

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ de BLIDA 1

Faculté de Technologie

Département de Génie des Procédés



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER EN GENIE DES PROCEDES

Spécialité : Pharmacie Industrielle

Intitulé du mémoire

Elimination du diclofénac par des isolats des micro- algues

Présenté par : Encadreur : Mme AITMESBAH Zohra

M^{lle} ALILI Rania Co-encadreur : Dr HAMITOUCHE Adh'ya-eddine

Année universitaire 2018/2019

RESUME

Ce travail a pour but d'optimiser les paramètres influençant la biodégradation du diclofénac par deux micro-algues à savoir *Chlorella sorokiniana* et *Chlorella vulgaris*.

Deux paramètres ont été retenus, la densité optique de la micro-algue et la concentration initiale du diclofénac. Pour mieux voir le comportement de ces micro-algues via à vis des paramètres retenus, nous avons suivi en fonction du temps la densité optique de ces micro-algues, la chlorophylle et la concentration du diclofénac.

Les résultats obtenus montrent que *Chlorella sorokiniana* a un grand pouvoir d'élimination par rapport *Chlorella vulgaris* ou elle a pu éliminer totalement le diclofénac.

Mots clés : diclofénac, micro-algues, traitement biologique, chlorophylle.

ABSTRACT

The aims of this work is to optimize the parameters influencing the biodegradation of diclofenac by two microalgae namely *Chlorella sorokiniana* and *Chlorella vulgaris*.

Two parameters were selected, the optical microalgae density and the initial diclofenac concentration. To understand the behavior of these micro-algae via selected parameters, we followed the optical density of these micro-algae, the chlorophyll concentration and concentration of diclofenac as a function of time.

The results obtained show that *Chlorella sorokiniana* has a high elimination power compared to *Chlorella vulgaris* or it has been able to eliminate the diclofenac, completely.

Keywords: diclofenac, microalgae, biological treatment, chlorophyll.

ملخص

يهدف هذا العمل إلى تحسين المعايير التي تؤثر على التحلل الحيوي للدكلوفيناك بواسطة طحالبين دقيقتين هما شلوريا سوروكينيانا وشلوريا فولغاريس.

تم اختيار الكثافة البصرية للطحالب الدقيقة والتركيز للدكلوفيناك لفهم سلوك هذه الطحالب الدقيقة بشكل أفضل، تابعنا الكثافة البصرية لهذه الطحالب الدقيقة، الكلوروفيل وتركيز الدكلوفيناك كدالة للوقت.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن شلوريا سوروكينيانا لديها قدرة عالية على التخلص من دكلوفيناك تمامًا، أحسن من الكلوريا فولغاريس.

الكلمات الرئيسية: دكلوفيناك، الطحالب المجهرية، المعالجة البيولوجية، الكلوروفيل.

REMERCIEMENTS

Je remercie Dieu en premier lieu, qu'il soit loué pour m'avoir donné la force et la patience nécessaires pour accomplir ce travail.

Mes remerciements les plus vifs et sincères vont à mes parents pour leur soutien Permanent.

Ce travail a été effectué au sein du centre de recherches et développements CRAPC à BOUSMAIL, sous la direction de Monsieur HAMITOUCHE Adh'ya-eddine qui est aussi mon co-encadreur. Je le remercie de m'avoir accueilli au sein de centre de recherches et développements, pour son encadrement chaleureux et ses remarques éclairées et pour son soutien, sa motivation et sa disponibilité qui m'ont été d'un grand apport dans l'accomplissement de ce travail.

Je tiens également à remercier Mme AITMESBAH Zohra mon Professeur à L'Université de Saad Dahleb BLIDA 1 durant mon cursus au département de génie des procédés qui a également accepté d'encadrer ce travail de thèse. Je lui exprime toute ma reconnaissance pour les conseils enrichissants, aux plans théorique et pratique.

Je tiens également à adresser mes vifs remerciements à tout mes professeurs qui m'ont encadré pendant mon cursus et qui m'ont donné à moi et mes collègues tout ce qui est nécessaire d'informations et de conseils et de tout ce qui est bien pour notre formation.

Je remercie et reste reconnaissante à monsieur TAHRAOUI Hichem et toutes les personnes qui m'ont facilité la tâche pour la réalisation et l'accomplissement de ce mémoire.

J'adresse mes remerciements également à tous les membres du CRAPC Chercheurs, techniciens, ingénieurs avec qui j'ai eu le plaisir de travailler.

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail à :

Mes parents aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour Dont ils ne cessent de me combler. Que dieu leur procure bonne santé et longue vie .à toi ma mère. À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur papa que j'adore.

Ma famille surtout ma grand mère que j'aime énormément, mes amis Et aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour.

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagnaient durant mon chemin d'études supérieures, mes aimables amis, collègues d'étude, et frères de cœur, merci pour tous.

TABLE DES MATIERES

RESUME

REMERCIEMENT

DEDICACE

TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTES DES SYMBOLES ET ABREVIATIONS

INTRODUCTION..... 1

CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Introduction.....3

I.2 Diclofenac.....3

I.2.1 Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)..... 3

I.2.2 Définition du diclofenac sodique.....3

I.2.3 propriétés physico-chimique de diclofenac sodique..... 4

I.2.4 Consommations et utilisations du diclofenac.....5

I.2.5 Les caractéristiques du diclofenac via sa consommation.....5

I.2.6 le diclofenac et environnement6

I.3 Les micros-algues..... 7

I.3.1 Origines des micros-algues.....7

I.3.2 Définition et caractéristiques des micro-algues.....7

I.3.3 Classifications et diversités des micro-algues.....11

I.3.4 Domaine d'application13

I.3.4.1 Application alimentaire (humaine et animale).....14

I.3.4.2 Applications Pharmaceutiques.....15

I.3.4.3 Applications énergétiques.....15

I.3.4.4 Applications Cosmétiques.....16

I.3.4.5. Applications environnementales.....	16
I.3.5 Chlorella Sorokiniana.....	17
I.3.6 Chlorella vulgaris.....	18

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

II.1. Introduction.....	20
II.2. Matériels.....	20
II.2.1. Substances utilisées.....	20
II.2.2. Réactifs et verreries.....	22
II.2.3. Equipements.....	22
II.3. Méthodes.....	23
II.3.1. Analyse du diclofénac.....	23
II.3.2. Analyse de la densité optique des micro-algues.....	24
II.3.3. Analyse de la chlorophylle (A+B) des micro-algues.....	24
II.3.4. Rendement de la biodégradation du diclofénac R%.....	24
II.3.5. Détermination du taux de croissance des micro- algues.....	25

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSIONS

III.1. Choix de la micro-algue.....	26
III.2. Etude paramétrique de la dégradation du Diclofenac.....	29
III.2.1. Elimination du diclofenac par la chlorellasorokiniana.....	29
III.2.1.1. Effet de la densité initiale de la micro-algue.....	29
III.2.1.2. Effet de la concentration du diclofenac.....	32
III.2.2. Elimination du diclofenac par la chlorella vulgaris.....	36
III.2.2.1. Effet de la densité initiale de la micro-algue.....	36
III.3.2.2. Effet de la concentration du diclofenac.....	40

CONCLUSION.....44

REFERENCES BEBLIOGRAPHIQUES

LISTE DES FIGURES

Figure I.1 : Structure chimique du diclofénacsodique.....	4
Figure I.2 : Diversité morphologique des micros algues.....	8
Figure I.3 : Processus de photosynthèse des micro-algues	9
Figure I.4 : Les cyanobactéries (cyanophycées).....	11
Figure I.5 : La diatomée <i>Navicula yarrensii</i> (Bacillariophyceae).....	12
Figure I.6 : Les algues vertes (chlorophycées) <i>Micrasteria</i>	13
Figure I.7 : Algues dorées (chrysophycées).....	13
Figure I.8 : Diversité du champ d'application des micro-algues.....	14
Figure I.9 : Souche de <i>Chlorella sorokiniana</i>	17
Figure I.10 : Cellules de <i>Chlorella vulgaris</i> observées au microscope optique.....	18
Figure II.1 : Boîte de Clofenal 75mg/3mL.....	20
Figure II.2 : <i>Chlorella sorokiniana</i> en milieu liquide	21
Figure II.3 : <i>Chlorella vulgaris</i> en milieu liquide.....	21
Figure II.4 : La courbe d'étalonnage de Diclofenac sodique.....	23
Figure III.1 : Evolution temporelle de la densité optique des micro-algues.....	27
Figure III.2 : Evolution temporelle de la concentration de la chlorophylle des micro-algues.....	28
Figure III.3 : Evolution temporelle de la densité initiale de la micro-algue et la concentration du diclofénac utilisant le milieu TAP pour différente valeur de densité initiale.....	29
Figure III.4 : Evolution du taux de croissance en fonction de la densité optique initiale.....	31
Figure III.5 : Evolution temporelle de la concentration de la chlorophylle utilisant le milieu TAP pour différente valeur de densité initiale.....	31

Figure III.6 : Evolution temporelle de la densité initiale de la micro-algue en utilisant le milieu TAP pour différente valeur de la concentration du diclofénac.....	33
Figure III.7 : Evolution du taux de croissance en fonction de la densité optique initiale.....	34
Figure III.8 : Evolution de la concentration temporelle en chlorophylle pour différentes concentrations initiales en diclofénac.....	35
Figure III.9 : Evolution temporelle du pourcentage d'élimination du diclofénac.....	35
Figure III.10 : Evolution temporelle de la densité initiale de la micro-algue en utilisant le milieu TAP pour différente valeur de densité initiale.....	36
Figure III.11 : Evolution temporelle de la concentration du diclofenac en fonction de la densité initiale de la micro-algue.....	37
Figure III.12 : Variation du taux de croissance en fonction de la densité initiale.....	38
Figure III.13 : Evolution temporelle de la concentration de la chlorophylle utilisant le milieu TAP pour différente valeur de densité optique initiale.....	39
Figure III.14 : Evolution temporelle de la densité optique pour différents valeurs de concentration de diclofénac.....	40
Figure III.15 : Evolution du taux de croissance en fonction de la concentration du diclofenac.....	41
Figure III.16 : Evolution temporelle de la concentration du diclofenac.....	42
Figure III.17 : Evolution temporelle de la concentration en chlorophylle pour différents concentrations en diclofénac initiales.....	43

LISTE DES TABLEAUX

Tableau III.1 : Taux de croissance de différentes micro-algues.....	27
Tableau III. 2 : Comparaison des temps de phase de croissance.....	38
Tableau III. 3 : Comparaison des temps de phase de croissance.....	40

LISTE DES SYMBOLES ET ABRIVIATIONS

DFS : Diclofenac sodique.

Kow : constante octanol /water.

TAP : Tris-Acétate-Phosphate.

R : Rendement de biodégradation.

μ : Taux de croissance.

AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdien.

Chl : chlorophylle.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

CRAPC : Centre de recherches scientifique et technique en analyse physico-chimique.

INTRODUCTION

L'environnement c'est l'avenir, la source de continuité de toutes créatures et l'ensemble des éléments qui entourent l'individu ou l'espèce et dont certains contribuent directement à subvenir à ses besoins.

L'eau est un élément essentiel dans l'environnement. C'est la source de vie de toute créature et malgré son importance, nous contribuons à sa pollution et la dégradation de sa qualité par toutes nos activités et essentiellement industrielles.

La pollution de l'eau menace tous les pays. Depuis quelques années, elle perturbe les conditions de vie de la flore et de la faune aquatiques. Elle compromet les utilisations de l'eau et l'équilibre du milieu naturel

Cette pollution est provoquée par les rejets d'eaux salies par nos activités domestiques mais également par les diverses activités agricoles et industrielles et dont, le pharmaceutique qui est nécessaire à nos besoins [1]

Les composés pharmaceutiques retrouvés dans l'environnement proviennent principalement de l'élimination de ces molécules et leurs métabolites par les hommes ou les animaux sous traitement thérapeutique. Leurs concentrations dans les eaux, varient non seulement d'un site à l'autre mais également d'un composé à l'autre et sont généralement faibles. Cependant, des concentrations non négligeables de certains composés, de quelques nano-grammes par litre à quelques centaines de microgrammes par litre ont parfois été observées [1].

Des produits issus de la métabolisation de certains médicaments comme les anticancéreux, les antibiotiques, les hormones et les anti-inflammatoires ne se dégradent pas complètement dans l'environnement et peuvent aussi être considérés comme micropolluants [1].

Le Diclofenac sodique fait partie de la classe des anti-inflammatoires, il est prescrit dans une grande majorité de traitements et même en cas d'urgences à cause de son efficacité et de ses différentes formes d'administration.

C'est en raison de sa large utilisation et de sa présence plus marquée dans les eaux de surface comme les rivières, les lacs et eaux côtières que ce médicament a été choisi ; De plus, l'utilisation de plantes marines déjà présentes dans l'environnement comme les algues et précisément les micro-algues pour sa biodégradation.

Les micro-algues sont des micro-organismes photosynthétiques qui présentent une grande diversité morphologique et de bonnes caractéristiques biochimiques qui leur confèrent un grand nombre d'applications à l'échelle scientifique et industrielle dans différents domaines pharmaceutique, alimentaire, cosmétique, environnement et les énergies renouvelables [3].

L'objectif de cette étude est l'optimisation de paramètres d'élimination du diclofenac par des isolats de micros-algues bien identifiés.

Ce travail a été réalisé en trois chapitres

Dans le premier chapitre, nous présentons une synthèse bibliographique qui englobe les généralités sur les micro-algues et notre polluant qui est le Diclofenac.

Le deuxième chapitre porte sur le matériel utilisé pour la réalisation de notre étude et les différentes méthodes de synthèse.

Dans le troisième chapitre, nous exposons les différents résultats expérimentaux obtenus et leur discussion en termes d'influence des différents paramètres sur la biodégradation du Diclofenac.

Et enfin, une conclusion générale est présentée avec des perspectives à développer pour la suite de cette étude.

CHAPITRE I

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1 Introduction :

L'objectif de notre travail d'étudier l'élimination d'un agent pharmaceutique (diclofénac sodique) avec des microalgues. A cette fin nous rappellerons, en premier lieu, la pollution par des agents pharmaceutiques en général, et par le diclofénac de sodium d'une façon un peu particulière, ensuite nous décrirons les caractères physico-chimiques de ce dernier, puis nous donnerons une initiation sur les microalgues.

I.2 Diclofenac :

I. 2.1 Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) :

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens sont des médicaments aux propriétés analgésiques, antipyrétiques (contre la fièvre) et anti-inflammatoires. Ils sont utilisés pour le traitement des maladies aiguës et chroniques, environ 20% des personnes âgées de plus de 65 ans sont généralement traités par ces médicaments et ils sont prescrits ainsi à 20% des patients hospitalisés. Ces AINS ont un effet efficace contre les maladies mais leurs utilisations sont limitées en raison de leurs effets indésirables qui influent sur le système gastro-intestinal et le système nerveux central [4]

En terme d'impacts environnementaux, en Asie, la disparition de vautours qui se nourrissaient de bétail traité au diclofénac serait attribuée à la toxicité de cet anti-inflammatoire [2]

Le diclofénac semble être le composé ayant la plus haute toxicité aiguë [2].

I. 2.2 Définition du diclofenac sodique :

Le diclofénac sodique est un médicament anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS) doté de propriétés analgésiques et anti-inflammatoires [2].

Il existe sous forme de comprimés, granules, suppositoires, collyres, gels et emplâtres. Il est contenu dans plusieurs spécialités dont le Voltarene®, l'Artotec®, le Xenid®, le Flector® et le Voldal® [2] .

Le diclofenac est recommandé dans les pathologies inflammatoires chroniques telles que la polyarthrite chronique et l'arthrose, ainsi que dans le traitement des douleurs aiguës musculo-squelettiques il est souvent prescrit dans le traitement des maladies rhumatismales et utilisé comme analgésique. Il est constaté qu'il soulage la douleur, diminue l'enflure et la sensibilité, et augmente la mobilité[2].

