

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A.MIRA-BEJAIA



Faculté de Technologie
Département de Génie des Procédés

En vue de l'obtention du diplôme de

Master

En Génie Des Procédés

Option :

Génie Chimique

Thème

**Elimination de polluants d'origine pharmaceutique par procédés
biologiques combinés au procédé sol-gel**

Présenté par

DEGUI Leila

MEGDOUD Naouel

Soutenue le : 06/07/2019

Devant les membres de jury

M^{me} IDRES Imadalou. N

MCB, U.A.M. Béjaïa

présidente

M^{me} HAMAIIDI Maouche.N

MCB, U.A.M. Béjaïa

Examinatrice

Mme BOUROUINA.S

professeur, U.A.M. Béjaïa

promotrice

Mme BOUCHENE.H

Doctorante, U.A.M. Béjaïa

Co-promotrice

Année Universitaire : 2018/2019

Remerciements

Avons tous, nous remercions Dieu qui nous a donné la force et la patience pour accomplir ce travail.

Tout d'abord, nous adressons nos respectueux remerciements à tous les membres du jury qui ont fait l'honneur de participer à l'évaluation de notre travail. Nous sommes certaines de pouvoir compter sur leurs vastes connaissances et leur esprit critique constructif pour nous aider, par leurs commentaires et leurs discussions, à mieux comprendre certains problèmes rencontrés au cours de ce travail de recherche. Qu'il soit plus particulièrement permis de dire toute nos reconnaissances à ceux qui se sont déplacés, parfois de loin, pour participer à ce jury.

Nous tenons à remercier Madame S. Bourouina et madame H. Bouchene d'avoir accepté la charge de ce mémoire, pour leurs conseils qui ont été décisifs pour l'orientation de mon travail.

Comme nous tenons à remercier aussi toute l'équipe du laboratoire de génie de l'environnement du département de génie des procédés de la faculté de Technologie et laboratoire de la microbiologie appliqué de l'université A. Mira de Bejaia pour l'intérêt qu'ils ont manifesté à notre rencontre et leur aide.

Nous tenons à remercier vivement toute personne ayant contribué à la réalisation de ce mémoire. Ce travail n'aurait jamais pu se réaliser sans le soutien continu de nos familles.

Leila et Naouel

DÉDICACES

Je dédie ce mémoire à:

Mon cher papa « Youcef » et ma chère maman « Chabha »; qui sont sacrifié leurs vie pour ma réussite et ils m'ont éclairé le chemin par leurs conseils judicieux. Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux pour leur patience illimitée, leur encouragement, leur aide, tous les sacrifices et leur présence dans ma vie.

A mon cher mari « Amir »; Tes prières m'ont toujours accompagné, et ta présence ma donnée le courage de continué mes études et de réussir. Nulle dédicace ne pourrait exprimer mes sentiments et mon profond attachement.

Mon frère 'Anis Hichem'

Mes sœurs 'Yasmine' 'Soumia' 'Bouchra'

Mon oncle 'Farid'

Mes grands-parents 'Arezki, Tassaadit, Zhour' et à la mémoire de mon grand-père 'Ahmed'

Mes familles 'DEGUI Et DAHLAL'

Ma belle-famille 'AYOUB'

Mes chères amies : Salima, Sonia, Nadia, Zina, Sarah,

Lynda, Hamida, Dihya

Mon ami Mechrouk Mohammed lamine

Ma camarade Naouel et sa famille.

Et à tous ceux que j'aime.

Leila

DÉDICACES

Je dédie ce modeste travail en signe de respect :

A mon cher papa 'Seid' et à ma chère maman 'Nadia', avec toute ma reconnaissance et ma gratitude pour leurs interminables conseils, soutien et sacrifices. Je prie le bon Dieu de les protéger.

A mon cher frère 'Karim' que Dieu le protège.

A ma chère sœur 'Katia' et son mari 'Akli' et toute sa famille avec tous mes vœux de les voir réussir dans leur vie.

A mes chères cousines et mes chers cousins.

Toute ma famille paternelle et maternelle.

À celle qui me partagera le travail 'Leila' et sa famille.

A tous mes amies Fatima, Nadia, Linda, Kahina, Lila, Hakima, Sonia, Hamida, Dyhia, Salima, Chafia, Sarah, Massi, Mr Bil.

A mes collègues de promotion.

A tous mes copines de chambre Mélissa, Silina, Doudou, Zahra.

Naouel

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES ABREVIATIONS

SYMBOLES LATINS

Abs : Absorbance.

C₀ : Concentration initiale (mol/L).

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

g : gramme.

h: heures.

k₀ : la constante de vitesse de la réaction (mol/L.s).

k₁: constante de vitesse de 1er ordre (1/s).

k₂ : la constante de vitesse de 2^{ème} ordre (L/ mol .s).

K_s : la constante de saturation du substrat consommation (mg/L).

L : litre.

M : molaire.

mL : millilitre.

min : minutes.

ng : nano gramme.

Tr/min : Tours/minutes.

SYMBOLES GRECS

λ: temps de latence (h).

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

μ : taux de croissance spécifique.

μ_{max} : taux de croissance maximale

ABRÉVIATIONS

AC : Acébulolol.

LISTE DES ABREVIATIONS

AG : avec glucose

AMX: Amoxicilline.

DO : densité optique.

DRX : La diffraction des Rayons X.

FTIR : Spectroscopie Infra-Rouge à Transformée de Fourier.

PPSP : Les produits pharmaceutiques et les produits de soins personnels.

SG : Sans glucose.

SMT : Sulfaméthazine.

TC : Tétracycline.

TEOS: Tétraéthyl-orthosilane.

TP : tampon phosphate

UV-Vis : Spectroscopie Ultraviolet-Visible.

LISTE DES FIGURES

Figure II.1 : Les antibiotiques	12
Figure II.2 : Sulfamethazine en poudre et sa structure chimique	13
Figure II.3: Amoxicilline en poudre et sa structure chimique.....	13
Figure II.4 : L'acébutolol et sa structure chimique	14
Figure II.5 : La tétracycline et sa structure chimique.....	14
Figure II.6: Structure de la molécule de phénol	15
Figure III.1 : Evolutions théoriques du taux de croissance de micro-organismes en fonction de la concentration. Simulations données par les modèles de Monod et de Haldane.....	23
Figure IV.1: photographie du petit matériel utilisé	28
Figure IV.2: photographie du Spectrophotomètre UV visible (à gauche) et Infrarouge (à droite)	32
Figure IV.3: photographie du l'appareil DRX.	33
Figure V. 1. Courbes de croissance des bactéries en présence des différents substrats et du glucose.....	37
Figure V.2. Courbes de croissance des bactéries en présence de l'amoxicilline et du glucose (AG) et en absence du glucose (SG)	38
Figure V.3. Courbes de croissance des bactéries dans le milieu de culture contenant l'acébutolol et le glucose (AG) et l'acébutolol uniquement (SG).....	38
Figure V.4. Courbes de croissance des bactéries dans le milieu de culture contenant la sulfamethazine et le glucose (AG) et la sulfamethazine uniquement (SG).....	39
Figure V.5. Courbes de croissance des bactéries dans le milieu de culture contenant le phénol et le glucose (AG) et la tétracycline uniquement (SG).....	39
Figure V.6. Courbes de croissance des bactéries dans le milieu de culture contenant le phénol et le glucose(AG) et le phénol uniquement (SG)	40
Figure V.7. Courbes de croissance (à gauche) et évolution des concentrations résiduelles du phénol et de l'acébutolol en fonction de temps (à droite)	41
Figure V.8. Courbes de croissance bactérienne en présence du phénol et de l'amoxicilline et des concentrations résiduelles de ces composés en fonction du temps	42
Figure V.9. Evolutions en fonction du temps de contact de la croissance (à gauche) et des concentrations résiduelles (à droite) dans la solution contenant le phénol et la tétracycline. ..	43
Figure V.10. Courbes de croissances enregistrées pour différentes concentrations initiales de l'acébutolol et du phénol.	44
Figure V.11. Effet de la concentration initiale totale de l'acébutolol et du phénol sur la croissance maximale.....	45
Figure V.12. Evolution de la vitesse de croissance spécifique (μ_{max} en fonction de la concentration du phénol (à gauche) et de l'acébutolol (à droite) Application des modèles de la cinétique microbienne aux données expérimentales.	45

Figure V.13. Effet de la concentration initiale de l'acébutolol et du phénol sur le taux de croissance bactérienne en fonction de Co.	46
Figure V.14: comparaison des rendements de dégradation du phénol dans un milieu de culture avec gel et sans gel et pour deux temps de contact avec les bactéries et pour des concentrations initiales en phénol et en acébutolol variables.....	47
Figure V.15: effet de la concentration totale initiale en phénol et acébutolol sur le rendement de dégradation du phénol avec le gel (AGel) et en sans gel (SGel). Rendements obtenus pour un temps de contact de 143.6 h (à gauche) de 360 h (à droite)	48
Figure V.16 : Diagramme de diffraction des rayons X de gel d'oxyhydroxyde de fer TP	49
Figure V.17 : Spectres IRTF de du gel d'oxyhydroxyde de fer TP (4000- 500cm ⁻¹).	50

LISTE DES Tableaux

Tableau II .1 : Propriétés physico-chimiques de la SMT, AMX, TC, AC	15
Tableau II.2: propriétés physiques du phénol	16
Tableau III.1 : Modèles de cinétique.....	24
Tableau IV.1 : Produits chimiques	30

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale.....	1
I.1. Encapsulation de biomolécules dans des matrices minérales par voie sol gel.....	3
I.2. Encapsulation cellulaire dans des matrices minérales	4
I.3. Le procédé sol-gel.....	5
I.3.1. Principes	5
I.3.2. Du sol au gel.....	6
I.3.3. Des procédés de mise en forme originaux, films et revêtements sol-gel	7
I.3.4. Avantages et inconvénients du procédé sol-gel	7
I.4. Synthèse et caractérisations de la matrice d'oxyhydroxyde de fer (III).....	8
I.5. Synthèse des particules d'oxyhydroxyde de fer (III) et obtention du gel	9
II.1. La pollution par les produits pharmaceutiques	10
II.2. C'est quoi un antibiotique ?.....	11
II.2.1. Les antibiotiques	11
II.2.1.1. La Sulfamethazine	12
II.2.1.2. l'Amoxicilline	13
II.2.1.3. l'Acébutolol.....	13
II.2.1.4. Tétracycline	14
II.3. Le phénol	15
II.3.1. Propriétés physiques et chimiques du phénol	16
II.3.1.1. Propriétés physiques.....	16
II.3.1.2. Propriétés chimiques	16
II.4. Généralités sur la biodégradation	17
II.4.1. Les modèles de biodégradation.....	17
II.4.1.1. Qualitatifs	17
II.4.1.2. Quantitatifs	17
II.5. Partie Microbiologie	18
II.5.1. Quelques définitions	18
II.5.1.1. La conservation	18
II.5.1.2. La préculture.....	18

II.5.1.3. La culture.....	18
II.5.1.4. La courbe de croissance	19
II.5.2. Approche microbiologique	19
II.5.2.1. définition d'un microorganisme	19
II.5.2.2. les différents types de microorganismes	19
II.5.2.3. Facteurs de croissance microbienne	20
III.1. Le modèle de Monod.....	22
III.2. modèle de Haldane	23
III.3. Le modèle de Luong.....	24
III.4. Les modèles provenant de la cinétique chimique.....	25
III.4.1. cinétique d'ordre 0.....	25
III.4.2. Cinétique d'ordre 1	26
III.4.3. Cinétique d'ordre 2	26
IV.1. Matériel utilisé	27
IV.1.1. Petit matériel de laboratoire.....	27
IV.3. Techniques de caractérisation	31
IV.3.1. La spectrophotomètre UV-VIS.....	31
IV.3.2. Spectroscopie Infra-Rouge à Transformée de Fourier (en anglais F.T.I.R).....	31
IV.3.3. La diffraction des Rayons X (DRX).....	32
IV.4. Protocoles expérimentaux	33
IV.4.1. Synthèse du gel d'oxyhydroxyde de fer III.....	33
IV.4.2.1. Culture des microorganismes.....	33
IV.4.2.2. Préparation des solutions contenant les produits à dégrader	34
V.1. Essais préliminaires en présence et en absence du glucose.....	36
V.2. Croissance bactérienne en présence des composés pharmaceutiques et du phénol	41
V.2.1. Essais de dégradation du Phénol et de l'Acébutolol.....	41
V.2.2. Essais de dégradation du phénol et de l'Amoxicilline.....	42
V.2.3 Essais de dégradation du phénol et de la tétracycline.....	43
V.3. Effet de la concentration initiale sur la croissance et le rendement de dégradation	43
V.4. Rendement de dégradation après encapsulation des bactéries	46
V.5 caractérisations de la matrice d'oxyhydroxyde de fer (III)	49
V.5.1 Caractérisation par Diffraction des rayons X	49
V.5.2 Caractérisation par spectroscopie infrarouge.....	49

Conclusion générale	51
Références bibliographiques	
Annexe	

Introduction Générale

L'histoire des sciences pharmaceutiques est une réussite impressionnante. Les produits de l'industrie pharmaceutique sont présents partout dans la vie de tous les jours. Ils sont utilisés en raison de leur activité biologique plus ou moins spécifique. Pendant longtemps, la production de produits chimiques et des produits pharmaceutiques ainsi que leurs utilisations et leurs applications ont provoqué une forte pollution de l'environnement et de graves effets sur la santé [1].

Le problème de la pollution par les produits pharmaceutiques et leur présence dans le milieu aquatique a suscité des préoccupations croissantes au cours des dernières années. De nombreux composés pharmaceutiques ne sont pas complètement éliminés lors du traitement des eaux usées municipales, de sorte qu'ils sont rejetés dans l'environnement avec les effluents traités. Par conséquent, les composés pharmaceutiques se trouvent dans les effluents d'eaux usées, les eaux de surface, les eaux souterraines et même dans les eaux potables [2].

Étant donné que les procédés conventionnels de traitement des eaux usées se sont révélés inefficaces pour la dégradation des produits pharmaceutiques récalcitrants, la mise en œuvre de technologies de bioremédiation avancées, rentables et respectueuses de l'environnement pour réduire au minimum la contamination de l'eau est devenue le centre d'intérêt principal [3].

Plusieurs stratégies avancées de bioremédiation ont été mises à l'essai au cours des dernières années. Parmi celles-ci, la bioaugmentation (ajout de cultures de départ) et la biostimulation (ajout de nutriments) ont été considérées comme des approches pertinentes [4;5]. La bioremédiation utilise le métabolisme microbien en présence de conditions environnementales optimales et d'une quantité suffisante de nutriments pour décomposer les contaminants. La biostimulation consiste à modifier l'environnement pour stimuler les bactéries existantes capables de bioremédiation. Cela peut se faire par l'ajout de diverses formes d'éléments nutritifs et d'accepteurs d'électrons, comme le phosphore, l'azote, l'oxygène ou le carbone, mais en quantités suffisamment faibles pour limiter l'activité microbienne. Depuis les années 1970, la bioaugmentation, ou l'ajout de micro-organismes dégradant les composés organiques pour compléter les populations déjà existantes dans l'environnement, a été proposée comme stratégie alternative pour la bioremédiation des milieux contaminés [6].

La première étape pour réaliser une bioremédiation est l'isolement et le criblage de micro-organismes polyvalents avec des capacités spéciales d'élimination des polluants cibles, capables de s'adapter aux conditions voulus et de résister à la concurrence. Malgré la nature récalcitrante des composés pharmaceutiques, plusieurs travaux ont été récemment rapportés sur la

dégradation biologique des antibiotiques tels que l'amoxicilline par des champignons *Microcystis aeruginosa* (Y. Liu et al) 2015 [7], la sulfaméthazine et la sulfaméthoxazole par une microalgue *Scenedesmus obliquus* (J.-Q. Xiong et al) en 2019 [8], de la tétracycline par des bactéries *Pandoraea sp. XY-2* (Wu et al) en 2019 [9], de l'acébutolol, de l'acétaminophène, de la caféine, du propranolol et de l'acébutolol (A.Y.-C. Lin et al) en 2010 [10].

Le phénol, produit largement utilisé dans de nombreuses industries, se retrouve aussi dans les effluents liquides. C'est donc le substrat le plus étudié que ce soit par les méthodes de traitement physico chimiques classiques ou biologiques. En le phénol constitue une source de carbone appropriée pour beaucoup de microorganismes comme le *candida tropicalis* ATCC 750 (Natan et al) en 2019 ou les archées halophiles (E. Acikgoz et B. Ozcan 2016) [11 ; 12].

L'objectif de ce mémoire est la mise en œuvre d'un procédé de biodégradation de composés organiques et médicamenteux tels que l'amoxicilline, la tétracycline, la sulfaméthazine, l'acébutolol et le phénol par un consortium bactérien isolé d'une station d'épuration d'eau. Dans la partie théorique, des généralités sont abordés sur la bio encapsulation des bactéries dans des matrices minérales synthétisées par la technologie sol-gel, la biodégradation des antibiotiques, la modélisation de la cinétique bactérienne. Dans le chapitre 'Matériels et Méthodes', ont été présentés les procédures expérimentales mettant en œuvre les bactéries et les techniques d'analyse utilisées pour l'analyse des échantillons. Le dernier chapitre est consacré à la présentation des résultats des essais ainsi que leurs interprétations à la lumière de la bibliographie. Une conclusion rassemble les résultats les plus importants obtenus et les perspectives de travail futur à réaliser afin de vérifier certains résultats et compléter les essais.

**Chapitre I:
Bio-encapsulation par voie sol gel
et la Synthèse du gel d'oxyhydroxyde de
fer III**

La particularité de certaines biomolécules, présentant une activité catalytique importante et/ou une reconnaissance spécifique de certaines substances, a offert des perspectives intéressantes pour la réalisation de bioréacteurs ou de biocapteurs. Dans le souci d'élaborer des systèmes facilement mis en forme et présentant une stabilité chimique et physique à long terme importante, les biotechnologies se sont basées sur le greffage ou l'immobilisation de biomolécules dans des matrices solides. Dans un premier temps et pour des raisons de biocompatibilité évidentes, les matériaux utilisés pour l'encapsulation d'espèces biologiques sont des polymères bio-organiques. Il s'est avéré que l'extraction de ces molécules de leur environnement naturel non seulement a un coût non négligeable mais aussi défavorise leur activité chimique du fait de leur fragilité et des dégradations précoces causées par des agents extérieurs. C'est ainsi que l'encapsulation de microorganismes (bactéries, levure...) est devenue une alternative intéressante à l'immobilisation de biomolécules. En effet, l'encapsulation cellulaire offre la possibilité d'utiliser les propriétés des biomolécules en les maintenant dans leur environnement naturel.

I.1. Encapsulation de biomolécules dans des matrices minérales par voie sol gel

En 1996, J. Livage a publié dans une revue le premier article de synthèse sur les bio-applications de la chimie sol gel qui regroupe les principales réalisations dans l'encapsulation des enzymes, des molécules immunitaires et des cellules entières.

