

**UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA**

**Faculté des Sciences de l'ingénieur**

Département de Chimie Industrielle

**MEMOIRE DE MAGISTER**

En Chimie Industrielle

Spécialité : Génie des Procédés

**ETUDE DES MODALITES D'UTILISATION D'UNE PLANTE**

**AQUATIQUE COMME SUPPORT FIXATEUR D'UN**

**PESTICIDE (METHYL-PARATHION) ET DE CADMIUM**

Par

**Fatima-Zohra HALAIMI**

Devant le jury composé de :

H. Khalaf	Professeur, Université de Blida	Président
M. Brada	Maître de conférences, C.U. de Khemis-Miliana	Examineur
A. Hadj ziane	Maître de conférences, Université de Blida	Examineur
Z. Benmaamar	Maître de conférences, Université de Blida	Examineur
S. Semsari	Professeur, U.S.D., Blida	Rapporteur

## Résumé

Au cours de ces dernières années, un intérêt particulier est réservé au développement des systèmes de dépollution, parmi ces techniques la phytoremédiation qui se base sur l'utilisation des plantes aquatiques.

L'objectif majeur de ce travail est de réaliser une étude sur la rétention et l'accumulation d'un pesticide le méthyl-parathion et d'un métal lourd le cadmium par une plante aquatique *Lemna gibba* utilisée à l'état frais et aussi à l'état sec, ainsi que la détermination du facteur de bioaccumulation du cadmium et enfin la modélisation des résultats expérimentaux.

Les résultats obtenus ont montré un taux de rétention de 96,1% pour une concentration initiale de 1ppm de cadmium, 37,25 % pour une concentration initiale de 48 ppm pour le méthyl-parathion pour un temps d'exposition de (04 jours) pour la plante fraîche.

Des cinétiques de fixation du cadmium, en particulier, ont été établies et semblent suivre les lois empiriques d'adsorption.

Pour la plante à l'état sec, les taux de rétention sont de 60,5% et 69% pour le cadmium et le méthyl-parathion respectivement pour un temps de contact de 03 heures et à un pH =4.

Les cinétiques de rétention du cadmium et du méthyl-parathion effectués sur la poudre de la plante *Lemna gibba* permettent de montrer qu'un temps de contact de 03 heures est suffisant pour atteindre un pseudo-équilibre adsorbant-adsorbé.

Les isothermes d'adsorption du cadmium et le méthyl-parathion réalisées à pH = 4 et pH =7 sur la poudre de la plante ont montré globalement que l'adsorption est favorisée à des pH acides.

La modélisation obtenue selon Langmuir et Freundlich a montré généralement que les modèles présentent de bonnes corrélations avec les résultats expérimentaux plus précisément le modèle de Langmuir.

**Mots clés :** phytoremédiation, Biosorption, *Lemna-gibba*, pesticides, métaux lourds.

## Abstract

In recent years, particular interest is reserved for the development of pollution control systems, among these techniques phytoremediation, which is based on the use of aquatic plants.

The major objective of this work is to conduct a study on the retention and accumulation of the pesticide methyl- parathion and heavy metal cadmium by an aquatic plant *Lemna gibba* in fresh state and dry state, and the determination of cadmium bioaccumulation factor and in the end the modeling of experimental results.

The results showed a retention rate of 96.1% for an initial concentration of 1 ppm of cadmium, 37.25 % for an initial concentration of 48 ppm for methyl -parathion for an exposure time of 96h for the fresh plant.

Kinetics of binding of cadmium, in particular, has been established and appears to follow empirical laws of adsorption.

Then for the plant to dry conditions and the retention rate of 60.5% and 69% for cadmium and methyl parathion, respectively, for a contact time of 03 hours at pH = 4.

The retention kinetics of cadmium and methyl -parathion on the powder made from the plant *Lemna gibba* can show that a contact time of 03 hours is sufficient to achieve a pseudo- equilibrium adsorbent-adsorbate.

The adsorption isotherms of cadmium and methyl parathion were studied at pH =4 and pH =7 on the powder of the plant showed that the adsorption was very high at acidic pH and not favorable at pH neuter.

The modelization of adsorption isotherms by the use of Langmuir and Freundlich confirmed the experimental results more accurate model of Langmuir.

**Keywords:** phytoremediation, Biosorption, *Lemna gibba*, pesticides, heavy metals.

## ملخص

في الآونة الأخيرة أصبحت بعض الدراسات منحصرة في تطور أنظمة جديدة لتنقية المياه من بين هاته التقنيات المعالجة بواسطة النباتات المائية.

الهدف الأساسي من هذا العمل هو دراسة تثبيت و تركيب المبيدات و المعادن الثقيلة و مثال على ذلك: مثيل- براتيون و كادميوم وذلك بواسطة مسطحات مائية "عدس الماء" في حالة طبيعية و عبارة عن مسحوق جاف وكذلك إيجاد معامل تراكم و في الأخير نموذجة النتائج التجريبية .

النتائج المحصل عليها تبين أن معدل امتزاز قدر ب  $96.1\%$  بالنسبة للتركيز  $1\text{ مغ/ل}$  للكاديوم و  $37.25\%$  بالنسبة للتركيز  $48\text{ مغ/ل}$  للمثيل براتيون و هذا في حاله طبيعية للنبته عدس الماء من اجل مدة التماس قدرت ب  $96\text{ سا}$  أما في حالة مسحوق جاف فمعدل تثبيت كاديوم  $60.5\%$  من اجل تركيز  $1\text{ مغ/ل}$  أما بالنسبة للمثيل-براتيون فقدر ب

$69\%$  وذلك من اجل تركيز  $48\text{ مغ/ل}$  و هذا من اجل مدة التماس قدرت ب  $3\text{ سا}$  وفي وسط  $\text{pH} = 4$ .

حركات الامتزاز كاديوم و مثيل- براتيون على مسحوق جاف للنبته " عدس الماء " بينت أن مدة التماس والتي قدرت ب  $3\text{ ساعات}$  كافية لتحقيق التوازن .

ازوتارمات الامتزاز كاديوم و مثيل- براتيون في وسط  $\text{pH} = 4$  و  $\text{pH} = 7$  بينت بصفة عامة بان الامتزاز مفضل في وسط حامضي.

نموذجة الامتزاز حسب فرنديش و لنقيور بينت بصفة عامة انطباق جيد مع النتائج التطبيقية و خاصة مع نموذج لنقيور.

**كلمات مفاتيحية:** معالجة بالنباتات المائية, امتصاص بيولوجي, معادن ثقيلة, المبيدات, عدس الماء.

## REMERCIEMENTS

La présente étude a été réalisée au Laboratoire de Génie Chimique du Département de Chimie Industrielle de l'Université Saâd Dahlab-Blida.

Je tiens à témoigner toute ma reconnaissance à ma directrice de mémoire Madame S.SEMSARI professeur au Département de Chimie Industrielle (USDB).Quelle trouve ici l'expression de ma vive gratitude, pour m'avoir proposée un thème très intéressant ainsi que pour les orientations et le soutien constant qu'elle n'a cessé de m'apporter dans le cadre de ce travail, tout en me faisant bénéficier de son expérience et ces compétences scientifiques. Trouvez ici l'expression de ma vive gratitude, pour m'avoir orientée et soutenu merci.

Je remercie sincèrement Monsieur H.KHALAF, professeur au Département de Chimie industrielle (USDB) de m'avoir honoré de sa présence comme président de jury à ma soutenance.

Je remercie tout particulièrement Monsieur Mr M. BRADA, Maître de conférences A à l'université de KHEMIS-MILIANA du département de génie des procédés d'avoir accepté de faire partie du jury de ma soutenance.

J'exprime aussi ma reconnaissance à Madame A. HADJ ZIANE et Monsieur Bemaâmar Z., Maître de conférences (USDB) pour leurs acceptations de faire partie du jury de ma soutenance.

Je tiens à remercier particulièrement Madame CHAUCHE, chargée de cours au Département des Sciences Agronomiques(USDB) d'avoir mis à ma disposition la chambre de culture.

Mr LOUALHI S. du Center de Recherche Algérienne Nucléaire, trouve ici le témoignage de ma plus grande reconnaissance pour son aide dans la réalisation des analyses chimiques.

J'exprime mes remerciements à Monsieur BOUTOUMI du Département de chimie Industrielle sou aide et ses conseils qui m'ont énormément aidé dans la conception de ce travail

Une grande part de mes remerciements va à mes parents, mes frères, mes sœurs et mes amis pour leur soutien précieux au cours de mon travail.

Il m'est particulièrement agréable d'adresser mes sincères remerciements à mon mari Z. BOUACHRI qui ma soutenu tout le long de ce travail

Enfin J'associe à ces remerciements toutes les personnes qui, directement ou indirectement, ont contribué à la réalisation de ce travail.

## LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 :	Phytoextraction de métaux, des métalloïdes, radionucléides et des composés organique.	20
Figure 1.2 :	Mécanisme de la phytostabilisation.	21
Figure 1.3 :	Mécanisme de la phytovolatilisation.	21
Figure 1.4 :	Mécanisme de la phytofiltration ou rhizofiltration.	22
Figure 1.5 :	Les mécanismes impliqués dans le processus de phytoremédiation.	23
Figure 1.6 :	Les espèces classiques en zones humides utilisées en phytoremédiation.	25
Figure 2.1 :	Description de <i>Lemna gibba</i> .	33
Figure 2.2 :	<i>Lemna gibba</i> en croissance rapide.	33
Figure 2.3 :	Culture de lentille d'eau aux USA pour le traitement des eaux.	36
Figure 2.4 :	Classification des isothermes d'adsorption.	43
Figure 3.1 :	Schéma des mécanismes cellulaires connus potentiellement impliqués dans la détoxification des métaux et la tolérance des plantes.	48
Figure 3.2 :	Production des espèces réactives de l'oxygène (ROS) par les métaux lourds.	51
Figure 3.3 :	Mécanismes de transport du cadmium dans les cellules racinaires.	54
Figure 3.4 :	Evolution de la commercialisation des pesticides en Algérie.	60
Figure 3.5 :	Schéma général de la dispersion des insecticides dans les écosystèmes.	62
Figure 4.1 :	Site de Boutelja (Taref).	65
Figure 4.2 :	Sitede Souidania (Doura).	65

Figure 4.3 :	Les lentilles d'eau de la station d'épuration de Kolèa.	65
Figure 4.4 :	Site du jardin d'essai d'El hamma (Alger).	65
Figure 4.5 :	Culture stock dans un bac à l'air libre au niveau du département d'Agronomie (université de Blida).	66
Figure 4.6 :	Les plantes dans le milieu de culture.	68
Figure 4.7:	Les cultures en chambre thermostatée.	69
Figure 4.8 :	Cultures expérimentale dans un milieu Haogland modifié contaminé par le cadmium et méthyl-parathion.	73
Figure 5.1 :	Spectre UV de méthyl-parathion dans le milieu de culture.	81
Figure 5.2:	Spectre UV de méthyl-parathion dans l'eau distillée.	82
Figure 5.3:	Pic de méthyl-parathion dans le milieu de culture à 275,8 nm.	82
Figure 5.4:	Pic de méthyl –parathion dans l'eau distillée à 277,5 nm.	83
Figure 5.5:	Courbe d'étalonnage pour la plante <i>Lemna gibba</i> fraîche	83
Figure 5.6:	Courbe d'étalonnage pour la poudre séchée de la plante <i>Lemna gibba</i> .	84
Figure 5.7:	Cinétique de croissance de nombre de frondes de <i>Lemna gibba</i> en présence et en absence du cadmium dans les milieux de culture	84
Figure 5.8:	Cinétique de croissance de nombre de frondes de <i>Lemna gibba</i> en fonction du temps en présence de méthyl-parathion dans les milieux de culture.	86
Figure 5.9:	Cinétiques de rétention du cadmium à différentes concentrations sur la plante <i>Lemna gibba</i> .	86
Figure 5.10:	Cinétiques de rétention du méthyl-parathion sur la plante <i>Lemna gibba</i> à différentes concentrations.	87
Figure 5.11:	Variation des concentrations du cadmium retenue dans le tissu de la plante <i>Lemna gibba</i> en fonction du temps.	88
Figure 5.12:	Variation du facteur de bioaccumulation du cadmium en fonction du temps.	89

Figure 5.13:	Evolution du pH des milieux de cultures contaminées par différents concentration du cadmium après le test de rétention en fonction du temps.	91
Figure 5.14 :	Evolution du pH des milieux de cultures contaminées par différents concentration du cadmium après le test de rétention en fonction du temps.	91
Figure 5.15:	Spectre IRTF de : (A) poudre séchée de <i>Lemna gibba</i> avant le traitement chimique ; (B) poudre séchée de <i>Lemna gibba</i> après le traitement chimique.	93
Figure 5.16:	Identification de la bioaccumulation du méthyl-parathion par la poudre séchée de <i>Lemna gibba</i> : (a): [Mp]=8ppm ; (b): [Mp]=16ppm ; (c): [Mp]=32ppm ; (d): [Mp]=48ppm.	96
Figure 5.17:	Identification de la bioaccumulation du cadmium par la plante <i>Lemna gibba</i> fraiche. (a) : La plante avant la rétention du cadmium ; (m) : La plante après la rétention du cadmium.	97
Figure 5.18:	Identification de la bioaccumulation du méthyl-parathion par la plante <i>Lemna gibba</i> fraiche: (A): [Mp]=8ppm; (B): [Mp]=16ppm; (C): [Mp]=32ppm; (D): [Mp]=48ppm.	98
Figure 5.19:	Observation par MEB à (200, 50, 5, 1 $\mu$ m et 500 nm) de la poudre du <i>Lemna gibba</i> brute.	99
Figure 5.20:	Observation par MEB à (100, 20, 10 et 5 $\mu$ m) de la poudre du <i>Lemna gibba</i> traitée.	100
Figure 5.21:	Observation par MEB à (200, 100, 20, 5 et 2 $\mu$ m) de la poudre du <i>Lemna gibba</i> traitée après la rétention du méthyl-parathion.	101
Figure 5.22:	Visualisation du MEB à (10-50 $\mu$ m) de la plante <i>Lemna gibba</i> fraiche (témoin).	102
Figure 5.23:	Visualisation du MEB à (10-50 $\mu$ m) de la plante <i>Lemna gibba</i> fraiche après la rétention du Cadmium.	102
Figure 5.24:	Visualisation du MEB à (10-50 $\mu$ m) de la plante <i>Lemna gibba</i> après la rétention du méthyl-parathion	102
Figure 5.25:	Mesure du pH libre de biomasse traitée en fonction du temps.	103
Figure 5.26:	La cinétique de rétention du cadmium par de la poudre séchée de <i>Lemna gibba</i> à pH= 7.	105

Figure 5.27:	La cinétique de rétention du cadmium par de la poudre séchée de <i>Lemna gibba</i> à pH= 4.	105
Figure 5.28:	La cinétique de rétention du méthyl-parathion par de la poudre séchée de <i>Lemna gibba</i> à pH= 7.	106
Figure 5.29:	La cinétique de rétention du méthyl-parathion par de la poudre séchée de <i>Lemna gibba</i> à pH= 4.	106
Figure 5.30 :	Représentation schématique des deux différents systèmes modèles permettant de définir la vitesse de biosorption d'un polluant.	107
Figure 5.31:	Les isothermes d'adsorption du cadmium sur la poudre séchée de la plante <i>Lemna gibba</i> à pH=7 et pH=4. ((a): [Cd] = 0,001ppm; (b): [Cd] = 0,01ppm; (c): [Cd] = 0,1ppm; (d): [Cd] = 1ppm).	109
Figure 5.32:	Les isothermes d'adsorption du méthyl-parathion sur la poudre séchée de la plante <i>Lemna gibba</i> à pH=7 et pH=4. ((a): [Mp] =8 ppm; (b): [Mp] =16 ppm; (c): [Mp] =32 ppm; (d): [Mp] =48 ppm).	109

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1 :	Caractéristique de différentes espèces de lentille d'eau.	31
Tableau 4.1 :	Composition chimique des solutions mères nutritives du milieu Haogland modifié.	67
Tableau 4.2 :	Les conditions d'analyse du méthyl-parathion.	71
Tableau 4.3 :	Les concentrations choisies pour les bio-essais en (mg.L <sup>1</sup> ).	72
Tableau 5.1:	Fonctions de surface de la poudre de <i>Lemna gibba</i> .	95
Tableau 5.2:	Les paramètres des modèles de Langmuir et Freundlich.	112