Le diclofénac est fréquemment détecté dans les milieux aquatiques à des teneurs Diverses. Il semble relativement plus stable au cours du traitement des eaux usées [2].

I. 2.3 Propriétés physico-chimiques de diclofenac sodique :

- ✓ **Dénomination chimique** : sel monosodique de l'acide 2-[(2,6-dichlorophényle) amino] benzène acétique [4].
- ✓ **Formule brute** : $C_{14} H_{10} Cl_2 N NaO_2$ [4].
- ✓ **Structure** :

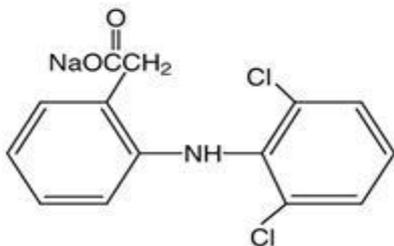


Figure.I.1 : structure chimique du diclofénac sodique [4].

- ✓ **Aspect** : [2]
 - Poudre cristalline
 - blanche ou faiblement jaunâtre
 - faiblement hygroscopique
- ✓ **La solubilité** : [4]
 - Peu soluble dans l'eau (2,37mg/L à T=25°C).
 - Peu soluble dans l'acétone.
 - très soluble dans l'alcool.

➤ Non soluble dans l'éther.

- ✓ **Pka** : 4.2 [2].
- ✓ **Masse molaire** : $M=318.13$ (mol/g). [2]
- ✓ **coefficient de partage** : $\text{Log } K_{ow} = 0,70$ [2].

I. 2.4 Consommations et utilisations du diclofenac :

Selon l'académie Nationale de Pharmacie, Le paracetamol, le diclofenac et la carbamazepine sont parmi les composes pharmaceutiques les plus utilisés dans les pays industrialisés dont les Etats Unis, le Japon, l'Allemagne et la France sont les quarts premiers consommateurs des médicaments [2].

I. 2.5 Les caractéristiques du diclofenac via sa consommation :

La principale voie d'introduction des résidus de médicaments dans l'environnement est liée à leurs consommations. Une fois le médicament administré, il sera plus ou moins métabolisé, et donc, excrété inchangé ou sous forme de métabolites. La quantité excrétée dépend de la quantité de médicament consommée et de leur métabolisation. Cette dernière dépend à son tour du type de médicament et de l'individu en particulier. [5]

Consommation humaine

Les excréctions humaines (fèces et urines principalement), se retrouvent dans les eaux usées, puis dans les eaux de surface. Dans le meilleur des cas, au cours de leur parcours, ces eaux seront traitées au niveau d'une station d'épuration (STEP). Une fois que les molécules sont libérées dans l'environnement, elles peuvent subir des processus de dégradation, d'hydrolyse, de photo-oxydation ou de conjugaison générant des produits de transformation. L'ensemble de ces molécules (molécules-mères, métabolites et produits de Transformation), est appelé « résidus de médicaments ». [5]

Les métabolites et produits de transformation ont une structure chimique différente de la molécule mère, souvent la propriété bioactive n'est pas conservée. Mais dans certains cas, ils deviennent des composants plus actifs que la molécule-mère et même plus persistants si la polarité augmente. Il est donc intéressant de connaître le pourcentage d'excrétion de la molécule mère et des principaux métabolites, ainsi que l'effet biologique des métabolites. en fonction de ces données, il faudra parfois tenir compte des métabolites pour l'évaluation des risques environnementaux. Sans oublier que des variations dans le taux d'excrétion pour un

même médicament existent. Ces variations sont dues à l'idiosyncrasie de chaque personne : sexe, âge, hypoxie, nutrition et la fonction de la Thyroïde. [5]

Consommation animale

Pour les animaux, les résidus vont aller normalement soit directement dans le sol, soit indirectement, du fait de l'épandage des lisiers et des purins sur les terrains agricoles. Dès leur présence au niveau du sol, les résidus de médicaments peuvent percoler jusqu'aux eaux de surface et souterraines. Cependant, les principales classes de médicaments utilisées dans les élevages ne concernent pas notre médicament ciblé mais plutôt les antibiotiques, les antiparasitaires et les hormones. [5]

I. 2.5 le diclofenac et environnement :

Depuis une quinzaine d'années, les techniques analytiques se sont suffisamment améliorées pour permettre de quantifier la présence des médicaments dans l'environnement [6].

Le diclofenac fait partie des substances pharmaceutiques les plus étudiées et rencontrées dans l'environnement. Les émissions de diclofenac se font principalement vers le milieu aquatique via les rejets en stations d'épuration urbaines et sont le résultat de l'utilisation par le patient. Son abattement en station d'épuration peut varier selon le mode de traitement entre 40 et 90 % [6].

Afin de réduire les émissions de diclofenac dans l'environnement et de manière plus générale les substances médicamenteuses, dont les risques pour l'homme et l'environnement sont encore incertains, des préconisations ont été proposées ou mises en place. Celles-ci se déclinent sur 3 grands axes :

- Un axe technique avec l'utilisation des traitements des eaux avancés et une réduction des pertes par les réseaux d'assainissement ;
- Un axe éducatif et informatif auprès des professionnels de la santé et des patients ;
- Un axe de développement de la pharmacie « écologique » ou chimie verte [6].

Le comportement du diclofenac a été décrit dans les différents compartiments de l'environnement. La photo dégradation et la biodégradation ont été identifiées comme les principaux processus de dégradation de la substance [6].

Dans le milieu aquatique, le devenir des médicaments est fonction de leurs propriétés physico-chimiques et des conditions du milieu. Les facteurs physiques et chimiques locaux tels que le pH, la température, la dureté, la concentration en matières en suspension et le

potentiel d'oxydoréduction expliquent en grande partie le comportement environnemental des médicaments dans l'eau [6].

I.3 Les micros-algues :

I.3 .1 Origines des micro-algues :

Les végétaux sont les seuls êtres vivants capables de produire de la matière organiques, a l'origine de toute forme de vie grâce a la photosynthèse. Parmi ces végétaux on a les êtres aquatiques qui ont réalisés des miracles apres leurs découvertes comme les algues[7].

Les algues sont des cryptogames, c'est a dire des végétaux dont l'appareil reproducteur est caché (les mousses, fougères, lichens...) Ce sont des plantes sans feuilles, tiges ou racines ; elles sont simplement constituées d'un thalle .elle peuvent être unicellulaires (algues microscopique ou pluricellulaires (algues supérieur) et l'eau est indispensable pour la reproduction ainsi que la lumière .on peut les trouver par tout dans l'eau (douce et selée), et sur la terre. [7]

Les algues sont classées selon leur taille (micro et macro algues), selon leurs pigments, les caractéristiques de leur paroi et leurs compositions. [8]

Les macros-algues sont généralement visibles a l œil nu, elles sont souvent connues par « seaweeds ».elle sont cultivées pour produire des composés intérêt destinée a des applications industrielles .Les macro-algues peuvent êtres subdivisés en trois groupes selon leur pigmentation : verte, marron et rouge .Actuellement les macros-algues sont utilisées dans des procédés de transformation pour produire de l'énergie : combustion, pyrolyse et digestion anaérobie. [8]

Concernant les micro-algues au cours de ces dernières années le monde scientifique s'intéresse de plus en plus malgré que leur étude reste limitée à une cinquantaine d'espèces clairement identifiées et à une vingtaine réellement exploitées. [9]

I.3 .2 Définition et caractéristiques des micro-algues :

Les micros-algues sont des micro-organismes unicellulaires eucaryotes constituées d'un noyau et une membrane plasmique contenant des organites essentiels à son fonctionnement tels que les chloroplastes, les amyloplastes, les oléo plastes et les

mitochondries. Elle contient trois principaux types de pigments qui sont les chlorophylles, les caroténoïdes et les phycobiliprotéines [10]. Les microalgues ont une taille micromètres différentes formes souvent sphériques (porphyridium), de gouttelettes (chlamydomonas), de filament (spirulina), de spirale (arthrospira), et même d'étoile (staurastrum), à l'échelle microscopique, elles peuvent se présenter séparées ou en colonies [3].

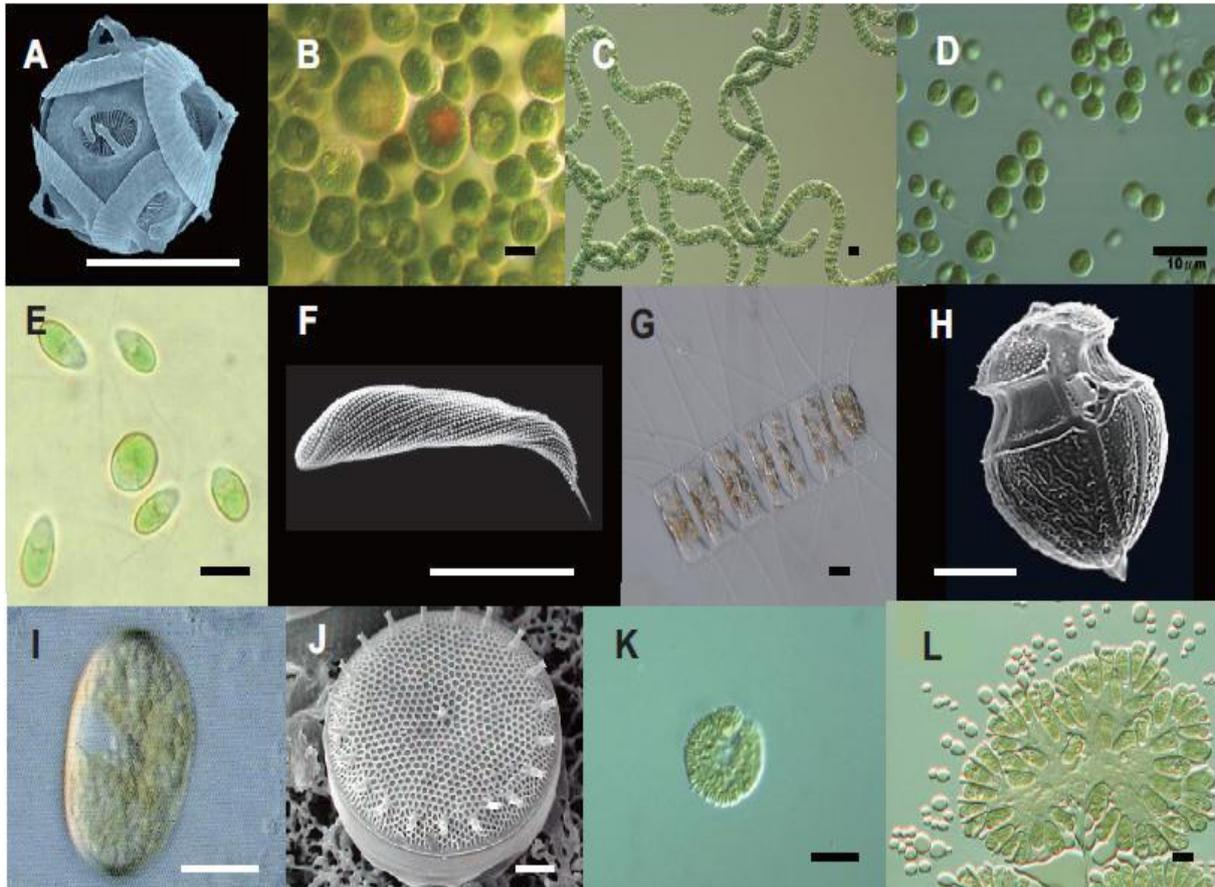
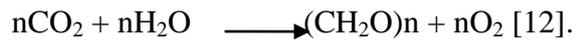


Figure I.2 : Diversité morphologique des microalgues. [3]

Selon leur type et les conditions environnementales, les micro-algues peuvent produire des quantités importantes de lipides, de sucres et de protéines grâce à la photosynthèse, elles se trouvent dans les habitats aquatiques marins ou d'eau douce elle sont souvent connues sous le nom de « phytoplancton » [8] caractérisés principalement par l'absence de racines, de tissus vasculaires et de feuilles mais possédant de la chlorophylle ainsi que d'autres pigments pour réaliser la photosynthèse. [11]

C'est dans les chloroplastes que se déroule la réaction de photosynthèse. Ce mécanisme consiste en une réaction d'oxydoréduction catalysée par l'énergie lumineuse et qui convertit le dioxyde de carbone et l'eau en sucres simples et en oxygène [12].



Cette réaction globale se réalise en deux étapes séparées dans l'espace et dans le temps :

- phase lumineuse ou le H_2O se transforme en O_2 avec l'aide d'un enzyme. Cette réaction est particulièrement rapide.
- Phase obscure ou le CO_2 se transforme en un sucre qui est le CH_2O avec la présence d'un enzyme aussi. Cette étape est significativement plus lente que la précédente [12].

On distingue ainsi deux principaux organites dans les micro-algues :

Parmi eux, on retrouve notamment :

- Les chloroplastes (organites qui ont pu être perdus et récupérés par endosymbiose au travers de révolutionnaires micro-algues), siège de la photosynthèse. ils absorbent l'énergie lumineuse pour fixer le carbone inorganique (CO_2) sous forme de carbohydrate, des molécules carbonées comme le glucose. [13]

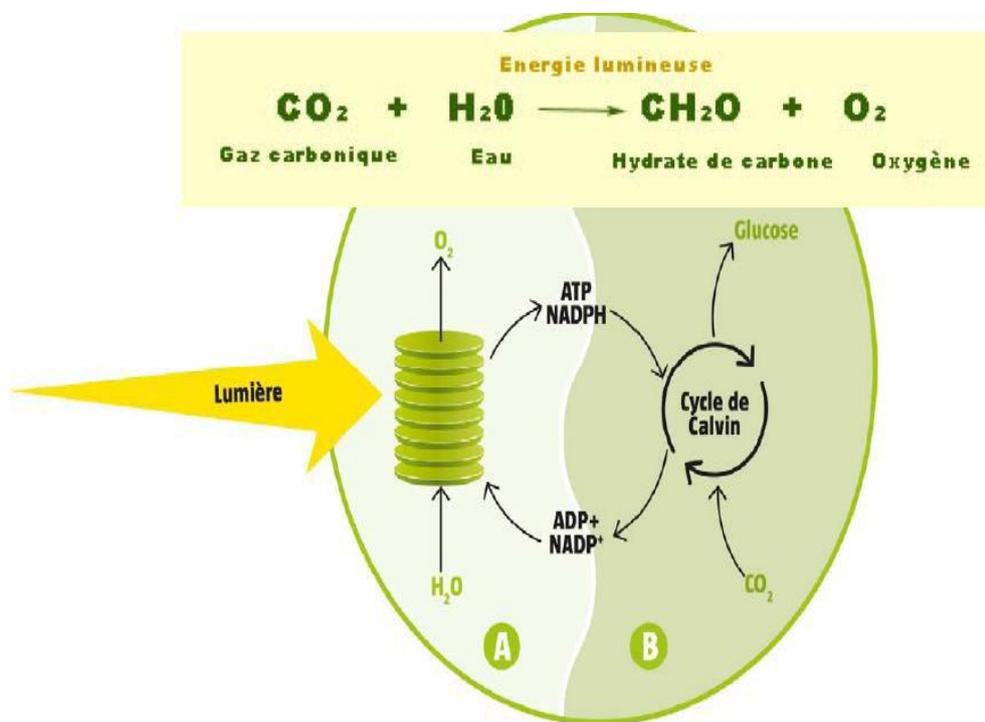


Figure I.3 : Processus de photosynthèse des micro-algues [13]

- Les mitochondries, siège de la chaîne respiratoire mitochondriale aboutissant à la production d'énergie, notamment en phase obscure [13].