A cette époque, la Bio-encapsulation était un domaine d'application émergent de la technologie sol gel, initié par les groupes de G. Carturan et D. Avenir. Environ 10 ans plus tard, l'immobilisation des biomolécules dans des matrices sol gel est devenue une méthode très populaire tant pour les études fondamentales de la réactivité enzymatique pour la conception de biocapteurs et biocatalyseurs. Le développement de l'encapsulation des micro-organismes a été beaucoup plus lent. Mais des études récentes ont mis en lumière les potentialités de cette approche [13].

L'encapsulation peut être définie comme un processus visant à piéger une substance dans une autre substance, produisant ainsi des particules de quelques nanomètres à quelques millimètres de diamètre. La substance qui est encapsulée peut être appelée la matière de base, l'agent actif, la matière de remplissage, la phase interne ou la phase de charge utile. La substance 'encapsulante' peut être appelée revêtement, membrane, enveloppe, matériau support, matériau de paroi, phase externe ou matrice [14].

Une des principales conditions pour réussir une Bio-encapsulation est que l'entité biologique conserve ses propriétés après l'encapsulation. Les espèces biologiques sont très influencées par leur environnement proche et leurs propriétés dépendent de plusieurs facteurs comme, la charge de surface du matériau, la température et le pH de leur milieu.

La plupart des bio-encapsulations dans des matrices minérales a été réalisée dans des matrices à base de silice. Toutefois quelques articles traitent de l'encapsulation de molécules biologiques dans des matériaux à base d'oxydes métalliques pour l'élaboration de biocapteurs dans notre cas l'oxyhydroxyde de fer 3.

La présence de particules de ferrihydrite semble favoriser la croissance des bactéries. Le milieu de culture utilisé ici est dépourvu de cations de fer alors qu'on sait que cet élément est nécessaire à la croissance de pratiquement toutes les bactéries. Ainsi, l'ajout de ferrihydrite semble compenser cette carence. Enfin, ces données suggèrent que la perte de viabilité des bactéries après encapsulation n'est pas due à des interactions néfastes entre les cellules et les espèces colloïdales [15].

Il est à noter que pour la synthèse de ces matériaux à base d'oxydes métalliques, les conditions de synthèse sont assez drastiques car, soit elles utilisent comme précurseurs des alcoxydes, soit elles s'effectuent en milieu non aqueux ou encore à des pH éloignés du pH neutre [16].

I.2. Encapsulation cellulaire dans des matrices minérales

Le premier exemple d'encapsulation de cellules a été réalisé il y a vingt ans par l'équipe de Giovanni Carturan à l'université de Trente en Italie (Carturan et al. 1989). Après introduction d'une suspension de cellules de levure (*Saccharomyces cerevisiae*) dans une solution de TEOS (Tétraéthyl-orthosilane) en présence d'éthanol et d'eau à basse température, le mélange est déposé par dip-coating sur une surface de verre. Non seulement la viabilité de ces microorganismes est préservée mais l'activité catalytique d'une enzyme intracellulaire est maintenue pendant plus de six mois. Cependant ce procédé ne peut être généralisé à d'autres cellules étant donné la faculté des cellules choisies à survivre et maintenir leur activité en présence d'alcool, celles-ci étant des levures couramment utilisées dans les processus de fermentation par les brasseurs et les boulangers.

En 1997, Pope et al. ont décrit l'immobilisation réussie de levures et de cellules animales dans un gel formé à partir du TEOS (Pope et al. 1997). Les suspensions de cellules sont ajoutées après élimination de l'alcool.

Plus tard l'équipe de G. Carturan a publié un nouveau procédé appelé Biosil qui est utilisé avec succès pour l'encapsulation de cellules végétales et animales (Carturan et al. 2004). Une suspension cellulaire est déposée sur la surface de polymères naturels (soie, gélatine, acide alginique) et soumise à un flux de vapeur d'alcoxyde de silice volatile. L'hydrolyse de l'alcoxyde se produit à la surface humide de la cellule alors que l'alcool formé est éliminé par évaporation à l'aide du flux de gaz.

Un dernier procédé appelé Biocer consiste en la synthèse de biocéramiques à partir d'un mélange d'une solution de colloïdes de silice, d'une poudre céramique et d'une suspension cellulaire (Böttcher et al. 2004). Le mélange est refroidi à $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ce qui induit une transformation irréversible de la suspension par la transition sol-gel

Les bactéries sont de très loin les organismes vivants les plus étudiés dans le domaine de la Bio-encapsulation. Il y a plusieurs raisons expliquant cet intérêt. Une première raison est que plusieurs bactéries sont décrites comme étant silicifiées dans la nature. D'autre part, les bactéries les plus communément utilisées en recherche microbiologique (*Escherichia coli* ou *Bacillus subtilis*) sont considérées comme étant des bactéries résistantes et susceptibles de supporter le stress dû à l'encapsulation. Et enfin, les outils génétiques de ces organismes sont largement connus et peuvent donc être utilisés pour l'étude de l'état physiologique des bactéries encapsulées [16].

I.3. Le procédé sol-gel

Sol-gel est le processus par lequel un réseau est formé à partir d'une solution via un changement progressif du ou des précurseurs liquides en un sol, puis en un gel et, dans la plupart des cas, en un réseau sec [17].

I.3.1. Principes

Le principe du procédé sol-gel est à priori très simple, il s'apparente à celui qu'utilisent les chimistes pour fabriquer un matériau polymère.

Le procédé sol-gel est généralement utilisé pour synthétiser des verres et des céramiques à température ambiante ou modérée (Brinker, Scherer 1990) Il implique la formation de «sol» en utilisant des précurseurs et des solvants adéquats et son évolution en « gel ».Un sol est une suspension colloïdale de particules en solution. Ces sols sont obtenus par l'hydrolyse et la condensation d'alcoxydes ou de sels métalliques en solution Ces particules étant de très petite taille (entre 2 nm et 200 nm) les forces gravitationnelles s'exerçant sur elles sont considérées

comme étant négligeables. Ainsi de très faibles forces. Si la condensation continue, il se forme des agrégats de particules. La viscosité du sol augmentant, un gel se forme.

Un gel est défini comme la coexistence d'une phase liquide et d'une phase solide. L'effondrement de la structure est empêché par la présence de la phase liquide. La phase solide confère une stabilité structurale à la phase liquide évitant ainsi tout écoulement. Ces gels peuvent être séchés afin d'y extraire le solvant. Le séchage d'un gel à température ambiante mène à la formation d'un xérogel. Dans ce cas, l'évaporation du solvant conduit très souvent à un effondrement de la structure. Ce phénomène appelé « retrait » est dû aux forces capillaires apparaissant lors de l'extraction du solvant des pores (Smith et al. 1995). Un séchage par lyophilisation peut limiter cet effondrement de la structure. Le gel peut aussi être séché par séchage supercritique. Dans ce dernier cas le « retrait » est évité et ce type de séchage mène à des aérogels.

Le procédé sol-gel utilise soit des alcoxydes métalliques ou des complexes organométalliques soit des sels métalliques en milieu aqueux. Par la suite nous limiterons notre description du procédé sol-gel à l'hydrolyse et la condensation de sels métalliques en solution [16].

I.3.2. Du sol au gel

Le devenir de ces particules polymérisées en solution aqueuse dépend de leurs tailles, de la température et du pH de la solution. Plusieurs possibilités sont envisageables. Ces espèces peuvent :

- condenser pour former un gel polymérique ;
- rester stablement dispersées en solution ;
- s'agréger pour former un gel particulaire ;
- continuer la condensation pour former des particules beaucoup plus grandes qui précipiteront en solution.

Les particules d'oxyde métalliques de taille nanométrique présentent des propriétés physico-chimiques de surface remarquables du fait de leur grande surface spécifique et du grand nombre d'atomes de surface [16].

I.3.3. Des procédés de mise en forme originaux, films et revêtements sol-gel

La réalisation de verre massif par le procédé sol-gel est très délicate. Les tensions internes qui apparaissent lors du séchage entraînent la fissuration du matériau. Pour éviter ce phénomène, il faut réaliser un traitement thermique extrêmement lent, ajouter des additifs chimiques ou réaliser un séchage hypercritique. Par contre, la viscosité du gel ou de la solution colloïdale est bien adaptée à la réalisation de dépôts sur des substrats de forme et de nature variée (verre, céramique, métal, polymère). C'est incontestablement dans ce domaine que les procédés sol-gel ont trouvé leurs principales applications. Le procédé de dépôt le plus utilisé est sans conteste le trempage (dip-coating= revêtement par trempage). Il consiste à plonger la pièce à revêtir directement dans un bain d'alcoxyde. L'hydrolyse-condensation se fait ensuite spontanément à l'air. Cette technique permet de réaliser en une seule opération des dépôts sur les deux faces d'un vitrage de plusieurs m². Les principales applications des revêtements sol-gel ont pour objet de modifier les propriétés optiques des vitrages. Ce sont parfois de véritables nano-composites [18].

I.3.4. Avantages et inconvénients du procédé sol-gel

Le procédé sol-gel permet d'élaborer des verres à basse température, sans passer par la fusion. Un simple chauffage à quelques centaines de degrés permet d'obtenir un matériau tout à fait comparable à un verre fondu. Bien que les précurseurs alcoxydes soient relativement coûteux, ce procédé pourrait être particulièrement avantageux lorsque le verre contient des éléments volatils (B₂O₃) ou réfractaires (ZrO₂).

La viscosité du système augmente progressivement en fonction de l'avancement des réactions de polymérisation. On passe ainsi par des étapes (sol ou gel) dont la viscosité est adaptée à des opérations de mise en forme telles que le dépôt de films minces (trempage, tournette), l'étirage de fibres, voire même le moulage de formes complexes. On peut ainsi mettre en forme le verre directement à partir de la solution, sans passer par la fusion pâteuse d'un mélange de poudres.

Les conditions dans lesquelles se fait la synthèse du verre sont suffisamment douces pour que l'on puisse la réaliser en présence de molécules organiques. On obtient ainsi des matériaux totalement originaux, les hybrides organo-minéraux, véritables nano composites dans lesquels les espèces minérales et organiques sont mélangées à l'échelle moléculaire. Ces matériaux hybrides couvrent toute la gamme allant du verre fragile et cassant au polymère plastique.

Deux obstacles viennent cependant freiner le développement des procédés sol-gel; le prix des précurseurs alcoxydes et les problèmes liés à la manipulation de grandes quantités de solvants

organiques auxquels l'industrie verrière n'est guère habituée. Les procédés sol-gel ne sont évidemment pas compétitifs pour la production de forts tonnages de verre. Un kilogramme de verre "sol-gel" revient au moins cent fois plus cher que le même verre fait par "fusion-coulée". Par contre, ils peuvent trouver des créneaux intéressants pour la fabrication de produits à forte valeur ajoutée. La plupart des développements industriels concernent aujourd'hui le dépôt de revêtements et l'élaboration de verres organo-minéraux [18].

I.4. Synthèse et caractérisations de la matrice d'oxyhydroxyde de fer (III)

Nous nous sommes intéressés à la synthèse d'oxyhydroxyde de fer pour différentes raisons ayant un lien avec sa biocompatibilité, la variété des oxydes accessibles et les propriétés magnétiques de ces matériaux.

Le fer est le quatrième élément chimique de numéro atomique 26, de symbole Fe et le deuxième métal le plus abondant à la surface de la terre. Du fait de cette abondance, cet élément est présent dans différents domaines comme la métallurgie, les pigments colorés, les matériaux magnétiques, la catalyse... Le fer est aussi important de par sa présence dans les sols et les eaux naturelles sous forme de complexes ou de colloïdes. Il joue un rôle biologique majeur dans le transport de l'oxygène par l'hémoglobine. Il intervient aussi dans divers processus de bio minéralisation, en tant que matériaux de structure pour assurer la dureté des radulas (langue munie de nombreuses dents, formant une râpe, que l'on trouve chez les mollusques gastéropodes.), comme matériaux magnétiques chez les bactéries magnétotactiques, et aussi pour le contrôle de la concentration en fer dans l'organisme par les ferritines. Les ferritines sont des protéines présentes dans la plupart des organismes vivants. Elles constituent une famille de protéines dont le rôle est de stocker le fer sous forme minérale (ferrihydrite), non toxique et bio disponible

Par ailleurs, il est connu que les gels d'oxyhydroxyde de fer sont d'excellents capteurs de molécules et d'ions métallique. Leurs propriétés magnétiques présentent un grand intérêt pour la dépollution des eaux usées.

Dans l'optique d'élaborer des biomatériaux multifonctionnels, la possibilité d'associer les propriétés des oxydes de fer à celles des systèmes biologiques fait de ces oxydes, des matériaux de choix pour l'encapsulation [16].

I.5. Synthèse des particules d'oxyhydroxyde de fer (III) et obtention du gel

La synthèse des particules d'oxyhydroxyde de fer peut être réalisée par alcalinisation d'une solution de chlorure ferrique (0.05M) par une solution d'hydroxyde de sodium (1M). Le pH final est égal à 8. Des lavages successifs permettent l'élimination des ions chlorure de la suspension colloïdale. Cette étape est contrôlée par ajout de nitrate d'argent (AgNO_3) dans les eaux de lavages (sous nageant). Le gel est obtenu par ajout de la solution tampon phosphate dans la suspension colloïdale. Le gel, de couleur marron, se forme immédiatement. Le détail de la synthèse est présenté dans la partie expérimentale [16].

Chapitre II :

Les substrats et l'étude de la biodégradation

Les médicaments jouent un rôle prépondérant dans la hausse de qualité et de l'espérance de vie des populations. Chaque année, des milliers de tonnes de produits pharmaceutiques sont utilisés en médecine humaine et vétérinaire pour traiter des symptômes, des maladies, des infections bactériennes et stimuler la croissance d'élevage agricoles et aquatiques. L'utilisation croissante des antibiotiques dans l'élevage intensif tels que la tétracycline, Acébutolol... engendrent des apports continus dans l'environnement. Ces antibiotiques peuvent occasionner des impacts et des effets nocifs chez des organismes terrestres et aquatiques. La plupart des composés ne sont pas biodégradables et ne sont donc pas éliminés dans les filières classiques de traitement des eaux. Ces substances dites bio-récalcitrantes se retrouvent dans l'environnement et peuvent ainsi contaminer les organismes vivants. La présence de ces polluants émergents dans l'environnement constitue un sujet de préoccupation majeure de ces dernières années en raison des perturbations importantes constatées sur la faune et la flore [19].

II.1. La pollution par les produits pharmaceutiques

Après usage, les produits pharmaceutiques sont excrétés sous leur forme native ou sous forme de métabolites et peuvent accéder aux systèmes aquatiques par différentes voies. Ce sont les eaux usées municipales qui constituent la source principale de contamination de l'environnement par les médicaments à usage humain. Les effluents des hôpitaux et de l'industrie pharmaceutique, ainsi que les lixiviats de décharge des centres d'enfouissement représentent aussi une source non négligeable. Ces produits pharmaceutiques sont plus ou moins éliminés par les stations de traitement de l'eau et se retrouvent dans les rivières, les lacs, les estuaires, voire plus rarement dans les eaux souterraines et l'eau potable. L'épandage de boues d'épuration contaminées peut également entraîner la pollution des sols et des eaux de surface par ruissellement. En outre, les produits pharmaceutiques à usage vétérinaire peuvent entrer dans les systèmes aquatiques à travers l'utilisation de fumier dans les champs, mais aussi directement en aquaculture. Les risques pour l'environnement ne sont pas forcément liés aux volumes de produits pharmaceutiques utilisés, mais à leur persistance et leur activité biologique critique (toxicité élevée, possibilité d'effets sur les fonctions biologiques majeures, comme la reproduction) [20].

Les produits pharmaceutiques et les produits de soins personnels (PPSP) suscitent de vives inquiétudes en raison de leur fréquence, de leur toxicité potentielle pour les milieux aqueux et

des risques qu'ils présentent pour la santé humaine. Même si les concentrations rejetées sont généralement faibles (de l'ordre de ng/L à g/L), leur impact potentiel sur la santé humaine ne peut être négligé, en particulier pour les substances couramment utilisées qui peuvent s'accumuler dans les tissus humains. Les concentrations à l'état de traces de PPSP et de leurs métabolites sont omniprésentes et ont été trouvées dans des sources aussi diverses que l'eau potable, les effluents des usines de traitement des eaux usées et même les eaux de surface. Plusieurs études ont rapporté que la faible efficacité d'élimination des PPSP dans les procédés de traitement conventionnels entraîne inévitablement leur rejet dans les milieux aqueux [21].

II.2. C'est quoi un antibiotique ?

Les antibiotiques sont des molécules possédant la propriété de tuer (bactéricide) ou de limiter la propagation (bactériostatique) des microorganismes [22]. Ils sont des molécules biologiquement actives et persistantes. Les antibiotiques sont utilisés en grandes quantités en élevage surtout en action préventive et curative [19]. Les antibiotiques occupent une place importante en raison des grandes quantités consommées en médecine humaine et vétérinaire [20].

II.2.1. Les antibiotiques

Parmi les nombreuses substances toxiques rejetées par l'industrie pharmaceutique, les rejets d'antibiotiques sont particulièrement préoccupants [19]. Les antibiotiques sont des substances anti microbiennes ayant une activité sélective et non toxique pour l'hôte. Ils sont utilisés dans le traitement de la majorité des infections grâce au site d'action bien définies ainsi que son mécanisme précis.

Il existe plus de 10000 molécules d'antibiotiques mais seulement une centaine sont efficaces et utilisables pour les applications thérapeutiques, le reste sont toxique, instable ou ont une biodisponibilité insuffisant chez l'homme [23]. Les temps de résidence des médicaments dans l'environnement varient en fonction de leurs propriétés physicochimiques [19].

Les antibiotiques occupent une place importante en raison des grandes quantités consommées en médecine humaine et vétérinaire. Bien que la quantité de ces produits rejetée dans l'environnement soit faible, leur accumulation constitue un risque potentiel pour les organismes aquatiques et terrestres à long terme. La présence des antibiotiques à usage humain et vétérinaire dans l'écosystème aquatique est devenue un problème écologique sérieux. En effet, ces substances résistent aux traitements des stations d'épuration, ce qui engendre leur

introduction et accumulation dans l'environnement. De plus, la contamination des eaux par les antibiotiques peut inhiber l'activité des communautés bactériennes fonctionnelles et/ou produire des microorganismes résistants, causant de sérieux problèmes pour la santé publique, à savoir des difficultés au déséquilibre des écosystèmes microbiens [23].



Figure II.1 : Les antibiotiques [24].

Les antibiotiques sont classés en familles en fonction de leurs origines, de leur nature chimique, de leur mode d'action [20]. Dans ce qui suit, on définira les antibiotiques que l'on a utilisé dans la partie expérimentale et qui sont *la Sulfamethazine, l'Amoxicilline, la Tétracycline, et l'Acébutolol*. Le choix de ces produits est dicté par le fait qu'ils soient parmi les médicaments les plus consommés, et aussi par la facilité de suivi par simple analyse par spectrophotométrie.

II.2.1.1. La Sulfamethazine

La sulfamethazine (SMT) est un antibiotique de la famille des sulfonamid hétérocycliques, qui est largement utilisée en médecine, et en application vétérinaire comme médicament antibactérien dans les préparations pharmaceutiques [25].



Figure II.2 : Sulfamethazine en poudre et sa structure chimique [26].