## TABLE DES MATIERES

RESUME

REMERCIEMENTS

TABLE DES MATIERES

LISTES DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

INTRODUCTION.....	13
1. LA PHYTOREMEDIATION.....	16
1.1. Introduction.....	16
1.2. Aperçu sur la phytoremédiation.....	16
1.3. Principe de phytoremédiation.....	17
1.4. Les mécanismes de la phytoremédiation.....	18
1.5. Les mesures d'applications de la phytoremédiation.....	18
1.6. Hyperaccumulation et les plantes hyperaccumulatrices.....	23
1.7. Inconvénient des plantes hyperaccumulatrices. ....	24
1.8. Principe de fonctionnement des filtres à macrophytes.....	26
2. GENERALITES SUR LES ADSORBANTS NATURELS.....	29
2.1. Introduction.....	29
2.2. Les biosorbants.....	30
2.3. Différents types de biosorption.....	36
2.4. Influence des conditions physico-chimique du milieu.....	38
2.5. Cinétique et isothermes d'adsorption (rétention).....	38
3. LES METAUX LOURDS, LES PESTICIDES ET LEURS IMPACTS SUR L'ENVIRONNEMENT.....	44
3.1. Introduction sur les métaux lourds.....	45
3.2. Devenir des métaux lourds dans le milieu aquatique.....	45
3.3. Toxicité et tolérance des plantes aux métaux lourds.....	46
3.4. Cas du cadmium (Cd) : un élément particulièrement étudié.....	49

3.5. Le cadmium et les plantes.....	49
3.6. Effets sur le processus métabolique. ....	50
3.7. Sites d'action et stress oxydatif.....	50
3.8. Absorption racinaire, translocation et accumulation de cadmium.....	51
3.9. Définition des pesticides.....	56
3.10. Production et consommation.....	59
3.11. Toxicité des pesticides.....	60
3.12. Modes de pollution des eaux par les résidus de pesticide.....	61
3.13. La pollution des eaux par les pesticides en Algérie.....	62
3.14. Normes des pesticides.....	63
4. MATERIELS ET METHODES .....	64
4.1. Introduction.....	64
4.2. Matériel et méthodes expérimentales.....	64
4.3. Echantillonnage de la plante <i>Lemna gibba</i> .....	64
4.4. Méthodologie de culture de <i>Lemna gibba</i> .....	66
4.5. Choix de pesticides .....	69
4.6. Préparation des solutions étalons.....	70
4.7. Détermination du spectre UV de méthyl-parathion.....	70
4.8. Détermination du pic du méthyl-parathion.....	71
4.9. Testes de rétention du cadmium et/ou de méthyl-parathion par la plante <i>Lemna gibba</i> fraîche .....	71
4.10. Mesure de facteur bioaccumulation.....	75
4.11. Préparation de la poudre à partir de la plante <i>Lemna gibba</i> séchée.....	76
4.12. Caractérisation structurales.....	76
4.13. pH libre de la poudre séchée .....	77
4.14. Testes de rétention (la biosorption) du cadmium et/ou de méthyl- parathion par la plante <i>Lemna gibba</i> transformée en poudre .....	78
5. RESULTATS ET DISCUSSIONS.....	81
5.1. Introduction.....	81
5.2. Etablissement de la courbe d'étalonnage.....	83
5.3. Tests de rétention du cadmium et du méthyl- parathion sur la plante <i>Lemna gibba</i> fraîche.....	84

5.4. Etudes des cinétiques des taux de croissance de <i>Lemna gibba</i> en présence Et en absence du cadmium et du méthyl-parathion.....	84
5.5. Cinétique de rétention du cadmium et du méthyl-parathion sur <i>Lemna gibba</i> ...	86
5.6. Evolution de concentration du cadmium dans le tissu de la plante.....	88
5.7. Facteur de bioaccumulation du cadmium.....	89
5.8. Evolution du pH après les tests de rétention (phytoremédiation).....	91
5.9. Prétraitement de la poudre séchée de <i>Lemna gibba</i> .....	92
5.10. Caractérisation structurales de la poudre séchée de la <i>Lemna gibba</i> .....	93
5.11. Mesure du pH libre de la poudre séchée de <i>Lemna gibba</i> .....	103
5.12. Tests de rétention du cadmium et du méthyl-parathion sur <i>Lemna gibba</i> sous forme de poudre séchée.....	104
CONCLUSION.....	117
APPENDICE.....	120
REFERENCES.....	130

## INTRODUCTION

Les micropolluants présents dans l'environnement ont des origines très variées. Leur devenir environnemental ainsi que leur impact potentiel sur les différents écosystèmes sont très dépendants de leurs interactions avec le milieu environnant [1].

Les principaux micropolluants impliqués dans les phénomènes de pollutions chimiques sont les métaux (Cadmium, Zinc, Plomb,), les métalloïdes (Arsenic, Sélénium), les molécules organiques (Pesticides, Hydrocarbures et certains toxiques minéraux (Cyanures) [1].

Les cycles biogéochimiques des éléments traces métalliques ainsi que des espèces organiques et inorganiques sont influencés à la fois par les phénomènes naturels et par les activités humaines. Contrairement aux métaux, présents naturellement et en proportions diverses dans la plupart des roches (fond géochimique), les produits organiques sont exclusivement introduits par l'activité anthropique, principalement en agriculture [2].

L'utilisation de ces produits phytosanitaires est à l'origine d'un problème majeur à l'interface de l'agriculture (amélioration de la productivité) et de la préservation des ressources en eau. Ces contaminants peuvent être à l'origine de perturbations à long terme des écosystèmes aquatiques récepteurs, en particulier vis à vis des producteurs primaires sensibles aux pollutions aussi bien organiques que métalliques [3].

Par conséquent la dépollution de l'eau est devenue de nos jours un enjeu très important car ces composés dangereux souvent sont non biodégradables, toxiques par rapport aux micro-organismes et leur temps de dégradation dans l'environnement est très long [4].

Les sociétés productrices d'eau, pour se conformer aux normes établies, sont obligées d'inclure dans leurs filières de traitement des eaux, des procédés pour éliminer ces polluants, car les méthodes classiques de dépollutions (coagulation-floculation, filtration sur sable) sont peu efficaces voire non adaptables à leur élimination. D'autres traitements comme la transformation (oxydation à l'ozone ou à l'ozone couplé au peroxyde d'hydrogène) [5] et la rétention (adsorption sur charbon actif, traitement membranaire) deviennent soit insuffisants pour respecter les limites réglementaires actuelles strictes des effluents ou sont en augmentation dans les coûts. En conséquence, alternative et coût des technologies efficaces sont en forte demande [6].

Dans ce contexte les recherches en la matière, ou la recherche des solutions efficaces à moindre coût telles que la phytoremédiation ou la biosorption sont de plus en plus envisagées. Ces techniques consistent à l'utilisation des matériaux biologiques pour éliminer et récupérer des produits toxiques provenant des eaux usées industrielles [7].

Les systèmes d'épuration d'eaux usées utilisent les végétaux aquatiques flottantes se sont largement développés aux USA depuis 1960 [8].

Ces technologies extensives sont fondées sur le principe de la reconstitution d'écosystèmes artificiels des zones humides dont les macrophytes sont l'élément de base et parmi le large éventail des systèmes apparentés aux technologies extensives, sont proposés les systèmes à lentilles d'eau [9].

Les lentilles d'eau constituent un bon modèle expérimental vu leur croissance rapide et la facilité de culture et récolte. En effet elles sont utilisées pour l'évaluation de la toxicité polluante, comme les métaux lourds [10] et les pesticides [11].

C'est dans cette perspective que s'inscrit notre travail dans le cadre d'un projet de recherche dont l'objectif principal est la modélisation de l'élimination du cadmium et/ou du méthyl-parathion par leur rétention sur une plante aquatique « *Lemna gibba* ». Nous nous sommes proposé de les exploiter soit à l'état frais (phytoremédiation) ou à l'état sec (la biosorption).

Le manuscrit comporte deux grandes parties :

La première partie est une approche bibliographique permettant d'évoquer les connaissances de bases et le contexte de l'étude. A cet effet, nous avons rassemblé des données sur la phytoremédiation et de certains mécanismes, en incluant les adsorbants naturels et en seconde étape les métaux lourds, les pesticides et leurs impacts sur l'environnement.

Une partie expérimentale dans laquelle nous présentons dans :

- Le 1<sup>ier</sup> chapitre le matériel et les méthodes.
- Le 2<sup>ième</sup> chapitre sera réservé à la discussion et à l'interprétation des différents résultats.

Nous terminons par une conclusion générale regroupant les points essentiels de ce travail et une synthèse des résultats obtenus avec des perspectives envisagés pour la suite de ce travail.

# CHAPITRE 1

## LA PHYTOREMEDIATION

### 1.1. Introduction

Les activités humaines agricoles, urbaines ou industrielles, en croissance continue, sont à l'origine d'une contamination de l'environnement par de métaux lourds et de polluants organiques. La biodépollution est un ensemble de techniques biologiques visant à éliminer les polluants du milieu. Ces techniques permettent, en utilisant les capacités de certains organismes et micro-organismes, de dégrader la matière organique et/ou d'éliminer du sol et/ou de l'eau les substances polluantes. La phytoremédiation est l'une d'entre elles, elle consiste à utiliser des plantes pour «traiter» les sols et/ou les eaux contaminées [12].

### 1.2. Aperçu sur la phytoremédiation

L'idée d'utiliser des plantes pour extraire les métaux lourds et les pesticides des milieux aqueux fut introduite en 1983, mais le principe est connu depuis 300 ans [13].

Le terme phytoremédiation vient du préfixe grec « phyto » (plante) et du mot latin *remedium* (pour corriger ou éliminer un mal) [13].

La phytoremédiation, est une biotechnologie basée sur l'utilisation de la capacité de certains végétaux verts à se développer en milieu contaminés, pour le traitement de sols, de boues, de sédiments et d'effluents liquides voire gazeux. Elle repose sur la faculté des plantes à bloquer, extraire, accumuler, transformer, ou détruire un polluant donné. Plus de 800 espèces végétales sont susceptibles d'être actives par rapport à différents composés chimiques [14] tels que les

métaux lourds, les métalloïdes, les radionucléides et les xénobiotiques organiques du sol, de l'eau ou de l'air provenant d'activités humaines [15].

### 1.3. Principe de la phytoremédiation

La plupart des techniques de biodépollution sont adaptées à la décontamination des pollutions organiques et reposent principalement sur le principe de biodégradation des polluants par des microorganismes [14].

Le sol est une matrice complexe qui sert de support au développement des plantes et des microorganismes qui se nourrissent des composés organiques ou inorganiques. Lorsque certains de ces composés sont en excès par rapport à l'état initial du sol, ce dernier est qualifié de contaminé (cela s'applique aussi à l'eau et à l'air qui à la différence sont des fluides).

Les composés en excès peuvent alors être utilisés comme source d'énergie par les plantes et les micro-organismes. Dans le système plante - sol - micro-organismes, la biodégradation bactérienne est souvent en amont de l'absorption racinaire. Les plantes et les micro-organismes ont coévolué pour disposer d'une stratégie à bénéfices mutuels pour gérer la phytotoxicité où les micro-organismes profitent des exsudats racinaires, lors même que la plante bénéficie des capacités de dégradation des micro-organismes rhizosphériques pour réduire le stress dû à la phytotoxicité. Au final, la plante est l'agent essentiel de l'exportation d'un contaminant hors du milieu environnant [16].

Les plantes soit qu'elles absorbent le contaminant pour le métaboliser ou le stocker, soit qu'elles réduisent voire empêchent la libération du contaminant dans d'autres compartiments de l'environnement ce qui représente la phytostabilisation. Le plus souvent, les composés organiques (xénobiotiques ou non) peuvent être dégradés et métabolisés pour la croissance de la plante. Le polluant est alors éliminé. Lorsqu'il s'agit de composés inorganiques (métaux, métalloïdes ou radionucléides), il ne peut y avoir que phytostabilisation ou phytoextraction car ces types de polluants ne sont pas biodégradables [17].

#### 1.4. Les mécanismes de la phytoremédiation

La phytoremédiation fait appel à un ensemble de techniques dont les mécanismes impliqués comprennent :

- l'extraction des contaminants du sol ou des eaux.
- la concentration de contaminants dans les tissus de la plante.
- la dégradation des contaminants par divers procédés biotiques ou abiotiques.
- la volatilisation ou la transpiration des contaminants volatils des plantes à l'air.
- l'immobilisation des contaminants dans la zone racinaire [18].

La phytoremédiation :

- Permet de traiter essentiellement la contamination résiduelle située dans la zone saturée ou non saturée, (dans certains cas, la contamination dissoute peut aussi être traitée),
- S'applique aux contaminants organiques et inorganiques présents dans le sol ou dans l'eau [19].

Dans ce contexte :

- La contamination doit être située près de la surface,
- Elle peut être utilisée sur de vastes superficies,
- Elle s'applique aux sites où les concentrations en contaminants ne sont pas élevées.
- Cette technologie peut être utilisée sur les sites présentant un faible potentiel de risque pour la santé humaine et tous autres récepteurs [20].

#### 1.5. Les mesures d'application de la phytoremédiation

##### a) Définir les problèmes

- Réaliser la caractérisation du site.
- Identifier le problème et définir le type de contaminants,
- Identifier les exigences réglementaires,
- Identifier les objectifs de rattrapage,

- Etablir des critères pour la définition de la réussite de système de phytoremédiation.
- b) Évaluer le site pour l'utilisation de la phytoremédiation
- Effectuer la phytoremédiation axée sur la caractérisation du site,
  - Identifier la technologie qui répond à la phytoremédiation,
  - Identifier le potentiel des plantes capables de dépolluer.
- c) Effectuer des études préliminaires
- Réaliser des études de dépistage,
  - Effectuer des études d'optimisation,
  - Parcelle de terrain conduite d'essais,
  - Réviser la sélection de la plante (s), si nécessaire,
- d) Évaluer à grande échelle le système de la phytoremédiation
- Conception du système,
  - Construction du système.
  - Entretien et exploiter le système,
  - Évaluer et modifier les systèmes,
  - Évaluer la performance [21].

Actuellement, le terme de phytoremédiation regroupe toutes les méthodes basées sur l'utilisation de végétaux pour la dépollution. Malgré leur développement récent, ces méthodes sont variées et des résultats encourageants ont d'ores et déjà été obtenus pour des problématiques diverses. Les études réalisées à ce jour permettent d'envisager cinq types de stratégies de la phytoremédiation particulièrement prometteuses [22].

### La phytoextraction

La phytoextraction est une technologie *in situ* liée aux plantes qui sont capables d'absorber les polluants par leurs racines et de les transporter ensuite vers les parties aériennes. Les tiges et feuilles sont alors récoltées et éliminées des sites pollués. Ceci contribue à rétablir la fertilité de larges zones agricoles, contaminées pour la plupart, dans leur couche supérieure (Figure1.1)

Deux stratégies sont proposées pour une phytoextraction réussie des sols contaminés par les métaux lourds et autres polluants : la phytoextraction naturelle et la phytoextraction induite ou assistée par des chélateurs [23].