Les micro-algues utilisent l'énergie solaire et de l'eau pour la production de biomasse et l'oxygène, par le biais de la photosynthèse en effet ces MO sont à l'origine de l'équilibre de la composition atmosphérique dont la fixation du CO₂ et le rejet de l'O₂ et contribuent ainsi à la continuité de la vie animale et végétale. Les micro-algues utilisent le CO₂ comme source de carbone pour leur croissance d'où l'idée de créer des installations de grande taille, de véritables fermes où elles seraient cultivées directement sur l'effluent gazeux des centrales électriques à combustible fossile qu'elles recycleraient en biodiesel. Bien entendu le CO₂ sera finalement rejeté dans l'atmosphère lorsque ce carburant sera brûlé, mais il aura servi à produire de l'électricité puis à faire avancer un véhicule. [14]

Elles se multiplient soit par scission des cellules en deux parties jusqu'à la production des spores soit en se transformant directement en gamète où en engendrant ceux-ci dans des cellules particulières. [9]

La majorité des micro-algues sont dites photo-autotrophe « autotrophe », chémo-hétérotrophe « hétérotrophe » ou bien mixotrophe. [15]

On distingue alors ainsi trois grands types de micro-algues :

- Les micro-algues ayant un métabolisme autotrophe : ce mode de nutrition leur permet d'utiliser les rayons solaires ou de la lumière artificielle afin de synthétiser leur énergie. Les micro-algues de métabolisme autotrophe utilisent également une source de carbone inorganique comme le CO₂ et le HCO₃ pour la synthèse du carbone organique. Ce carbone organique est essentiel à la synthèse de toutes les composés organiques nécessaires à leur survie. [13]
- Les micro-algues ayant un métabolisme hétérotrophe : ces micro-algues utilisent une source de carbone organique pour la production de leur énergie. [13]
- Les micro-algues ayant un métabolisme mixotrophe : elles peuvent avoir un métabolisme autotrophe et (ou) hétérotrophe en fonction des éléments disponibles et des conditions environnementales dans lesquelles elles vivent. [13]

I.3.3 Classifications et diversités des micro-algues :

Les micro-algues sont très diversifiées et environ 30 000 espèces ont déjà été analysées. En 2000 près de cinquante seulement avaient été étudiées en détails. Les scientifiques ont analysés les micro-algues pour les distinguer et les diviser en plusieurs classes selon des critères généraux comme la pigmentation, la morphologie et le métabolisme. Les espèces sont ainsi classées en 11 divisions et en 29 classes. [15]

On distingue principalement deux grands groupes de micro-algues :

- ✓ **Les procaryotes** : Ce sont des organismes unicellulaires qui sont dépourvus de noyau et ne présentent que très rarement des organites cellulaires. [3]

- Les Cyanophycées : appelées également cyanobactéries, sont des micro-algues Procaryotes de coloration bleu-verte qui présentent une forte tolérance vis-à-vis des Températures extrêmes elles sont approximativement 2000 espèces dans ce groupe, pouvant être divisées en 150 genres. Ces micro-algues sont répandues dans toutes les variétés d'habitats aquatiques. Les espèces les plus connues sont *Spirulina* (*Arthrospira*) *plantensis*, *Nostoc* commune et *Aphanizomenon flos-aquae* seconde classe de cyanobactéries, les "Prochlorophyta", présente une spécificité au niveau de la pigmentation avec une absence totale de phycobiliprotéines, mais une présence de chlorophylle *a* et *b*[3].

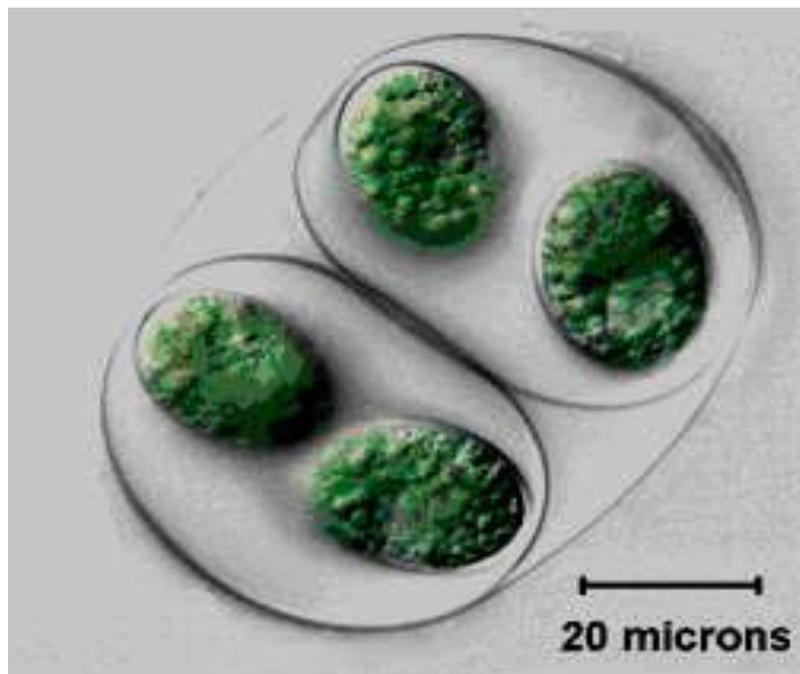


Figure I.4 : Les cyanobactéries (cyanophycées) [15]

✓ Les eucaryotes : Ce sont des organismes uni ou pluricellulaires qui présentent une Structure complexe contenant un noyau entouré d'une membrane ainsi que plusieurs Organites intracellulaires. [3]

- **Les Diatomées** : appelées aussi les "bacillariophycées". Ce sont des microorganismes Unicellulaires photosynthétiques qui constituent le groupe dominant du règne des Micro-algues avec plus de 100 000 espèces connues. Ces algues sont répandues dans Tous les types d'habitats et présentent comme principales réserves (produit D'accumulation intracellulaire) le « chrysolaminaran » (type de polysaccharide) et de L'huile. [3]

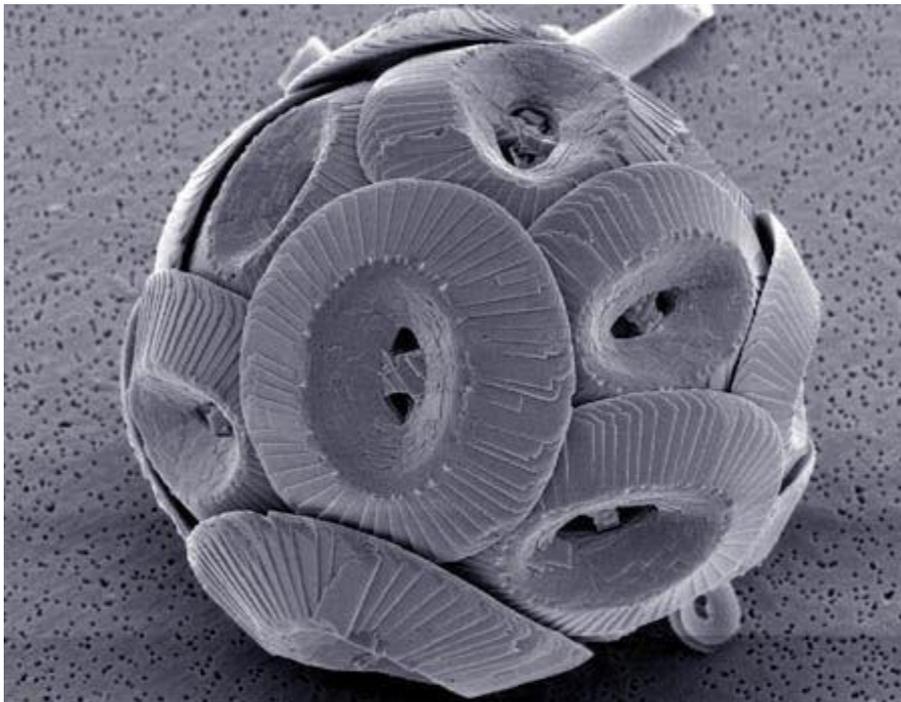


Figure I.5: La diatomée *Navicula yarrensii* (Bacillariophyceae) [12]

- Les Chlorophycées : ce sont des micro-algues vertes qui colonisent une grande variété D'habitats. Elles sont très abondantes dans les eaux douces. Ces microorganismes Présentent des formes filamenteuses On dénombre actuellement 8 000 espèces, dont 1 000 sont des chlorophytes marines. Les espèces les plus connues sont *Chlorella*, *Chlamydomonas*, *Dunaliella* ainsi que *Haematococcus* [3]



Figure I.6 : Les algues vertes (chlorophycées) - Microasterias[15]

- Les Chrysophycées : ce sont des algues dorées qui se répandent essentiellement dans Les eaux douces. On répertorie environ 1 000 espèces avec des caractéristiques similaires à celles des diatomées du point de vue pigmentation et structure biochimique. [3]

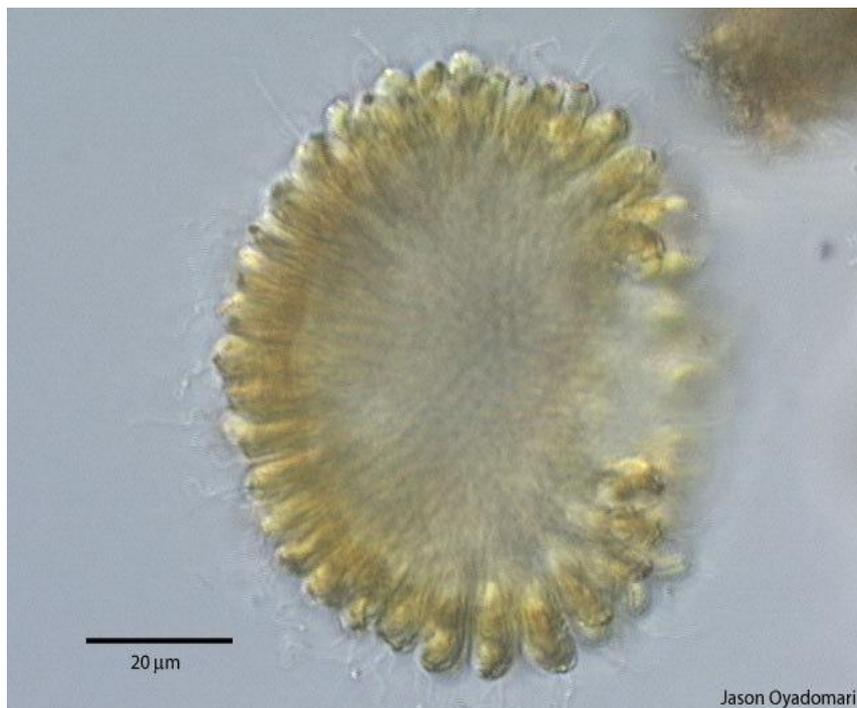


Figure I.7 : Algues dorées (chrysophycées) [15]

1.3.4 Domaine d'application :

Au vu de leur biodiversité et leurs propriétés biochimiques, les micro-algues se révèlent très prometteuses pour de nombreuses applications dans des domaines variés tels que l'industrie pharmaceutique, alimentaire, l'environnement et les énergies renouvelables. [3]

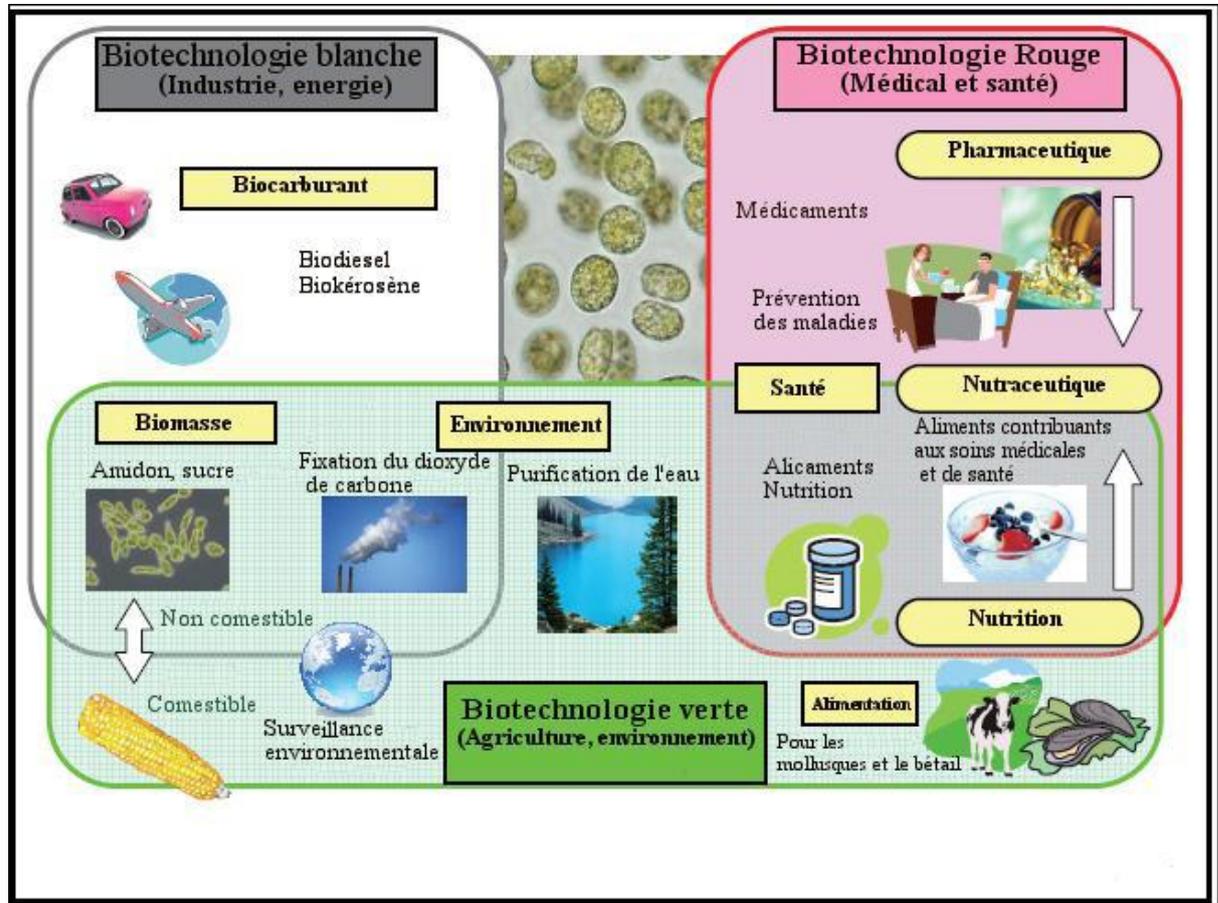


Figure I.8 : Diversité du champ d'application des micro-algues [3].

1.3 .4.1 Application alimentaire (humaine et animale) :

Depuis des millénaires, macro-algues et micro-algues sont récoltées pour un usage alimentaire. Utilisée par les Mayas, la Spiruline est par exemple encore récoltée et consommée par les habitants des bords du lac Tchad. Si certains pigments sont utilisés comme colorants alimentaires (β -carotène, phycobiliprotéines), la contribution à la nutrition humaine des sociétés modernes reste essentiellement confinée à la nutraceutique[11].