II.2.1.2. l'Amoxicilline

L'Amoxicilline (AMX) est un antibiotique de la famille β -lactamines de groupe des pénicillines, il est fréquemment utilisé en médecine, qui agit contre de multiples infections bactériennes en raison de son large spectre d'activité antimicrobienne et sa faible toxicité [27]. Il possède trois groupements ionisables : groupement acide carboxylique COOH, groupement hydroxyle OH et le groupement amine [20].

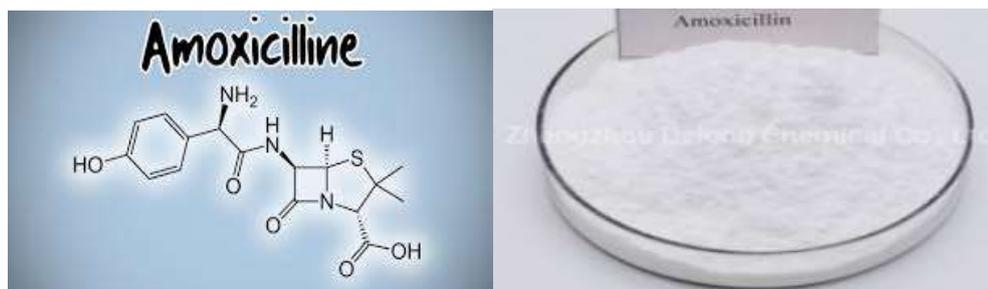


Figure II.3: Amoxicilline en poudre et sa structure chimique [28].

II.2.1.3. l'Acébutolol

L'acébutolol (AC) est la substance active d'un médicament bêta-bloquant (Un bêta-bloquant est un médicament utilisé en cardiologie qui bloque l'action des médiateurs du système adrénergique tels que l'adrénaline). Utilisé comme antihypertenseur. Il est administré sous forme de chlorhydrate d'acébutolol [29].

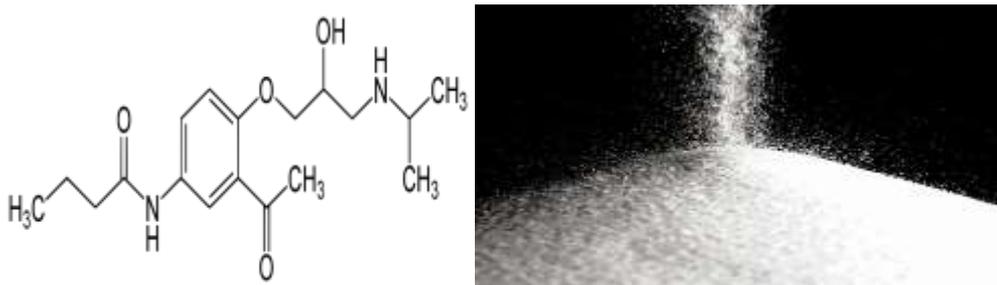


Figure II.4 : L'acébutolol et sa structure chimique [29].

II.2.1.4. Tétracycline

La tétracycline (TC) est un antibiotique bactériostatique de la classe des cyclines (ou tétracyclines), produit par une bactérie du genre *Streptomyces*. Elle est indiquée contre nombre d'infections bactériennes à Gram positif, Gram négatif et anaérobies, mais aussi contre certains autres micro-organismes : *Chlamydia*, *Mycoplasma* et *Rickettsia*. On l'utilise également pour produire de nombreux dérivés semi-synthétiques de la classe des tétracyclines [24].

Les tétracyclines sont utilisées en thérapie dans la médecine humaine et vétérinaire et comme additif alimentaire dans le secteur agricole, en raison de leur coût et leur grande activité antimicrobienne. On distingue 4 molécules principales de la tétracycline la chlorotétracycline (CTC), la tétracycline (TC), l'oxytétracycline (OTC) et la doxycycline (DC).

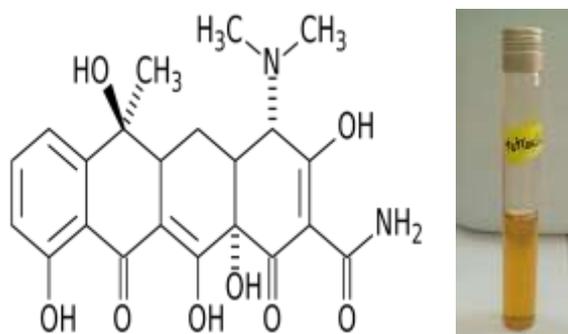


Figure II.5 : La tétracycline et sa structure chimique.

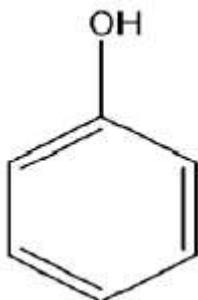
Tableau II .1 : Propriétés physico-chimiques de la SMT, AMX, TC, AC [20 ; 30].

Molécule	Formule brute	Masse molaire	Solubilité (eau)
Sulfamethazine(SMT)	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₂	278.33 g/mol	1.5g/L
Amoxicilline (AMX)	C ₁₆ H ₁₈ N ₃ NaO ₅ S	387.4 g/mol	3.430g/L
Acébutolol (AC)	C ₁₈ H ₂₈ N ₂ O ₄	336,4259 g/mol	0,220g /L
Tétracyclines(TC)	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₈	444.43g/mol	2.31g/L

II.3. Le phénol

Le phénol est un monohydroxyde dérivé de benzène, parfois connu en tant qu'acide carboxylique. Le composé a une formule brute de C₆H₅OH, et un poids moléculaire de 94,11g/mol. La structure moléculaire du phénol comporte un groupe hydroxyle-OH lié à un atome de carbone d'un cycle aromatique (figure 6) [31].

Le phénol pur est un solide incolore cristallisé à la température ambiante. Il est hygroscopique et a une odeur âcre et douceâtre [32].

**Figure II.6:** Structure de la molécule de phénol [31].

II.3.1. Propriétés physiques et chimiques du phénol

II.3.1.1. Propriétés physiques

Le phénol est partiellement soluble dans l'eau jusqu'à une température de 68°C. Au-delà de cette température, il est entièrement soluble dans l'eau, et il est facilement soluble dans la plupart des solvants organiques comme les hydrocarbures aromatiques, les alcools, les cétones, les acides et les hydrocarbures halogénés. D'autres propriétés physiques du phénol sont rassemblées dans le tableau (II-2) [32].

Tableau II.2: propriétés physiques du phénol [32].

Masse moléculaire	94 g/mol
Point d'ébullition	182°C
Point de fusion	41°C
Masse spécifique à 50°C	1050 Kg/m ³
Densité des vapeurs (air=1)	3,24
Coefficient de dilatation thermique volumique à 50°C	0,00088 ml/g K
Pression de vapeur	à 20°C : 0,2mbar à 58°C : 5mbar à 69°C : 10mbar
Point 'éclair	79°C
Limites d'explosion dans l'air	1,3-9,5 vol %
Température d'auto inflammation dans l'air sous 1atm	715°C

II.3.1.2. Propriétés chimiques

Le phénol est un produit stable dans des circonstances normales. Il n'y a pas de risque de polymérisation dangereuse. Cependant, il existe des substances avec lesquelles des réactions violentes peuvent être initiées. Le phénol n'est pas compatible avec le nitrobenzène, le chlorure d'aluminium, le brome, l'hypochlorite de calcium, le formol, le nitrite de sodium, le nitrate de sodium. A chaud, le phénol liquide attaque l'aluminium, le magnésium, le plomb et le zinc [32].

II.4. Généralités sur la biodégradation

Il est important de réserver le terme bio à des processus de dégradation qui mettent en jeu des organismes vivants par l'intervention de différentes enzymes qui provoquent la dégradation [33].

La biodégradabilité peut s'effectuer dans différents milieux (sol, eau, milieu de compostage ou de décharge), un consensus s'est dégagé autour de la notion d'impact sur l'environnement. C'est ainsi que la biodégradation est définie comme étant une défragmentation du matériau, par l'action de micro-organismes ce qui engendre une perte de propriétés mécaniques et des modifications chimiques de la structure du matériau. Au dernier stade de décomposition, le matériau se convertit en biomasse nouvelle et éventuellement un résidu non toxique pour l'homme et l'environnement.

La biodégradation est donc une dégradation catalysée par des micro-organismes. Suivant le milieu environnant dans lequel cette opération est réalisée, la biodégradation peut être aérobie (en présence d'oxygène) ou anaérobie (en absence d'oxygène) [34].

La dégradation microbienne est l'un des processus importants qui déterminent le devenir des produits chimiques anthropiques dans l'environnement, et parmi eux les produits pharmaceutiques.

II.4.1. Les modèles de biodégradation

Les modèles de biodégradation se regroupent en deux grandes catégories :

II.4.1.1. Qualitatifs

Les modèles qualitatifs prédisent simplement si un produit chimique est biodégradable ou non, principalement à l'aide de fragments structuraux [35].

II.4.1.2. Quantitatifs

Ces modèles prédisent le taux et parfois les voies de biodégradation des produits chimiques, en utilisant principalement différentes méthodes structurales et physico-chimiques des produits chimiques considérés [35].

II.5. Partie Microbiologie

II.5.1. Quelques définitions

Différentes techniques courantes de microbiologie ont été utilisées pour étudier nos échantillons. Elles sont décrites, ici, succinctement afin de clarifier notre démarche expérimentale.

II.5.1.1. La conservation

La conservation des bactéries s'effectue à 4°C dans un milieu enrichi en glycérol. A cette température, les bactéries congelées n'ont pas d'activité métabolique. L'arrêt de leur métabolisme permet de les conserver pendant une très longue période.

II.5.1.2. La préculture

La préculture permet la remise en culture de bactéries mises en conservation. Elle donne ainsi accès à une charge en bactéries viables suffisante et nécessaire pour une mise en culture. Dans nos études, cette préculture s'effectue dans un milieu « complet », c'est-à-dire apportant un substrat énergétique, le NaCl nécessaire, et enrichi par des extraits de levures. Un pH de 7 permet une croissance bactérienne optimale.

II.5.1.3. La culture

La culture permet la croissance des bactéries. Elle s'effectue dans un milieu « complet » ou « minimum » chimiquement défini contenant les éléments essentiels à son développement dont nécessairement une source d'azote et de carbone. Ces milieux possèdent des propriétés de solutions tampons pour neutraliser les composés acides produits par le métabolisme.

Ces milieux de culture que l'on peut dire de « riches » n'ont pas été utilisés comme milieu réactionnel du procédé d'encapsulation (milieu ajouté aux suspensions colloïdales d'oxyhydroxyde de fer III pour former les gels).

La formation du gel a, en effet, été réalisée dans un tampon phosphate, donc sans sources d'azote et de carbone, afin de limiter la division des bactéries en milieu très confiné.

Afin d'adapter les bactéries à ce nouvel environnement, nous avons choisi d'utiliser un milieu minimum phosphate pour la croissance d'un consortium de bactérie. Ce milieu a été réalisé en ajoutant au tampon phosphate.

II.5.1.4. La courbe de croissance

La réalisation des courbes de croissance nous a permis de déterminer le temps de culture nécessaire à l'obtention de bactéries dans l'état physiologique voulu. Le taux de croissance des bactéries peut être mesuré par turbidité, numération du nombre de bactéries cultivables. La longueur maximale d'une suspension bactérienne est de 600 nm.

La courbe de croissance est classiquement caractérisée par quatre phases :

- Une phase de latence caractérisée par l'adaptation physiologique des bactéries à leur environnement, ici au nouveau milieu de culture.
- Une phase exponentielle qui est une phase de croissance où toutes les bactéries sont dans le même état physiologique. Le milieu de culture leur apporte tout ce dont elles ont besoin pour une croissance optimale.
- Une phase stationnaire caractérisée par différents états cellulaires au sein de la population. En effet, dans ce nouveau milieu, les bactéries subissent un « stress » important. Certaines bactéries s'adaptent plus rapidement à ce nouveau milieu et vont survivre, les autres, trop « stressées » ne survivent pas et deviennent une source nutritive pour les plus résistantes.

Une phase de déclin, caractérisée par la mort cellulaire [16].

II.5.2. Approche microbiologique**II.5.2.1. Définition d'un micro-organisme**

Les micro-organismes ou microbes sont des organismes vivants microscopiques, invisibles à l'œil nu, ils ne peuvent être observés qu'à l'aide d'un microscope (bactéries, levures, champignons et moisissures ...etc.)

II.5.2.2. Les différents types de microorganismes

La fermentation industrielle utilise trois principaux types de microorganismes:

- Les levures
- Les Champignons et moisissures
- Les bactéries

Les microorganismes qui nous intéressent sont les bactéries. Ces bactéries sont en effet très utilisées par les généticiens pour fabriquer des médicaments ou des vaccins, car elles ont l'avantage d'avoir une croissance relativement rapide par rapport aux autres microorganismes. Ces bactéries sont utilisées notamment pour la production d'insuline, des vaccins pédiatriques contre la méningite et la typhoïde et de quelques virus. Donc, il est important de produire des quantités de médicaments et de vaccins à l'échelle industrielle.

II.5.2.3. Facteurs de croissance microbienne

Il est difficile de tenir compte de l'ensemble des facteurs qui peuvent influencer sur les microorganismes. Les microorganismes se différencient selon les conditions nécessaires à leurs croissances ainsi que leurs besoins en éléments nutritifs, dont les principaux sont :

- **Eau** : l'eau est indispensable aux microorganismes, car pour que la croissance de ceux-ci soit effective. Il faut qu'un seuil d'humidité relative, exprimé par l'activité de l'eau, soit atteint.
- **Source d'énergie et carbone** : les microorganismes organotrophes, qui représentent la majorité des microorganismes utilisés industriellement, ont recours à la dégradation de composés organiques pour leurs besoins énergétiques, tels que l'amidon, sucres, glucose, ...etc. Les microorganismes photosynthétiques et la plupart des chémolithotrophes sont capables d'utiliser directement le gaz carbonique de l'air pour leurs besoins énergétiques.
- **Azote** : l'azote provient partiellement de substances organiques (protéines ou minéraux).
- **Oxygène** : l'oxygène, vital pour beaucoup de microorganismes, peut parfois se révéler toxique. En fait, il existe deux sortes de fermentation :
 - Aérobie : où les microorganismes ont besoin d'oxygène pour leur développement.
 - Anaérobie : le besoin en oxygène n'est pas nécessaire pour le développement (anaérobie facultatif), et peut être inhibiteur (anaérobie strict).
- **pH** : la croissance de microorganismes exige une valeur optimale de pH. La plupart des bactéries croissent en milieu neutre, alors que les champignons, levures et bactéries lactiques préfèrent un milieu acide.

- **Température** : selon la température optimale de croissance, on distingue entre organismes: Psychrophiles : de 5 à 20°C, mésophiles : de 20 à 45°C et les thermophiles : de 45 à 55°C [36].

Chapitre III : **Cinétique et modélisation**

Dans les réactions de biodégradation, les études cinétiques donnent une mesure de l'efficacité du fonctionnement du système microbien. La connaissance de cette cinétique aidera à améliorer le contrôle du procédé et l'efficacité de l'élimination des substrats ciblés. La modélisation de tout processus de biodégradation implique de relier le taux de croissance spécifique de la biomasse au taux de consommation du substrat (contaminant). Les cinétiques de dégradation (consommation) du substrat (nutriment) dépendent de la concentration du nutriment et des paramètres environnementaux comme le pH, la température, produits inhibiteurs, etc. Si les conditions opératoires sont maintenues constantes, seule la concentration du substrat joue un rôle dominant par rapport aux autres facteurs agissant sur la croissance. Cependant, dans certains cas, on enregistre aussi une inhibition par le substrat lui-même ou par l'un (les) produits de la dégradation.

Dans la littérature, il est supposé que la biomasse admet un taux de croissance maximal comme plusieurs êtres vivants. Donc le taux de croissance n'est pas linéaire en fonction de la concentration du substrat.

III.1. Le modèle de Monod

Le modèle de Monod, le plus ancien et également le plus connu, est utilisé pour rendre compte de la croissance des micro-organismes. Il s'agissait, à l'origine, de modéliser cette croissance dans un milieu non renouvelé, ce qui dans le jargon des laboratoires correspond à l'analyse des "cultures en batch". Le modèle de croissance de Monod donne une relation entre le taux de croissance μ d'une population de micro-organismes et la concentration S en substrat limitant,

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_s + S} \quad (\text{III. 1})$$

Où μ_{\max} représente le taux de croissance maximum et K_s la concentration en substrat correspondant à un taux de croissance moitié de μ_{\max} (ou la concentration de demi saturation). Cette loi permet de rendre compte des phénomènes de saturation et limitation (Figure III.1) [37].

III.2. modèle de Haldane:

Le modèle Haldane occupe la deuxième place après celui de Monod, en raison de sa large applicabilité et de sa simplicité mathématique pour représenter la cinétique de croissance cellulaire en présence d'un substrat inhibiteur.

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_s + S + \left(\frac{S^2}{K_i}\right)} \quad (\text{III. 2})$$

Cette loi permet de rendre compte des phénomènes de saturation et inhibition. Elle est utilisée lorsque certains composés peuvent inhiber une réaction si leur concentration est trop élevée (figure III.2)

Cette équation de Haldane (ou parfois appelée Haldane-Andrews) représente une modification de l'équation originale de Monod pour tenir compte de l'effet inhibiteur lorsqu'un substrat (ou un produit intermédiaire de biotransformation) est toxique pour la population dégradante. Les effets de cette auto-inhibition sont incorporés dans l'expression de la vitesse avec un terme d'inhibition, S/K_i . Une valeur de constante d'inhibition K_i élevée indique que la culture est peu sensible aux inhibiteurs [38].

Il est à noter que lorsque le K_i est très grand, l'équation de Haldane se simplifie à l'équation de Monod (voir figure III.1).

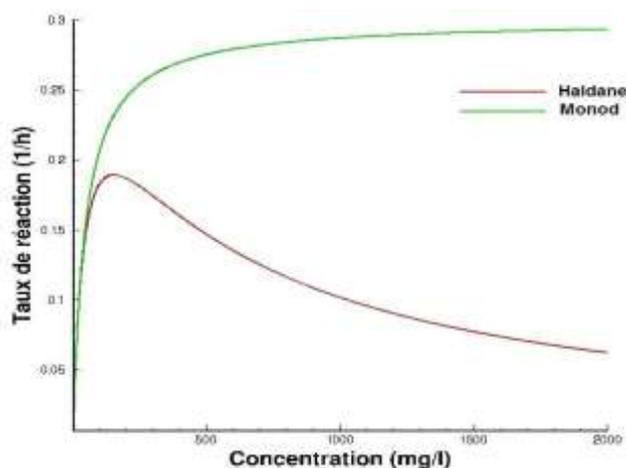


Figure III.1 : Evolutions théoriques du taux de croissance de micro-organismes en fonction de la concentration. Simulations données par les modèles de Monod et de Haldane.