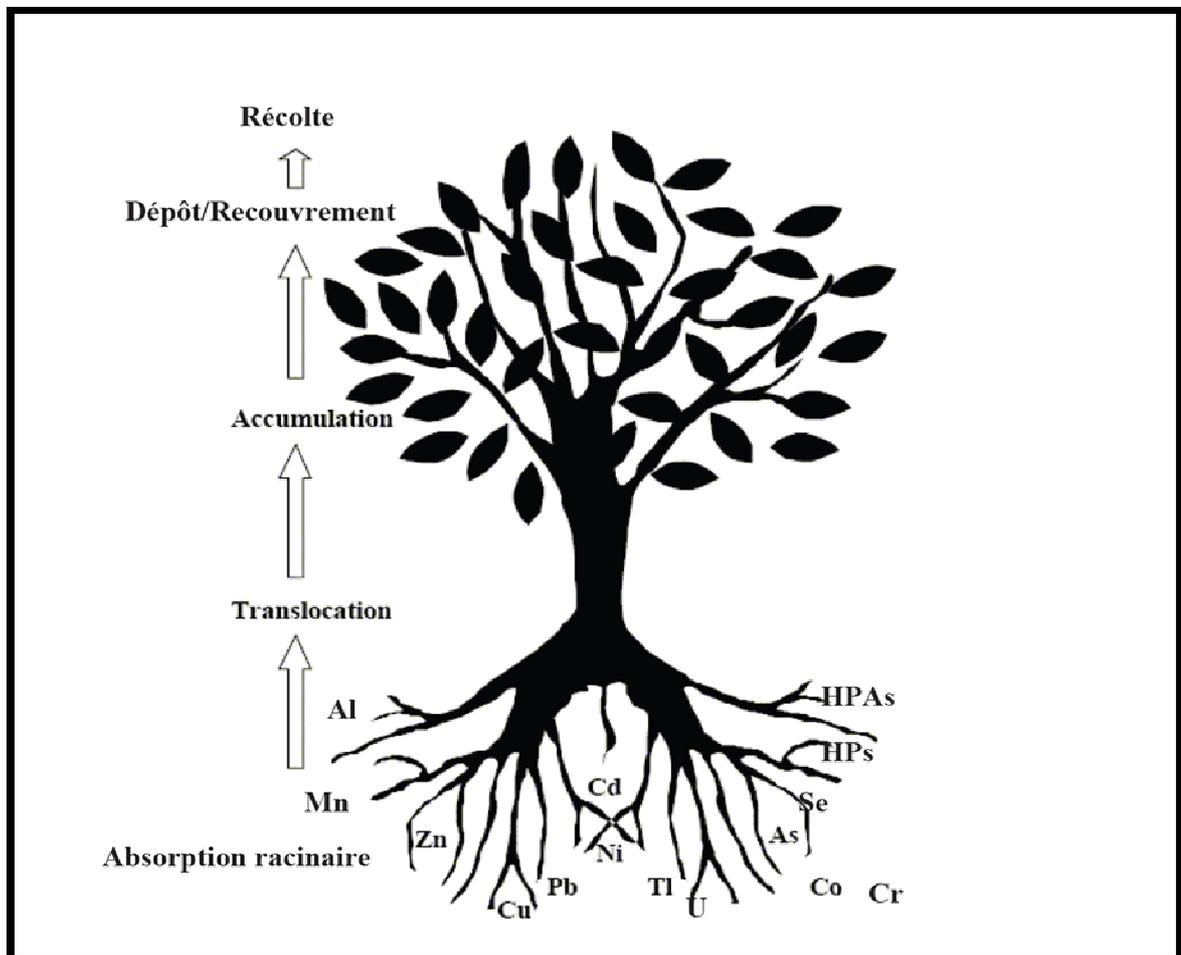
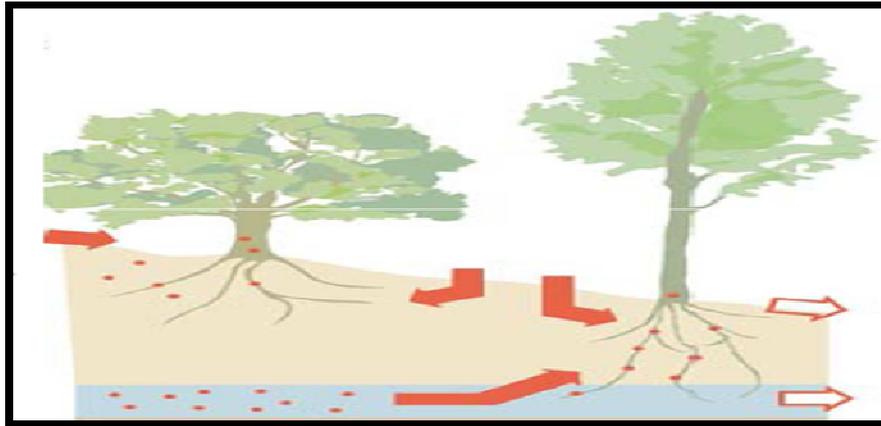


Figure 1.1 : Phytoextraction des métaux, des métalloïdes, des radionucléides et des composés organiques [23].

### Phytostabilisation

La phytostabilisation utilise un couvert végétal pour réduire la mobilité et la biodisponibilité des polluants dans les eaux souterraines et l'habitat humain, donc pour les rendre peu mobiles dans les écosystèmes. Certaines plantes immobilisent les contaminants par précipitation dans le sol par les exsudats racinaires ou par accumulation dans les racines [24].

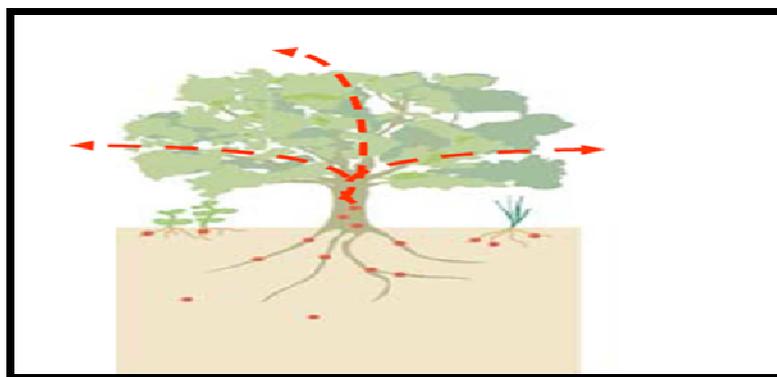


● Polluants

Figure 1.2 : Mécanisme de la phytostabilisation [24].

### Phytovolatilisation

Dans ce procédé les plantes absorbent l'eau de la lithosphère contenant, les contaminants solubles qui sont absorbés par les racines, transportés vers les feuilles et volatilisés dans l'atmosphère par les stomates sous des formes moins toxiques ou après une modification métabolique. La phytovolatilisation n'est pas toujours satisfaisante, car si elle décontamine les sols elle libère parfois des substances toxiques dans l'atmosphère. Dans d'autres cas plus satisfaisants, les polluants sont dégradés en composants moins ou non-toxiques avant d'être libérés [25]. Ainsi, le sélénium peut être relâché dans l'atmosphère sous forme de diméthyle sélénite ou de diméthyle disélénite et le mercure volatilisé après réduction [15]. La figure 1.3 représente le mécanisme de la phytovolatilisation.

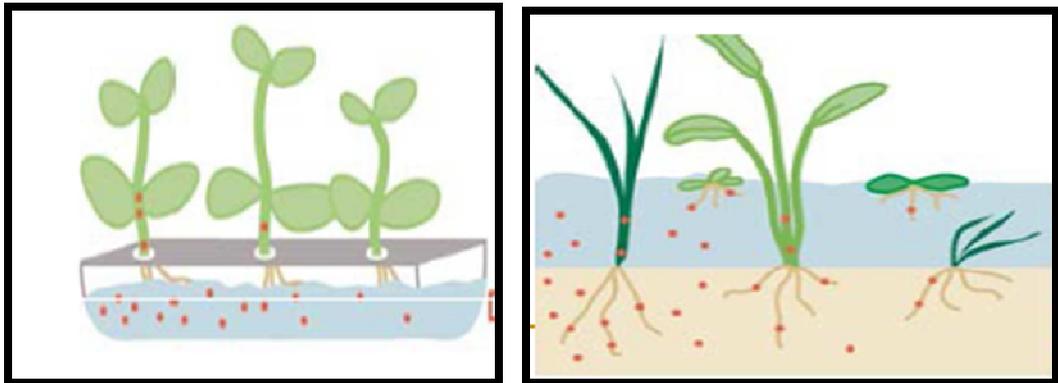


● Polluants

Figure 1.3 : Mécanisme de la phytovolatilisation [24].

### Rhizofiltration

Elle est utilisée pour traiter les eaux de surface et souterraines contaminées et est une combinaison de la phytoextraction et de la phytostabilisation. L'adsorption la précipitation des métaux toxiques par les racines joue un rôle primordial dans cette technique et en conséquence, d'importantes surfaces de racines sont requises. Bien que davantage utilisée pour les contaminants inorganiques, la rhizofiltration a également été appliquée aux eaux contenant des polluants organiques (herbicides, nitrotoluène, hydrocarbures...). Ces composés peuvent être métabolisés et la rhizofiltration devient alors de la phytodégradation [24].



● Polluants

Figure 1.4 : Mécanisme de la phytofiltration ou rhizofiltration [24].

### Phytodégradation

La phytodégradation (ou phytotransformation) consiste à convertir des polluants organiques en composés moins toxiques voire même être totalement minéralisés. Cette décomposition est réalisée grâce à des enzymes variées, internes ou sécrétées par la plante [16].

### Phytostimulation

Elle est localisée essentiellement dans la rhizosphère, c'est la stimulation par les plantes des activités microbiennes favorables à la dégradation des polluants. Cet aspect a été constaté chez tous les hyperaccumulateurs [24].

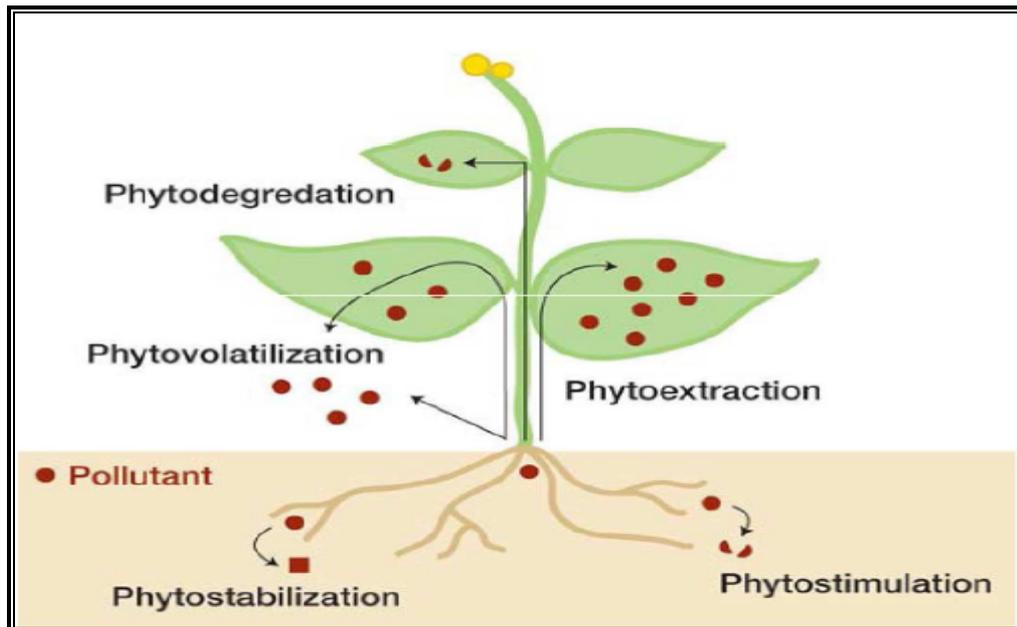


Figure 1.5 : Ensemble des mécanismes impliqués dans le processus de phytoremédiation [24].

### 1.6. Hyperaccumulation et plantes hyperaccumulatrices

L'efficacité de la phytoremédiation est avant tout dépendante de la ou des plantes choisie(s) et conduit à rechercher les plantes aptes à tolérer et à accumuler les polluants, en fonction du climat et également en fonction de sa biomasse. [26]

Les plantes hyperaccumulatrices sont des espèces capables d'accumuler des teneurs élevées en métaux lourds dans leurs organes aériens, à des concentrations 10 à 100 fois plus élevées que celles tolérées par la plupart des plantes [27]. L'hyperaccumulation de métaux dans les plantes a été mise en évidence en 1865 par Sachs pour *T. caerulea*. L'hyperaccumulation a été définie par la mesure de teneurs qui, rapportées à la biomasse sèche aérienne, étaient supérieures à 0,2 % pour le Cd, 1,2 % pour le Co, 3,8 % pour le Ni et 4 % pour le Zn [26]. L'hyperaccumulation implique trois processus majeurs :

- Absorption rapide des métaux par les racines,
- Taux élevé de translocation des racines vers les parties aériennes,
- Capacité élevée de stockage par compartimentation dans la vacuole [28].

### 1.7 Inconvénients des plantes hyperaccumulatrices

Les plantes hyperaccumulatrices se développent naturellement sur des sites riches en métaux et possèdent une capacité naturelle pour extraire des teneurs élevées de métaux et sont capables de les transférer efficacement dans leurs parties aériennes. Une telle capacité justifie l'utilisation de ces plantes pour la décontamination [29]. Cependant, ces plantes ne sont pas idéales pour la phytoremédiation du fait de leur croissance et de leur biomasse faibles. En outre, ces plantes n'accumulent souvent qu'un métal spécifique parmi les différents métaux présents simultanément sur un même site.

Ces faits les disqualifient pour la phytoremédiation des sols pollués par les métaux lourds, particulièrement des sites à contamination multiple [29].

C'est pour tenter de surmonter ce problème que la culture de plantes ayant une biomasse élevée a été proposée, pour extraire les métaux. Cette phytoextraction, assistée ou non par les chélateurs, devant se réaliser sur une période de temps raisonnable [15].

La phytoremédiation bénéficie du fait que la plante, véritable usine photochimique dont les panneaux solaires seraient les feuilles, se comporte comme une pompe à éléments nutritifs (nutriments) minéraux et métaux lourds. Grâce à la lumière du soleil, la photosynthèse se déroule dans les feuilles pour casser les molécules d'eau provenant du sol et libérer dans l'atmosphère de l'oxygène tandis que l'hydrogène se fixe au gaz carbonique absorbé par la feuille pour donner des sucres [29].

L'énergie issue de ces sucres et le flux d'évapotranspiration de la plante permettent au végétal d'extraire du sol les nutriments minéraux nécessaires, et ainsi indirectement de concentrer certains métaux lourds tels que le cadmium, le plomb, le chrome, l'arsenic...[30].

Cette singulière propriété des plantes est liée au mécanisme d'acquisition par les racines des nutriments du sol ou de l'eau indispensables au développement du végétal. L'acquisition de ces nutriments se fait au travers de transporteurs membranaires, des protéines spécialisées et ancrées dans les membranes, dont la sélectivité n'est pas parfaite. Ainsi, deux cations homologues

(aux propriétés physico-chimiques proches) comme l'ion calcium  $\text{Ca}^{2+}$  et l'ion cadmium  $\text{Cd}^{2+}$  peuvent être "confondus" par la plante qui charge alors indifféremment le  $\text{Ca}^{2+}$ , métal indispensable à la vie, ou le  $\text{Cd}^{2+}$ , toxique environnemental [30].

Parmi le large éventail des systèmes apparentés aux technologies extensives de phytoremédiation, les systèmes à lentilles d'eau [31] sont exploités pour le traitement des eaux usées dans différentes régions du monde comme l'Asie, Israël et États-Unis [32]. Au Maroc, ce type de système a été essayé aussi bien à l'échelle expérimentale que pilote [33].

Dans la région méditerranéenne, en général, et particulièrement en Algérie et au Maroc, les espèces de lentilles d'eau les plus communes sont *Lemna minor* et *Lemna gibba*. Les espèces de la figure 1.6, représentent les plantes les plus couramment exploitées en phytoremédiation au niveau des systèmes aquatiques [34].



Figure 1.6 : Les espèces classiques en zones humides utilisées en phytoremédiation [24].

## 1.8. Principe de fonctionnement des filtres à macrophytes

La phytoremédiation ou phytoépuration est réalisée grâce à des bassins successifs, étanches, remplis de graviers et plantés de diverses espèces aquatiques, appelés macrophytes, (roseaux, joncs, iris, phragmites, massette, salicaire). Ces macrophytes ont un rôle de structuration et d'aération du massif, tout en servant de support aux bactéries qui font l'essentiel du travail.

Les graviers de granulométrie croissante en évoluant vers la profondeur (80 cm à 1m), permettent la filtration mécanique des eaux usées. Les végétaux fixent les colonies de bactéries sur la base de leurs tiges et leurs rhizomes, ce qui améliore les performances des organismes épurateurs. Par ailleurs, ils absorbent par leurs racines une partie (10 % environ) des sels minéraux – nitrates et phosphates – issus de la décomposition de la matière organique présente dans les eaux usées.

La plupart des macrophytes sont capable d'assimiler les métaux lourds toxiques, présents dans les eaux usées [35].

### 1.8.1 Avantages et limites de la phytoremédiation

#### Les avantages

- Par comparaison avec les traitements physico-chimiques, la phytoremédiation montre un faible coût (en moyenne entre 2 et 100 dollars par m<sup>3</sup>).
- Ce faible coût permet de traiter de grandes surfaces (elle génère des résidus riches en métaux recyclables et elle est applicable à un grand nombre des métaux toxiques et de radionucléides).
- Elle provoque une perturbation minimale de l'environnement et permet même de réinitier le cycle de dégradation de la matière organique là où la végétation avait disparu. La décontamination par les plantes présente aussi l'avantage de réduire l'érosion et le lessivage des sites, ce qui maintient le polluant à proximité de la plante [36].

- Elle s'intègre parfaitement dans la politique de réduction de la pollution visuelle.
- Elle ne demande pas d'apport énergétique si ce n'est celui du soleil : Une technique « passive ».
- Le traitement d'une gamme diversifiée de polluants est possible : Métaux, HAP, Solvants, Explosifs, Produits phytosanitaires, etc [36].