Les micro-algues sont utilisées directement pour subvenir aux besoins des stades larvaires des mollusques bivalves et des crustacés ou indirectement comme complément alimentaire et comme substrat pour le zooplancton, base alimentaire de nombreuses espèces

aquacoles. A l'exception de la Spiruline, la faible digestibilité de ces cellules, due à une paroi pseudo-cellulitique, rend toutefois difficile la consommation de cette ressource protéique par les animaux terrestres. [12]

Les micro-algues produisent des polysaccharides, qui sont largement exploités en tant que agents gélifiants ou épaississants dans l'industrie agroalimentaire. [9]

1.3 .4.2 Applications Pharmaceutique :

Les micro-algues représentent une source intéressante de molécules bioactives et de toxines utilisables dans le développement de nouveaux médicaments. [11] Plusieurs études ont permis de mettre en évidence l'implication des micro-algues dans le domaine pharmaceutique par l'identification de nouvelles molécules naturelles [9]

A l'instar des plantes supérieures, un certain nombre de métabolites d'intérêt sont extraits de la dizaine d'espèces exploitées industriellement à l'heure actuelle. Parmi ceux-ci, les caroténoïdes sont utilisés comme antioxydants (Astaxanthine) Les lipides constituent également une très large classe de molécules que la plupart des microalgues peuvent accumuler dans d'importantes proportions de leur poids sec. Egalement, des molécules élaborées par des diatomées, dinoflagellés et cyanobactéries font l'objet de travaux de recherche car elles présentent des propriétés anticancéreuses. D'autres composés aux propriétés antifongiques, antibactériennes, antivirales et antihistaminiques comptent également parmi les molécules à intérêt pharmaceutique. [12]

1.3 .4.3 Applications énergétiques :

La valorisation de la biomasse algale peut se traduire par la production de bioénergie sous forme d'électricité et/ou de chaleur par combustion directe, ou sous forme de bio méthane après méthanisation ou sous forme de biocarburant ou d'hydrogène. cependant, cette valorisation ne sera concurrentielle qu'avec une forte productivité de biomasse, une possibilité de récolte mécanique simple et un coût de production plus réduit que les procédés mettant en œuvre d'autres types de biomasse. [3]

L'application des micro-algues en domaine énergétique à permit de produire types de bioénergies :

- ✓ Production de bio méthane.
- ✓ Production de biocarburant.
- ✓ Production de bio-oil.

- ✓ Production de biodiesel.
- ✓ Production de bio-hydrogène. [3]

1.3.4.4 Applications Cosmétiques :

Plusieurs espèces de micro-algues, principalement les deux espèces *Arthrospira* et *Chlorella* sont de plus en plus exploitées dans le domaine cosmétique. D'autres espèces algales, sont utilisées dans la fabrication des produits de soin capillaire, du visage et de la peau grâce à leur activité antioxydant [3]. En outre, la souche *Arthrospira* produit des protéines qui permettent la réparation des signes de vieillissement de la peau alors que des extraits de la micro-algue *Chlorella vulgaris* permettent de stimuler la production du collagène. Ce dernier a une propriété anti-âge qui se révèle intéressante dans la fabrication des émulsions et des crèmes antirides. Par ailleurs, les pigments extraits des micro-algues sont également recherchés dans le domaine cosmétique. [8]

1.3.4.5 Applications environnementales :

Les caractéristiques biochimiques et physiologiques des micro-algues sont aussi exploitées pour des applications concernant l'environnement : elles se révèlent utiles pour dépolluer les eaux usées. [11]

Au vu de leur capacité d'assimilation de nombreux nutriments nécessaires à leur croissance, les micro-algues représentent une solution intéressante pour éliminer ces éléments ; elles sont également capables de fixer des métaux lourds. Elles sont ainsi les principaux éléments biologiques de certains systèmes de traitement des eaux municipales et industrielles (essentiellement traitement tertiaire). Grâce à l'absorption de l'azote et du phosphore, elles contribuent à réduire le phénomène d'eutrophisation de certains milieux aquatiques. [3]

Certaines études ont eu recours à des algues vertes, principalement *Chlorella*, *Ankistrodesmus* et *Skeletonema*, pour les traitements des eaux usées issues d'usines de fabrication de pâte à papier ainsi que de production d'huile d'olive [3].

Afin de réduire les coûts économiques de ces procédés de traitements des eaux, la biomasse générée peut être exploitée pour produire des molécules à haute valeur ajoutée, du biodiesel, du biogaz, de l'hydrogène etc[15]. Ces procédés sont généralement couplés à l'élimination de CO_2 dans des effluents gazeux industriels conduisant à des procédés intégrés. [9]

1.3.5 Chlorella Sorokiniana :

Chlorella sorokiniana est une Micro-algue d'eau douce unicellulaire unique à l'odeur de poisson d'une couleur vert émeraude[17], elle se présente sous forme de petites cellules sphériques ou ellipsoïdales qui se trouvent dans un milieu liquide inorganique [18]

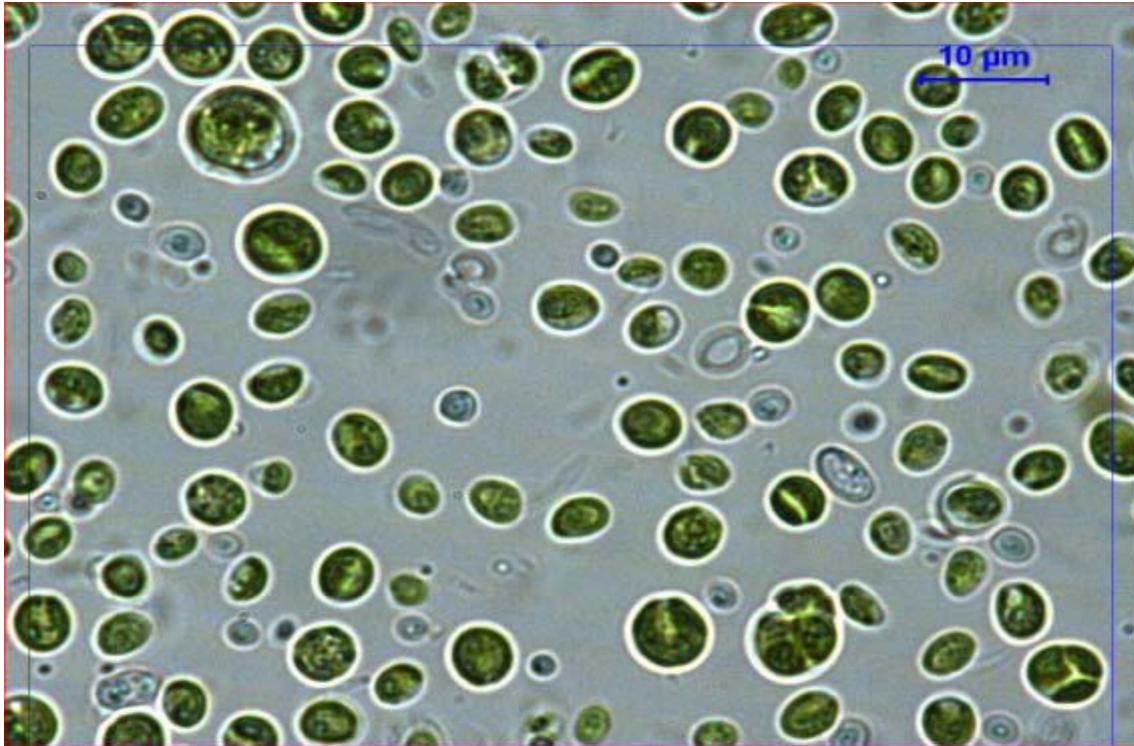


Figure I.9 : Souche de *Chlorella sorokiniana*[13]

Observé au microscope optique (G x 40)

Elle est caractérisée par son agréable odeur de gazon qui est due à sa teneur élevée en chlorophylle, en fait elle est la plus élevée par rapport à toutes les autres plantes. [16]

Chlorella sorokiniana se reproduit à un taux extrêmement rapide, se renouvelant dans quatre nouvelles cellules toutes les 17 à 24 heures. [16].

Sa croissance est rapide sur l'agar sans nutriment organiques et encore plus bonne sur les milieux liquides inorganiques. [17]

Le glucose favorise une bonne croissance de cette dernière en présence de la lumière et une certaine croissance dans l'obscurité. [17]

Cette micro-algue a été découverte pour la première fois par un microbiologiste néerlandais, Martinus W. Beijerinck, en 1890. En 1951, la Rockfellar Foundation, en collaboration avec le gouvernement japonais et le Dr Hiroshi Tamiya, développa la technologie permettant de cultiver et récolter Chlorella à grande échelle. [17]

La Chlorella sorokiniana a été découverte en Algérie pour la première fois en une souche locale de type sauvage, isolé du sol et l'eau du « TOUAT » de foggaras situé à Adrar dans le Sahara en mars 2004 [17]

Concernant le milieu de culture quatre solutions sont utilisées pour le développement de cette micro algues : solution de tris, solution de buffer, solution A et la solution oligos. Dans un pH égal à 7. [17]

1.3.6 Chlorella vulgaris :

Chlorella vulgaris est une micro-algue qui se retrouve dans tous les habitats aquatiques, marins ou d'eau douce d'une couleur verte). Elle est de forme ronde ou ellipsoïde, d'un diamètre moyen de 5 μm unicellulaire eucaryote [18].

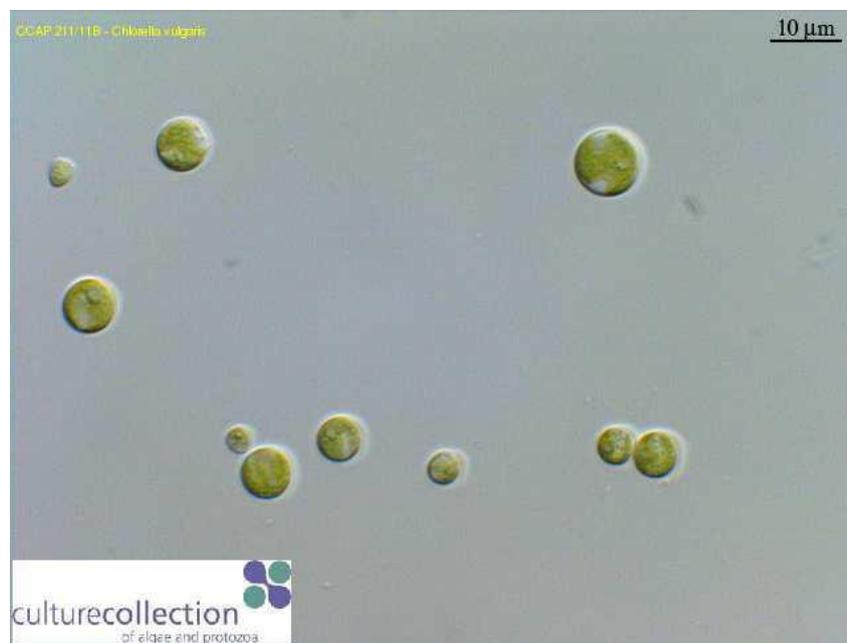


Figure1.10 : Cellules de Chlorella vulgaris observées au microscope optique[18].

Elle possède un chloroplaste pariétal contenant de la chlorophylle a et b ainsi que des caroténoïdes comme pigments accessoires, un pyrénoïde, des thylakoïdes, des grains d'amidons et du matériel génétique [18].

D'autres organites sont également présents dans la cellule : un noyau, des mitochondries, de petites vacuoles, des gouttelettes lipidiques, des ribosomes. La membrane cellulaire externe est composée de trois membranes contenant de la glucosamine [18]

La culture de *Chlorella vulgaris* est relativement facile ce qui les rend utiles dans les études des laboratoires biologiques, physiologiques et biochimiques [10].

Elle est présente de façon ubiquiste dans l'environnement aquatique et se trouve également dans les sols. elle peut être cultivée dans un milieu organique ou inorganique simple.

Sur le plan physiologique, elle est également tolérante à une large gamme de pH.

Elle a un taux de croissance rapide, permettant d'analyser des effets sur plusieurs générations. enfin, elle est utilisée en écotoxicologie pour comprendre les interactions de différents éléments présents dans le milieu de culture avec les membranes biologiques [10].

Cette micro-algue est découverte par Beijerinck en 1890 appartient à la lignée des Chlorophytes [10].

CHAPITRE 2

MATERIELS ET METHODES

Cette partie est consacrée à l'aspect expérimental, nous allons donner la description de matériels utilisés, l'ensemble des expériences effectuées ainsi que les méthodes d'analyses utilisées.

Comme notre travail se base sur l'élimination d'une substance médicamenteuse « Diclofenac sodique » par des micro-algues, le diclofenac sodique n'a pas été synthétisé lors de ce travail, vu que c'est un produit commercialisé.

II.1. Matériels

II.1. 1. Substances utilisées

Durant notre étude expérimentale, nous avons utilisé la solution Clofenal, qui est une solution injectable de diclofenac à 75mg/3mL.



Figure II.1 : Boite de Clofenal 75mg/3mL.

Pendant nos essais expérimentaux, nous avons sélectionné deux micro-algues pour le traitement des eaux usées chargées en diclofénac à savoir :

- ✓ La micro-algue *vertechlorellasorokiniana*.



Figures II.2:Chlorella sorokiniana en milieu liquide.

- ✓ La micro-algue *chlorella vulgaris*.



Figures II.3:Chlorella vulgaris en milieu liquide.

II.1.2. Réactifs et verreries

Pour la réalisation de nos essais expérimentaux, nous avons eu besoin des réactifs et des consommables et des verreries suivants :

Réactifs :

- ✓ HCl
- ✓ NaOH
- ✓ Milieu de culture TAP

Consommables et verreries :

- ✓ Eprouvettes
- ✓ Flacon de 1L
- ✓ Fiole de 100 mL
- ✓ Fiole de 250 mL
- ✓ Fiole de 500 mL
- ✓ Fiole de 1L
- ✓ Erlenmeyers 100 mL
- ✓ Seringue
- ✓ Pipettes
- ✓ Tubes à essais
- ✓ Billes en verres
- ✓ Béchers de 250 mL
- ✓ Béchers de 500 mL
- ✓ Béchers de 1 L
- ✓ Micropipette et embouts

II.1.3. Equipements

- ✓ pH-mètre de marque PHM220
- ✓ Autoclave
- ✓ Spectromètre SPECORD 210
- ✓ Centrifugeuse model 2698
- ✓ Chromatographe HPLC type HP série 1100 équipé d'un détecteur UV-Visible

- ✓ Vortex
- ✓ Haute bactériologique
- ✓ Dispositif expérimental CRAPC-Smart light

II.2. Méthodes

II. 2. 1. Analyse du diclofénac

Dans le but de déterminer la concentration du diclofénac, une courbe d'étalonnage a été réalisée en utilisant la technique de chromatographie en phase liquide.

Pour ce faire, nous avons préparé des concentrations de le diclofénac à partir d'un étalon pur à 99,99 %. Nous avons utilisé une HPLC de marque HP 1100, dans les conditions chromatographiques ci-dessous :

- Colonne : KNAUER KU30128-C8.
- Phase mobile : Mélange entre Acétonitrile et acide acétique (0,1 M)
- Débit de la phase mobile : 1,6mL / min.
- Détecteur : UV ($\lambda = 275$ nm).
- Température ambiante.

Les résultats de la courbe d'étalonnage sont regroupés dans la Figure II.4.

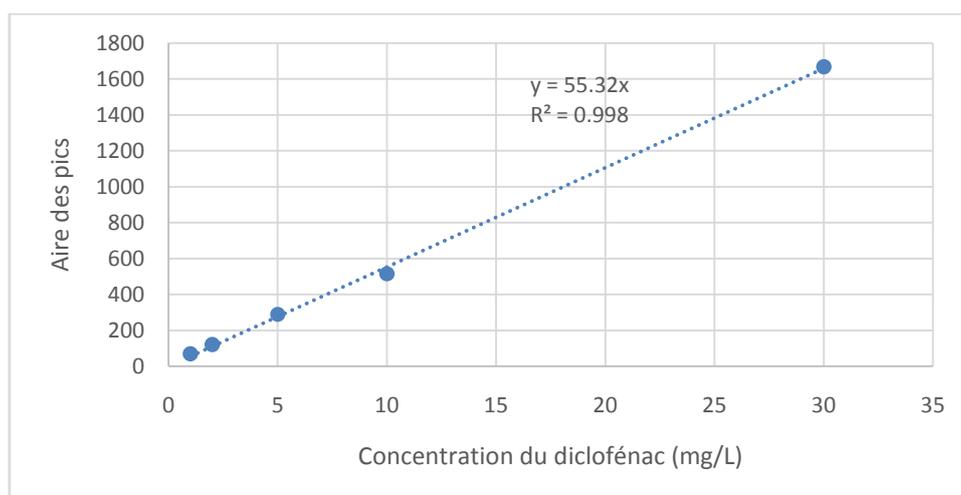


Figure II.4 : Courbe d'étalonnage de Diclofénac sodique.