Aux concentrations très élevées en substrat, $S \gg K_s$, l'équation de Haldane devient :

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{S + \left(\frac{S^2}{K_i}\right)}$$

III.3.Le modèle de Luong

Le modèle proposé par Luong (1987) semble être utile pour décrire la cinétique d'inhibition par le substrat ou par le produit de la réaction. En effet, c'est un modèle généralisé de type Monod, capable de décrire la limitation du substrat observée à une faible concentration et il permet également de tenir compte de l'inhibition du substrat observée à une concentration élevée grâce au paramètre K_i . Celui-ci est la concentration maximale du substrat, au-dessus de laquelle la croissance est complètement inhibée (Luong 1987) [39]. Il est donné par l'équation :

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_s + S} \left(1 - \frac{S}{K_i}\right)^n \quad \text{III. 3}$$

Divers modèles cinétiques ont été utilisés pour décrire la dynamique de la croissance microbienne (tableau III.1):

Tableau III.1 : Modèles de cinétique [38 ; 40].

Modèle	Equation
modèle de Gompertz modifié	$\ln N = \ln N_0 + Ae^{-e^{\left(\frac{\mu_{max} \times e}{A}\right) \times (\lambda - t) + 1}}$
Baranyi et Roberts	$\ln N = \ln N_0 + \mu_{max} \cdot t + \ln \left[e^{-\mu_{max} \cdot t} - e^{-\mu_{max} (t + \lambda)} + e^{-\mu_{max} \cdot \lambda} \right]$ $- \ln \left[1 + \frac{e^{\mu_{max} (t - \lambda)} + e^{-\mu_{max} \cdot \lambda}}{e^{\ln N_{max} - \ln N_0}} \right]$
Han-Levenspiel	$\mu = \mu_{max} \frac{\left[1 - \frac{S}{S_m}\right]^n}{K_s + S - \left[1 - \frac{S}{S_m}\right]^n}$
Yano	$\mu = \mu_{max} \frac{S}{S + K_s + \left(\frac{S^2}{K_i}\right) \left[1 + \left(\frac{S}{K_s}\right)\right]}$
Edwards	$\mu = \mu_{max} \left[\exp\left(\frac{-S}{K_i}\right) - \exp\left(\frac{-S}{K_s}\right) \right]$

Wang-Loh	$\mu = \mu_{max} \frac{S_0}{K_S + S_0 + \left(\frac{S_0^2}{K_i}\right)}$
Monod : somme cinétique Mélange binaire, pas d'interaction	$\mu = \frac{\mu_{max,1}S_1}{K_{s,1} + S_1} + \frac{\mu_{max,2}S_2}{K_{s,2} + S_2}$
Monod : somme cinétique Mélange binaire, Inhibition compétitive	$\mu = \frac{\mu_{max,1}S_1}{K_{s,1} + S_1 + \left(\frac{K_{s,1}}{K_{s,2}}\right)S_2} + \frac{\mu_{max,2}S_2}{K_{s,2} + S_2 + \left(\frac{K_{s,2}}{K_{s,1}}\right)S_1}$
Mélange binaire, Inhibition noncompétitive	$\mu = \frac{\mu_{max,1}S_1}{(K_{s,1} + S_1)\left(1 + \frac{S_2}{K_{s,2}}\right)} + \frac{\mu_{max,2}S_2}{(K_{s,2} + S_2)\left(1 + \frac{S_1}{K_{s,1}}\right)}$
Skip : Mélange binaire, type indéterminé de l'interaction	$\mu = \frac{\mu_{max,1}S_1}{K_{s,1} + S_1 + I_{2,1}S_2} + \frac{\mu_{max,2}S_2}{K_{s,2} + S_2 + I_{1,2}S_1}$

K_s est la constante de saturation du substrat consommation (mg/L).

S_m est la concentration de S correspondant à l'arrêt de la réaction de dégradation (par inhibition)

I_{ij} est le paramètre d'interaction qui indique dans quelle mesure le substrat i affecte la dégradation du substrat j.

N représente la biomasse microbienne telle que mesurée au temps t ;

N₀ et **N_{max}** densité optique mesurés au temps t = 0 et à la taille maximale de la population microbienne respectivement.

A est le niveau asymptotique (ln (N_{max}/N₀)),

μ_{max} est le taux de croissance spécifique maximum est définie comme la tangente à un point d'inflexion de la courbe de croissance,

λ ou **T** est la durée de la phase de retard, **t** est le temps.

III.4. Les modèles provenant de la cinétique chimique : [41 ; 42]

Différents modèles cinétiques peuvent être utilisés pour effectuer les calculs. L'ordre de la réaction est un concept qui relève de la cinétique chimique et indique l'influence d'un réactif dans la cinétique de la réaction.

III.4.1. cinétique d'ordre 0

Aux réactions d'ordre zéro, la vitesse de réaction est indépendante de la concentration du réactif, de sorte que des changements de sa concentration n'influent pas sur la vitesse. Ceci peut arriver lorsqu'il y a un goulot d'étranglement qui limite le nombre des molécules qui peut réagir au même moment, par exemple si leur réaction exige le contact avec une enzyme ou une surface catalytique.

De nombreuses réactions catalysées par les enzymes sont d'ordre zéro, pourvu que la concentration du réactif soit très supérieure à la concentration de l'enzyme qui détermine la vitesse de sorte que l'enzyme est saturée. Par exemple, l'oxydation biologique de l'éthanol en acétaldéhyde par l'alcool déshydrogénase du foie est d'ordre zéro par rapport à l'éthanol. La variation de concentration en fonction du temps pour une réaction d'ordre 0 est comme suit :

$$[C] = [C_0] - k_0 t$$

Avec :

$[C_0]$, $[C]$: Concentration initiale et à l'instant t (mol/L).

k_0 : la constante de vitesse de la réaction (mol/L.s).

III.4.2. Cinétique d'ordre 1

Si la vitesse de réaction dépend d'un seul réactif et la valeur de l'exposant est un, alors la réaction est dite de premier ordre. La loi de vitesse peut être intégrée pour obtenir la forme linéaire citée ci-dessus :

$$\ln [C] = -k_1 t + \ln [C_0]$$

Avec : k_1 : constante de vitesse de 1er ordre (1/s).

III.4.3. Cinétique d'ordre 2

Une réaction est dite de second ordre si l'ordre global est deux. La vitesse d'une réaction de second ordre peut être proportionnelle à la concentration au carré ou (plus souvent) au produit de deux concentrations. La variation de concentration en fonction de temps pour une réaction d'ordre 2 est comme suit :

$$\frac{1}{[C]} = \frac{1}{C_0} + K_2 t$$

Avec :

k_2 : la constante de vitesse de la réaction (L/ mol .s)

CHAPITRE IV : MATERIELS ET MATHODE

Ce chapitre présente les procédures expérimentales, les produits chimiques, les méthodes analytiques utilisées au cours de cette étude.

IV.1. Matériel utilisé

Pour l'analyse des échantillons, le suivi de la croissance des bactéries déjà sélectionnées, et la diminution des concentrations résiduelles des différentes substances testées, on a utilisé le petit matériel disponible au sein des laboratoires de notre faculté et de la faculté des sciences de la nature et de la vie de notre université.

IV.1.1. Petit matériel de laboratoire

- **pH mètre**

Le pH des solutions aqueuses a été contrôlé à l'aide d'un pH mètre à affichage numérique de marque BOECO Germany BT-675 muni d'une électrode combinée en verre.

- **Conductimètre**

La conductivité de l'eau distillée a été contrôlée avec un Conductimètre à affichage numérique de marque BOECO Germany CT- 600.

- **Balance**

Les pesées ont été réalisées avec une balance analytique de marque KERN ACS 220-4 de précision ± 0.0001 g.

- **Plaque chauffante**

L'agitation des solutions a été assurée par une plaque chauffante à agitation magnétique de marque STUART heat stir SB 162, dont le système de chauffage est utilisé uniquement pour la solubilisation du bouillon nutritif dans l'eau.

- **Étuve**

Avant toutes les cultures, les bactéries sont précultivées dans l'étuve pendant 18h. Cette préculture est effectuée à l'aide d'une étuve de marque MEMMERT.



Figure IV.1: Photographie du petit matériel utilisé

En haut : de g à d : pH mètre, conductimètre, balance analytique, plaque chauffante,

Au milieu de g à d : étuve, centrifugeuse, autoclave,

En bas de g à d : agitateur incubateur orbital, agitateur vortex ; hotte microbologique

- **Centrifugeuse**

Est un appareil destiné à séparer la phase solide des suspensions liquide-solide. Cette séparation a pour origine la différence des masses volumiques du liquide et des particules solides en suspension dans le mélange. La centrifugeuse utilisée est de marque HETTICH ZENTRIFUGEN EBA 20.

- **Autoclave**

De marque ADVANTAGE-Lab. model AL02-12, comprend une chambre de stérilisation pour recevoir les articles à stériliser. La stérilisation par la chaleur humide utilise la vapeur d'eau saturée sous pression comme agent stérilisant ; la chaleur associée à l'humidité provoque la destruction des germes. Le résultat de l'ensemble de ces étapes est l'état stérile qui se définit comme étant l'état dans lequel se trouve un objet dont on ne peut pas statistiquement mettre en évidence la présence de micro-organismes capables de se reproduire ou d'être revivifiés; en d'autres termes, des micro-organismes viables. Cet état ne peut être conservé que par la présence d'un conditionnement approprié ou stérilisation.

- **Agitateur-incubateur orbital**

C'est un incubateur compact utilisé pour le mélange, l'incubation et la culture de liquides biologiques. Le régulateur de température commandé par microprocesseur permet de maintenir une température constante de 30°C dans la chambre d'incubateur. La circulation forcée de l'air chauffé à l'intérieur de la chambre garantit une répartition homogène de la température. La construction démontable rend le transport facile.

L'agitation orbitale est contrôlée par le régulateur numérique et le réglage de température et de vitesse. L'unité est équipée du système d'entraînement direct garantissant un fonctionnement à long terme stable et fiable.

L'incubateur est extrêmement facile à utiliser, avec une configuration très simple de la température 30° C et de la vitesse 110 tr/min, en utilisant l'affichage à deux lignes et l'affichage d'état, qui indiquent clairement les valeurs réglées et réelles pour chacun des deux paramètres. L'agitateur-incubateur orbital utilisé est de marque STUART Orbital Incubator SI

- **Agitateurs vortex**

Est un appareil destiné à mélanger des solutions dans des tubes grâce à des mouvements orbitaux rapides. Il est composé d'un socle lourd très stable, et d'une tête d'agitation destinée à recevoir le tube d'agitation. Le principe de fonctionnement est très simple puisqu'il suffit d'imposer une légère pression sur le tube pour déclencher la rotation de la tête d'agitation. Agitateur vortex utilisé est de marque VELP scientifica.

- **Bec Benzène**

Un bec Benzène est un appareil de laboratoire qui fonctionne avec du gaz combustible (le plus souvent du méthane, du propane ou du butane), qui produit une flamme ouverte, et sert à chauffer des préparations, à stériliser du matériel, à obtenir une zone de travail stérile sur paillasse ou à brûler des substances. Il est particulièrement utilisé en microbiologie et en chimie organique ou minérale et en génie chimique.

- **hotte de laboratoire**

Est un dispositif qui permet l'extraction des vapeurs toxiques des produits utilisés lors de manipulations. Sa fonction première est de protéger le manipulateur. Les vapeurs sont extraites du volume de travail puis, soit traitées par une filtration (à charbon et/ou à particules), soit rejetées vers l'extérieur.

Tableau IV.1 : Produits chimiques

Produits	Formule brute	Masse molaire (g/mol)	Pureté (%)
Hydroxyde de sodium	Na OH	40	98
Dihydrogénophosphate de sodium	Na H ₂ PO ₄	119.98	98
Phosphate de potassium monphasique	K H ₂ PO ₄	136.1	98
Sulfate de magnésium	Mg SO ₄	246.48	99
Sulfate d'ammonium	(NH ₄) ₂ SO ₄	132.14	99
Chlorure de fer	FeCl ₃	162.21	98
Glucose hydrate	C ₆ H ₁₂ O ₆ . H ₂ O	198.17	/
Phénol	C ₆ H ₆ O	94.11	89-92
Hydrogénophosphate de potassium	K ₂ HPO ₄	174.18	99
Chlorure de sodium	NaCl	58.44	/
Nitrate d'argent	AgNO ₃	169.88	99.92

IV.3. Techniques de caractérisation

IV.3.1. La spectrophotomètre UV-VIS

Le spectrophotomètre utilisé est un appareil mono-faisceau de marque UV mini-1240 Shimadzu. Il permet de quantifier les molécules présentes en solution, capables d'absorber des photons, dans la gamme de longueurs d'onde 200 -800 nm. L'absorbance (A) de la solution est calculée à partir de la loi de Beer Lambert :

$$A = \epsilon C l = \log \left(\frac{I_0}{I} \right)$$

Tel que ;

A: absorbance (sans unité)

ϵ : coefficient d'absorbance ($\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$)

C : la concentration de la solution en $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

l : le trajet optique (longueurs de la cuve en cm)

I_0 : Intensité du faisceau incident

I : Intensité transmise du faisceau traversant l'échantillon.

On considère en général que cette loi est vérifiée lorsque l'absorbance est inférieure à 2 [43].

Le spectrophotomètre utilisé est un appareil mono-faisceau de marque UV mini-1240 Shimadzu et les cuves utilisées en quartz .

Les échantillons sont analysés à la longueur d'onde (λ_{max}) correspondant au maximum d'absorption. Pour la détermination des longueurs d'onde maximales (λ_{max}) des différents produits pharmaceutiques, on a utilisé le spectrophotomètre UV-Visible de la marque NANOCOLOR

IV.3.2. Spectroscopie Infra-Rouge à Transformée de Fourier (en anglais F.T.I.R)

La spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet via les détections des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes sur le matériau.



Figure IV.2: photographie du Spectrophotomètre UV visible (à gauche) et Infrarouge (à droite)

La technique est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par l'échantillon. La détection des vibrations des liaisons chimiques entre deux atomes permet l'analyse des fonctions chimiques. Ainsi, une molécule illuminée par des radiations dans l'infrarouge peut absorber certaines d'entre elles à des longueurs d'onde correspondant aux fréquences de vibration des groupements chimiques qui la constituent [44].

IV.3.3. La diffraction des Rayons X (DRX)

La diffraction des rayons X (DRX) permet de déterminer la structure cristallographique d'un composé dans le cas d'échantillons purs. Elle peut aussi donner des informations sur la taille, la forme et les défauts des petits domaines au sein même des nanocristaux. Cette méthode de caractérisation structurale est basée sur l'observation des interférences 'constructives' des rayons X réfléchis par les différents plans (hkl) des structures cristallines. La production d'interférences constructives dépend de l'angle de diffraction des rayons X et de la distance inter-réticulaire d_{hkl} caractéristique de ces plans. La diffraction des rayons X est l'une des rares méthodes non-destructives permettant de distinguer les différentes formes polymorphiques d'un matériau [45].



Figure IV.3: photographie du l'appareil DRX.

IV.4. Protocoles expérimentaux

IV.4.1. Synthèse du gel d'oxyhydroxyde de fer III

Pour la synthèse du gel d'oxyhydroxyde de fer III, on a préparé une solution de 0.05M de FeCl_3 . Le pH de cette dernière est ajusté à 8 avec une solution de NaOH de concentration 1M.

La solution ajustée est centrifugée pendant 10min et sous une vitesse de 6000 tr/min. Le gel est rincé ensuite avec de l'eau distillée pour le débarrasser du chlore. En dernier, il est agité avec le vortex puis recentrifugé pour récupérer le sous-nageant qui doit être testé avec la solution AgNO_3 (0.3M). La transparence du sous-nageant indique que le chlore est complètement éliminé. Le gel de FeCl_3 est alors prêt après-l'ajout de la solution tampon.

IV.4.2. Culture des microorganismes et essais de dégradation

IV.4.2.1. Culture des microorganismes

La culture bactérienne est stockée à 4 ° C. Pour toutes les expériences, la biomasse cultivée a été inoculée dans 100 mL du milieu de culture pendant 24 h à 30 ° et récupérée par

centrifugation (6000 tr/min pendant 20 minutes). La biomasse obtenue est mise en suspension dans une solution contenant du NaCl à 0,5%.

Les expériences de biodégradation ont été réalisées dans des conditions aseptiques, 1 mL de la culture conservée a été inoculé dans 100 mL de milieu bouillon nutritif pendant 24h à 30°C et la biomasse obtenue est mise en suspension dans des solutions NaCl 0,5% comme précédemment définies. La composition du milieu de base est (g/L) :

- NaH_2PO_4 : 3,
- KH_2PO_4 : 3,
- MgSO_4 : 0,1,
- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$: 1,

Le pH est ajusté à 8 pour tous les essais.

IV.4.2.2. Préparation des solutions contenant les produits à dégrader

Le milieu de culture doit être mélangé avec les solutions des médicaments (amoxicilline, tétracycline, sulfaméthazine, acébutolol) de différentes concentrations et la solution de phénol en faisant l'ajustement de pH (100mL du milieu de culture + solutions de médicament + ajustement de pH. On a donc préparé les milieux de culture suivants :

- Milieu 1 : la solution de milieu de culture contient du glucose (0.75g/L).
- Milieu 2 : la solution de milieu de culture ne contient pas du glucose.
- Milieu 3 : les solutions préparées contiennent du phénol comme un premier substrat et le médicament comme un seconde substrat source de carbone.
- Milieu 4 : le médicament choisi au préalable est l'Acébutolol, les solutions préparées du médicament Acébutolol de différentes concentrations contiennent de phénol et sans gel d'oxyhydroxyde de fer III.
- Milieu 5 : les solutions préparées du médicament Acébutolol à différentes concentrations contiennent de phénol et avec gel d'oxyhydroxyde de fer III.

- ✓ Pour chacune des expériences, 1 mL de la biomasse obtenue est versé dans chaque erlenmeyer. A chaque prélèvement, l'échantillon est analysé à 600nm. Après centrifugation, il est analysé à 270nm et à différentes λ max des médicaments, à savoir
- ✓ λ max d'amoxicilline = 228 nm
- ✓ λ max d'acébutolol = 233.6 nm
- ✓ λ max de tétracycline=360nm
- ✓ λ max de sulfamethazine =260nm
- ✓ Le nombre de prélèvements et l'intervalle de prise d'échantillon est important car ils conditionnent la précision et la justesse des modèles cinétiques. En effet, obtenir les cinétiques de croissance bactérienne et de biodégradation des composés cibles, est ardue car la durée totale des expériences est approximativement de 10 jours, or, on ne peut à priori délimiter la durée de la zone de latence, ni le moment où la croissance démarre, ni la phase de décroissance. C'est la difficulté majeure inhérente à ce genre d'expériences mettant en jeu des bactéries ou des micro-organismes en général.

CHAPITRE V : **Résultats et Interprétations**

Dans ce chapitre, nous présenterons tout d'abord les résultats des premières manipulations avec les bactéries immédiatement après la préculture. Les essais préliminaires de la cinétique de croissance sont alors réalisés dans des conditions aseptisées en présence et en absence de glucose. L'ajout de glucose dans le milieu de culture est dicté par le souci de booster rapidement la prolifération des bactéries en apportant une source garantie (et habituelle) de carbone. On a testé ainsi plusieurs antibiotiques dont le choix est dicté par une double prérogative. La première est liée au fait de leur présence de plus en plus dans les eaux à cause de l'utilisation accrue de médicaments. Le deuxième point est la possibilité de suivi de ces molécules par la spectrophotométrie UV visible, seul moyen d'analyse disponible.

