utilisation des micro-organismes pour faire l'élimination et la biodégradation de polluant organique MBT. Les résultats obtenus de notre travail sont :

- Les trois souches bactériennes sont capables de dégrader le MBT.
- La souche *E. coli* est la souche la plus active et donc la plus efficace dans la biodégradation de MBT.
- Les concentrations initiales joue une facteur très importante sur la durée de biodégradation et à la croissance bactériennes.
- *L'Aspergillus niger* est très efficace dans l'élimination du MBT est très rapide par rapport les souches bactériennes.
- La durée de dégradation du MBT dépend très fortement de l'espèce microbienne.

Ce qu'on peut conclure de ces résultats que les espèces microbiennes ne se développent pas toutes dans les mêmes conditions, il y a une grande diversité métabolique. Chaque espèce, voir chaque souche microbienne, a ses propres tolérances pour chaque paramètre environnemental spécifique en fonction de ses capacités physiologiques et génétiques.

Perspectives :

Dans les perspectives, afin de compléter et d'enrichir cette étude, il serait intéressant :

- L'identification des molécules produisent au cours de la biodégradation et leurs toxicité et la détermination des réactions métabolique au cours de la biodégradation
- D'utiliser d'autres méthodes d'analyse qui permettent de suivre l'évolution de polluant le long du traitement.
- L'utilisation des autres micro-organismes, avec d'autres méthodes de traitement de l'eau.

ملخص

كان الهدف من هذه الدراسة هو تقييم كفاءة التحلل الحيوي للتخلص من الملوث العضوي (2) ميركالتوبنزيثازول (الموجودة في الماء وتحديد العوامل التي تؤثر على هذه العملية).

في عملنا قمنا باستعمال كائنات دقيقة لمحاكاة التحلل الحيوي ل MBT في الأوساط المائية ،تم استخدام 3 سلالات بكتيرية

(*E.coli*) ، *S.aureus* و *E.feacalis* ونوع واحد من الفطريات (*Aspergillus niger*)

أظهرت النتائج قدرة هذه الكائنات على تحليل ال MBT بكفاءة متفاوتة. حيث كان الفطر الأكثر فاعلية في إزالة التلوث

(96%) خلال 24 يوما. بالنسبة للسلالات البكتيرية ،تمت متابعة التجربة لمدة 37 يوما وكان أداء الايشيريشية القولونية الأفضل

في تحليل MBT مقارنة بالسلالات الأخرى .كما أوضحت الدراسة أن التحلل الحيوي مرتبط بعدة عوامل مثل نوع الملوث

وتركيته ونوع الكائن الدقيق وقدرته على التكيف مع الظروف المحيطة.

الكلمات المفتاحية : التحلل البيولوجي ، السلالات البكتيرية ،-2 ميركالتوبنزيثازول , *A. niger*

Abstract

The objective of this study was to evaluate the efficiency of biodegradation for the elimination of an organic pollutant (2-mercaptobenzothiazole) present in water, and to determine the factors affecting this process.

In our work, using microorganisms to simulate the biodegradation of MBT in the aquatic environment, 3 bacterial strains (*E. coli*, *S. aureus* and *E. feacalis*.) and one type of fungus (*Aspergillus niger*) were used.

The results showed the ability of these microorganisms to degrade MPT with varying efficiency, where the fungus was most effective at pollutant removal (96%) over a 24-day period. For bacterial strains, the experiment was followed for 37 days, and *E. coli* performed best in MBT exclusion compared to other strains. The study also showed that biodegradation is linked to several factors such as the concentration of the pollutant, its type, the type of microorganism and its ability to adapt to the surrounding conditions.

Key words: Biodegradation, Bacterial strains, *A. niger*, 2-Mercaptobenzothiazole,

Résumé

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'efficacité de la biodégradation pour l'élimination d'un polluant organique (2-mercaptobenzothiazole) présent dans l'eau, et de déterminer les facteurs affectant ce processus.

Dans notre travail , en utilisant des micro-organismes pour simuler la biodégradation du MBT en milieu aquatique, trois souches bactériennes (*E. coli*, *S. aureus* et *E. feacalis*.) et un type de champignon (*Aspergillus niger*) ont été utilisés.

Les résultats ont montré la capacité de ces micro-organismes à dégrader le MBT avec une efficacité variable, où le champignon était le plus efficace pour l'élimination de polluant (96%) sur une période de 24 jours. Pour les souches bactériennes, l'expérience a été suivie pendant 37 jours, et *E. coli* a obtenu les meilleurs résultats en matière d'exclusion du MBT par rapport aux autres souches. L'étude a également montré que la biodégradation est liée à plusieurs facteurs tels que la concentration du polluant, le type de micro-organisme et sa capacité à s'adapter aux conditions environnantes.

Mots clés : Biodégradation, Souches bactériennes, *A. niger*, 2-Mercaptobenzothiazole.