### Les limites

- La croissance lente et la biomasse faible demandent un investissement en temps assez important, ou/et parfois l'adjonction de chélateurs ou autres substances (pour les polluants inorganiques comme les ETM).
- Les systèmes de remédiation à base de plantes, ne permet pas totalement d'empêcher l'écoulement des contaminants dans la nappe phréatique (ceci n'est possible qu'au prix de l'enlèvement complet du sol, ce qui ne résout pas le problème de contamination du dit sol ni les problèmes afférents) [46].
- La bioaccumulation possible de contaminants passe dans la chaîne alimentaire, du niveau des consommateurs primaire à ceux du niveau secondaire.
- La profondeur d'intervention (conditionnée par la profondeur d'enracinement des végétaux : 0,50 à 1 m pour les herbacées, 2 à 4 m pour les arbres et arbustes).
- Il s'agit d'une technologie encore jeune dont les exemples à l'échelle industrielle sont peu nombreux.
- Les fluctuations saisonnières dues aux différentes conditions climatiques, affectent directement ou indirectement la vie de la plante [37].

Pour évaluer la performance à court terme et l'efficacité de la phytoremédiation, les concentrations de contaminants et de produits de dégradation doivent être mesurées. La surveillance doit être réalisée pour les sols, les eaux souterraines, et des racines des plantes, et l'évapotranspiration. L'évaluation de la performance aidera à démontrer la capacité du système à répondre à des objectifs de la remédiation.

La surveillance à long terme est généralement nécessaire pour les systèmes de phytoremédiation qui exigent beaucoup de temps pour démontrer leur efficacité, et le suivi de leur l'impact sur l'écosystème. Un plan de surveillance devrait être mis au point pour guider à la fois à court et à long terme de surveillance. Le plan devrait discuter les éléments constituant le système de la phytoremédiation ou d'autres paramètres à surveiller, la fréquence et la durée de la surveillance, le suivi l'échantillonnage, les méthodes d'analyse et le suivi les endroits [38].

## **CHAPITRE 2**

### **GENERALITES SUR LES ADSORBANTS**

#### 2.1. Introduction

La biosorption a fait l'objet de plusieurs travaux de recherche au cours de ces dernières années. Elle représente une option intéressante pour le traitement de divers types d'effluents contenant de faibles concentrations en métaux ou en composés organiques [39].

Les parois de nombreuses espèces mortes ou vivantes, tels que bactéries, levures, champignons filamenteux et algues, les plantes aquatiques constituent des capteurs efficaces pour les polluants toxiques [39].

Cette fixation est possible grâce aux radicaux carboxyles, sulfhydryles, phosphates, amines et amides, présents sur les parois cellulaires qui sont constituées de cellulose, de chitine, de chitosane, de glucanes et de polyuronides [40].

La biosorption est le terme général utilisé pour décrire tous les processus reliés à la récupération des polluants (organiques et inorganiques), en présence de biomasse [41]. C'est un processus d'adsorption ou de complexation par des cellules mortes et des constituants cellulaires biosorbants, avec fixation des molécules adsorbées, par divers groupements chimiques fonctionnels présents dans les parois [41]. La performance des processus de sorption dépend du type de la biomasse et de la chimie de la solution [42].

L'utilisation de la biosorption semble intéressante dans les domaines d'applications suivants [41,43-44] :

- Détoxification des eaux riches en métaux.
- Décontamination des eaux usées radioactives.
- Récupération des métaux précieux en solution très diluée.
- Récupération des métaux dans les solutions de traitement de minerais.
- L'épuration des eaux résiduaires riches en polluants organiques, tels que les organochlorés, les colorants synthétiques (teintures), les phénols et les polyphénols...etc.
- Le traitement des effluents issus des petites et grandes industries, de transformation des métaux, des tanneries, des papeteries, et d'autres industries qui doivent traiter leurs eaux usées avant de les rejeter dans les cours d'eaux.

Les avantages que présentent les procédés de traitement des effluents industriels par biosorption par rapport aux procédés conventionnels sont [41] :

- La capacité d'adsorption sélectivement un métal. La capacité d'élimination des métaux en solution en présence des contaminants organiques ou de concentrations élevées en sels de calcium, manganèse, La capacité d'adsorption de très faibles concentrations  $<1\text{mg.L}^{-1}$  de métaux présents dans les solutions.
- La réutilisation du biosorbant plusieurs fois après sa régénération.
- La disponibilité des biosorbants et leur faible coût.

## 2.2. Les biosorbants

Une famille entière de biosorbants convenablement formulés peut être employée dans le traitement des effluents industriels. La biomasse présentant cette propriété, agit comme une substance chimique, échangeur d'ions d'origine biologique. C'est en particulier la structure de la paroi de certaines plantes, algues, mycètes et bactéries qui sont responsable du phénomène de biosorption [45].

Certains types de biomasse peuvent être aisément rassemblés des océans (en particulier les algues brunes, plantes aquatiques), d'autres sont des sous produits de rebut des fermentations industrielles à grande échelle. Une façon avantageuse, à la fois économique et écologique, serait au lieu de rejeter

directement ces biomasses, de les utiliser pour la biosorption d'effluents industriels [45].

Ces types de biomasses servent de base pour les processus de biosorption, peuvent accumuler au dessus de 25% de leur poids sec en métaux lourds et des polluants organiques [46].

Les lentilles d'eau peuvent être utilisées dans le traitement des eaux résiduelles industrielles ou domestiques. Elles sont particulièrement exploitées aux États-Unis et sont une voie prometteuse dans les pays en voie de développement [47].

Les espèces de lentilles sont des petites usines aquatiques flottantes trouvées dans le monde entier et souvent vues d'une croissance couvrant des nattes au dessus des eaux des étangs frais ou des eaux saumâtres riches en oligo-éléments. Elles sont toujours des monocotylédones de la famille botanique lemnacée et sont de plus hautes usines ou macrophytes, bien qu'elles soient souvent confondues avec des algues [47].

Comparé à la plupart des usines, les feuilles de lenticule ont peu de fibres (5% dans la matière sèche des plantes cultivées) car elles n'ont pas besoin de soutenir les structures droites. Les racines, cependant, semblent être plus fibreuses [47].

Tableau 2.1 : Caractéristique de différentes espèces de lentille d'eau [48].

	Lemna gibba	Lemna minor	Lemna trisulca	Spirodela polyrriza
Taille	2 – 6 mm	1 – 8 mm	5 – 10 mm	4 – 10 mm
Fronde	Très ronde, bombé	Ovoïde, plane	Oblongue à ovale, étroite, pointue	Ovales à arrondies
Remarques	Indicateur de fortes pollutions	Disparaît en automne	Plus ou moins immergée, coloniale	Persiste l'hiver sous forme de turions

*Lemna gibba* est une espèce relativement thermophile, elle vit dans les eaux stagnantes ou faiblement courantes. Aussi, elle est connue pour sa tolérance importante aux sels et à la pollution des eaux [49].

Cet hydrophile libre nageant à racines plongeant dans l'eau est confiné aux eaux eutrophiques à pH neutre. Cette espèce est considérée comme indicatrice de pollution [49].

Dans certaines conditions, en particulier les frondes de *Lemna gibba* ne développent pas de gibbosité importante à la face inférieure et restent plates, elles sont dans ce cas confondues avec *Lemna minor* [50].

C'est une plante aquatique flottante à longue racine. Son appareil végétatif se réduit à une ou plusieurs frondes (f); chaque fronde est une rondelle flottante chlorophyllienne de quelques mm, portant à sa face inférieure une unique racine (r) pendante. Sa multiplication par voie végétative, en bourgeonnant de nouvelles frondes (nf) de petite taille qui restent d'abord solidaire de la fronde mère avant de se détacher pour former une nouvelle plantule autonome (Figure 2.2) [48].

#### Présentations de la plante *Lemna gibba*

- Nom scientifique : *Lemna gibba* ;
- Nom commun : lentille bossue ;
- Classification : Lemnacées, Monocotylédones ;
- Type biologique : vivace ;
- Fronde : très ronde, bombées ;
- Taille : 2 à 6 mm ;
- Couleur : vert clair, tendre, brillante ;
- Partie inférieure : semi sphérique ;
- Floraison : entre Avril et Juillet ;
- Habitat : étangs, marais et jets silencieux d'eau douce [48].



Figure 2.1 : *Lemna gibba* [50].

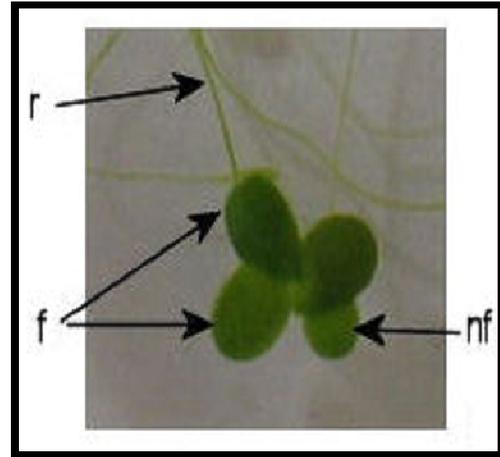


Figure 2.2 : Description de *Lemna gibba* [48].

En générale, les *Lemna gibba* ont une multiplication végétative très active, elles bourgeonnent à l'infini alors que leurs inflorescences restent cachées sous la lame foliacée [50].



Figure 2.3 : *Lemna gibba* en croissance rapide [50].

Des taux de croissance des colonies des lenticules seront réduits à des extrémités de pH et de température [51]. Les lenticules trouvent dans leur support, les ions minéraux nécessaires à leur nutrition. L'abondance de certains ions peut favoriser la croissance de certaines espèces de lenticules au détriment des autres [52]. L'apport de ces ions est lié au pH du milieu. La lenticule, survit à des pH neutre ou basique. Ces pH peuvent aller de 5 à 9 mais se développe mieux à des pH étant entre 6,5 à 7,5 [47].

En Algérie et plus particulièrement sur le site de Beni Tamou (Blida - Algérie), la *Lemna gibba* apparaît au printemps et même au mois de Février et disparaît vers la fin du mois de Juillet. En principe, cette plante se manifeste en fonction du climat de la région dans laquelle elle se trouve [53].

L'utilisation de ces plantes aquatiques en tant que bioindicateur des eaux et particulièrement des métaux lourds dans la surveillance des systèmes aquatiques n'a cessé de croître depuis les premiers essais d'Empain en Belgique en 1973 [49].

Les espèces *Lemna* servent à la bioindication des milieux aqueux dans lesquels elles sont immergées. D'après Lopez et *al.* et Samecka-Cymerman et *al.*, ces organismes permettent d'obtenir une évaluation globale de la qualité environnementale du milieu et des concentrations environnementales de polluants particuliers [51,54].

### 2.2.2. Processus de la bioaccumulation

La bioaccumulation est le processus par lequel les organismes vivants accumulent des substances chimiques directement à partir de l'environnement (air, eau, sol) et de leur nutrition. La bioaccumulation diffère en fonction des organismes. Les bryophytes par exemple, en accumulant les polluants au niveau de leurs parois et dans leurs cellules, les rendent plus facilement détectables dans l'environnement [55].

Deux processus sont responsables de la bioaccumulation de xénobiotiques dans les organismes :

- D'une part la bioconcentration qui est un transfert direct à partir du milieu environnant (eau, sédiments, particules en suspensions, etc).
- D'autre part la bioamplification qui résulte du transfert de molécules chimique par voie trophique [56,57].

### 2.2.3. Technologies de traitement des eaux par les plantes aquatiques

L'utilisation de boues activées, de digesteurs ou de lits bactériens pour le traitement des eaux polluées est devenue classique et assez répandue, plus particulièrement dans les pays industrialisés qui disposent des moyens

nécessaires. Pour les pays moins développés, il est essentiel d'entrevoir la possibilité de mettre en œuvre des technologies d'épuration moins onéreuses, qui requièrent moins de moyens et qui cadrent avec les spécificités de ces pays [52].

Parmi ces technologies figurent justement les procédures de traitement de l'eau à l'aide de plantes aquatiques dans des marécages, des lagunes ou des marais, procédures qui seront développées explicitement dans ce qui suit [52].

Les marécages naturels sont utilisés depuis quelques années pour traiter les eaux, mais ils peuvent s'avérer insuffisants quand le milieu récepteur est trop eutrophie. Cette carence a stimulé le développement de systèmes de marécages artificiels, plus flexibles et plus performants dans ce sens. Il existe deux variantes de ce type de technologie :

1. Le décanteur-digesteur anaérobie avec grillage où sont cultivés de la laitue d'eau et/ou du papyrus commun;
2. le marécage, contenant des bactéries et des plantes spéciales dépolluantes. Ce type de technologie, en fonction depuis une décennie, est assez rentable, et peut être appliqué aux traitements des eaux usées industrielles, municipales ou agricoles. Les principaux polluants qui peuvent être éliminés par un tel système sont les nitrates, les phosphates et les métaux lourds [52].

Un traitement par lagunage ne pourrait être efficace sans la présence simultanée de bactéries, de zooplancton, de plantes aquatiques et d'algues. Ainsi, cette technologie combine les performances de dépollution des bactéries et des macrophytes, qui jouent le rôle d'agents filtrants et d'assimilation des nitrates et des phosphates. Les plantes aquatiques qui s'adaptent le mieux à ce système d'épuration sont le plus souvent : la laitue d'eau, la jacinthe d'eau, le papyrus commun et le liseron d'eau. De plus, ces plantes dégagent assez d'oxygène au niveau des racines, des feuilles et des stolons pour permettre aux bactéries aérobies de consommer la matière organique présente [52].

Les systèmes d'épuration à base de marais correspondent en fait à des installations de phyto-épuration et deviennent vite des écosystèmes en équilibre avec le milieu environnant. Ils consomment très peu d'énergie et combinent les

effets bénéfiques du sol, des microorganismes et des plantes aquatiques. La qualité de ce type de technologie laisse présager une application aux traitements des eaux usées issues des petites villes, des petites entreprises et des campagnes, car il nécessite très peu d'investissement [52].



Figure 2.4: Culture de lentilles d'eau aux USA pour le traitement des eaux [52].

### 2.3. Différents types de biosorption

Dans les procédés qui utilisent des biomasses actives pour l'élimination des polluants, l'apport d'éléments nutritifs nécessaires à la croissance cellulaire et la connaissance approfondie du métabolisme microbien, sont d'une importance cruciale [57].

L'inconvénient d'utiliser des cellules vivantes, est que ces dernières sont plus ou moins sensibles à la toxicité des métaux ou des composés organiques, et cela limite leurs capacités [58].

Les biomasses mortes présentent l'avantage d'être insensibles à la toxicité des éléments toxiques. Dans ce cas, la fixation est totalement passive. Ces biomasses sont stockables à l'état sec [59], et peuvent être recyclées plusieurs fois sans être dégradées. Elles peuvent même être traitées pour la désorption et la récupération des métaux précieux [60].

La biosorption est un phénomène physico-chimique très complexe, il n'existe actuellement que peu d'informations concernant son mécanisme. Ce dernier est lié à la composition chimique de la paroi cellulaire, la nature de l'adsorbat, ainsi qu'aux caractéristiques physicochimiques du milieu réactionnel. Il implique des processus dépendant du métabolisme cellulaire (synthèse de polysaccharides qui adsorbent ou complexent les cations), ainsi que d'autres processus qui font intervenir les interactions physico-chimiques tels que: l'adsorption, l'échange d'ions ou la précipitation [59].

Dans les cellules actives (vivantes), la biosorption se produit par [61] :

- Précipitation qui est la production d'une substance chimique favorisant la précipitation. A titre d'exemple : Les bactéries sulfato réductrices produisent du sulfure qui réagit avec les métaux pour former un solide insoluble.
- Accumulation intracellulaire: L'étude des mécanismes d'accumulation intracellulaire est directement liée au métabolisme et à la physiologie cellulaire. Les métaux, ou les molécules adsorbées sont liés à la paroi cellulaire, et ensuite transportée à l'intérieur de la cellule.
- Oxydation– réduction: Ces réactions changent l'état d'oxydation de certains métaux, ce qui entraîne leur précipitation : l'oxydation du fer ferreux, Fe (II) soluble en fer ferrique, Fe (III), par des enzymes spécifiques est citée en exemple.
- Complexation extracellulaire: L'accumulation exocellulaire est provoquée par des sous-produits du métabolisme (métabolites), qui sont excrétés par les microorganismes. Ils s'agit de protéines, polymères, des groupements  $S^{--}$ ,  $CO_3^{2-}$  et  $PO_4^{3-}$  qui précipitent les métaux sous la forme de sels métalliques correspondants, très peu solubles. Ces précipités peuvent se former directement sur la paroi cellulaire.

Dans le cas des cellules mortes, la fixation est totalement passive [60,62] et s'effectue par :

- Complexation par des substances produites par des cellules.
- Sorption du métal ou de la molécule sur la paroi cellulaire.

Plusieurs facteurs peuvent influencer la biosorption. Ces facteurs sont relatifs aux conditions physico-chimiques du milieu, à l'adsorbât et au biosorbant lui-même. Le traitement du biosorbant, sa concentration. Les caractéristiques physico-chimiques de sa paroi, jouent un rôle important dans la fixation des éléments toxiques. La surface de contact entre la phase solide constituée par le biosorbant et la phase liquide, joue un rôle important dans les phénomènes d'adsorption [60,63].