La deuxième partie de ce chapitre a trait à la cinétique de dégradation de l'antibiotique qui est préférentiellement consommé par les bactéries. A la place du glucose, on a rajouté dans le milieu de culture du phénol. Grâce à cette procédure expérimentale, deux objectifs sont atteints simultanément, l'accélération de la croissance bactérienne et la dégradation de deux polluants en même temps. En effet, ces bactéries 'reconnaissent' le phénol car elles proviennent de la souche sélectionnée auparavant. Grâce à cette source de carbone, elles vont croître plus rapidement. D'un autre côté, on ne sait pas l'avance le comportement de ces bactéries lorsqu'elles sont en contact à long terme avec l'antibiotique choisi. La présence de phénol garantit donc la préservation de leur milieu.

La troisième partie de cette étude concerne les résultats de l'encapsulation des bactéries dans le gel et des essais de dégradation du phénol après encapsulation. Avec ces essais, nous avons voulu apporter une contribution sur les moyens de préserver l'activité bactérienne en piégeant ces microorganismes dans des matrices/ou gels qui sont plus faciles aussi à manipuler lors du passage dans les plus grands réacteurs pouvant fonctionner en continu. Grâce à cette immobilisation, on se libère des étapes de filtration des échantillons avant les analyses.

V.1. Essais préliminaires en présence et en absence du glucose

Les figures ci-dessous représentent la croissance bactérienne (en termes de densités optiques des bactéries à 600 nm) en fonction de temps et cela pour les solutions de culture (consortium de bactéries). On a aussi représenté les courbes d'évolution des concentrations résiduelles différents substrats testés : amoxicilline, tétracycline, sulfaméthazine, acébutolol et le phénol, en présence et en absence du glucose comme deuxième substrat source de carbone. La

concentration initiale du glucose est de 0.75 g/L et la concentration des autres substrats est de 10 mg/L à l'exception du phénol qui est de 125 mg/L.

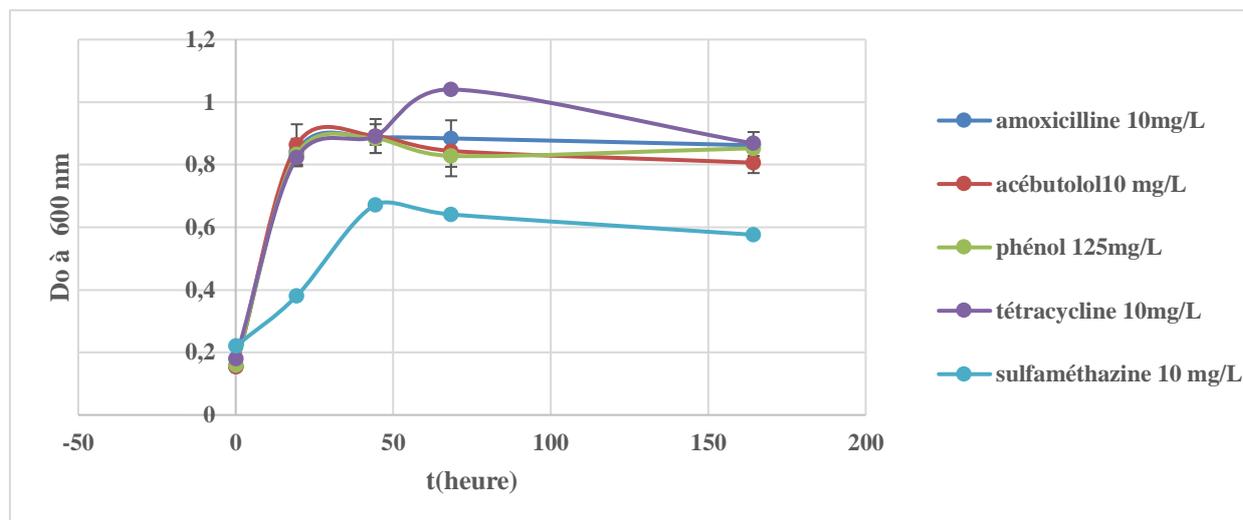


Figure V. 1. Courbes de croissance des bactéries en présence des différents substrats et du glucose.

Il est aisé d'observer sur la figure V.1 que malgré la présence des substrats toxiques tels que les antibiotiques (amoxicilline, tétracycline et la sulfaméthazine) et l'antihypertenseur (acébutolol) et le phénol, les bactéries présentent une croissance importante due à l'ajout du glucose comme deuxième source de carbone. La présence de ces composés toxiques n'a pas affecté leur multiplication.

L'effet de la présence et de l'absence du glucose est représenté sur la figure V.2, donnant la courbe de croissance dans le milieu contenant de l'amoxicilline. On ne peut conclure à l'effet de la toxicité de l'amoxicilline vis-à-vis des bactéries sous réserve de refaire encore des essais pour le confirmer. Cependant, en présence des deux sources de carbone, la croissance de ces bactéries est largement concluante.

Les courbes de croissance tracées sur la figure V.3 en présence de l'acébutolol et du glucose sont apparentées à celles de la figure V.2. Cela fait penser que les bactéries semblent ne pas être inhibées par la présence de ces deux médicaments.

Par contre de l'observation de la figure V.4, on dénote qu'en présence de la sulfaméthazine uniquement, la population initiale de bactéries décroît rapidement, et aucune croissance n'est enregistrée après le temps de latence habituel. En présence simultanée du glucose et de ce médicament, la croissance qui n'est pas aussi importante que celles des figures précédentes et

de plus, elle est ralentie après un temps de contact de 50h. Cette diminution est probablement à l'effet 'toxique' de sulfaméthazine

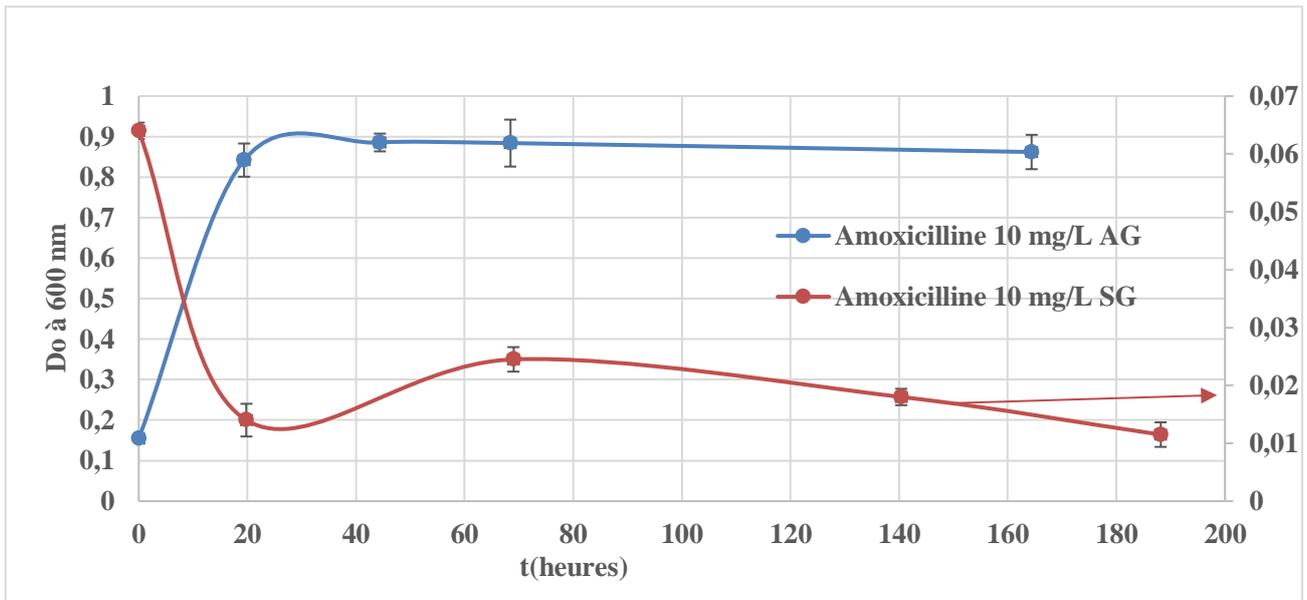


Figure V.2. Courbes de croissance des bactéries en présence de l'amoxicilline et du glucose (AG) et en absence du glucose (SG).

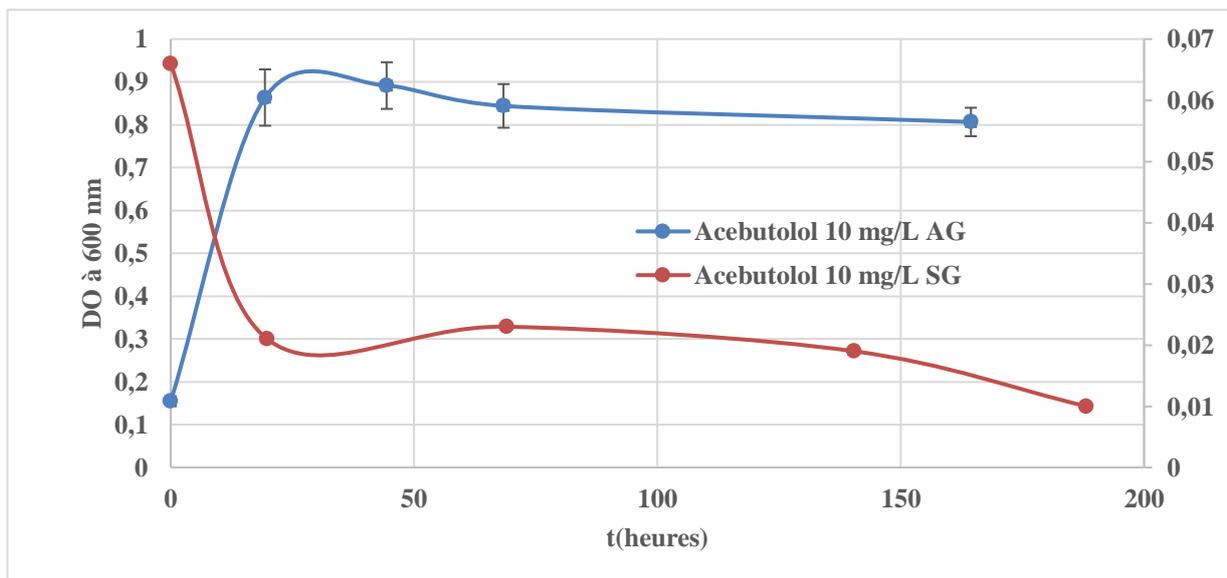


Figure V.3. Courbes de croissance des bactéries dans le milieu de culture contenant l'acébutolol et le glucose (AG) et l'acébutolol uniquement (SG).

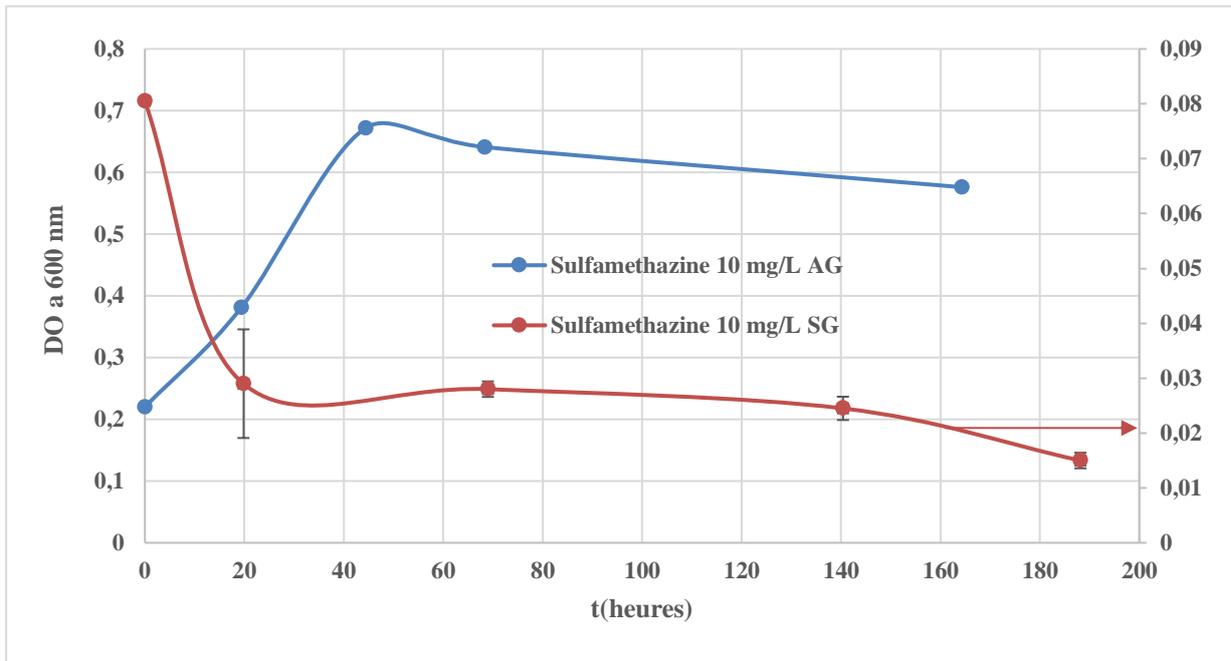


Figure V.4. Courbes de croissance des bactéries dans le milieu de culture contenant la sulfaméthazine et le glucose (AG) et la sulfaméthazine uniquement (SG).

A l'instar des autres médicaments, la tétracycline ne semble pas offrir une source de carbone adaptée à nos bactéries. En présence de glucose, le taux de croissance important ne semble pas être affecté par la présence de la molécule toxique.

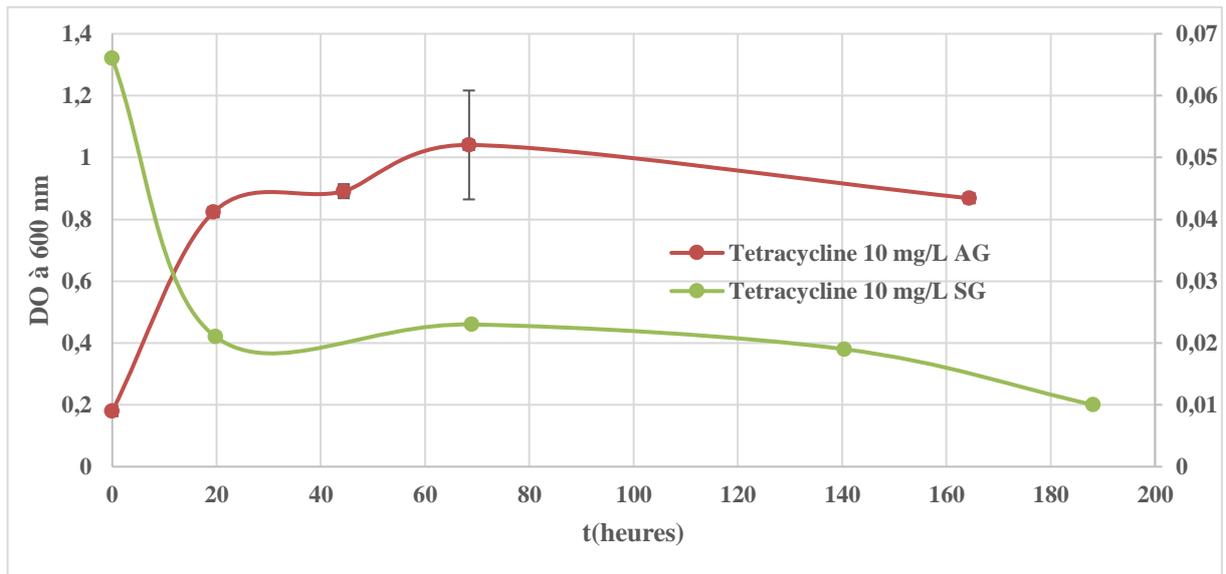


Figure V.5. Courbes de croissance des bactéries dans le milieu de culture contenant le phénol et le glucose (AG) et la tétracycline uniquement (SG).

Les courbes de croissances tracées sur la figure V.6 sont obtenues dans deux milieux de cultures l'un contenant le phénol et le glucose (AG) et l'autre du phénol uniquement (SG). Contrairement aux autres médicaments, la croissance bactérienne est importante même en absence de glucose. L'effet de la toxicité du phénol n'est pas vérifié, puisque sa présence n'a pas empêché la croissance bactérienne. Par contre les milieux contenant du glucose ont présenté une croissance plus importante comparativement à celle contenant que du phénol. Cette différence de croissance est due aux quantités initiales du glucose qui est de 750 mg/L qui est beaucoup plus grande que celle du phénol de 125 mg/L.

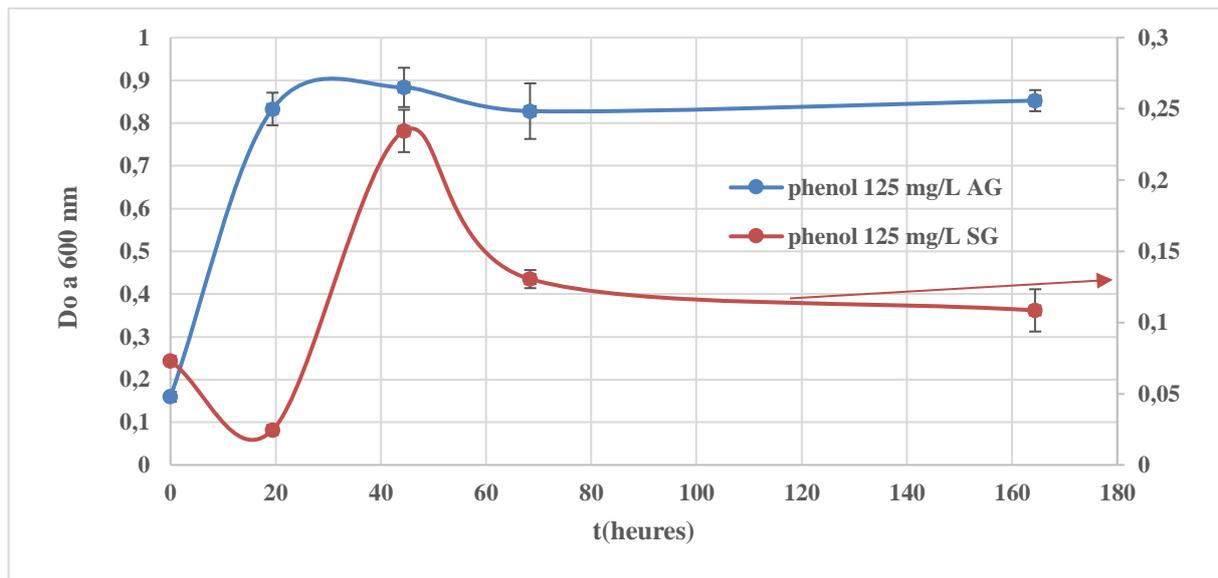


Figure V.6. Courbes de croissance des bactéries dans le milieu de culture contenant le phénol et le glucose (AG) et le phénol uniquement (SG).

En conclusion, en présence du glucose, la bactérie a l'air de s'adapter mieux qu'en absence de glucose. En effet, ce dernier est un substrat de prédilection de tous les milieux de culture à cause de la facilité de son assimilation (source de carbone) par les bactéries.