La **Figure II.4** montre que la courbe d'étalonnage est une droite qui passe par l'origine avec une équation $A_{ire} = 55,32 \cdot C_{diclofenac}$ et un coefficient de régression de $R^2 = 0,998$.

II. 2. 2. Analyse de la densité optique des micro-algues

Dans le but de suivre la croissance des micro-algues, nous avons utilisés une méthode indirecte, qui est le suivi de la densité optique en utilisant un appareil qui est le spectrophotomètre UV-Visible de marque Specord 210 – Analytikjena à 600 et à 750 nm

II.2.3. Analyse de la chlorophylle (A+B) des micro-algues

Dans le but de calculer la chlorophylle des micro-algues vertes, nous avons suivi le protocole suivant :

- Prélever 1mL de la solution de culture ;
- Centrifuger la solution pendant 15min ;
- Prélever 0,9 ml de la solution ;
- Ajouter 0,9 ml du méthanol au culot ;
- Vortexer le mélange pendant 5min
- Centrifuger le mélange pendant 15min ;
- Analyser le surnageant par un spectromètre UV-visible aux longueurs d'onde 648nm et 664 nm.

La concentration en chlorophylle (A+B) a été déterminée avec la formule suivante :

$$\text{Chl (A+B) } (\mu\text{g/mL}) = (5,24 \cdot A_{664}) + (22,4 \cdot A_{648})$$

Avec :

A_{664} : l'absorbance de la culture mesurée à une longueur d'onde $\lambda=664\text{nm}$

A_{648} : l'absorbance de la culture mesurée à une longueur d'onde $\lambda=648\text{nm}$

II.2.4. Rendement de la biodégradation du diclofénac R%

Les rendements de biodégradation du DFS (R%) est calculé à partir de la relation :

$$R\% = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \times 100$$

C_0 : Concentration initiale du DFS dans le surnageant à $t=0$ (mg/L);

C_t : Concentration du DFS dans le surnageant à l'instant t (mg/L);

III.2.5.Détermination du taux de croissance des micro- algues

Le taux de croissance (μ) exprime la vitesse de multiplication des microorganismes ; c'est le nombre de divisions effectuées par unité de temps.

$$\mu = \frac{(\ln Do_2 - \ln Do_1)}{t_2 - t_1}$$

μ : le taux de croissance ;

Do_1 : densité optique des micro-algues à temps 1 ;

Do_2 : la densité optique des micro-algues à temps 2 ;

t : le temps ;

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Dans cette partie, nous présentons les résultats des expériences obtenus.

III. 1. Choix de la micro-algue

Depuis plus de cinq ans, l'équipe de recherche « traitement des effluents liquides par voie biologique » travail sur la diversité des micro-algues des eaux et du sol, au cours des années précédant, ils ont travaillé avec trois mixtures algales, qui ont les codes suivants : CH, MAV et CO.

A partir des trois mixtures, des micro-algues ont été isolée, purifiée et sélectionnée pour le traitement des eaux usées chargées en diclofenac.

Pour cela, nous avons choisi en premier lieu, de voir la croissance de quatre micro-algues dans les mêmes conditions opératoires, en absence de diclofenac. Afin de sélectionner une micro-algue la plus adéquate vis-à-vis du travail expérimental qui sera réalisé.

Pour se faire, nous avons choisi uniquement les micro-algues identifié par séquençage d'ADN à la fin de l'année 2018, à savoir, CH 9, MAV7, MAV 7b et CO 10.

Des tests d'ensemencement sur boîte pétri contenant le milieu TAP-solide ont été réalisés dans le but de réactivé les micro-algues, puis nous avons débutés la croissance des micro-algues sur milieu liquide, en utilisant le milieu TAP, dans le but de suivre la croissance des micro-algues.

Pour ce faire, nous avons suivi la densité optique des micro-algues à 750 nm et la chlorophylle, pendant six jours, dans le but de vérifier la reproductibilité des résultats. Les résultats obtenus sont regroupés dans la figure III.1.

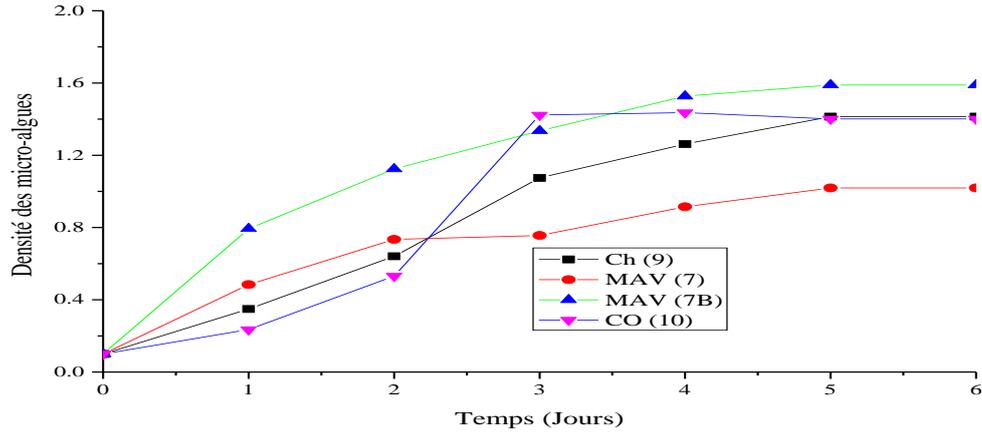


Figure III. 1 : Evolution temporelle de la densité optique des micro-algues

La figure III.1 montre clairement que les quatre micro-algues pures se multiplient rapidement ou la phase stationnaire est atteinte au bout de cinq jours. Nous relevons que la micro-algue MAV 7b, présente la plus grande densité optique à la phase stationnaire.

La comparaison entre les quatre souches pures et les trois mixtures MAV(Metidji et al, 2018) et CH(Ouhalima et al, 2017) montrent que la densité optique maximale n'a jamais dépassé 0,8 tandis que dans notre cas elle a atteint 1,6. Sans oublier, que le temps le plus court pour atteindre la phase stationnaire est de vingt un jours, ce qui montre l'influence négative de la présence des bactéries et du mélange de micro-algues dans les différentes mixtures.

L'exploitation des résultats de la figure III.1 permet le calcul du taux de croissance, les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau III.1.

Tableau III.1 : Taux de croissance de différentes micro-algues

N°	Code micro-algue	Taux de croissance (J^{-1})
1	CH 9	0,2705
2	MAV 7	0,317
3	MAV 7b	0,693
4	CO 10	0,215

Le tableau III.1, indique que le taux de croissance varie en fonction de la micro-algue, le taux de croissance le plus faible est retenu pour la micro-algue CO 10, et le taux de croissance le plus élevé est retenu pour micro-algue MAV 7b.

En parallèle, nous avons suivi la concentration temporelle de la chlorophylle, les résultats obtenus sont regroupés dans la figure III.2.

Les résultats de la figure III.2 montrent que la concentration de la chlorophylle augmente avec la hausse du temps avec l'ensemble des micro-algues, nous relevons aussi que cette évolution de la chlorophylle suit l'évolution de la densité optique des micro-algues, ou nous relevons que la micro-algue MAV7B à la plus grande valeur de concentration en chlorophylle.

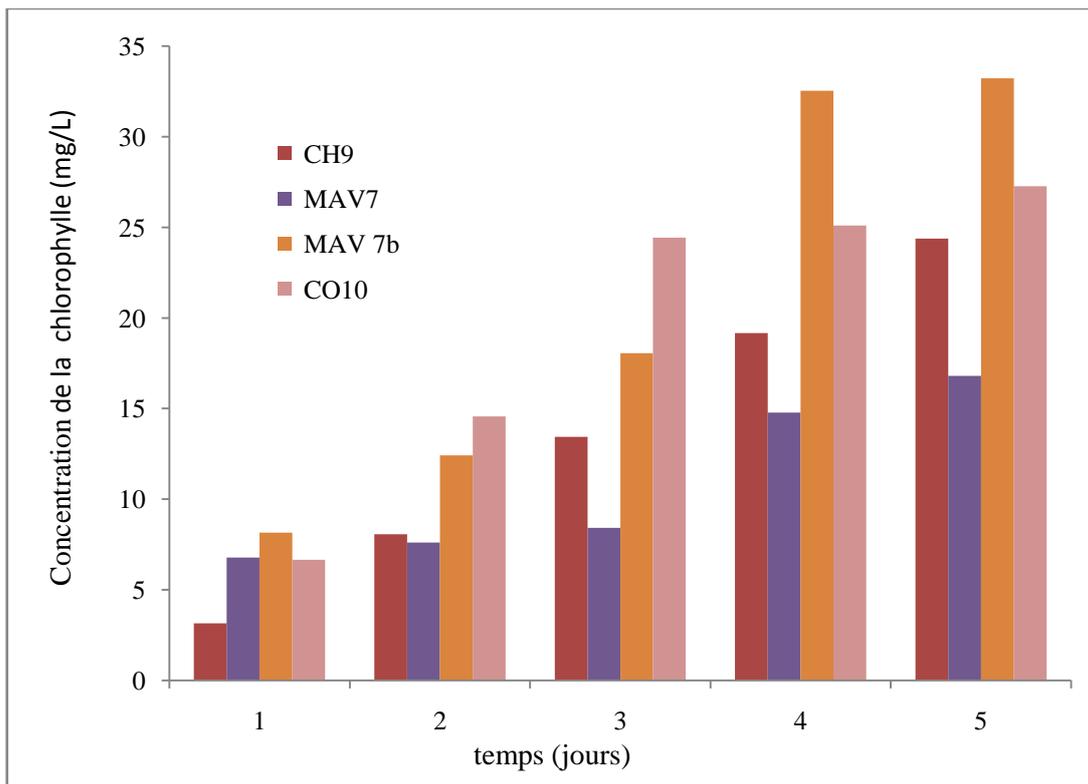


Figure III. 2 : Evolution temporelle de la concentration de la chlorophylle des micro-algues

Les figures III.1 et III.2 et le tableau III.1, nous montrent que la micro-algue qui a une grande croissance et une grande concentration par rapport aux trois autres micro-algues c'est la M7b. Pour cela, nous allons poursuivre notre travail avec deux micro-algues, la M7b et CO 10, à savoir, la chlorella sorokiniana et chlorella vulgaris.

III. 3.Etude paramétrique de la dégradation du Diclofenac

III. 3. 1. Elimination du diclofenac par la chlorellasorokiniana

III. 3. 1.1. Effet de la densité initiale de la micro-algue

Dans le but de voir l'influence de la densité initiale (concentration des micro-algues) sur l'élimination du diclofenac, nous avons varié ce paramètre en augmentant la densité optique initial de 0,1 à 0,4, en maintenant constant, la concentration du diclofenac à 25 mg/L et les conditions du milieu de culture TAP. Sans oublier, que les essais expérimentaux été réalisés en utilisant le dispositif expérimental CRAPC-Smart light.

Pour ce faire, des essais expérimentaux ont été réalisés, ou nous allons suivre la densité optique des micro-algues, la concentration du diclofénac et la concentration de la chlorophylle. Les résultats obtenus sont regroupés dans la figure III.3 :

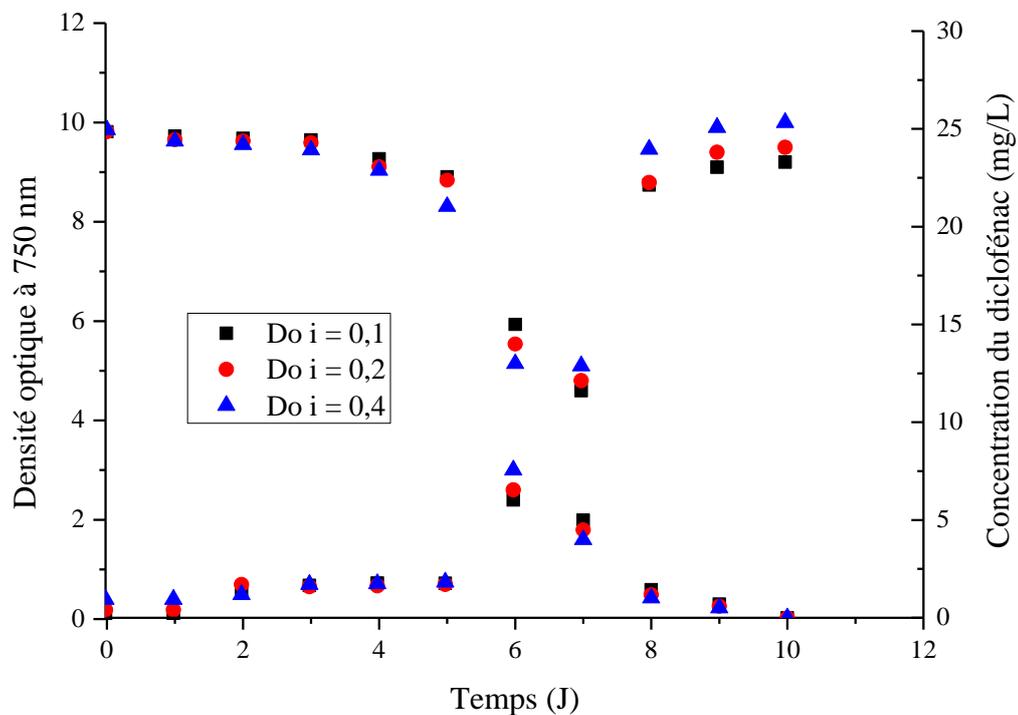


Figure III.3 : Evolution temporelle de la densité initiale de la micro-algue et la concentration du diclofénac utilisant le milieu TAP pour différente valeur de densité initiale

L'évolution temporelle de la densité optique montre que les phases de croissance sont respectés, ou :

- la phase de latence dure cinq jour, de temps égal à zéro au cinquième jour ;
- la phase accélération dure une journée, du cinquième jour au sixième jour ;
- la phase exponentielle dure deux jours, du sixième jour au huitième jour ;
- la phase de ralentissement dure une journée, du huitième jour au neuvième jour ;
- la phase stationnaire dure une journée, du neuvième au dixième jour;

Nous relevons aussi que la densité optique la plus élevé est obtenu pour la densité optique initiale la plus grande.

Sans oublier, la présence du diclofenac dans le milieu TAP influe négativement sur la croissance de la micro-algue *Chlorella Sorokiniana*, ou nous relevons il y à une phase de latence en présence du diclofénac. Aussi, la phase stationnaire est obtenue plus rapidement.

La comparaison de ces valeurs avec les travaux antérieurs en utilisant les deux mixtures CH et MAV indique qu'avec c'est dernier, nous n'avons pas dépassé la valeur égale à 1,5 de densité optique dans les conditions optimaux de traitement du diclofénac (Ouhlima et al 2017 et Metidji et al 2018), par contre, en utilisant la *Chlorella Sorokiniana*, nous avons dépassé valeur de 9 de densité optique.

La figure III.3 montre que la concentration temporelle du diclofénac diminue en suivant les phases de croissance de la micro-algue ou nous remarquons un abattement important dans les deux phases réuni, à savoir, la phase accélération et exponentiel.

Le diclofénac est totalement éliminé par la micro-algue au bout de 10 jours, la comparaison de ces valeurs avec les travaux antérieurs en utilisant les deux mixtures CH et MAV indique qu'avec c'est dernier, le temps de biodégradation le plus court est 12 jours (Ouhlima et al 2017 et Metidji et al 2018), par contre, en utilisant la *Chlorella Sorokiniana*, nous n'avons pas dépassé 10 jours.

L'exploitation des résultats obtenus dans la figure III.3, nous permet de calculer le taux de croissance de la phase exponentiel, les résultats obtenus sont regroupés dans la figure III.4.