#### 2.4. Influence des conditions physico-chimiques du milieu

Le pH est un facteur très important à prendre en compte dans le mécanisme de biosorption. Il agit à la fois sur la spécification de l'adsorbât en solution, sur le comportement chimique de la paroi cellulaire et par conséquent sur le mécanisme de fixation. Il intervient sur l'état d'ionisation du biosorbant qui détermine le nombre de groupements fonctionnels disponibles [60,61]. En effet, ces derniers peuvent se trouver sous une forme protonnée, déprotonnée, ou neutre selon les conditions de pH [63].

La température est un paramètre important également qui affecte la capacité d'adsorption par les biomasses. Zhou et Banks ont étudié l'effet de la température sur la biosorption de l'acide humique par *R. arrhizus*. Ils ont observé que les basses températures (de 16 à 36°C), favorisent l'augmentation de la biosorption. Ils notent que la biosorption entre *R. arrhizus* et l'acide humique, est un processus exothermique, et que le mécanisme est une adsorption physique dominante à basses températures [64]. D'autres études dans le domaine, ont montré également que la capacité de biosorption augmente avec la diminution de la température [61].

#### 2.5. Cinétique et isothermes de rétention

Les capacités des adsorbants à fixer les différents constituants d'un mélange constituent le facteur le plus déterminant pour les performances de la majorité des procédés de biosorption. Il est par conséquent essentiel de bien connaître les propriétés d'équilibre adsorbat-adsorbant pour pouvoir concevoir et dimensionner correctement les procédés de biosorption [65].

### 2.5.1 Cinétique d'adsorption

L'étude de la cinétique de rétention permet de décrire l'efficacité du processus de rétention. Lors de réaction fluide–solide, quatre étapes déterminent séquentiellement la vitesse de réaction [66]:

- Etape 1: Transfert des molécules de la masse du fluide vers le film entourant la surface de la particule de l'adsorbant.
- Etape 2: Transfert des molécules du film vers la surface de la particule.
- Etape 3: Diffusion des molécules adsorbées de la surface de la particule, vers les sites à l'intérieur de la particule adsorbante.
- Etape 4: Fixation des molécules sur les sites activés.

La deuxième étape décrit la résistance de transfert de matière à travers le film. La troisième étape est relative au modèle de la diffusion intra particulaire. La première et la quatrième étape sont généralement des étapes rapides.

### 2.5.2. Isothermes d'adsorption

Nous avons déjà mentionné l'importance de la capacité d'adsorption et des équilibres adsorbant-adsorbé pour concevoir et dimensionner correctement les procédés d'adsorption. L'isotherme d'adsorption permet à cet effet de décrire la relation entre la masse d'adsorbât fixé à l'équilibre et la concentration sous laquelle elle a agit.

En rappel de cette notion classique et largement étudiée, nous précisons que l'examen d'un grand nombre des résultats publiés des différents chercheurs a permis en 1940 à Brunbauer, Emmett et Teller [67] de proposer cinq types d'isothermes qui sont représentés sur la Figure 2.5.

#### 1. Isotherme de type I

L'isotherme de type I représente la formation d'une couche monomoléculaire adsorbée chimiquement ou physiquement sur un solide non poreux ou "micropores" de diamètre inférieur à 25 Å environ. Puisque les diamètres des micropores sont du même ordre de grandeur que les dimensions

d'une molécule de gaz, les pores se remplissent préférentiellement même aux faibles pressions [67].

#### 1. Isotherme de type II

Rencontrée très fréquemment, s'obtient quand les couches polymoléculaires n'apparaissent que lorsque la surface est presque entièrement recouverte d'une couche monomoléculaire. Ce type d'isotherme est donné par des solides non poreux ou à macropores supérieur à  $500\text{Å}$ .

#### 2. Isotherme de type III

Ce type d'isotherme est assez rare, il indique la formation de couche polymoléculaire dès le début l'adsorption, et avant que la surface ait été recouverte, ce comportement suggère que la surface du solide n'est pas homogène et que l'adsorption s'effectue sur des sites préférentiels ou les forces d'attractions sont les plus intenses.

#### 3. Isotherme de type IV

Cette isotherme s'observe dans le cas des solides ayant des pores de diamètres compris entre  $15$  et  $1000\text{Å}$ . Par augmentation de la pression, il y a formation de couches polymoléculaires à l'intérieur des pores, et donc remplissage préférentiel de ces derniers.

La polycouche démarre quand la monocouche est totalement réalisée. Il arrive un moment où les épaisseurs sur les lèvres des pores se rejoignent pour former un ménisque nécessaire à une plus facile adsorption dans les pores.

#### 4. Isotherme de type V

Cette isotherme, est similaire à l'isotherme de type III aux faibles pressions c'est à dire que la polycouche démarre bien avant que la monocouche ne soit totalement réalisée. C'est une isotherme très rare, caractéristique du solide poreux, ayant de diamètres de pores de même ordre que ceux des solides donnant des isothermes de type IV.

Les équations mathématiques usuelles exploitées sont :

1) Isotherme de Langmuir

C'est un modèle théorique d'adsorption en couche monomoléculaire basé sur les hypothèses suivantes [67] :

- Les molécules adsorbées s'organisent en monocouche.
- Tous les sites de surface ont la même réactivité et sont identiques.
- Il n'y a pas d'interaction entre les composants adsorbés.
- La réactivité est instantanée et réversible.

L'équation empirique donnée par Langmuir est représentée par la relation suivante [67] :

$$\frac{x}{m} = q_m b \frac{c_e}{(1+b c_e)} \quad (1)$$

$x/m$ : Quantité de soluté adsorbée par unité de masse de l'adsorbant ( $\text{mg.g}^{-1}$ )

$q_m$ : Capacité d'adsorption maximale ( $\text{mg.g}^{-1}$ )

$c_e$ : Concentration du soluté dans la phase liquide à l'équilibre ( $\text{mg.L}^{-1}$ )

$b$ : La constante d'équilibre caractéristique de l'adsorbant; elle indique également l'affinité de l'adsorbant pour l'adsorbant.

La linéarisation de l'équation de Langmuir permet de déduire la capacité ultime ( $q_m$ ) et la constante de Langmuir  $K_a = 1/b$  ( $K_a$  indique aussi la constante de dissociation de l'adsorbant), cette linéarisation est donnée par la relation suivante:

$$\frac{1}{x/m} = \frac{1}{(q_m b c_e) + 1/q_m} \quad (2)$$

Si on trace  $\frac{c_e}{(x/m)}$  en fonction de  $c_e$  on trouve une droite de pente  $1/q_m$

et d'ordonnée  $\frac{1}{q_m b}$ .

## 2) Isotherme de Freundlich

Est une isotherme empirique qui, contrairement à celle de Langmuir, tient compte de l'inégalité d'énergie d'adsorption des différents sites [68].

L'isotherme est décrite par l'équation empirique suivante :

$$x/m = K C_s^{1/n} \quad (3)$$

Ou  $K$  et  $n$  sont des constantes à évaluer pour chaque température et qui dépendent respectivement de la nature de l'adsorbat et de l'adsorbant.

Leur détermination se fait à l'aide de l'équation suivante:

$$\text{Log}(x/m) = \text{log} K + 1/n \text{log} C_s \quad (4)$$

Cette équation est celle d'une droite de pente  $1/n$ , et d'ordonnée à l'origine  $\text{log}K$ .

En général,  $n$  est compris entre [0,8 et 2], et est proportionnel à la force de l'adsorption.

Le modèle de Freundlich n'est valable que pour des solutions diluées pour lesquelles il est recommandé.

## 3) Adsorption en multicouche

Le modèle le plus utilisé en pratique pour la description de ce type d'adsorption est le modèle de B.E.T [69].

Ce modèle est exprimé par l'équation suivante:

$$x = q_m A C_s / (C_s - C_s) [1 + (A - 1) C_s / C_s] \quad (5)$$

$x$ : Quantité de soluté adsorbée (mg).

$C_s$ : Concentration du soluté dans la phase liquide à l'équilibre (mg. L<sup>-1</sup>).

$C_s$ : Concentration du soluté dans en phase liquide à la saturation de l'adsorbant (mg.L<sup>-1</sup>).

$A$  : Constante liée à l'énergie d'interaction avec la surface.

$q_m$  : Quantité du soluté adsorbé ultime (mg).

A titre de rappel, les illustrations graphiques des isothermes d'adsorption sont représentées par la figure 2.5

L'hypothèse est de vérifier si la biosorption suit ces lois empiriques de fixation des éléments xénobiotiques présents en solution.

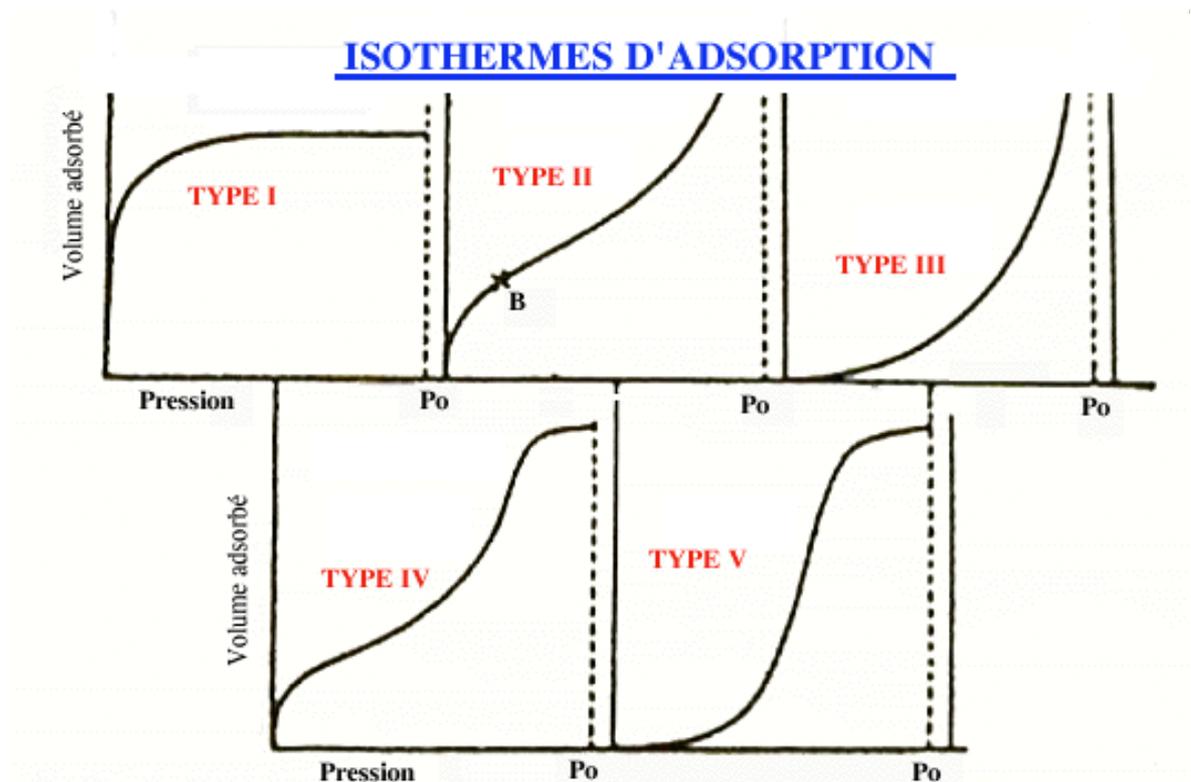


Figure 2.5 : Classification des isothermes d'adsorption d'après H. GILES et *al.* [67]

## Chapitre 3

### IMPACT DES METAUX LOURDS, DES PESTICIDES SUR L'ENVIRONNEMENT

#### 3.1 Introduction sur les métaux lourds

Un problème environnemental majeur, généré par les émissions industrielles et les déchets urbains dus aux activités humaines, réside dans la contamination de l'eau par une diversité de composants organiques et inorganiques [70].

Les substances polluantes sont extrêmement nombreuses et au nombre des plus répandues figurent : les hydrocarbures, les solvants divers, les pesticides, les matières plastiques, l'amiante et les métaux lourds... [71].

Parmi les principaux polluants inorganiques et organiques, ceux qui ont le plus retenu l'attention sont les métaux rejetés et les pesticides, qui ne sont pas biodisponibles et ne peuvent produire que des effets toxiques. A cette catégorie appartiennent différents éléments tels que le cadmium et les insecticides organo-phosphoriques [71].

Le terme de métaux lourds est arbitraire et imprécis. Il est utilisé pour des raisons de simplicité et il recouvre des éléments ayant des propriétés métalliques (ductilité, conductivité, densité, stabilité des cations, spécificité de ligand...) et un numéro atomique  $>20$  [72].

La pollution par les métaux toxiques (METOX) regroupe sept métaux et un métalloïde (chrome, zinc, cuivre, nickel, plomb, arsenic, cadmium et mercure) [73].

Les métaux lourds sont des constituants naturels de tous les écosystèmes et on les trouve dans l'atmosphère, l'hydrosphère, la lithosphère et la biosphère. Leur distribution dans l'environnement procède de deux origines :

- l'une, naturelle est le résultat de processus géogéniques comme l'érosion, les précipitations géochimiques de roches et de l'eau de source, l'activité volcanique et bactérienne [74].
- l'autre, relève des activités anthropogéniques sous forme gazeuse, dissoute ou de particules liées [75].

L'entrée de ces éléments dans le milieu aquatique peut résulter des développements directs ou indirects des polluants tels que des fonderies qui dégagent des émissions gazeuses qui contaminent le milieu aquatique, par les eaux de pluie sous forme indirecte. La contamination directe passe par le biais des déversements dans le milieu aquatique des effluents des usines telles que les cimenteries ainsi les industries de traitement de surface (cadmiage, zingage, galvanisation, chromage) qui peuvent rejeter des effluents liquides [76].

### 3.2. Devenir des métaux lourds dans le milieu aquatique

La répartition des métaux lourds dans l'environnement aquatique se fait entre différents compartiments de cet environnement .L'eau, les solides en suspension et les sédiments peuvent exister sous forme de complexes, de particule ou en solution [76].

En d'autres termes le devenir des éléments de traces dépend de leurs natures et de leurs propriétés, ainsi que des paramètres physico-chimiques du milieu qui conditionnent leur répartition sous ses différentes formes [77].

Les compartiments se subdivisent en phase stationnaire qui implique les sédiments et la phase circulante qui concerne les fractions particulières et dissoutes des éléments de traces métalliques.

Les fractions dissoutes correspondent à leur tour aux fractions du métal restant dans après filtration même si elles ne sont pas représentatives dans la biomasse aquatique.

En outre, la répartition et la distribution des métaux dans le milieu aquatique sont caractérisées par la dilution, la dispersion, la sédimentation et l'adsorption/désorption [77].

### 3.3. Toxicité et tolérance des plantes aux métaux lourds

#### 3.3.1. Toxicité

Les symptômes de toxicité associés aux métaux lourds sont peu différents de ceux produits par différents types de stress. Ils peuvent être classés en deux catégories : les symptômes visibles et les symptômes uniquement mesurables.

Les métaux peuvent alors précipiter avec des ligands anioniques ou entrer en compétition avec d'autres cations pour des sites de liaison de la paroi pecto-cellulosique des cellules racinaires, dû au fait que la paroi présente une considérable capacité d'échange des cations, le premier effet des métaux lourds sera l'inhibition ou la stimulation de l'absorption des cations, ce qui produit des changements significatifs du métabolisme. Par ailleurs, dans la paroi, la génération d'espèces réactives de l'oxygène ( $O_2^-$  et  $H_2O_2$ ,  $OH^\cdot$ ) sous l'effet des métaux lourds, entraîne une peroxydation des lipides du plasmalemme. Il en découle une fuite membranaire sévère mais surtout une destruction de certaines protéines membranaires ATPase et transporteurs, se traduisant par une inhibition des processus de transport et/ou une absorption du métal toxique dans le cytoplasme. En raison de la similarité chimique (même taille) existant avec d'autres cations, il est probable qu'ils peuvent utiliser les systèmes de transport de ces cations. Après l'entrée symplastique dans le xylème, les métaux lourds sont ensuite transportés vers les parties aériennes par le courant transpiratoire [78].

L'effet le plus habituel et le moins spécifique des métaux lourds consiste en une réduction de la croissance des différentes parties de la plante. Selon l'importance du stress, les feuilles peuvent présenter une chlorose due à la fois à une perte de chlorophylle, à une relative augmentation des caroténoïdes et à une déficience en fer [79]. Dans les cas les plus sévères, une apparition de tâches nécrotiques est observée [80].