En outre de l'observation des courbes de croissance en absence et en présence de glucose, tout semble croire que malgré l'effet toxique de ces médicaments, qui induit une mortalité d'une partie de la charge initiale de bactéries, la croissance demeure importante.

Dans la partie qui suit, et à la lumière de ces résultats, nous avons voulu tester la possibilité de la croissance de bactéries dans un milieu dépourvu de glucose avec seulement le polluant choisi.

D'après ce qui précède, nous avons montré que ces bactéries consommaient le phénol même en absence de glucose. De ce fait, dans ce qui suit, nous avons suivi la croissance dans un milieu contenant le produit pharmaceutique et en présence de phénol. Les concentrations résiduelles de ces composés sont également mesurées en fonction du temps de contact.

V.2. Croissance bactérienne en présence des composés pharmaceutiques et du phénol

Les figures ci-dessous représentent la croissance bactérienne (représentée par la densité optique des bactéries à 600 nm) en présence de deux substrats. On a aussi représenté les concentrations résiduelles du phénol et du médicament (amoxicilline, tétracycline, sulfaméthazine, acébutolol) en fonction de temps et cela pour les solutions de culture contenant le consortium de bactéries.

V.2.1. Essais de dégradation du Phénol et de l'Acébutolol :

Quand les essais de croissance des bactéries sont réalisés dans un milieu de culture en absence de glucose et en présence de deux composés polluants : le phénol et l'acébutolol, on a enregistré les figures ci-dessous.

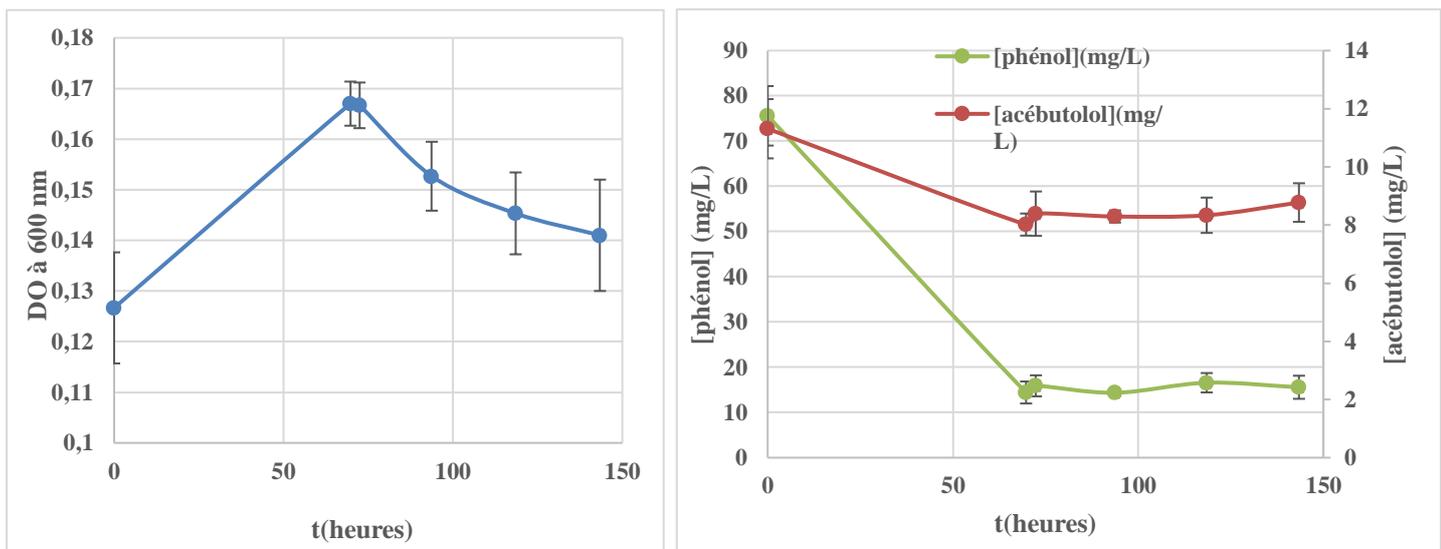


Figure V.7. Courbes croissance (à gauche) et évolution des concentrations résiduelles de phénol et de l'acébutolol en fonction du temps (à droite).

De l'observation de la courbe de croissance, il ressort que les bactéries sont bien acclimatées à la présence des deux substrats : la durée de leur croissance coïncide avec la durée de la décroissance de la concentration de ces composés. Au bout de 72 heures de temps de contact, la croissance atteint son maximum et les concentrations résiduelles leurs minimum. Un palier est enregistré pour ces dernières alors que les bactéries semblent entrer dans une période de déclin ? On peut supposer qu'elles se sont empoisonnées avec ces polluants ou bien par manque de nutriments, car le phénol et l'acébutolol constituent une source de carbone. Par ce déficit, elles meurent alors après qu'elles se sont arrêtées de se multiplier.

V.2.2. Essais de dégradation du phénol et de l'Amoxicilline

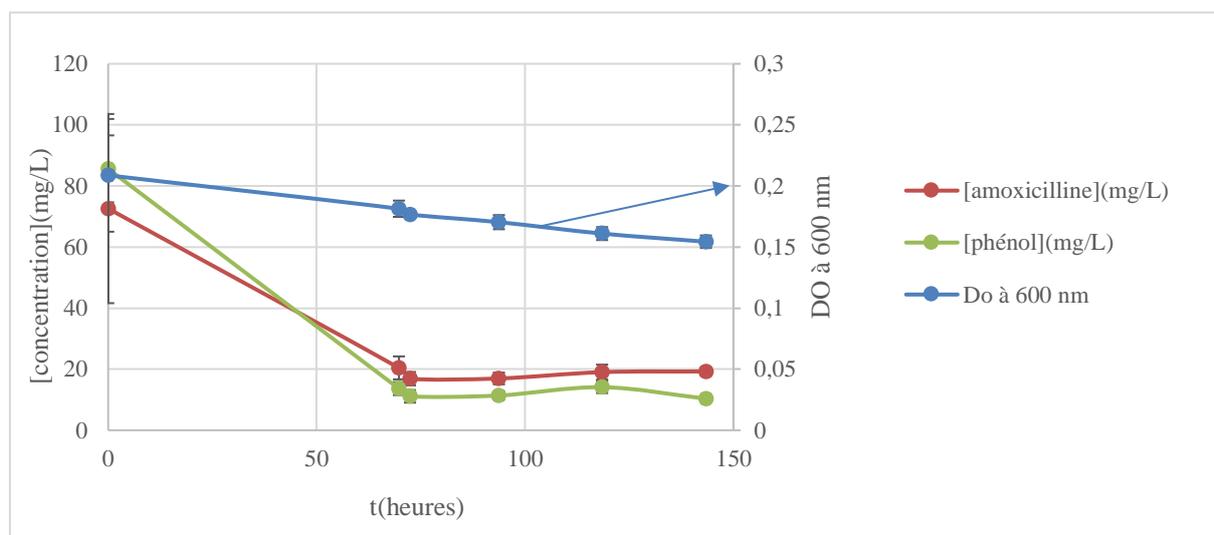


Figure V.8. Evolution de la croissance bactérienne en présence du phénol et de l'amoxicilline et des concentrations résiduelles de ces composés en fonction du temps.

Sur cette figure, il est facile de remarquer que les bactéries en contact avec les deux substrats subissent une décroissance de leur population. Ce déclin est sûrement dû à leur empoisonnement avec ces deux composés étant donné que leurs concentrations en solution diminuent et un rendement de dégradation supérieur à 80% est atteint.

V.2.3 Essais de dégradation du phénol et de la tétracycline

Comparativement aux résultats obtenus avec l'amoxicilline, les bactéries en présence de la tétracycline et du phénol semblent se retrouver dans de meilleures conditions de croissance (figure V.10). On remarque aussi que la fraction convertie de la tétracycline passe par un maximum aux environs de 72h mais au bout d'un temps de 150h de contact avec les bactéries, la teneur en solution redevient égale à la valeur initiale. Ce résultat est probablement lié à un effet de rejet de ces molécules par les bactéries. Par contre, on peut supposer que la croissance de ces bactéries est essentiellement liée à la consommation du phénol. Ainsi cette croissance bactérienne n'est pas inhibée par la toxicité de la tétracycline.

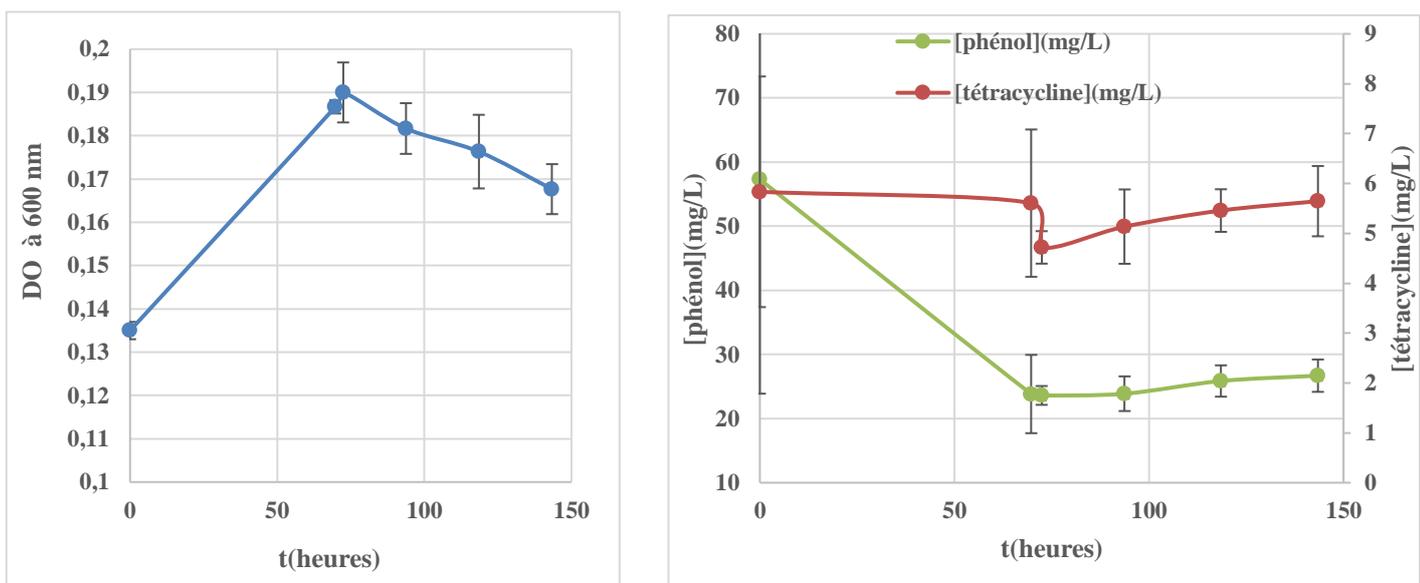


Figure V.9. Evolutions en fonction du temps de contact de la croissance (à gauche) et des concentrations résiduelles (à droite) dans la solution contenant le phénol et la tétracycline.

V.3. Effet de la concentration initiale sur la croissance et le rendement de dégradation

Sur la figure ci-dessous, sont représentées les courbes de croissance bactérienne obtenues dans un milieu de culture contenant deux substrats : le phénol et l'acébutolol. Les concentrations initiales ont été variées de 62.5 à 126 mg/L pour le phénol et entre 6.5mg/L et 60.9 mg/L pour l'acébutolol.

Comme prévu, une forte concentration en substrats produit une quantité élevée de biomasse à la fin de la phase de croissance exponentielle. Pour tous ces essais, la valeur initiale du pH a été fixée à 8. A l'instar des résultats rapportés par Hamitouche et al (2011), une diminution du pH a été observée avec l'augmentation de la biomasse.

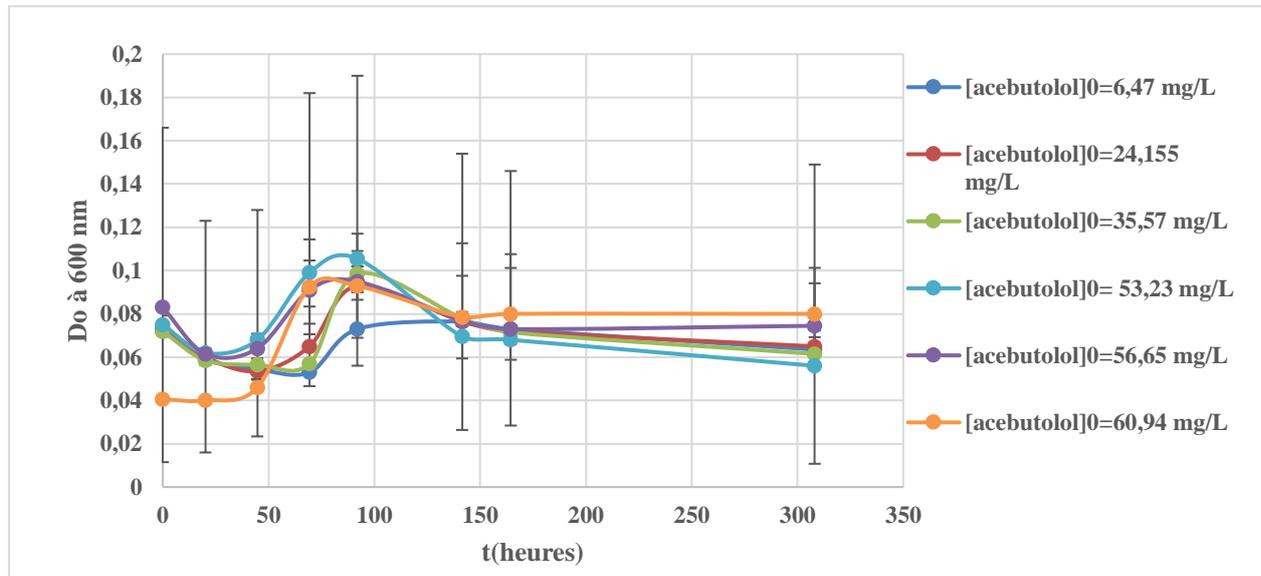


Figure V.10. Courbes de croissances enregistrées pour différentes concentrations initiales de l'acébutolol et du phénol.

De l'examen de la figure suivante donnant la DO_{max} en fonction de la concentration totale initiale en substrats, on constate qu'à partir d'une valeur de concentration de l'ordre de 145mg/L, une diminution de la DO_{max} est enregistrée. Cette diminution de cette population bactérienne est sûrement liée au taux de mortalité qui devient prépondérant par rapport à la croissance due à l'effet des deux substances.

D'après ces figures, obtenues en appliquant les modèles de la cinétique microbienne, les points expérimentaux ne sont pas convenablement lissés. En plus des erreurs de reproductibilité, assez importantes, représentées par les barres des erreurs, des erreurs d'ajustements sont non négligeables notamment pour les grandes concentrations. Rappelons que le modèle de Monod s'applique au cas où la cinétique de croissance est limitée par le substrat dans ce cas l'apport de nutriment au niveau des bactéries est le phénomène limitant. Le modèle de Haldane est appliqué quand il existe une forme d'inhibition par une trop grande concentration en substrat. Notons que ces deux modèles donnent la même allure de variation ce qui fait avancer que pour les gammes de concentrations considérées, l'inhibition peut être négligée.

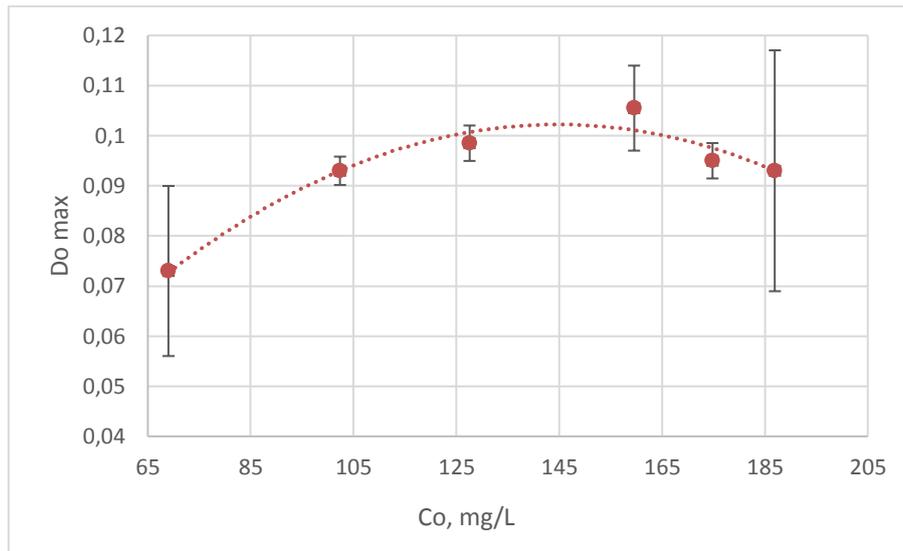


Figure V.11. Effet de la concentration initiale totale de l'acébutolol et du phénol sur la croissance maximale.

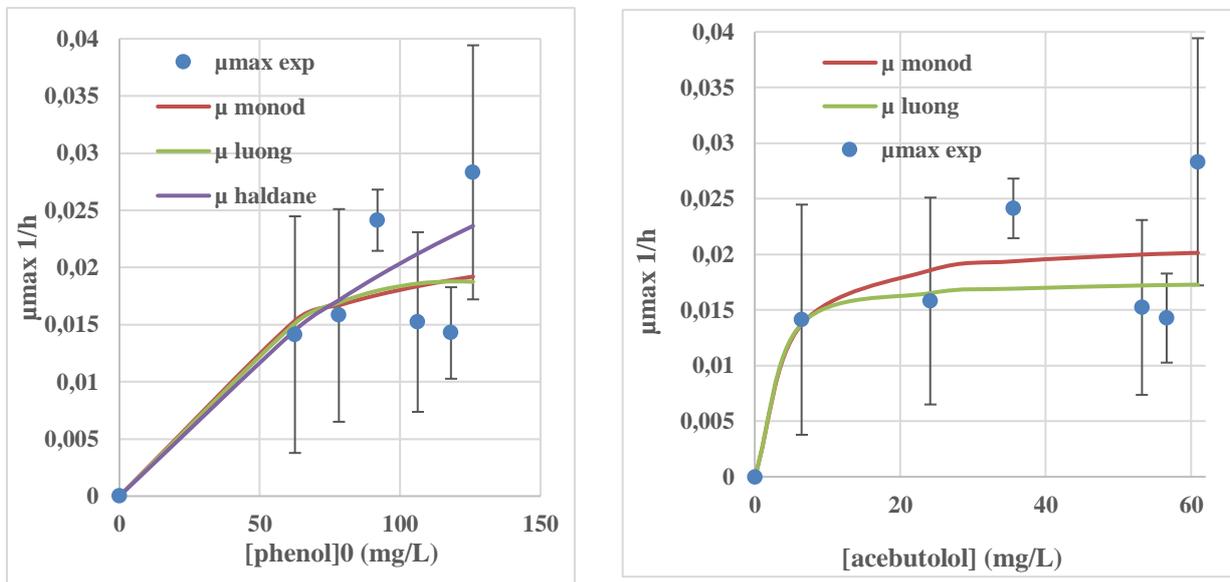


Figure V.12. Evolution de la vitesse de croissance spécifique (μ_{max} en fonction de la concentration du phénol (à gauche) et de l'acébutolol (à droite) Application des modèles de la cinétique microbienne aux données expérimentales.