Les résultats obtenus illustrés dans la figure III.4 montre :

- Le taux de croissance reste constant quel que soit la valeur de la densité optique initiale des micro-algues qui est égal en moyenne à $0,84 \text{ J}^{-1}$;
- Les valeurs obtenues sont 10 fois plus grandes que les valeurs obtenus dans les travaux antérieurs (Ouhlima et al 2017 et Metidji et al 2018).

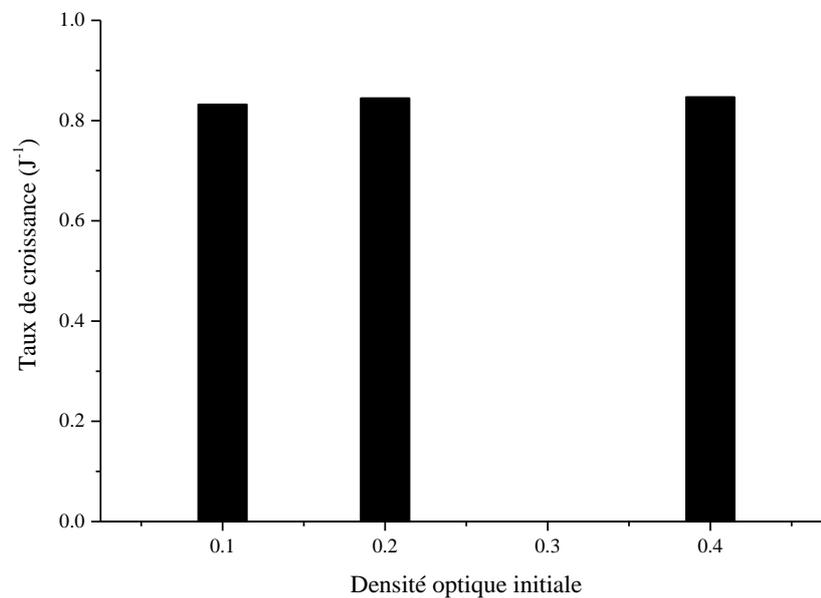


Figure III.4 : Evolution du taux de croissance en fonction de la densité optique initiale

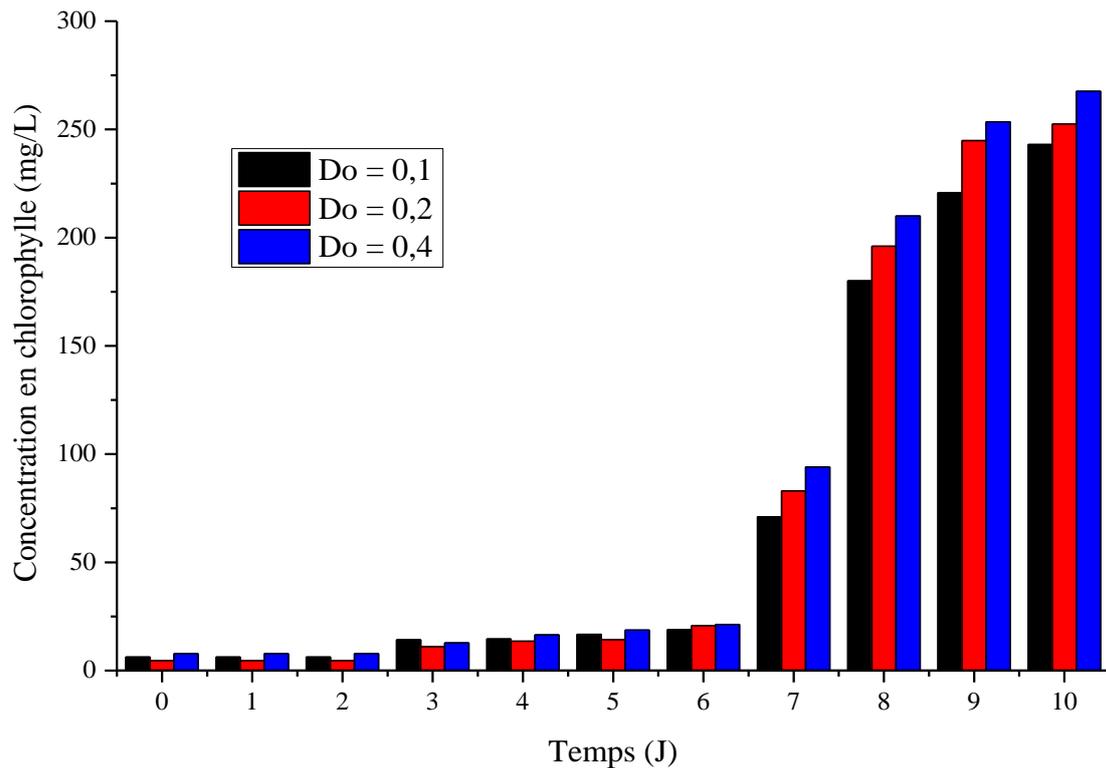


Figure III.5 : Evolution temporelle de la concentration de la chlorophylle utilisant le milieu TAP pour différente valeur de densité initiale

Dans le but de voir l'évolution temporelle de la chlorophylle, des analyses par UV-Visible ont été réalisées selon le protocole décrit dans le chapitre 2, les résultats obtenus sont regroupés dans la figure III.5.

La figure III. 5 indique que la concentration de la chlorophylle quel que soit la valeur de la densité optique croit d'une façon exponentiel pour les temps variant de zéro à huit jours, puis la concentration de la chlorophylle tend vers se stabiliser, cette stabilisation est dû à la croissance des micro-algues qui est stationnaire.

III.3.1.2. Effet de la concentration initiale du diclofenac

Dans l'intention de percevoir la performance des micro-algues à éliminer le diclofenac, nous avons étudiées l'influence de ce paramètre en variant la concentration de ce dernier de 12,5 à 400 mg/L, en utilisant une densité optique initiale égale à 0,4 et les conditions du

milieu de culture TAP. Sans oublier, que les essais expérimentaux ont réalisés en utilisant le dispositif CRAPC-Smart light.

Pour ce faire, des essais expérimentaux ont été réalisés, ou nous allons suivre la densité optique des micro-algues, la concentration du diclofenac et la concentration de la chlorophylle. Les résultats obtenus sont regroupés dans la figure III. 6 :

Les résultats illustrés sur la figure III.6 montre que les phases de croissance sont respectées.

La phase de latence : le temps de la phase de latence varie de cinq à sept jour, de cette augmentation est dû à la variation de la concentration initiale du diclofénac ;

La phase accélération : le temps de la phase d'accélération est constant quel que soit la concentration initiale du diclofénac égal à une journée

La phase exponentielle dure entre deux à cinq jours, de cette augmentation est dû à la variation de la concentration initiale du diclofénac ;

La phase de ralentissement dure une journée quel que soit la concentration du diclofénac ;

La phase stationnaire dure une journée.

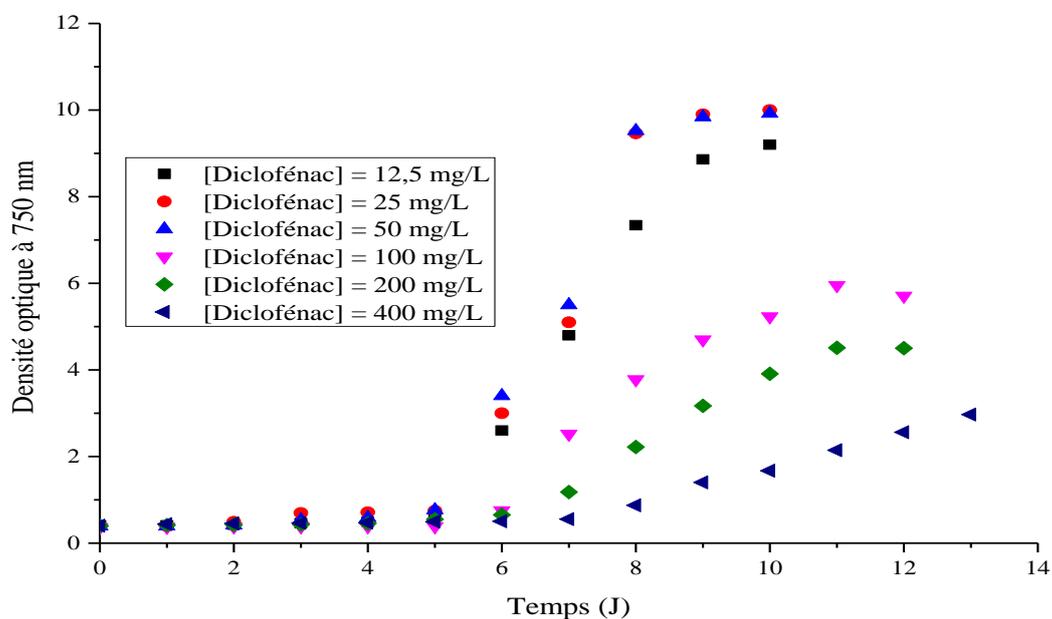


Figure III.6 : Evolution temporelle de la densité initiale de la micro-algue en utilisant le milieu TAP pour différentes valeurs de la concentration du diclofénac

Nous relevons aussi que la densité optique la plus élevée est obtenue pour une concentration initiale en diclofénac égale à 25 mg/L.

La densité la plus grande des micro-algues est retenue en utilisant la concentration du diclofénac égale à 25 mg/L.

L'exploitation des résultats de l'évolution temporelle de la densité optique nous permet de tracer le taux de croissance en fonction de la densité optique initiale, les résultats obtenus sont regroupés dans la figure III.7.

L'exploitation des résultats sur la figure III7 montre que le taux de croissance augmente avec la hausse de la concentration initial en diclofénac, ou la valeur maximale est atteint à 25 mg/L, au-delà de cette concentration le taux de croissance diminue.

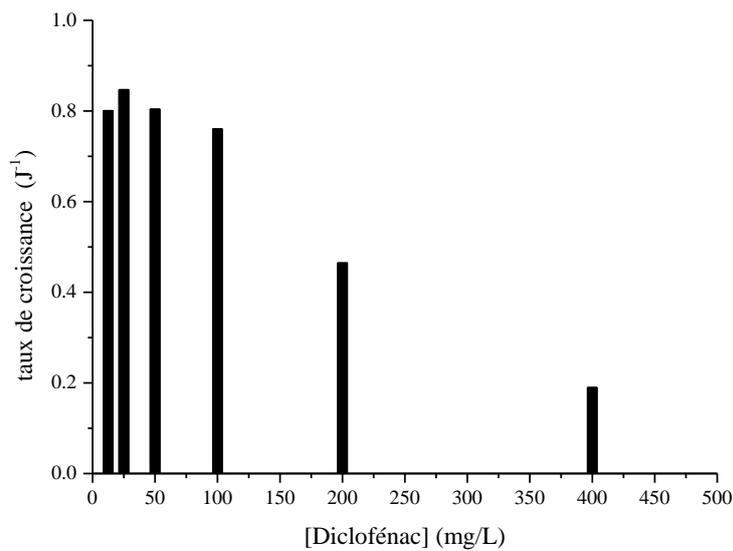


Figure III.7 : Evolution du taux de croissance en fonction de la densité optique initiale

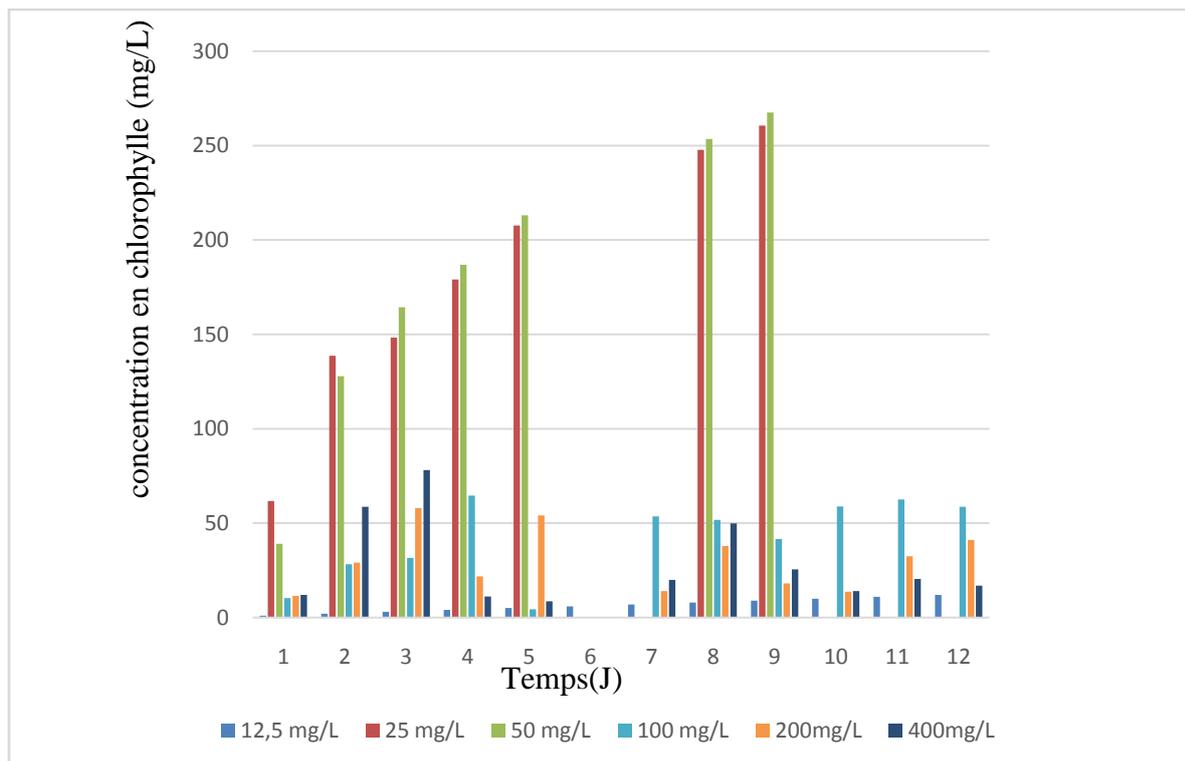


Figure III.8 : Evolution de la concentration temporelle en chlorophylle pour différentes concentrations initiales en diclofénac

La figure III.8 montre que pour les concentrations initiales en diclofénac inférieures ou égale à 50 mg/L, une évolution exponentielle du premier jour jusqu'au neuvième jour, ou la plus grande valeur en concentration de chlorophylle est observé pour la concentration initiale en diclofénac égale à 50 mg/L.

Par contre, pour les concentrations initiales en diclofénac supérieur à 50 mg/L, nous observons une évolution non monotone.

Dans le but de voir le pouvoir épuratoire des micro-algues isolées, nous avons fait varier la concentration initiale du diclofénac de 12,5 à 400 mg/L, les résultats obtenus sont regroupés dans la figure III.9.