Ces effets apparents résultent d'une altération de processus vitaux tels que le transport et le métabolisme. Ainsi, une diminution de la conductivité hydraulique

racinaire associée à la fermeture des stomates entraîne une réduction de la transpiration il en découle une réduction de la fourniture en éléments minéraux dont les nitrates et, de ce fait, une perturbation du métabolisme azoté des feuilles [81,82].

En contraste avec la photosynthèse, une stimulation de la respiration est souvent observée, en réponse aux métaux lourds qui pourrait s'expliquer par une demande accrue d'ATP, générée par la phosphorylation oxydative, permettant de compenser la production limitée d'ATP par photophosphorylation [79].

L'inhibition de la respiration est observée pour des concentrations plus élevées de métaux et pourrait être due à une liaison des métaux aux groupes thiols de l'ATP synthétase. Le mécanisme d'action des métaux sur la respiration reste encore mal élucidé [83].

De façon plus ou moins spécifique s'avèrent inhibées par les métaux lourds non seulement l'expansion cellulaire mais également la division cellulaire, par altération des microtubules [84].

### 3.3.2. Tolérance

La tolérance aux métaux peut être assurée par plusieurs mécanismes différents, à savoir par une chélation ou précipitation avec des ligands à haute affinité, localisés sur la paroi cellulaire ou à l'intérieur du cytoplasme (formation de complexes avec des peptides, des acides organiques ou des ions inorganiques), par séquestration du métal dans la vacuole des cellules foliaires ou des trichomes, ou par exclusion ou excrétion active du métal [85].

En résumé, la tolérance pourrait être due à la protection de l'intégrité membranaire ou à la protection de la fonction des protéines associées au plasmalemme, tels que les transporteurs, les canaux ioniques et les pompes à protons [84].

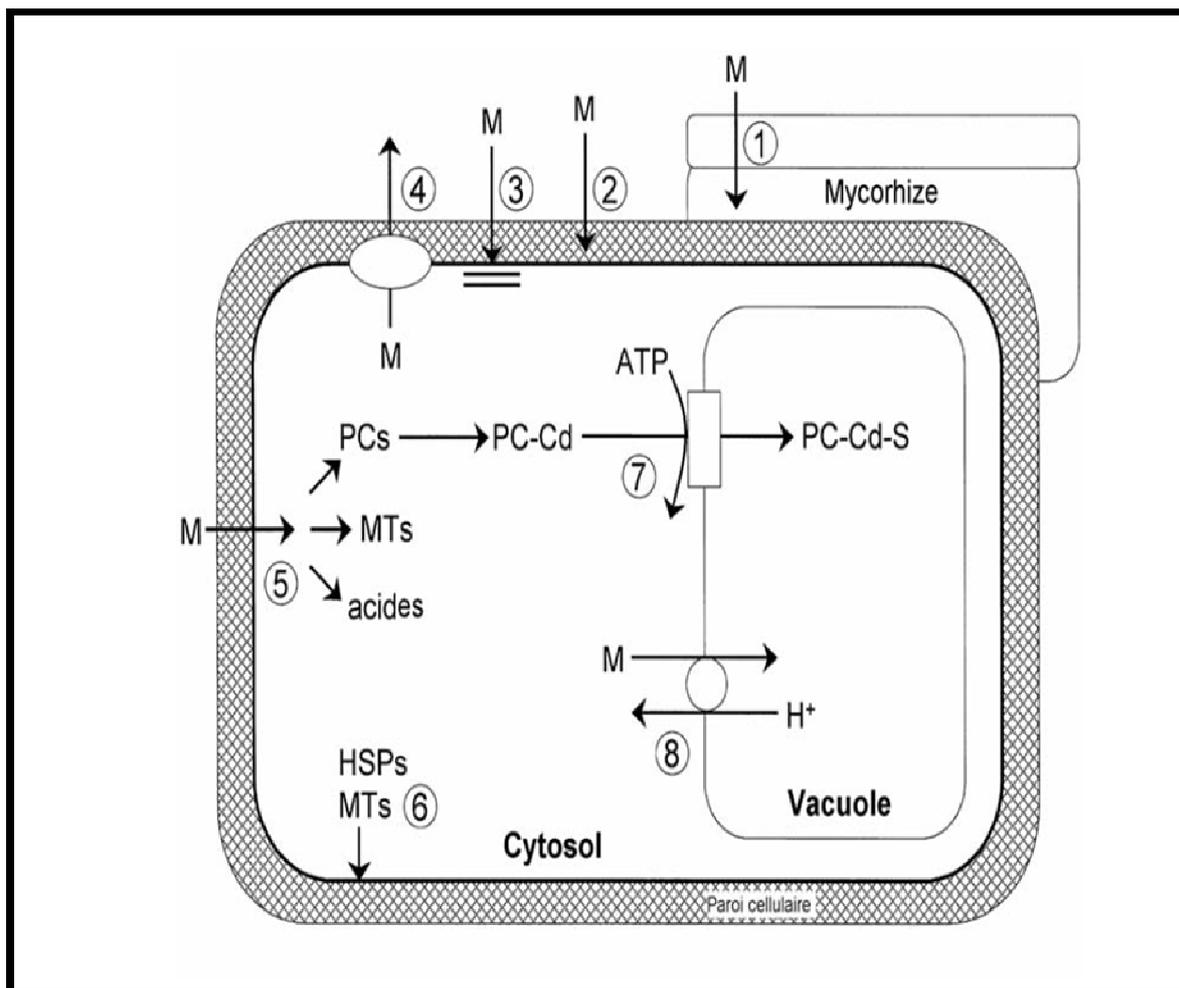


Figure 3.1 : Schéma des mécanismes cellulaires connus potentiellement impliqués dans la détoxification des métaux et la tolérance des plantes [86].

1. Immobilisation (extra- et intracellulaire) par les mycorhizes ;
2. Liaison avec la paroi cellulaire et les exsudats racinaires ;
3. Réduction de l'influx à travers la membrane plasmique ;
4. Efflux actif dans l'apoplaste ;
5. Chélation dans le cytosol par différents ligands ;
6. Réparation et protection de la membrane plasmique sous conditions de stress ;
7. Transport du complexe PC-Cd dans la vacuole ;
8. Transport et accumulation des métaux dans la vacuole [84].

PCs= Phytochelatins, MTs = Metallothioneins, HSPs = Heat Shock Proteins.

### 3.4. Cas du cadmium (Cd) : un élément particulièrement étudié

#### 3.4.1. Origines anthropogéniques

La production mondiale de cadmium est en expansion continue qui est évaluée à 16 000 tonnes en 1992 [87], elle s'élevait à 17 800 tonnes en 2004. Le cadmium n'existe pas à l'état natif, le cadmium est présent dans presque tous les minerais de zinc et est obtenu industriellement comme sous-produit de la métallurgie du zinc. La production d'une tonne de zinc s'accompagne obligatoirement de celle de 3 à 4 kg de cadmium. Le cadmium est également présent dans des minerais de plomb et de cuivre, ainsi que dans des phosphates naturels, à raison de 34 ppm pour les phosphates jordaniens et de 380 ppm pour les phosphates tunisiens [88].

Les émissions de particules résultant de ces différentes activités, l'épandage des boues résiduelles des stations d'épuration, l'utilisation massive de fertilisants (à cause des impuretés qu'ils renferment), de pesticides sont responsables de la contamination des écosystèmes [87].

De nombreux facteurs tels que le pH, la teneur en matières organiques et la présence d'autres éléments minéraux influencent fortement la disponibilité du cadmium pour les plantes [88].

Bien qu'étant un élément non essentiel pour la croissance végétale, le cadmium est facilement absorbé par les racines et transporté vers les parties aériennes et son accumulation dans les parties comestibles constitue la voie principale d'entrée de ce métal toxique dans la chaîne alimentaire humaine [87].

### 3.5. Le cadmium et les plantes

Le cadmium est un élément non nécessaire pour les plantes et il est hautement toxique. Sa toxicité est considérée de 2 à 20 fois plus élevée que celle des autres métaux lourds [89]. Il constitue le quatrième métal le plus toxique pour les plantes vasculaires. Cependant, la sensibilité à l'égard du cadmium varie suivant les espèces et même les cultivars d'une même espèce [80].

Bien qu'un nombre restreint de plantes tolèrent et/ou accumulent de fortes teneurs de ce métal, toutes les plantes manifestent des symptômes de toxicité qui

apparaissent également chez les plantes tolérantes pour de plus fortes concentrations en métal [90].

Parmi les symptômes visibles, le cadmium induit une inhibition de la croissance de différentes parties des plantes. Ainsi, il produit une réduction de la biomasse des différents organes [90].

Ces inhibitions de la croissance s'accompagnent de changement anatomique, structural et ultra structuraux importants au niveau des feuilles [91] mais également des racines [92]. La réduction de l'élongation racinaire peut être causée par une inhibition de la division cellulaire et de la synthèse des polysaccharides pariétaux [93].

L'exposition à long terme au cadmium produit au niveau des feuilles, l'apparition du phénomène de chlorose due à une diminution de la teneur en chlorophylle [92].

### 3.6. Effets sur les processus métaboliques

L'inhibition de la croissance par le cadmium est interprétée de différentes façons : altération de l'équilibre hydrique de la plante ou/et effets direct et indirect sur la photosynthèse, processus primaire fournisseur d'énergie chez les plantes [93]. En effet, à la réduction de la teneur en chlorophylle induite par le cadmium, s'ajoute une inhibition directe de l'activité des photosystèmes et de l'assimilation du CO<sub>2</sub> [79].

De plus, la disponibilité en CO<sub>2</sub> peut être réduite par un abaissement de la conductance des stomates observée dans certains cas, sous l'effet du cadmium [94]. L'augmentation de la résistance des stomates entraîne obligatoirement une baisse de la transpiration et donc de l'absorption et de la distribution des macro et micro éléments dans la plante [95], en particulier du potassium et des nitrates [80]. La conséquence directe en est alors une réduction de la croissance [96].

### 3.7. Sites d'action et stress oxydatif

Les symptômes de toxicité sont aussi le résultat d'interactions du cadmium au niveau cellulaire et moléculaire. La toxicité due au cadmium peut résulter de sa liaison aux groupes thiols des protéines entraînant l'inhibition de leur activité ou la destruction de leur structure [96].

Le cadmium peut aussi prendre la place, au centre actif de la molécule, des cations divalents, composants catalytiques des enzymes [97].

L'exposition des plantes aux métaux lourds induit un stress oxydatif parce qu'ils sont impliqués dans plusieurs types de mécanismes qui génèrent des espèces réactives de l'oxygène (ROS) : l'anion superoxyde  $O_2^{\cdot-}$ , le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ , et le radical hydroxyle  $HO^{\cdot}$  (Figure 3.2).

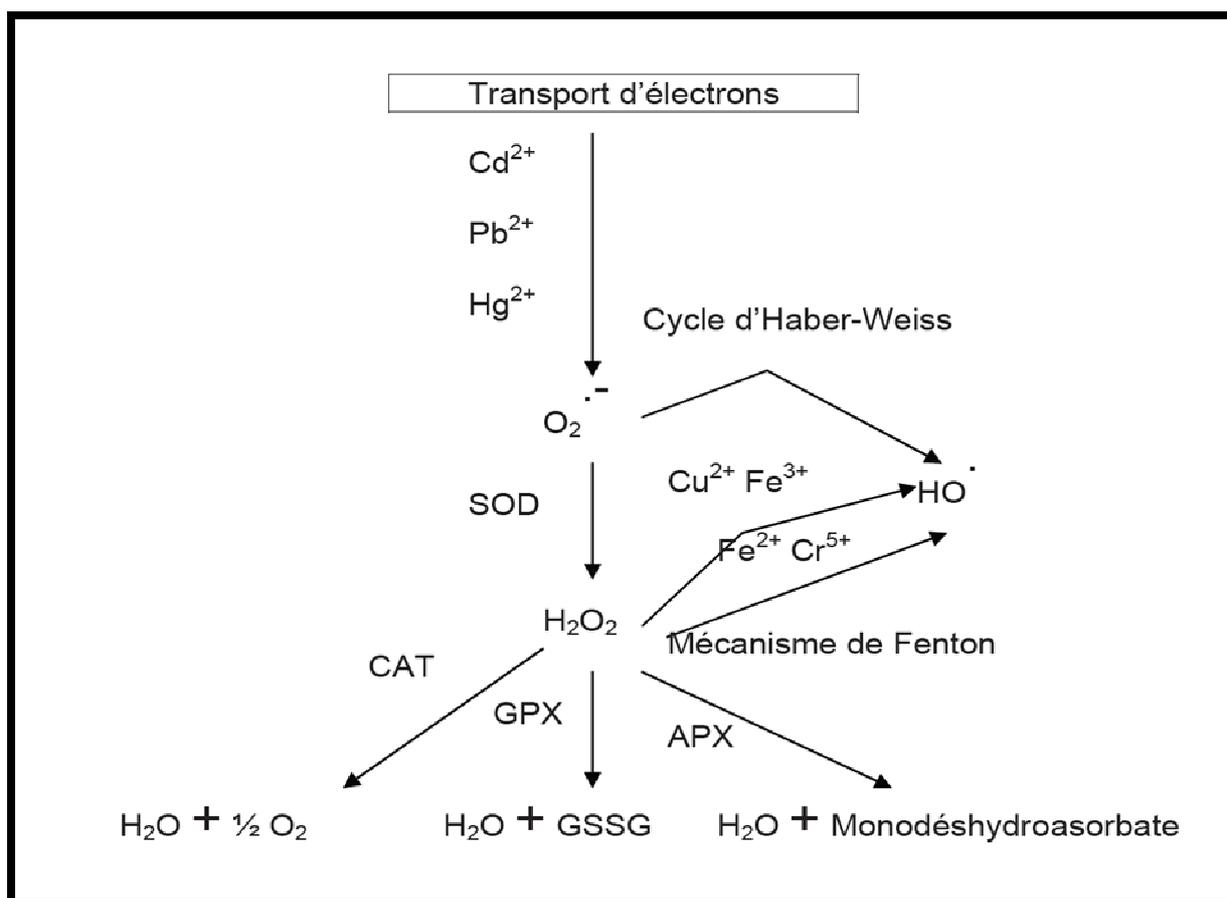


Figure 3.2 : Production des espèces réactives de l'oxygène (ROS) par les métaux lourds (d'après BENAVIDES *et al.*)[98].

### 3.8. Absorption racinaire, translocation et accumulation de cadmium

La voie principale d'absorption de cadmium se fait par simple diffusion au travers de l'apoplaste du cortex racinaire et de l'endoderme. Le transport des éléments métalliques à travers la paroi cellulaire se fait passivement (non métabolique et donc dans le sens du gradient de concentration) par les pores du réseau de la cellulose, de l'hémicellulose et des glycoprotéines. Cependant, une

partie des ions peut être adsorbés par les charges négatives de surface de l'acide polygalacturonique des pectines, qui agissent comme des échangeurs d'ions [99].

Puis au niveau de l'endoderme, le transport peut devenir actif au niveau de la membrane plasmique des cellules de la bande de Caspary (voie symplastique), autorisant cette fois un transfert contre le gradient de concentration. Cependant, les mécanismes exacts de l'absorption sont encore mal connus [100].

Par ailleurs, bien que le transport actif soit en principe spécifique, certains cations toxiques (Cs (césium), Cd, Pb ou Cr) sont des compétiteurs potentiels vis-à-vis des cations essentiels. Par exemple, le cadmium semble être un compétiteur connu du calcium en empruntant les canaux calciques membranaires [101]. 70% du Cd entrerait dans la racine [101].

### 3.8.1. Mécanismes moléculaires d'absorption de Cd par les plantes

L'étude des mécanismes moléculaires impliqués dans l'entrée du Cd dans les cellules a permis de mettre en évidence l'existence de différents types de transporteurs. Même si Clemens et *al.* ont montré l'expression de transporteurs membranaires à forte affinité pour le cadmium, les voies d'entrées du Cd dans les cellules semblent être plutôt majoritairement non spécifiques via différents transporteurs ubiquitaires de cations essentiels ( $Zn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ) [87].

Les techniques de biologie moléculaire et de génétique ont permis d'identifier des gènes codant pour différentes familles de transporteurs : les ATPases (HMAs), les transporteurs ABC (ATP-binding cassette), les protéines Nramps (Natural resistance associated macrophage proteins), la famille des CDF (Cation diffusion facilitator), les transporteurs ZIP (ZRT, IRT-like proteins), les antiports cation/ $H^+$  et autres canaux cationiques [102].

Les ATPases de type (P) forment une famille de transporteurs trouvés chez la majorité des êtres vivants et qui jouent le rôle de pompes sur les membranes cellulaires, grâce à l'énergie fournie par l'hydrolyse de l'ATP, pour bon nombre de cations dont les métaux lourds et  $Cd^{2+}$  [103].

Les protéines membranaires Nramps ont été décrites pour la première fois dans des macrophages chez la souris puis elles ont été identifiées chez les plantes [104].