Il est intéressant de relier ces résultats de croissance en termes de vitesse spécifique et de quantité maximale de biomasse formée, aux données de dégradation du phénol et de

l'acébutolol. Ainsi, les rendements sont d'autant plus élevés que les solutions sont diluées et cela pour les deux molécules.

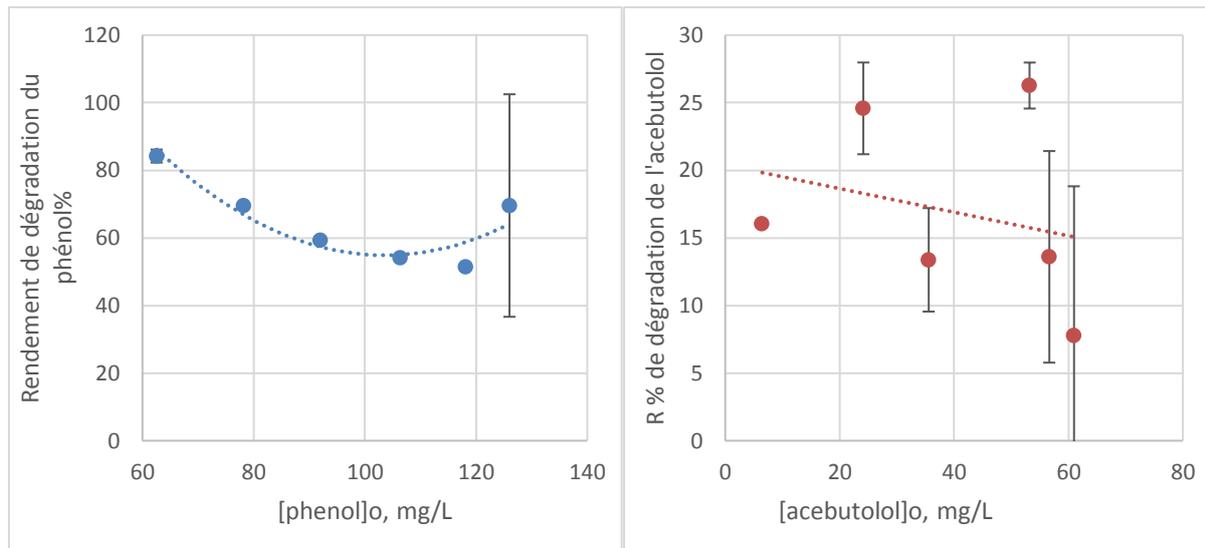


Figure V.13. Effet de la concentration initiale de l'acébutolol et du phénol sur le taux de croissance bactérienne en fonction de C_0 .

V.4. Rendement de dégradation après encapsulation des bactéries

Les graphes suivants donnant les rendements de la dégradation du phénol pour deux durées de contact avec les bactéries sont obtenus dans le milieu de culture précédemment utilisé (sans gel) et un milieu avec les bactéries piégées dans le gel. Le but de l'encapsulation des bactéries est la possibilité de conserver leur viabilité longtemps dans les conditions normales. Quand elles sont ainsi dans cet environnement, leur croissance est ralentie. De plus, à cause de cette 'immobilisation', on peut supposer que les bactéries perdront de leur activité, car les nutriments ne lui parviendront pas rapidement.

Si l'on observe les résultats des figures ci-dessous, on peut conclure à priori que le rendement de dégradation du phénol est plus faible quand les bactéries sont piégées dans le gel et cela quel que soit la teneur initiale en substrats. En général aussi, le rendement est meilleur pour les faibles teneurs en polluants, Les bactéries semblent ne pas s'adapter à une forte concentration en 'polluants'. Bien que pour les fortes teneurs en phénol et acébutolol, on enregistre un regain de rendement.

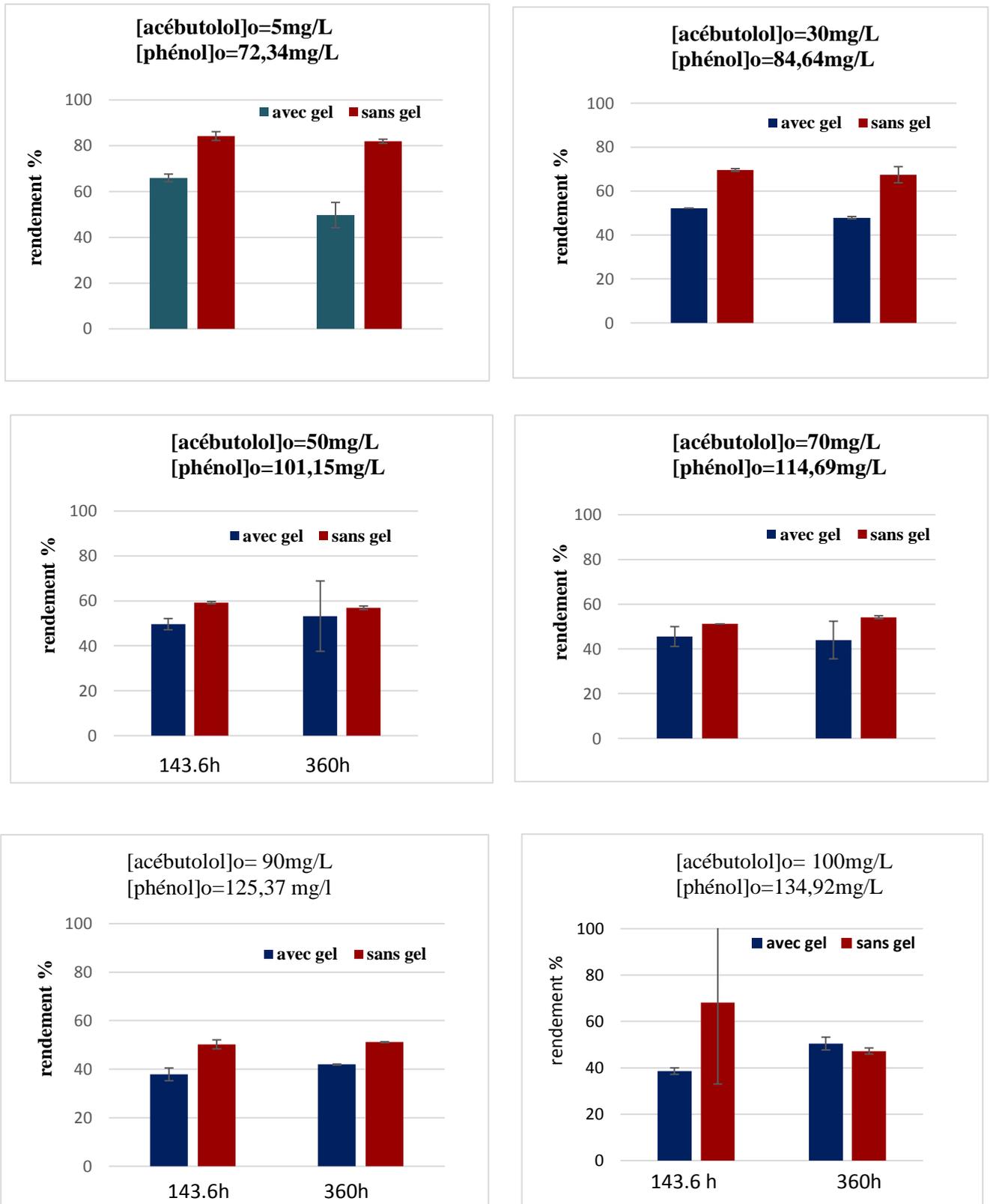


Figure V.14: comparaison des rendements de dégradation du phénol dans un milieu de culture avec gel et sans gel et pour deux temps de contact avec les bactéries et pour des concentrations initiales en phénol et en acébutolol variables.

Sur la figure qui suit, l'évolution du rendement de dégradation a été tracée en fonction de la teneur totale de ces 2 substrats. En effet, dans les organismes vivants, leurs effets s'additionnent et donc, si des microorganismes sont en présence de traces de plusieurs substances, c'est la quantité totale qui peut ou non arrêter leur croissance. C'est ce que l'on observe sur ces figures, notamment au temps de 143.6h, où le rendement avec ou sans gel décroît avec l'augmentation de la teneur de ces composés. Par contre, au bout de 360h de temps de contact, il y'a une différence de comportement des bactéries, dans le milieu avec gel, le rendement est presque invariable.

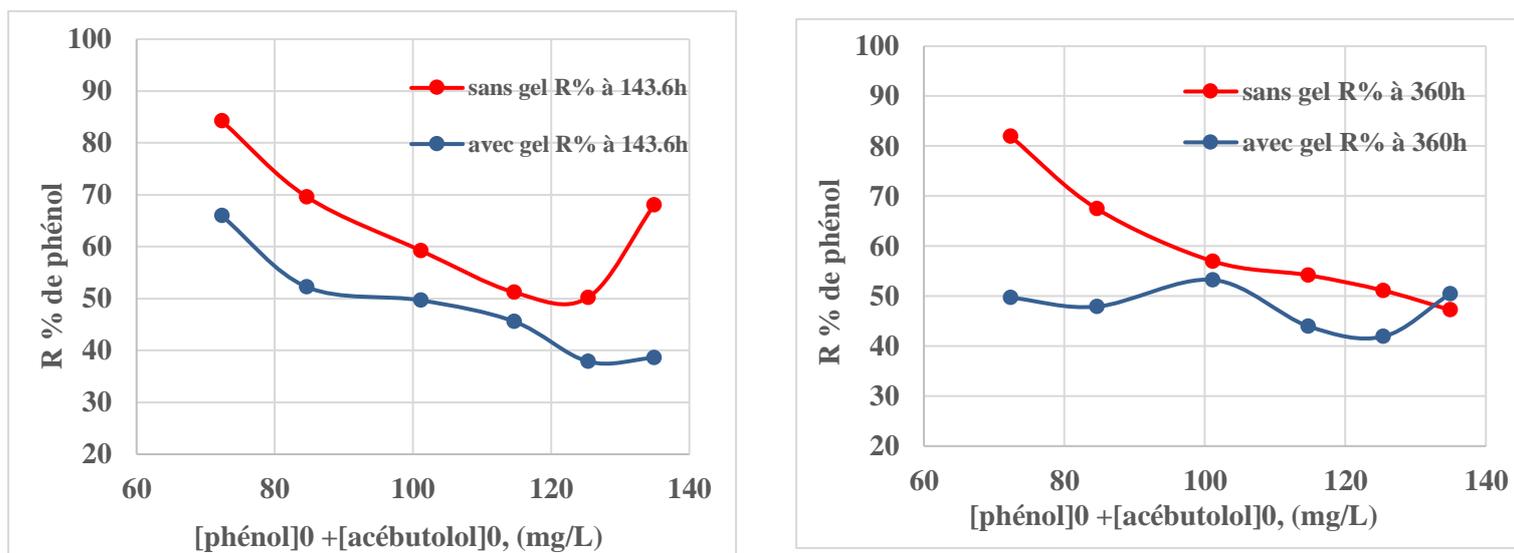


Figure V.15: effet de la concentration totale initiale en phénol et acébutolol sur le rendement de dégradation du phénol avec le gel et en sans gel. Rendements obtenus pour un temps de contact de 143.6 h (à gauche) de 360 h (à droite).

Finalement, les résultats auxquels on est arrivé dans cette partie, bien qu'ils ne soient pas concluants, ils dressent quand même des directives à suivre si on veut encore creuser dans ce domaine de recherche. Les techniques d'immobilisation, de fixation, d'encapsulation de confinement etc. de bactéries ou de microorganismes en général sont nombreuses et variées. Elles visent toutes à conférer à ces êtres vivants un milieu protégé. Cependant, les expériences dans ce domaine ne sont pas toujours faciles à mettre en œuvre au laboratoire avec les moyens rudimentaires que nous disposons. Malgré ces carences, et aussi aux difficultés liées à la reproductibilité des mesures, les résultats que l'on a obtenus nous permettent d'envisager

d'autres orientations à prendre pour la poursuite de l'étude des procédés de biodégradation des polluants.

V.5 caractérisations de la matrice d'oxyhydroxyde de fer (III)

V.5.1 Caractérisation par Diffraction des rayons X

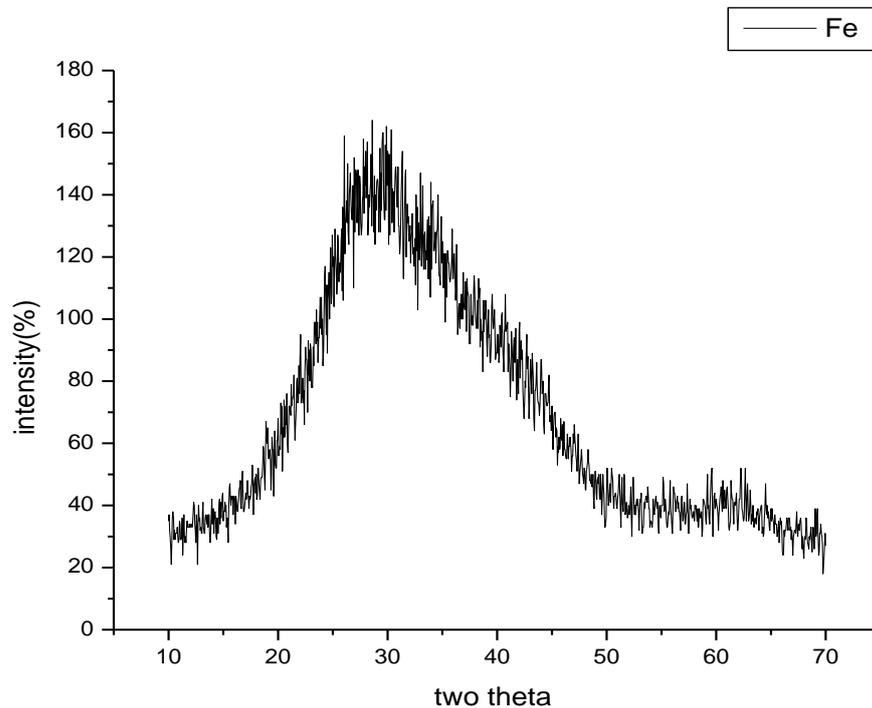


Figure V.16 : Diagramme de diffraction des rayons X de gel d'oxyhydroxyde de fer TP.

Le diagramme DRX de gel d'oxyhydroxyde de fer TP (Figure V.16) montre clairement la présence d'un large pic observable à $2\theta = 30^\circ$. Ce dernier est caractéristique de la ferrihydrite [16].

V.5.2 Caractérisation par spectroscopie infrarouge

Le spectre IRTF du gel d'oxyhydroxyde de fer TP est représenté sur la (Figure V.17). Les bandes de vibration infrarouge caractéristiques du gel d'oxyhydroxyde de fer TP ont été identifiées dans la littérature par *Towe, K. M. et al, Jambor et al* [16].

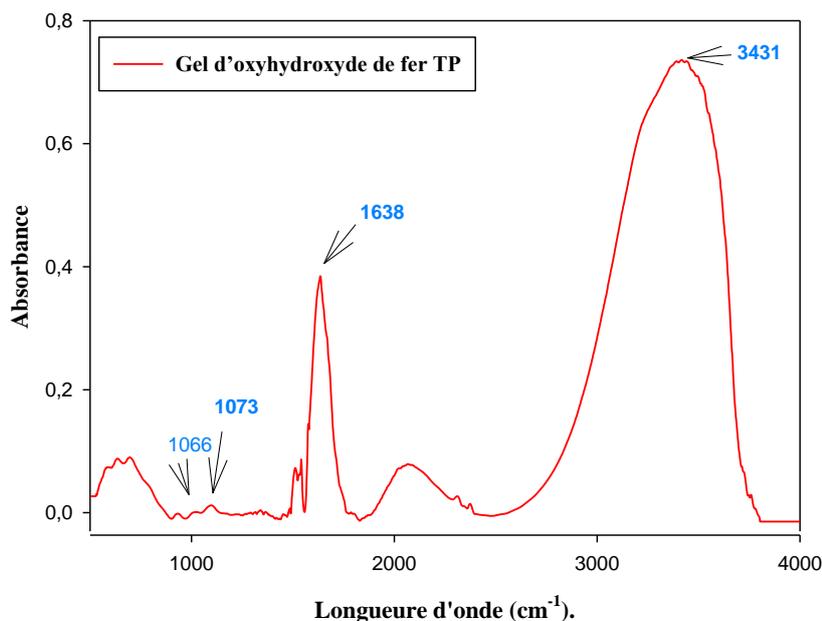


Figure V.17 : Spectres IRTF de du gel d'oxyhydroxyde de fer TP (4000- 500cm⁻¹).

La bande d'absorptions située à 3431 cm⁻¹ est attribuée aux vibrations $\nu(\text{OH})$ de liaisons OH des molécules d'eau contenues dans le gel.

On observe sur le spectre la présence d'une bande centrée à 1638 cm⁻¹ de forte intensité attribuée à la vibration d'élongation de groupement hydroxyle O-H des molécules d'eau adsorbées à la surface du matériau.

On note également la présence de deux bandes d'absorption centrées de moindre intensité à 1073 cm⁻¹ et 1066 cm⁻¹ la première bande (1073 cm⁻¹) attribuée aux ions phosphate (ions phosphate libres) ; et la deuxième bande (1066 cm⁻¹) a la bande de déformation des groupements OH de l'oxyhydroxyde de fer (ferrihydrite).

Conclusion Générale

Le choix du sujet traité dans ce mémoire et réalisé au laboratoire de Génie des Réacteurs du département de Génie des procédés n'est pas fortuit puisqu'il a été dicté par l'urgence des questions soulevées par la problématique de la protection de l'environnement. En effet, notre environnement est de plus en plus menacé par les énormes quantités de déchets solides et d'effluents contaminés par les polluants organiques et/ou minéraux non biodégradables rejetés chaque jour. La valorisation d'une partie de ces déchets pourrait contribuer à réduire les effets de la pollution d'une part, et d'autre part, à préserver les ressources naturelles pour les générations futures [20].

Le but de notre étude est l'élimination de polluants d'origine pharmaceutique par procédés biologiques combinés au procédé sol-gel.

De façon générale, à l'instar de tous les êtres vivants, la croissance des microorganismes est conditionnée par la présence de nutriments ou de poisons dans leur environnement. L'encapsulation de ces espèces, notamment des bactéries, permet, d'après la littérature, de préserver l'activité dans un environnement immédiat, qui les protège de l'extérieur. Cette technique requiert des conditions expérimentales maîtrisées afin qu'elles soient favorables à leur activité. Le procédé sol-gel s'avère être une voie intéressante pour la synthèse de matériaux dans des conditions biocompatibles. La précipitation d'un sel de fer nous a permis d'obtenir des particules de ferrihydrite dont la taille est nanométrique. La synthèse d'un gel à partir de ces colloïdes est possible par le procédé sol-gel. Le gel obtenu est mésoporeux, avec une large surface spécifique.

Les études précédentes ont montré que la présence de particules d'hydroxyde de fer dans le milieu de culture favorise la croissance des bactéries ; Le nombre de bactéries initialement introduit dans le gel peut donc être récupéré par l'addition de nutriments et cela dans le cas de la matrice d'oxyhydroxyde de fer III.