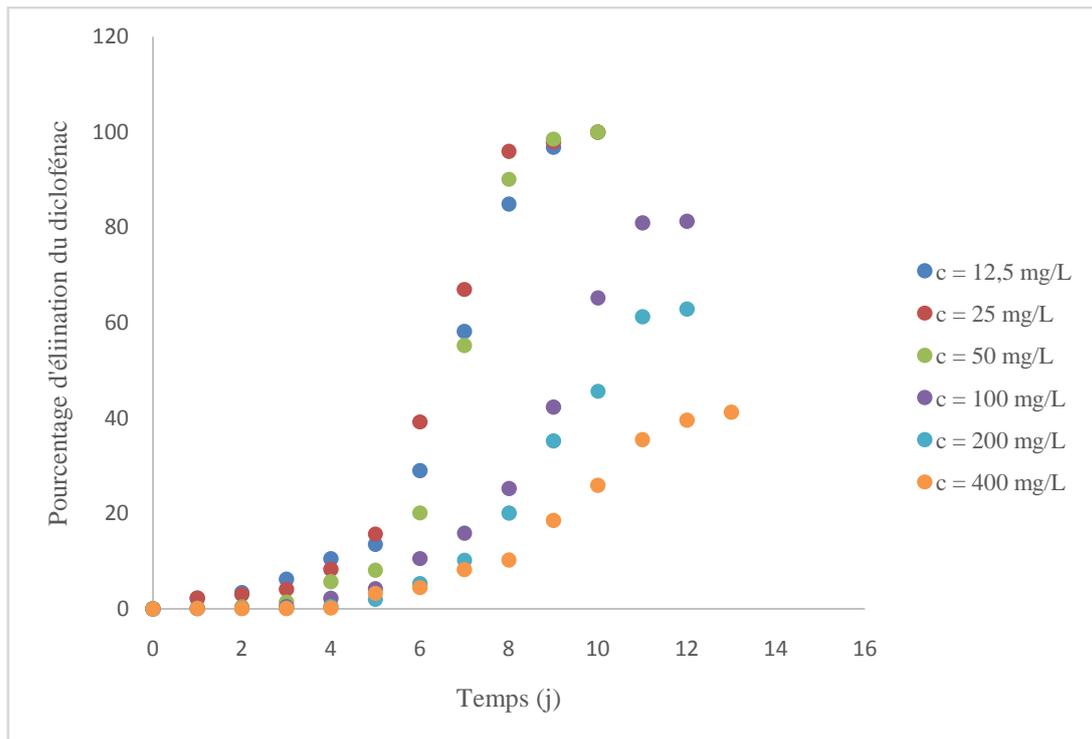


Figure III.9 : Evolution temporelle du pourcentage d'élimination du diclofénac

Nous remarquons une similitude d'évolution entre les courbes de croissance et les courbes d'élimination du diclofénac.

Nous remarquons :

- Le diclofénac est éliminé totalement pour les concentrations inférieures à 50 mg/L,
- Au-delà, de 50 mg/L, nous n'avons pas une élimination totale

Ces résultats montrent qu'au-delà de 50 mg/L la croissance des micro-algues sont inhibé par l'ajout du diclofénac dans le milieu TAP.

III. 3. 2. Elimination du diclofenac par la chlorella vulgaris

III. 3. 2.1. Effet de la densité initiale de la micro-algue

Dans le but de voir l'influence de la concentration de ce type de micro-algue sur l'élimination du diclofenac, nous avons utilisé les mêmes conditions des essais expérimentaux précédents.

Nous allons suivre la densité optique des micro-algues, la concentration du diclofenac et concentration de la chlorophylle. Les résultats obtenus sont regroupés dans la figure III.10 :

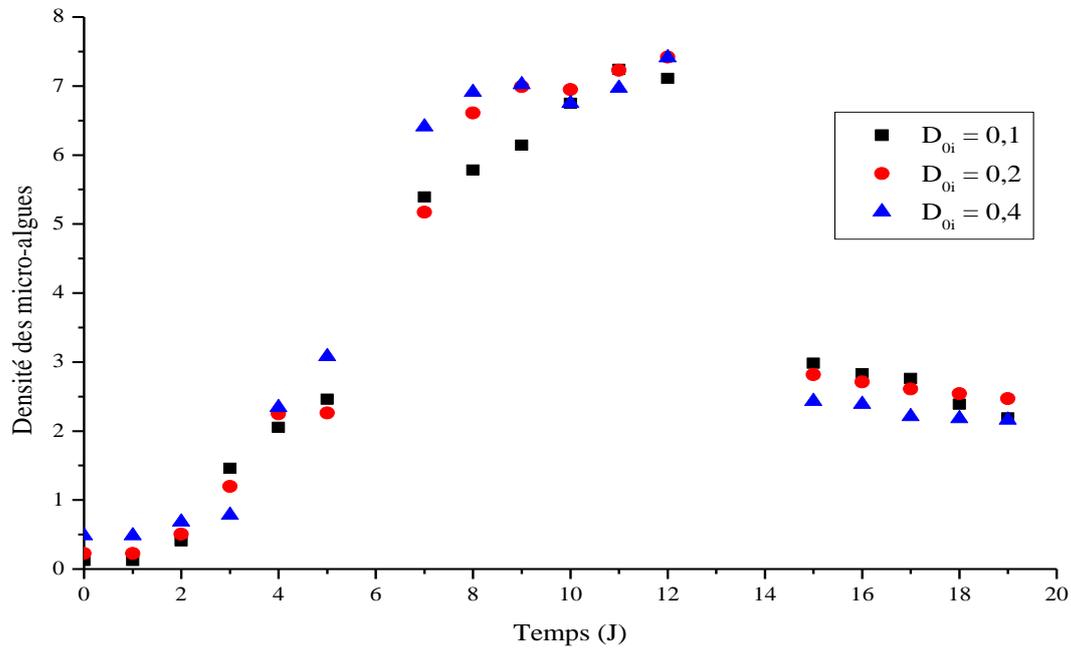


Figure III.10 : Evolution temporelle de la densité initiale de la micro-algue en utilisant le milieu TAP pour différente valeur de densité initiale.

L'évolution temporelle de la densité optique montre la présence des phases de croissance suivantes :

- la phase de latence dure une journée ;
- la phase accélération dure deux journées ;
- la phase exponentielle dure cinq jours, du troisième jour au septième jour ;
- la phase de ralentissement dure cinq jours ;

Ces résultats montrent clairement qu'ils y a une grande différence de comportement entre les deux micro-algues, le tableau III.2 résume cette différence en terme de temps dans chaque phase de croissance, ou nous relevons qu'il n'y a pas de similitude de comportement en terme de temps de phase, ces derniers sont très court pour une micro-algue et long pour une autre.

Tableau III. 2 : Comparaison des temps des phases de croissances

Paramètres	Phase de croissance	<i>Chlorella sorokiniana</i>	<i>Chlorella vulgaris</i>
Densité optique	Phase de latence	Cinq jours	Une journée
	Phase d'accélération	Une journée	Deux jours
	Phase exponentielle	Deux jours	Cinq jours
	Phase de ralentissement	Une journée	Cinq jours
	Phase stationnaire	Une journée	/

La figure III.11 montre que les différentes valeurs de la densité initiale et la croissance de la micro-algue, non aucun effet sur l'élimination du diclofenac durant les essais expérimentaux. Ou nous relevons que la concentration du diclofenac reste inchangée et égale à 25 mg/L.

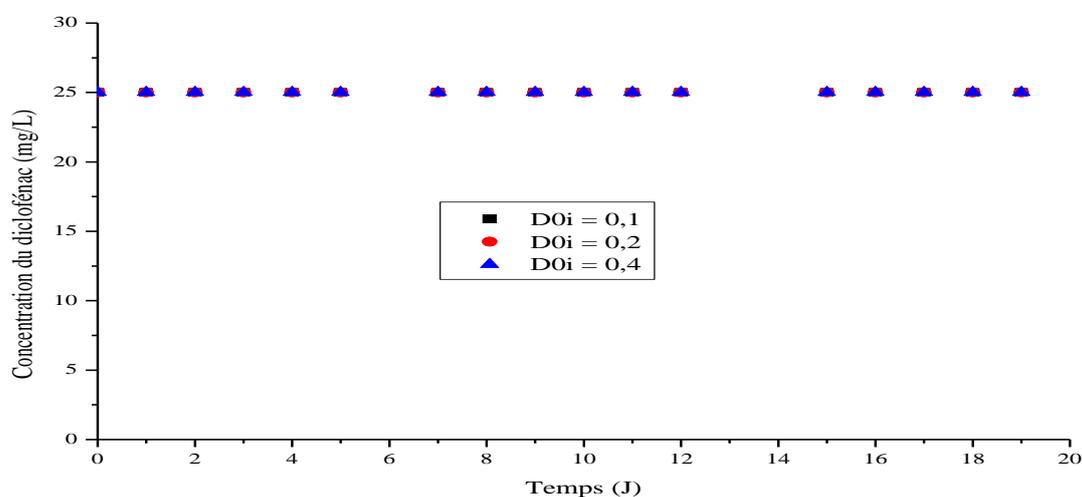


Figure III.11: Evolution temporelle de la concentration du diclofenac en fonction de la densité initiale de la micro-algue

La comparaison des résultats avec les essais précédents, nous révèle qu'une élimination totale du diclofenac à 25 mg/L en utilisant la **Chlorella sorokiniana** par contre la **Chlorella vulgaris** n'a pas pu éliminer le diclofenac.

L'exploitation des résultats obtenus dans la figure III.9, nous permet de calculer le taux de croissance de la phase exponentiel, les résultats obtenus sont regroupés dans la figure III.12.

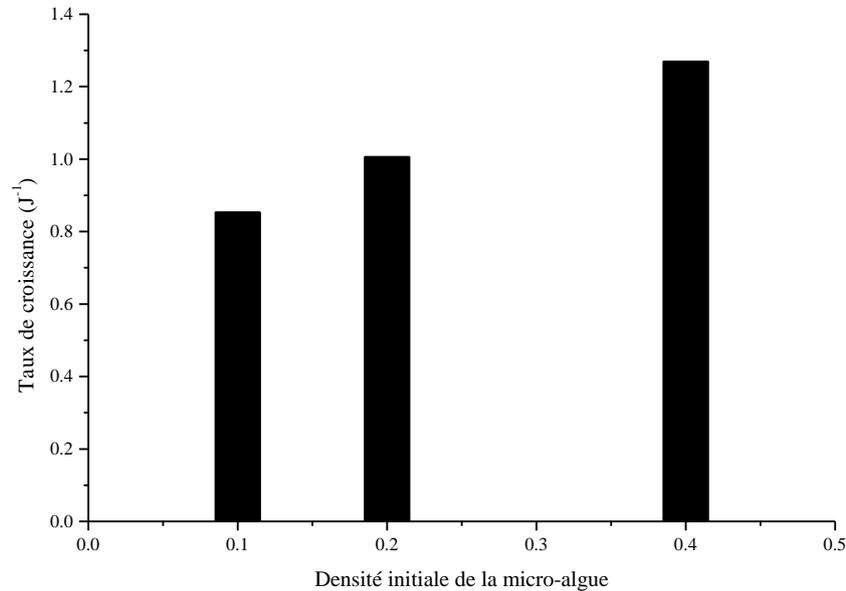


Figure III.12 : Variation du taux de croissance en fonction de la densité initiale.

La figure III.12 montre l'influence de la densité optique sur le taux de croissance ou en remarque la hausse du taux de croissance avec l'augmentation de la densité optique ou il atteint $0,87 J^{-1}$, $1 J^{-1}$ et $1,27 J^{-1}$, pour les densités optiques 0,1, 0,2 et 0,4.

Nous relevons aussi que les valeurs des taux de croissance sont largement supérieures à la valeur obtenue en utilisant le milieu TAP qui est égal à $0,215 J^{-1}$.

La comparaison des valeurs du taux de croissance entre les deux micro-algues, le tableau III.3 indique que les taux de croissance de la **Chlorella vulgaris** pour les densités optiques 0,2 et 0,4 sont supérieurs à celui de la **Chlorella sorokiniana**.

Tableau III. 3 : Comparaison des temps de phase de croissance

Paramètres	Densité optique initiale	Taux de croissance (J^{-1})	
		<i>Chlorella sorokiniana</i>	<i>Chlorella vulgaris</i>
Densité optique	0,1	0,83	0,87
	0,2	0,84	1
	0,4	0,85	1,25

L'évolution temporelle de la chlorophylle en fonction de la densité optique initiale est regroupée dans la figure III.12.

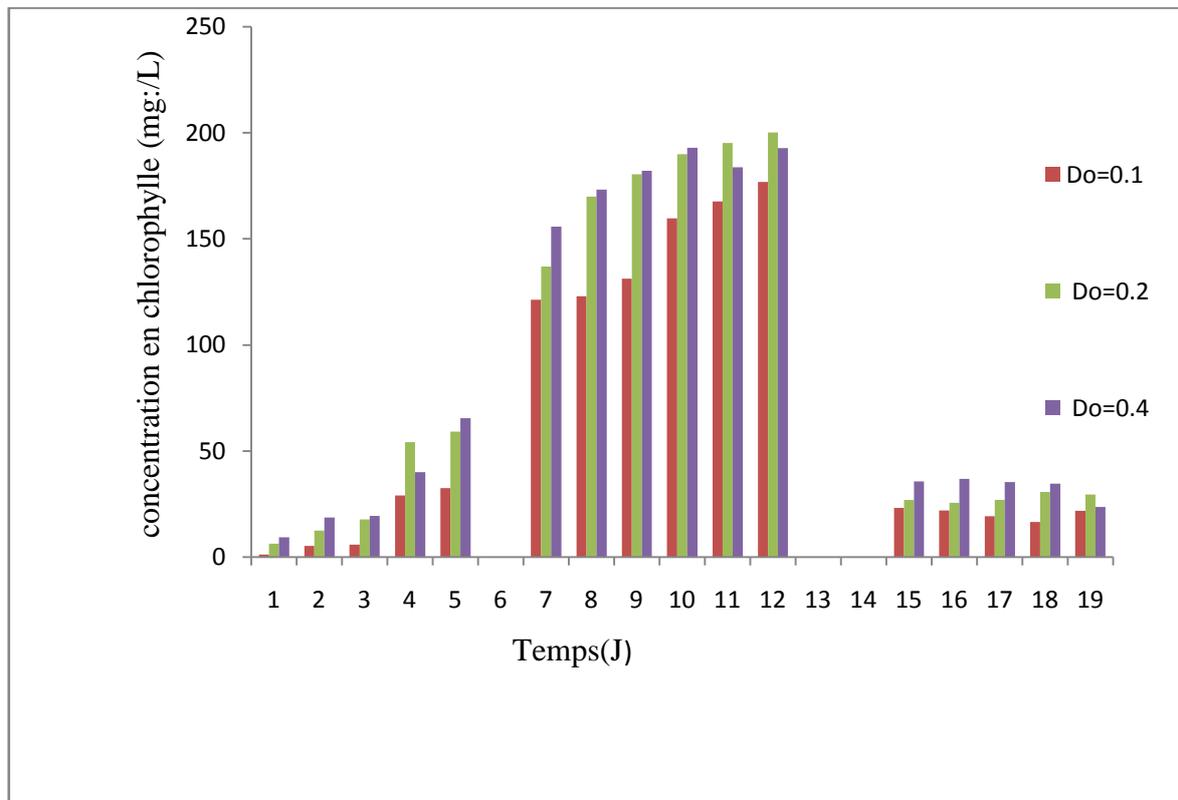


Figure III.13 : Evolution temporelle de la concentration de la chlorophylle utilisant le milieu TAP pour différente valeur de densité optique initiale

La figure III.13 révèle que la concentration de la chlorophylle à une allure exponentiel quel que soit la valeur de la densité optique. Au-delà de douzième jour, la valeur de la densité optique diminue et se stabilise.