Il a été montré que des protéines Nramps jouent le rôle de transporteurs de métaux essentiels ( $\text{Fe}^{2+}$  et  $\text{Mn}^{2+}$ ) mais aussi de Cd, ce transport étant même exacerbé en cas de carence en fer [105]. Les transporteurs CDF, identifiés comme des transporteurs du zinc, du cobalt et du cadmium, semblent jouer un rôle plutôt dans la régulation (homéostasie) que le transport/prélèvement des métaux. Ils seraient en effet impliqués dans la séquestration vacuolaire et l'efflux des métaux [106].

Salt et Wagner [107] ont aussi mis en évidence un transport de Cd vers les vacuoles via un antiport  $\text{Cd}^{2+}/\text{H}^+$  présent sur le tonoplaste. Enfin, les transporteurs ZIP semblent être une voie privilégiée d'entrée du Cd dans les cellules. Ces transporteurs ont d'abord été identifiés comme transporteurs majeurs du fer (les IRT) et du zinc (les ZRT) mais ils sont aussi capables de transporter avec une forte affinité le cadmium et le manganèse [108], en particulier en cas de carence en fer [109].

Une fois entrée dans les cellules racinaires, s'il n'est pas accumulé dans les vacuoles ou sur les parois membranaires, une partie du Cd peut être transférée aux parties aériennes de la plante via le xylème. Le Cd serait acheminé dans le xylème depuis les cellules racinaires sous forme de complexes à faible poids moléculaires (LMW) [110], vraisemblablement des complexes Cd-Phytochélatine, jusqu'aux feuilles [111].

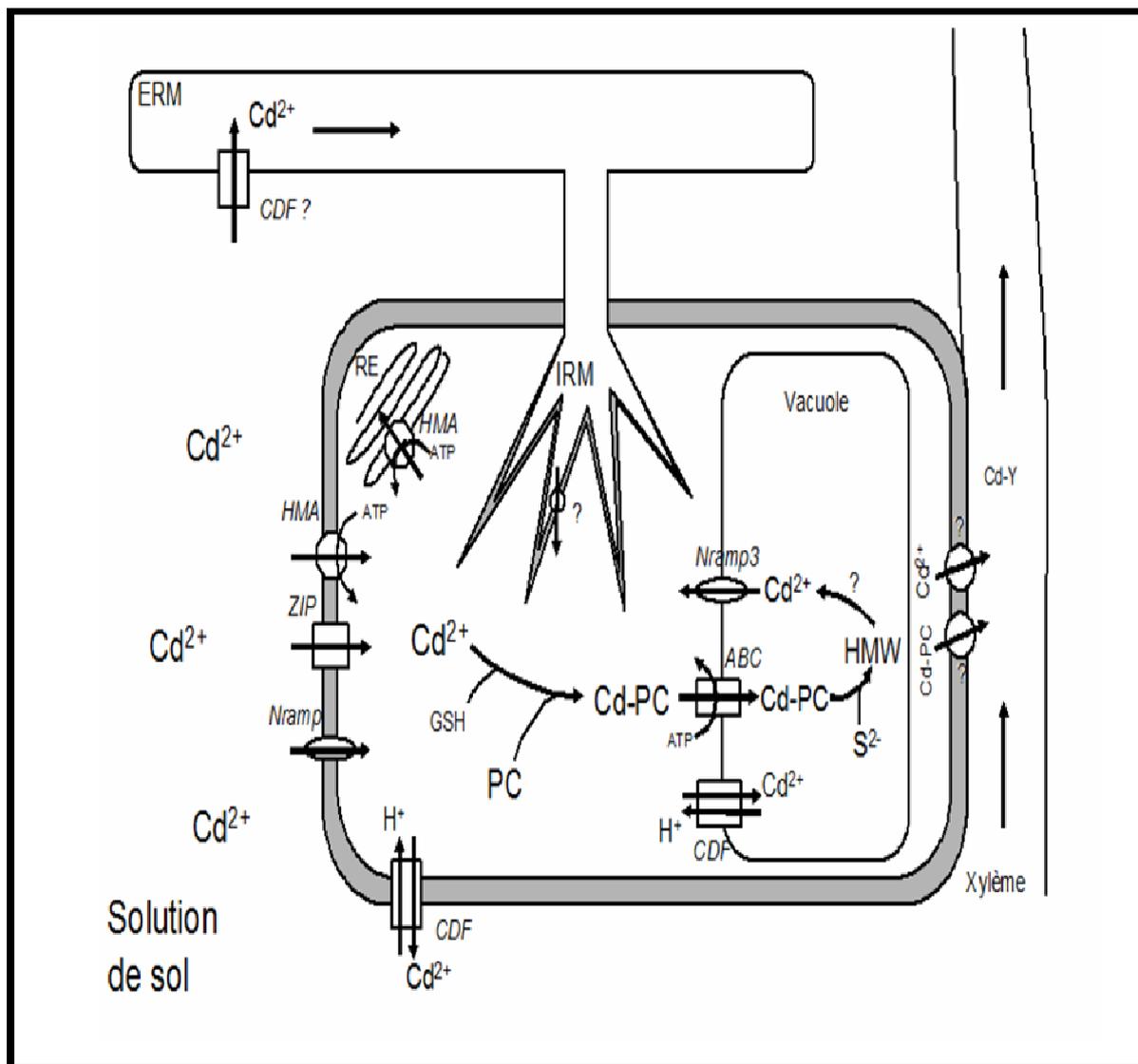


Figure 3.3 : Mécanismes de transport du Cd dans les cellules racinaires [109].

1. HMA : Heavy-Metals
2. ATPases; ZIP : Zinc-Iron like Proteins;
3. Nramp : Natural resistance associated macrophage proteins;
4. CDF : Cation Diffusion Factor;
5. Cd-PC : complexe Cd-phytochélatine;
6. HMW : complexe à haut poids moléculaire;
7. ERM : mycélium fongique extraracinaire;
8. IRM : mycélium fongique intracellulaire (arbuscules).

Après leur absorption, le transport des éléments dans le xylème de la plante vers les parties aériennes, appelé « translocation », peut nécessiter ou non la prise en charge des éléments par des agents complexant, tels que les acides organiques, les acides aminés et divers peptides : le fer est pris en charge par le citrate ; le zinc peut être transporté par un complexe anionique [112] ; le cadmium est transporté sous forme libre [74].

Chez certaines espèces la translocation d'éléments toxiques est plus importante que chez d'autres, pouvant conduire à une accumulation des métaux dans les feuilles et les autres parties aériennes, sans que l'on sache avec rigueur si elle est due à un transport plus actif ou une absence d'immobilisation dans les racines [113].

### 3.8.2. Accumulation

Certaines plantes accumulent des quantités inhabituelles d'éléments métalliques ; 100 mg/kg de matière sèche pour le Cd, 1000 mg/kg pour le Ni, le Cu, le Co ainsi que 10 000 mg/kg pour le Zn et le Mn. Ces espèces sont alors qualifiées de plante « hyperaccumulatrices » [84].

C'est le processus par lequel les organismes vivants accumulent des polluants liés directement à l'environnement abiotique. Cette bioconcentration caractérise la pollution car à un certain seuil de concentration ou lorsque la moyenne de celle-ci dans un organisme est supérieure à celle de l'environnement, certains végétaux aquatique meurent.

Un facteur de concentration  $F_c$ , ou facteur de bioaccumulation BCF [115], est défini comme le rapport de la concentration d'un polluant dans un organisme à sa concentration dans le biotope ( $BCF = F_c = \frac{[\text{polluant}] \text{ organisme}}{[\text{polluant}] \text{ eau ou sol}}$ ).

Si le  $F_c$  ou le BCF est supérieur à 1, il y a enrichissement, bioaccumulation du composé [116].

Une étude a montré qu'à partir de facteurs de bioconcentration, un gradient d'accumulation préférentiel pour les métaux pouvait s'établir de manière suivante :  $Zn < Cd < Cu < Mn < Pb < Al < Fe$  [116].

### 3.8.3. Mécanismes de défense induits par le cadmium

Les mécanismes conduisant à la tolérance au métal lourd peuvent être divisés en deux groupes : les stratégies d'exclusion et les stratégies de tolérance. Les mécanismes d'exclusion limitent la pénétration du métal, l'excluant ainsi des tissus de la plante. Les plantes présentant des mécanismes de tolérance sont capables d'accumuler, de stocker et d'immobiliser le métal [117].

Le premier système de défense fonctionne au niveau racinaire et met en jeu, outre les processus de chélation et de séquestration en raison de leur implication dans l'absorption, la distribution et l'accumulation du cadmium, une immobilisation du cadmium par les composés pariétaux : sites pectiques et groupes histidyls [117]. La tolérance pourrait aussi impliquer le plasmalemme soit en réduisant l'absorption soit en stimulant l'efflux des métaux lourds ayant été absorbés [117].

### 3.9. Définition des pesticides

Les pesticides sont devenus le « mal nécessaire » de notre époque, l'agriculture moderne ne peut plus s'en passer, leur utilisation à grande échelle et parfois abusive, a engendré une pollution inquiétante de l'environnement, leur toxicité peut s'exercer sur les organismes ciblés (insectes, mauvaises herbes..) mais aussi sur des organismes non ciblés (mammifères, poissons, plantes ...) [118].

Le terme "pesticide" a pour origine le mot anglais "pest" qui désigne tout animal ou plante (virus, bactérie, champignon, mollusque, insecte, rongeur...) susceptible d'être nuisible à l'homme et son environnement [118].

La FAO (Food and Agriculture Organisation) définit le pesticide comme toute substance ou tout mélange de substances destinés à prévenir, détruire ou combattre tout élément nuisible y compris tout vecteur de maladie humaine ou animale, mettant en péril ou perturbant la production, le stockage, le transport ou la commercialisation d'aliments pour animaux pour lutter contre les insectes, arachnides ou autres nuisibles présents dans leur organisme ou leur corps [118].

#### 3.9.1. Classification des pesticides

Il existe de nombreuses classifications des pesticides. Ils peuvent être classés selon leur cible et leur mode d'action, et aussi selon la nature chimique (inorganique

ou minéraux, naturels (végétaux) et organiques de synthèse). Cependant nous rapporterons la classification la plus citée par la littérature [118].

- Les herbicides

Ils des produits chimiques aux structures chimiques complexes. Bien que chaque produit ait ses propriétés particulières, les herbicides d'une même famille présentent des structures chimiques semblables et de nombreuses caractéristiques communes [119].

- Les fongicides

Ils servent à combattre la prolifération des champignons phytopathogènes, ils permettent de lutter contre les maladies cryptogamiques qui causent de graves dommages aux végétaux cultivés. Les plus anciens fongicides connus sont des sels cupriques, le soufre et certains de ses dérivés minéraux. Les plus représentées sont les carbamates (carbendazine, mancozebe,...), triazoles (bromuconazole, triticonazole,...), dérivés du benzène (chlorothalonil, quintozone,...), et dicarboximides (folpel, iprodione, ...) [119].

- Insecticides

Ce sont les premiers pesticides utilisés, destinés à détruire les insectes nuisibles [120].

Les substances organochlorées ont été les premières à être mises au point et comprennent des insecticides connus dans le monde entier comme le DDT, la dieldrine, l'aldrine (HHDN) et le HCH (lindane). Tous les composés organochlorés sont persistants et en raison de leur caractère liposoluble prononcé, ils s'accumulent essentiellement dans les graisses corporelles. C'est la raison pour laquelle, ils sont largement présents dans les denrées alimentaires et les produits laitiers. Leur utilisation s'est progressivement réduite en raison de leur interdiction dans beaucoup de pays [121].

Les organophosphorés sont moins persistants que les hydrocarbures chlorés. Leur processus de dégradation en substances moins réactives est plus rapide. Par conséquent, ils perdent de leur efficacité dans les champs plus rapidement sous l'action de la pluie. Il s'agit par exemple du parathion, malathion, diazinon et du

dichlorophos. Toutes ces substances sont largement utilisées aujourd'hui comme insecticides, fongicides et herbicides [121].

Les carbamates présentent les mêmes caractéristiques que les organophosphorés, mais avec une toxicité moindre. L'un d'entre eux, l'aldicarbe, fréquemment utilisé en agriculture, est très soluble ce qui explique pourquoi on le détecte dans de nombreuses nappes phréatiques [121].

Les pyréthrines et pyréthrinoides sont appelées pyréthroides. Elles sont écologiquement préférables, car, ce sont des insecticides hautement efficaces, en raison de leur taux de persistance peu élevé et en particulier, de leur faible toxicité pour les animaux à sang chaud. Elles ne s'accumulent pas dans le corps [121].

### 3.9.2. Méthyl-parathion

Le méthyl-parathion (MP) est un insecticide organophosphoré hautement toxique avec une  $DL_{50}$  de  $49 \text{ mg.L}^{-1}$  [122], qui a été synthétisé pour la première fois en 1940. Il est relativement soluble dans l'eau, peu soluble dans l'éther, pétrole, et les huiles minérales, et soluble dans la plupart des solvants organiques. Le méthyl-parathion a une odeur aillé ou odeur d'œuf pourri. Il est thermiquement instable et subit rapidement une décomposition à  $\text{pH} = 8$  [122,123].

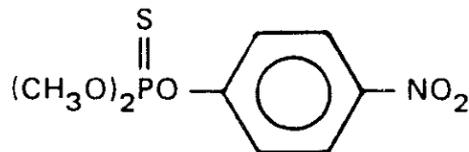
Des études ont été faites sur une communauté naturelle et ont montré que des concentrations allant jusqu'à  $5 \text{ mg.L}^{-1}$  du pesticide ont été absorbées par la biomasse.

L'utilisation et/ou ingestion accidentelle ou intentionnelle peut causer de graves ou de mortels empoisonnements. Il est facilement absorbé par les organismes ; par conséquent les expositions dangereuses peuvent survenir sans avertissement.

Le méthyl-parathion n'est pas persistant dans l'environnement. Cet insecticide est susceptible de causer des dommages aux écosystèmes. Il n'est pas transmis par les chaînes alimentaires. Il est dégradé rapidement par de nombreux microorganismes et d'autres formes de la faune [124].

- Propriétés physico-chimiques du méthyl-parathion [124]

1) formule chimique :  $C_8H_{10}NO_5PS$



2) Masse molaire est égale à 263,23 g. mol<sup>-1</sup>.

3) Nom chimique: O, O-diméthyl O-(4-nitro-phényl) phosphorothioate.

4) Température de fusion : 35-38 °C [123].

5) Solubilité dans l'eau : 55-60 mg.L<sup>-1</sup> à 25°C (pure) [125].

6) Constante de Henry : 0,0302 Pa. m<sup>3</sup>.mol<sup>-1</sup>.

7) Coefficient de partage octanol/eau : 3 Log K<sub>ow</sub> (à 25°C).

8) Pression de vapeur saturante solide à 25 : 0,89 °C (mPa).

9) Densité relative : 1,45 à 20 ±1°C.

10) Constante de dissociation (pKa) :

- Aucune dissociation totale dans l'eau à 100%.
- pKa dans l'eau/méthanol (90/10 : V/V) : 6,83 ±0,04 à 20°C [122].

Aussi bien il est utilisé dans la lutte anti-acridienne que dans la riziculture. Il sucer par les insectes dans un éventail de récoltes, y compris les céréales, le fruit, les vignes, les ornementales, le coton et les cultures de plein champ. Le parathion méthylique est généralement appliqué en pulvérisation, principalement comme formulation émulsifiable de concentré. Les taux recommandés d'application sont 15-25 g de substance active par 100 litres. Selon David et *al.*, le Mp à une demi-vie dans l'eau de 175 jours et de 10 a 60 jours dans un sol. Le taux de dégradation augmente avec la température [124].

### 3.10. Production et consommation

En Algérie, la consommation des pesticides est exprimée à travers les quantités de produits commercialisés. Elle est représentée par la figure 3.4 [126].