Les résultats obtenus dans ce mémoire ont montré qu'il est possible de dégrader des composés pharmaceutiques et le phénol en mettant en contact des solutions de concentration atteignant les 100mg/L grâce à ces bactéries issues de la souche sélectionnée. Le résultat de dégradation le plus important est obtenu pour le phénol et l'acébutolol.

Trois modèles de la cinétique ont été appliqués aux données de la vitesse spécifique maximale de croissance en fonction des concentrations du phénol et de l'acébutolol. Deux modèles, ceux de Monod et de Haldane, donnent la même allure de variation ce qui fait avancer que pour les gammes de concentrations considérées, l'inhibition peut être négligée. D'un autre côté, les rendements de dégradation les plus élevés sont enregistrés pour les solutions diluées.

Les rendements de dégradation obtenus par dans les milieux de culture avec des bactéries encapsulées, sont tous inférieurs à ceux atteints avec des bactéries 'libres'. Bien que ces résultats ne soient pas concluants, ils nous permettront d'améliorer les techniques d'immobilisation et le choix des conditions opératoires. Rappelons que les essais expérimentaux dans ce domaine ne sont pas toujours faciles à mettre en œuvre au laboratoire avec les moyens rudimentaires que nous disposons. En outre, les analyses des échantillons et de caractérisation des matériaux sont déficitaires. Malgré ces carences, et aussi aux difficultés liées à la reproductibilité des mesures, les résultats que l'on a obtenus nous permettent d'envisager d'autres orientations à prendre pour la poursuite de l'étude des procédés de biodégradation des polluants.

Références bibliographiques

- [1] J. T. Sherer, "Pharmaceuticals in the environment," *American Journal of Health-System Pharmacy*, vol. 63, no. 2, pp. 174–178, 2006.
- [2] C. Popa *et al.*, "Potential of newly isolated wild *Streptomyces* strains as agents for the biodegradation of a recalcitrant pharmaceutical, carbamazepine," *Environmental Technology (United Kingdom)*, vol. 35, no. 24, pp. 3082–3091, 2014.
- [3] M. McGuinness and D. Dowling, "Plant-associated bacterial degradation of toxic organic compounds in soil," *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 6, no. 8, pp. 2226–2247, 2009.
- [4] T. J. Gentry, C. Rensing, and I. L. Pepper, "New approaches for bioaugmentation as a remediation technology," *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, vol. 34, no. 5, pp. 447–494, 2004.
- [5] S. Semrany, L. Favier, H. Djelal, S. Taha, and A. Amrane, "Bioaugmentation: Possible solution in the treatment of Bio-Refractory Organic Compounds (Bio-ROCs)," *Biochemical Engineering Journal*, vol. 69, pp. 75–86, 2012.
- [6] I. E. Godleads Omokhagbor, Prekeyi Tawari Fufeyin, Samson Eruke Okoro, "Bioremediation, Biostimulation and Bioaugmentation," *International Journal of Environmental Bioremediation and Biodegradation*, vol. 3, no. 1, pp. 28–39, 2015.
- [7] Y. Liu, F. Wang, X. Chen, J. Zhang, and B. Gao, "Cellular responses and biodegradation of amoxicillin in *Microcystis aeruginosa* at different nitrogen levels," *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 111, pp. 138–145, 2015.
- [8] J. Q. Xiong *et al.*, "Toxicity of sulfamethazine and sulfamethoxazole and their removal by a green microalga, *Scenedesmus obliquus*," *Chemosphere*, vol. 218, pp. 551–558, 2019.
- [9] X. Wu *et al.*, "Whole genome sequencing and comparative genomics analyses of *Pandoraea* sp. XY-2, a new species capable of biodegrade tetracycline," *Frontiers in Microbiology*, vol. 10, no. JAN, pp. 1–19, 2019.
- [10] A. Y. C. Lin, C. A. Lin, H. H. Tung, and N. S. Chary, "Potential for biodegradation and sorption of acetaminophen, caffeine, propranolol and acebutolol in lab-scale aqueous environments," *Journal of Hazardous Materials*, vol. 183, no. 1–3, pp. 242–250, 2010.
- [11] G. Lohmann, K. Erfurth, and R. Turner, "Pt Sc Sc," *Evaluation*, vol. 49, no. 0, 2011.
- [12] E. Acikgoz and B. Ozcan, "Phenol biodegradation by halophilic archaea," *International Biodeterioration and Biodegradation*, vol. 107, pp. 140–146, 2016.
- [13] M. Amoura, C. Roux, S. Masse, N. Steunou, and T. Coradin, "Bacteria encapsulation in colloidal inorganic matrices: Is it a general method?," *Comptes Rendus Chimie*, vol. 13, no. 1–2, pp. 52–57, 2010.
- [14] S. Mokhtari, S. M. Jafari, M. Khomeiri, Y. Maghsoudlou, and M. Ghorbani, "The cell wall compound of *Saccharomyces cerevisiae* as a novel wall material for encapsulation of probiotics," *Food Research International*, vol. 96, pp. 19–26, 2017.
- [15] M. Amoura *et al.*, "Bacteria encapsulation in a magnetic sol-gel matrix," *Journal of Materials Chemistry*, vol. 19, no. 9, pp. 1241–1244, 2009.
- [16] L. U. Pierre and E. T. Marie, "Elaboration de nouvelles matrices minérales pour l'encapsulation cellulaire : Approche colloïdale," 2008.
- [17] C. dos Santos, Á. Vargas, N. Fronza, and J. H. Z. dos Santos, "Structural, textural and morphological characteristics of tannins from *Acacia mearnsii* encapsulated using sol-gel methods:

- Applications as antimicrobial agents,” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 151, pp. 26–33, 2017.
- [18] J. Livage, “Les procédés sol-gel – The sol-gel process,” 2015.
- [19] A. L. et TOULOUMHocine, “Modélisation et optimisation par les plans d’expériences du procédé d’oxydation électrochimique directe de la tétracycline sur une électrode en feutre de carbone,” 2013.
- [20] KAABACHE Loubna et ZENNACHE Meriem, “Elimination de polluants d’origine pharmaceutique par adsorption sur des adsorbants préparés à partir de grignons d’olives. Adsorption seule et en mélange,” Université de Bejaia, 2018.
- [21] C.-P. Yu and K.-H. Chu, “Occurrence of pharmaceuticals and personal care products along the West Prong Little Pigeon River in east Tennessee, USA,” *Chemosphere*, vol. 75, no. 10, pp. 1281–1286, Jun. 2009.
- [22] R. Bentley and J. . Bennett, “What Is an Antibiotic? Revisited,” 2003, pp. 303–331.
- [23] C. H. et T. Kenzia, “Dégradation de la chlorotétracycline par photocatalyse en utilisant une hydroxyapatite préparée et le PC500,” Université de Béjaia, 2016.
- [24] “Tétracycline — Wikipédia.” [Online]. Available: <https://fr.wikipedia.org/wiki/Tétracycline>. [Accessed: 01-Jul-2019].
- [25] J. P. Bound, K. Kitsou, and N. Voulvoulis, “Household disposal of pharmaceuticals and perception of risk to the environment,” *Environmental Toxicology and Pharmacology*, vol. 21, no. 3, pp. 301–307, 2006.
- [26] “Sulfamethazine - Recherche Google.” [Online]. Available: https://www.google.com/search?q=Sulfamethazine&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwiVv53Fo-ziAhX12eAKHVe1BgYQ_AUIECgB&biw=1242&bih=597. [Accessed: 01-Jul-2019].
- [27] L. Valvo *et al.*, “Investigation of a new amoxicillin sodium impurity unstable in solution,” *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 15, no. 4, pp. 487–493, 1997.
- [28] “Notice patient - AMOXICILLINE SANDOZ 125 mg/5 ml, poudre pour suspension buvable - Base de données publique des médicaments.” [Online]. Available: <http://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=65183581&typedoc=N>. [Accessed: 01-Jul-2019].
- [29] W. M. Haynes, *CRC handbook of chemistry and physics : a ready-reference book of chemical and physical data*, 91st ed. Boca Raton: CRC Press, 2009.
- [30] W. DAHMEN, “Memoire Online - Etude des interactions physicochimiques des bêtabloquants avec les excipients - Wiem DAHMEN,” INSAT, 2013.
- [31] M. G. E. Hassiba and Devant, “Modélisation et Optimisation de procédés d’adsorption sur du charbon actif dans les réacteurs à lit fixe. Application au traitement des eaux phénoliques,” Universi té Abderrahmane Mira- Bejaia, 2013.
- [32] B. Salima, B. Sonia, C. Sp, E. Cin, and C. Actif, “Etude Cinétique et Optimisation par la Méthode des Surfaces de Réponses de L’adsorption du Phénol sur le Charbon Actif,” Université de Bejaia, 2016.
- [33] A. S. A. et M. Abdelghani, “Etude de la biodégradation de deux polymères biodégradables (PLA et PCL) et de leurs mélanges binaires en absence et en présence de la Cloisite 30B,” Université de Bejaia, 2014.
- [34] H.Linda,A.Nadira, “Etude de la biodégradationde Nanocomomposites polylacine/cloisite 30B par Enfouissement,” Université de béjaia, 2010.

- [35] K. Acharya *et al.*, “A quantitative structure-biodegradation relationship (QSBR) approach to predict biodegradation rates of aromatic chemicals,” *Water Research*, vol. 157, pp. 181–190, 2019.
- [36] HETATACHE Aboubakr, “*Modélisation Floue De Type Takagi-Sugeno Appliquée A Un Bioprocédé*,” Université de FERHAT ABBAS – SETIF-1-UFAS (ALGERIE), 2014.
- [37] J. R. Lobry and B. Lyon, “De Monod . Effet Des Antibiotiques Sur L ’ Energie De Maintenance,” 2009.
- [38] T. Al-Khalid and M. H. El-Naas, “Aerobic biodegradation of phenols: A comprehensive review,” *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, vol. 42, no. 16, pp. 1631–1690, 2012.
- [39] A. E. Hamitouche, Z. Bendjama, A. Amrane, F. Kaouah, and D. Hamane, “Relevance of the Luong model to describe the biodegradation of phenol by mixed culture in a batch reactor,” *Annals of Microbiology*, vol. 62, no. 2, pp. 581–586, 2012.
- [40] N. Imadalou-Idres, A. H. Boudrioua, S. Bacha-Bourouina, and S. Benallaoua, “Optimization of Physico-Chemical Conditions for Growth and Anti-Archaeal Production By Haloarcula Sp. Swo25,” *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, vol. 7, no. 6, pp. 547–554, 2018.
- [41] J. H. Espenson, *Chemical kinetics and reaction mechanisms*. McGraw-Hill, 1981.
- [42] “Modèles cinétiques.” [Online]. Available: <http://hmf.enseiht.fr/travaux/CD0304/optsee/bei/5/binome5/annexe1.htm>. [Accessed: 02-Jul-2019].
- [43] B. Nawal, “Synthèse de nouveaux complexes de bases de Schiff de métaux de transition asymétriques de cuivre et de nickel contenant un résidu pyrrolique électropolymérisable,” UNIVERSITE FERHAT ABBAS-SETIF MEMOIRE, 2011.
- [44] K. A. et K. CYLIA, “BIO-REGENERATION DU CHARBON ACTIF,” Université A. MIRA – BEJAIA, 2019.
- [45] D. Wided, “Nanoparticules d’or et d’argent déposées sur oxyde de cérium synthétisées sous irradiation,” UNIVERSITE MENTOURI CONSTANTINE, 2010.

Annexe

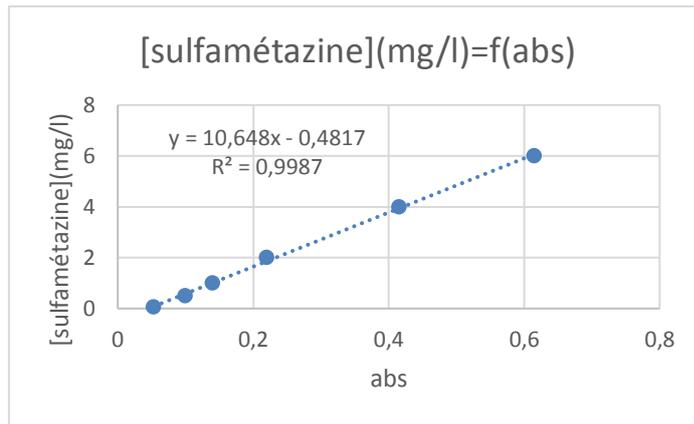


Figure 1 : Courbe d'étalonnage pour le dosage de la Sulfaméthazine (SMT)

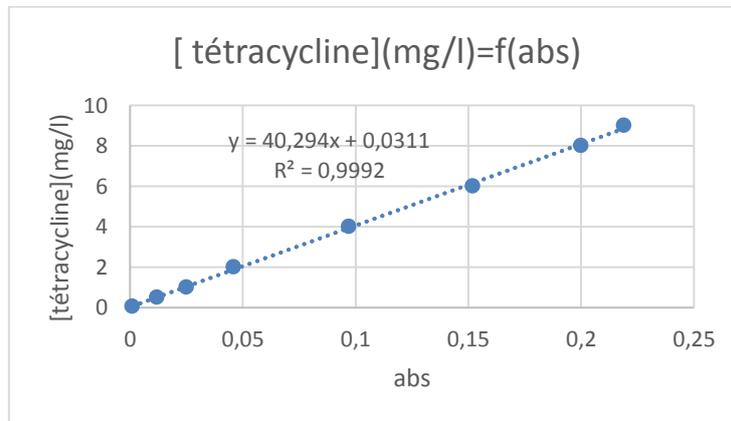


Figure 2 : Courbe d'étalonnage pour le dosage de la Tétracycline (TC)

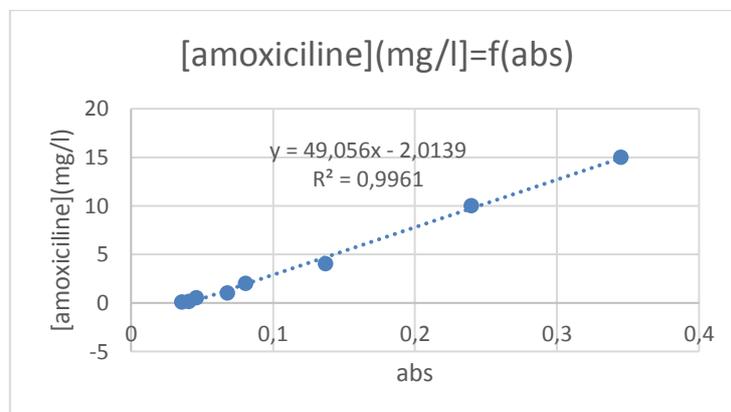


Figure 3 : Courbe d'étalonnage pour le dosage de l'amoxicilline (Amx)

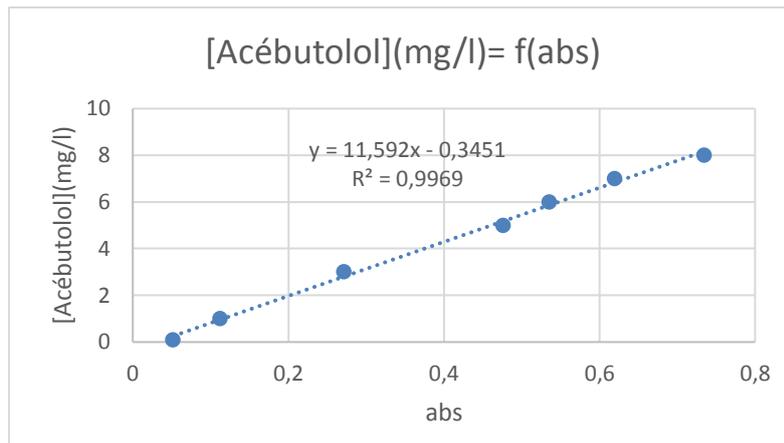


Figure 4 : Courbe d'étalonnage pour le dosage de l'acébutolol (AC)

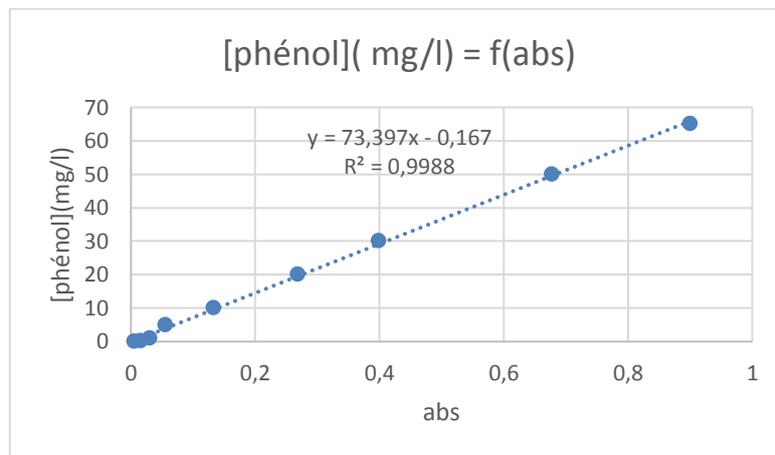


Figure 5 : Courbe d'étalonnage pour le dosage de phénol

Résumé

Cette étude a pour objectif d'élimination des polluants d'origine pharmaceutique par un procédé biologique combinés au procédé sol-gel.

Le procédé sol-gel s'avère être une voie intéressante pour la synthèse de matériaux dans des conditions biocompatibles. La synthèse d'un gel à partir de ces colloïdes est possible par le procédé sol-gel dont Le gel obtenu est mésoporeux, avec une large surface spécifique.

Les résultats obtenus dans ce mémoire ont montré qu'il est possible de dégrader des composés pharmaceutiques et le phénol en mettant en contact des solutions de concentration atteignant les 100mg/L grâce à ces bactéries issues de la souche sélectionnée. Le résultat de dégradation le plus important est obtenu pour le phénol et l'acébutolol.

Trois modèles de la cinétique ont été appliqués aux données de la vitesse spécifique maximale de croissance en fonction des concentrations du phénol et de l'acébutolol (Monod, Haldane, Luong).

Les résultats obtenus permettent d'envisager d'autres orientations à prendre pour la poursuite de l'étude des procédés de biodégradation des polluants.

Mots clés : Encapsulation, Biodégradation, Procédé sol-gel, microorganisme, phénol, Acébutolol

Abstract

The objective of this study is to remove pollutants of pharmaceutical origin by a biological process combined with the sol-gel process.

The sol-gel process is proving to be an interesting way to synthesize materials under biocompatible conditions. The synthesis of a gel from these colloids is possible by the sol-gel process from which the gel obtained is mesoporous, with a large specific surface area.

The results obtained in this thesis showed that it is possible to degrade pharmaceutical compounds and phenol by contacting solutions with concentrations up to 100mg/L using these bacteria from the selected strain. The most important degradation result is obtained for phenol and acebutolol.

Three kinetic models were applied to the maximum specific growth rate data as a function of phenol and acebutolol concentrations (Monod, Haldane, Luong).

The results obtained make it possible to consider other orientations to be taken for the further study of pollutant biodegradation processes.

Key words: Encapsulation, Biodegradation, Sol-gel process, microorganism, phenol, Acebutolol