III.3.2. 2. Effet de la concentration du diclofenac

Dans le but de voir l'efficacité de la *Chlorella vulgaris* à éliminer le diclofenac, nous avons étudiées l'influence de ce paramètre en variant la concentration de ce dernier de 12,5 à 400 mg/L, en utilisant une densité optique initiale égale à 0,4, les conditions du milieu de culture TAP et nous avons suivi les mêmes procédures et essais expérimentaux de la micro-algue précédente. Les résultats obtenus sont regroupés dans la figure III.13 :

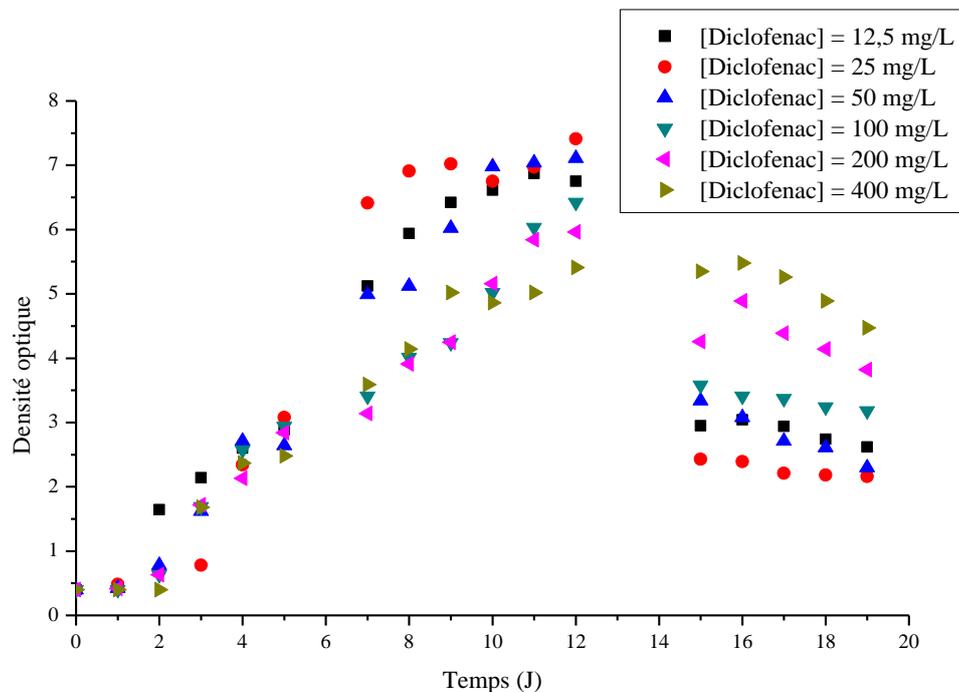


Figure III.14 : Evolution temporelle de la densité optique pour différents valeurs de concentration initiale de diclofénac

Les résultats illustrés sur la figure III.14 montre que les phases de croissance sont respectées. Le temps de chaque phase dépend de la concentration du diclofénac.

Nous relevons que la densité optique la plus élevée est obtenue pour une concentration initiale en diclofénac égale à 25 mg/L.

L'exploitation de ces résultats dans la phase exponentielle va nous permettre de tracer le taux de croissance en fonction de la densité optique initiale, les résultats obtenus sont regroupés dans la figure III.15.

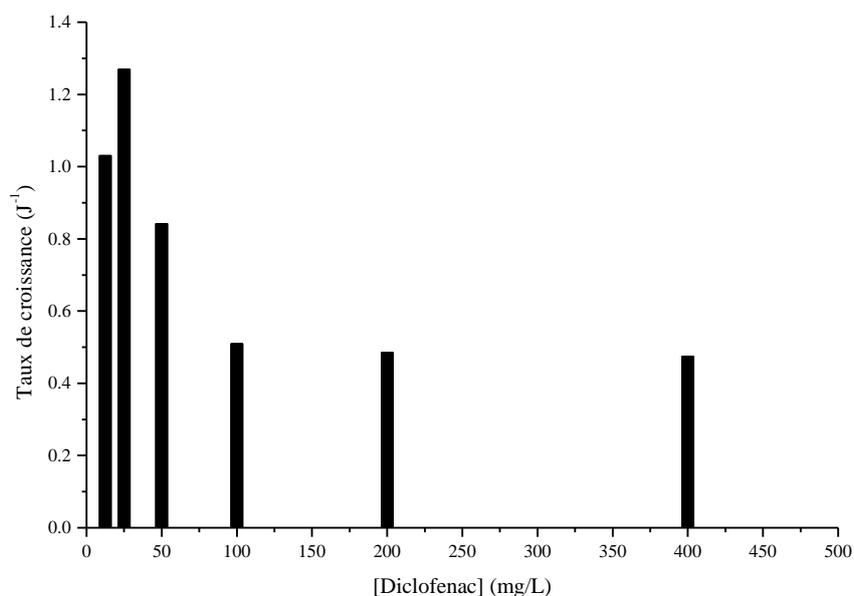


Figure III.15 : Evolution du taux de croissance en fonction de la concentration du diclofenac

La Figure III.15 montre que le taux de croissance augmente avec la hausse de la concentration initial en diclofénac jusqu'à atteindre la concentration de 25 mg/L, ou à cette valeur, le taux de croissance est maximale, au-delà de cette concentration le taux de croissance diminue.

La comparaison entre l'utilisation des deux micro-algues indique qu'une évolution similaire du taux de croissance ou nous relevons que les taux de croissance de la micro-algue *Chlorella vulgaris* sont largement supérieurs que ceux obtenus par la micro-algue *Chlorella sorokiniana*.

Dans le but de déterminer l'efficacité de la micro-algue *Chlorellavulgaris* dans l'élimination du diclofenac, nous avons varié la concentration initiale du diclofénac de 12,5 à

400 mg/L et nous avons suivi la concentration de ce dernier en fonction du temps, les résultats obtenus sont regroupés dans la figure III.16.

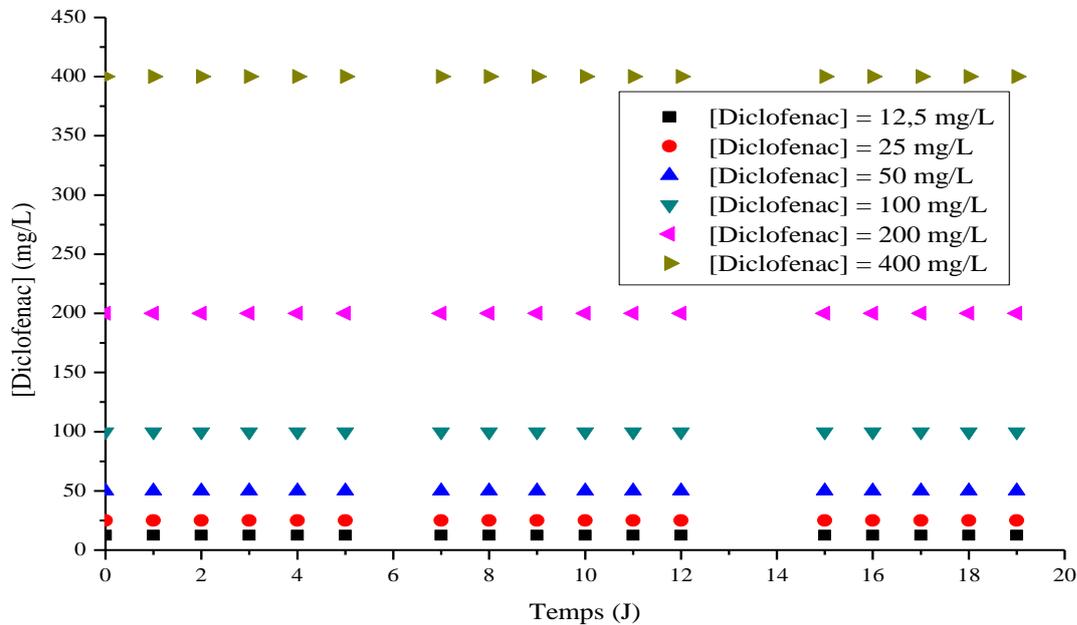


Figure III.16 : Evolution temporelle de la concentration du diclofenac

La figure III.16 indique clairement l'absence de l'élimination du diclofénac en fonction du temps, ou nous relevons que la micro-algue *Chlorella vulgaris* peut se multiplier en présence de diclofénac sans le dégrader, en utilisant le CO₂ de l'air comme source de carbone.

Nous relevons aussi, que le taux de croissance élevé n'a pas de relation avec le taux d'élimination du diclofénac en utilisant la micro-algue *Chlorella vulgaris*, ou ce comportement n'est pas observé avec la micro-algue *Chlorella sorokiniana*. Où, il existe une relation directe entre le taux de croissance de la micro-algue est le pourcentage d'élimination du diclofénac, sans oublier, que la micro-algue *Chlorella sorokiniana* a le pouvoir de dégrader le diclofénac sans utilisation du CO₂ qui est dans l'air.

Dans le but de confirmer la croissance de la micro-algue *Chlorella vulgaris*, nous avons suivi la concentration de la chlorophylle en fonction du temps pour chaque concentration du diclofénac étudié, les résultats obtenus sont regroupés dans la figure ci-dessous.

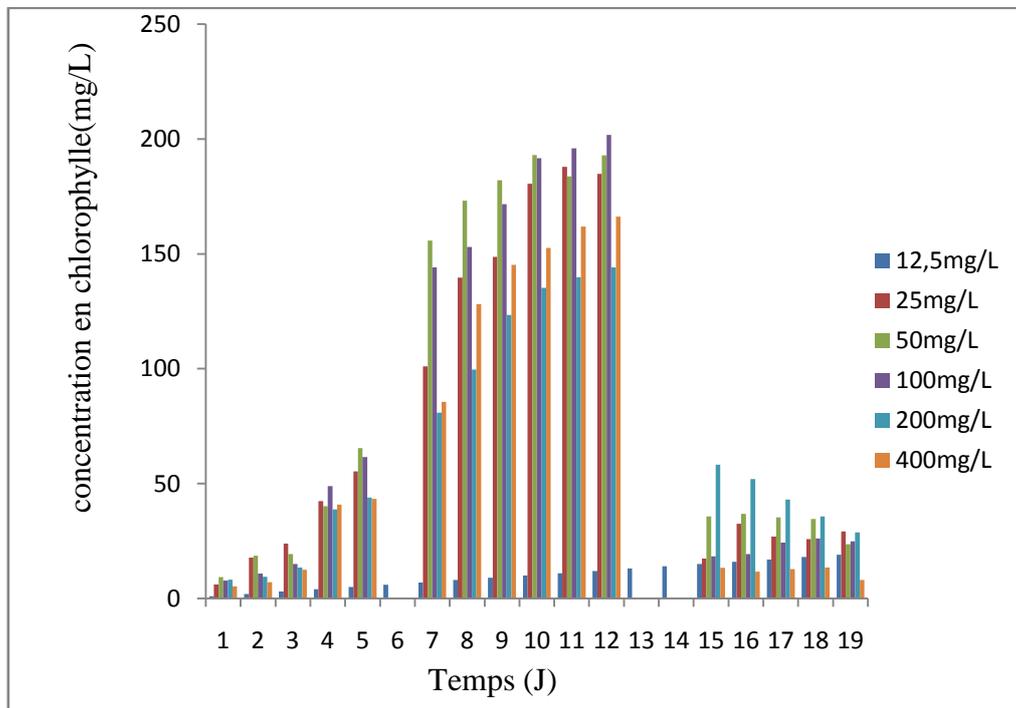


Figure III. 17 : Evolution temporelle de la concentration en chlorophylle pour différents concentrations en diclofénac initiales

D'après la figure III.17 on remarque :

- ✓ La concentration augmente d'une façon exponentielle du premier jusqu'au douzième jour pour toutes les concentrations initiales.
- ✓ A partir du douzième jour jusqu'au dix-neuvième jour ya une décente exponentielle pour toute les concentrations.
- ✓ La valeur maximale de concentration en chlorophylle est de 173,06mg/L qui correspond à la concentration initiale de 100mg/L.

CONCLUSION

L'élimination des produits pharmaceutiques et précisément le diclofenac sodique a fait l'objet d'un intérêt dans ce manuscrit, les tests de son élimination ont été réalisés à l'aide de deux micro-algues bien définies qui sont *Chlorella sorokiniana* et *Chlorella vulgaris* en utilisant le dispositif CRAPC – Smart-light.

L'étude de la cinétique de la croissance de certaines micro-algues nous a permis de sélectionner ces deux micro-algues.

L'étude paramétrique de la dégradation du diclofenac sodique par *Chlorella sorokiniana* et *Chlorella vulgaris* dans le milieu de culture TAP a été réalisée dans le but de voir l'effet de l'augmentation de la densité optique (concentration de la micro-algue) et la concentration du diclofenac sodique et l'optimisation des conditions opératoires.

La variation de la densité optique de la *Chlorella sorokiniana* a une bonne influence sur la croissance de cette micro-algue, ou nous avons obtenu une élimination totale du diclofenac. Par contre, pour la *Chlorella vulgaris* malgré les bons résultats des paramètres de croissance obtenus, la variation de la densité optique n'a aucune influence sur la dégradation de diclofenac, ou aucune élimination n'a été détectée.

L'effet de la concentration du diclofenac indique que la concentration du diclofenac qui inhibe la croissance des micro-algues supérieures à 25 mg/L.

La *Chlorella sorokiniana* élimine totalement le diclofenac pour des concentrations du diclofenac inférieures ou égales à 50 mg/L. Par contre, pour la *Chlorella vulgaris*, aucune élimination du diclofenac n'a été détectée malgré les bons résultats des paramètres de croissance obtenus.

En perspectives :

- ✓ Modélisation de la cinétique de croissance
- ✓ Travailler avec d'autres micro-algues
- ✓ Élimination du diclofenac dans un photo-bioréacteur
- ✓ Réalisation du travail à l'échelle industrielle

✓ REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ✓
- ✓ [1] MANAL SOUFAN, oxydation par le chlore de composé pharmaceutique ,thèse de doctorat de l'Université de POITIERS, (2011).
- ✓ [2] NADIA BOUKHALFA, Synthèses et caractérisations des hydroxydes doubleslamellaires à différents rapports molaires et de montmorillonite organophile: Elimination du diclofénac,Thèse de magistere UNIVERSITE FERHAT ABBAS-SETIF, (2014).
- ✓ [3] RAYEN FILALI, Estimation et commande robustes de culture de micro algues pour la valorisation biologique de CO₂, (2012).
- ✓ [4] AMAMRA SAMRA,These de magistere Université ferhat abbas setif,(2009).
- ✓ [5] ARRANZ RIVERA, Mémoire de Fin d'Etudes sur l'évaluation de l'impact enviromental de l'ibuproféné et du diclofenac dans le milieu aquatique, (2012).
- ✓
- ✓ [6] INERIS,Données technico-économiques sur les substances chimiques en France : Diclofenac, (2011)p 57.
- ✓ [7] BEAUSSE J, Analytical Chemistry, (2004) p 753-761.
- ✓ [8] JIKRA et HOLLENDER, 2008 ; Buser et al, (1998).
- ✓ [9] Dourha Stérou Breizh, Les algues, Eau et Rivières de Bretagne(2004).
- ✓ [10] HELA BEN AMOR BEN AYED, Thèse de doctorat de l'Université de PARIS-SACLAY et de l'Université de SAFEX, (2015).
- ✓ [11]GIULIANA BACERRA CELIS,Proposition de stratégies de commande pour la culture de micro-algue dans un photo bioréacteur continu, Ecole Centrale Paris, 2009.
- ✓ [12]Sialve B, Steyer J-P, Les micro algues, promesses et défis,Innovations Agronomiques 26 (2013), p25-39.
- ✓ [13]MARIE, Etudes micro-algues région Bretagne.
- ✓ [14] NARDO VICENTE, les micro-algues pour l'alimentation, l'énergie et la santé(2012).
- ✓ [15]FRANCOIS DORE-DECHENENES, université de sherbrooke, utilisation des micro-algues comme source d'énergie durable, (juin 2019).
- ✓ [16] S. Chader, B. Mahmah, K. Chetehouna et E. Mignolet, Biodiesel production using Chlorella sorokiniana a green microalga, revue des Energies Renouvelables Vol. 14 N°1 (2011) p21 – 26.
- ✓ [17] IKUKO SHIHIRA, Université de maryland, CHLORELLA Physiology and Taxonomy of Forty-one Isolates.

- ✓ [18] BARBARA CLEMENT-LOROSIERE, Etude de la croissance de *Chlorella vulgaris* en photo-bioréacteur batch et continu, en présence de concentrations élevées de CO₂, l'Université de POITIERS(2012).
- ✓ [19]METIDI SALMA, mémoire de master, l'élimination du diclofenac par une mixture de micro-algues, université Saad Dahleb Blida(2018).