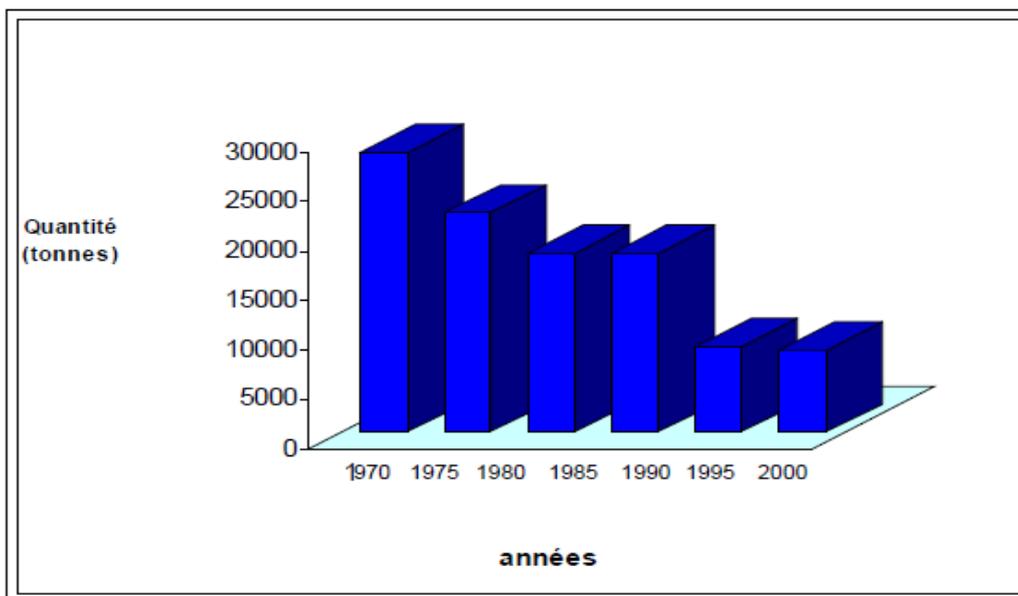


Figure 3.4 : Evolution de la commercialisation des pesticides en Algérie [127].

### 3.11. Toxicité des pesticides

Les pesticides se dégradent difficilement alors qu'ils deviennent à long terme des agents toxiques s'accumulant fréquemment dans les organismes vivants. Il n'est généralement pas possible de faire en sorte que l'action des pesticides utilisés se limite aux seuls objectifs de lutte, par suite de la complexité du milieu naturel et des multiples interactions entre les organismes nuisibles visés, L'écosystème dans lequel ils évoluent. Il a été constaté depuis longtemps, par exemple, l'emploi excessif des insecticides est susceptible d'entraîner des effets secondaires néfastes sur l'environnement [128].

#### 3.11.1 Limite maximale de résidus (LMR)

La LMR c'est Concentration en résidus la plus élevée légalement acceptable pour que les denrées restent commercialisables. Elle s'exprime en mg/kg (ou en ppm). Il existe pour chaque produit des LMR nationales et des LMR internationales [129].

#### 3.11.2. Dose Létale 50 (DL 50)

Dose d'une substance provoquant la mort de 50% d'un lot d'animaux cobayes. Elle s'exprime en milligramme ou en gramme par kilogramme (mg/kg ou en g/kg) de poids vif de l'animal [129].

### 3.11.3 Dose journalière acceptable (DJA)

Quantité de produit pouvant être quotidiennement adsorbée au cours d'une vie d'homme sans manifestation d'effets secondaires (en mg/kg de poids corporel) [129].

### 3.11.4 Dose sans effet (DES)

Dose la plus élevée d'un produit qui ne provoque aucun effet décelable chez les animaux à expérimentation. Elle s'exprime en mg/kg (OMS, 1991). DJA sont fixées par des Normes OMS/FAO. Pour les eaux destinées à la consommation humaine. Les normes européennes prescrivent une LMR de pesticide de 0.1 µg/l pour chaque substance à l'exception des substances suivantes : de l'Aldrine, de la dieldrine, de l'heptachlore et de l'époxyde d'heptachlore qui est de 0.03 µg/l de 0.5µg/l pour le total des pesticides mesurés [129].

## 3.12. Modes de pollution des eaux par les résidus de pesticides

La contamination des eaux résulte des systèmes de culture et des pratiques agricoles, de leur contexte pédoclimatique et de mécanismes complexes, physiques, chimiques et biologiques. Les pollutions résultantes peuvent présenter un caractère ponctuel, souvent même accidentel ou, au contraire diffus [130].

Les phénomènes ne sont pas simples, une partie est volatilisée et se retrouve, dans l'atmosphère, dans les eaux de pluies ; une autre est absorbée par les végétaux ; le sol retient également et même quantité biodégradation transforme la substance active initiale en divers métabolites. La partie des produits non retenus dans le sol atteint, par lixiviation, la nappe souterraine, Elle est représentée par la figure 3.5 [131].

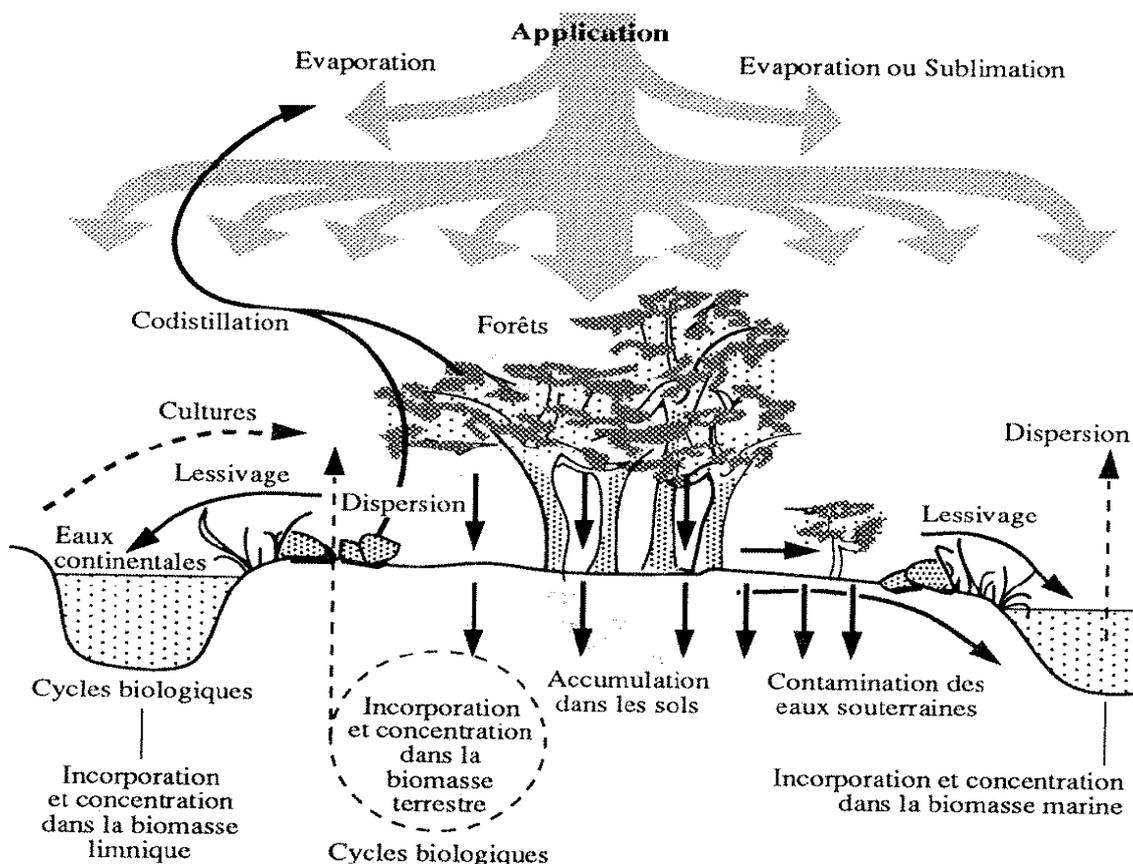


Figure 3.5 : Schéma général de la dispersion des insecticides dans les écosystèmes d'après F. Ramad [132].

### 3.13. La pollution des eaux par les pesticides en Algérie

L'Algérie est aujourd'hui confrontée à de sérieux problèmes de pollution industrielle. Le parc industriel national est ancien et fréquemment polluant, en outre, le processus d'industrialisation s'est effectué dans des conditions ne tenant pas compte des impératifs écologiques. Les entreprises industrielles génèrent annuellement plus de 220 millions de m<sup>3</sup> d'eaux usées, en majorité déversée dans les enceintes portuaires [131].

Une étude récente effectuée sur des eaux prélevées dans des puits du domaine agricole de la région de Staoueli a montré que dans plus de 30 % des échantillons, les normes OMS sont dépassées. Les principaux pesticides détectés sont les DDT, DDE, l'endosulfan, le lindane, le malathion et le methyl-parathion [133].

### 3.14. Normes des pesticides

L'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) a fixé des seuils de recommandation par substance individualisée. Pour l'atrazine et le DDT par exemple, la recommandation est fixée à  $2 \mu\text{g.L}^{-1}$ .

- La directive européenne n° 98/83 du 3 novembre 1998 prévoit pour les pesticides et produits apparentés une valeur maximale de  $0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$  par substance individualisée avec un maximum de  $0,5 \mu\text{g.L}^{-1}$  pour le total des produits détectés à l'exception de l'aldrine, diéldrine, heptachlore et époxyde d'heptachlore qui font l'objet d'une valeur limite réglementaire fixée à  $0,03 \mu\text{g.L}^{-1}$  [134].

## **CHAPITRE 4**

### **MATERIELS ET METHODES**

#### 4.1. Introduction

Dans ce chapitre nous présentons les techniques analytiques et les protocoles expérimentaux utilisés pour la réalisation des travaux envisagés.

Nous rappelons que l'objectif principal de cette étude est la préparation de supports de rétention de métaux lourds et de pesticide à base d'une plante aquatique *Lemna gibba* fraîche et séchée.

Notre choix est porté sur 02 polluants le cadmium et le méthyl-parathion.

#### 4.2. Matériel et méthodes expérimentales

##### 4.2.1. Produits et appareillage

Tous les produits et appareils que nous avons utilisé pour nos expérimentations sont présentés en annexe (APPENDICE B).

#### 4.3. Echantillonnage de la plante

Les lentilles d'eau utilisée pour cette étude sont présentes dans plusieurs sites l'Algérien tels que :

- Les mares des lacs des oiseaux de la région de l'est de l'Algérie plus précisément à Bouteldja willaya de Taref, ainsi que le site de Ben azzouz situé dans la région d'El kala.
- une petite retenue d'eau usée près de Soudania au niveau de la région de Douera (Alger).
- au niveau de la station d'épuration de Koléa.
- au jardin d'El Hama (Alger).

La plante aquatique utilisée pour nos expériences est donc *Lemna gibba* dont les échantillons ont été collectés au niveau du site du jardin d'El Hamma (Alger) pendant la période du (mars 2010).



Figure 4.1 : Site de Bouteldja  
(Taref).



Figure 4.2 : Site de Souidania  
(Douera).



Figure 4.3 : Les lentilles d'eau  
de la station d'épuration de Koléa.



Figure 4.4 : Site du jardin d'essai  
d'El Hamma (Alger).

La plante est transférée de son milieu naturel au milieu de culture artificiel dont la composition est proche à celui du milieu naturel, dans un bac (culture stock) à l'air libre dans une serre qui se trouve au niveau du département d'Agronomie de l'université de Blida.



Figure 4.5 : Culture stock dans un bac a l'air libre au niveau du département d'Agronomie (Université de Blida).

#### 4.4. Méthodologie de culture de *Lemna gibba*

##### 4.4.1. Préparation du matériel végétal

Toute la verrerie en pyrex® (Cristallisoirs, Erlen, Béchers, Fioles, pipettes boîtes pétries etc...) qui a servi à nos expérimentations est lavée a l'eau de robinet, ensuite plongée dans l'eau acidulée ( $\text{pH} = 2 \pm 0,5$ ) pendant 24 heures. Une fois lavée et rincée par l'eau distillée, cette verrerie est introduite dans l'étuve pendant 20 minutes à  $120^\circ\text{C}$  (stérilisation par voie sèche). Après refroidissement cette verrerie couverture avec papier aluminium est placée sous hotte sous radiation UV. Les accessoires tels que les embouts, les spatules subissent une stérilisation par voie humide par autoclavage à  $120^\circ\text{C}$  pendant 20 minutes.

##### 4.4.2. Préparation du milieu de culture

Les réactifs que nous citerons pour la préparation des milieux de cultures sont tous de pureté analytique reconnue cités ci-dessous.

L'eau distillée pour préparer ces milieux à une conductivité inférieure à 13  $\mu\text{s}$  et un pH égal à 5,7.

Des solutions stocks sont préalablement préparées dans des flacons opaques de capacité. Ces solutions stocks sont conservées à 4°C à l'obscurité.

#### 4.4.3. Préparation des solutions mères pour la constitution du milieu de culture

Le milieu Haogland modifié [135] a été utilisé pour cultiver *Lemna gibba* et pour réaliser les essais de fixation du cadmium et méthyl-parathion sur cette plante. Au tableau 4.1 est donnée la composition chimique de ce milieu.

Tableau 4.1: composition chimique des solutions mères nutritives du milieu de culture

Solution mère	Substance	Concentration (g.L <sup>-1</sup> )	Pureté (%)
Solution 1	Ca (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 4 H <sub>2</sub> O	11,8	99
Solution 2	KNO <sub>3</sub>	12 ,33	99
Solution 3	MgSO <sub>4</sub> 7 H <sub>2</sub> O	6,8	98
Solution 4	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3,46	98
Solution 5	FesO <sub>4</sub> 7 H <sub>2</sub> O	3,077	99
Solution 6	H <sub>3</sub> BO <sub>4</sub>	2,86	99,8
	MnSO <sub>4</sub> 7 H <sub>2</sub> O	1,55	>98
	ZnSO <sub>4</sub> 7 H <sub>2</sub> O	0,22	99,5
	CuSO <sub>4</sub> 5 H <sub>2</sub> O	0,079	98
Solution 7	NiSO <sub>4</sub> 7 H <sub>2</sub> O	0,0478	99
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> MO <sub>7</sub> 24H <sub>2</sub> O	0,128	99

La préparation de 1 litre du milieu expérimental est réalisée en mélangeant 100 ml de : S1, 5 ml de S<sub>2</sub>, 4 ml de S<sub>3</sub>, 5 ml de S<sub>5</sub> et 1 ml de S<sub>4</sub>, S<sub>6</sub>, et S<sub>7</sub>.

Le volume obtenu est complété à 1 litre avec l'eau distillée. Le pH est ajusté à  $6,5 \pm 0,5$  à l'aide des solutions d'acide chlorhydrique HCl (0,1N) ou de la soude NaOH (0,1N).

Le milieu ainsi préparé est introduit dans des flacons opaques hermétiquement fermé, puis autoclavé à 120°C pendant 20 minutes.

#### 4.4.4. Culture de la plante

##### 4.4.4.1. Protocole de préparation de la plante

Ce protocole de la plante comporte les étapes suivantes :

- Un Trempage dans l'eau distillée stérile pendant quelques secondes.
- Un Trempage rapide (environ 10 secondes) dans l'éthanol dilué (3 à 5 gouttes d'éthanol dans 100 mL d'eau distillée stérilisée).
- Un Trempage dans l'hypochlorite de sodium dilué (0,5 ml dans 100 ml) pendant 2 à 4 minutes.
- Un Rinçage avec de l'eau distillée stérilisée.
- Une Incubation de 10 jours dans les milieux de culture préalablement stérilisés selon le protocole décrit dans le paragraphe (4.4.3).



Figure 4.6 : Les plantes dans le milieu de culture.

##### 4.4.4.2. Culture de *Lemna gibba*

La culture est réalisée dans une chambre thermostatée à  $25 \pm 2$  °C avec une photopériode de 16 heures d'éclairage et 8 heures d'obscurité. L'intensité de la lumière est de 3550 Lux.



Figure 4.7 : Les cultures en chambre thermostatée.

La culture de *Lemna gibba* est réalisée dans des cristallisoirs de capacité 1,5 litre, contenant chacun 1 litre du milieu de culture stérile et 80 frondes, correspondant à 40 colonies (une colonie est constituée de deux frondes et d'une radicelle) équivalente à  $0,1 \pm 0,06$  g. Chaque cristallisoir est couvert par un film plastique transparent et troué partiellement avec une aiguille stérile pour éviter les dépôts de poussières et pour réduire l'évaporation au minimum, (les milieux de culture sont facilement contaminés s'ils sont exposés à l'air). Ces cristallisoirs sont placés dans la chambre de culture thermostatée ou le phytotron [136].

#### 4.4.4.3. Durée de culture

La plante utilisée pour les essais de toxicité est de la 3<sup>ème</sup> génération. Ainsi la solution nutritive dans les cristallisoirs est remplacée par un milieu frais tous les 10 jours.

#### 4.5. Choix du pesticide

Une enquête préalable menée auprès de la direction des services agricoles de Blida, a permis d'identifier les principales matières actives par volume d'utilisation agricole pour les cultures maraîchères et intensives ; cette enquête a donné la gamme des pesticides les plus utilisées (APPENDICE C).

Notre choix s'est porté sur le méthyl-parathion car c'est un insecticide souvent utilisé pour la protection contre Eudémis, Altise, Cicadelle, Psylle, Pucerons au niveau des régions du centre de l'Algérie.

Le méthyl-parathion est utilisé au niveau de l'usine Algérienne des phytosanitaires Spa (ALPHYT) de Béni Mered à Blida ce qui induit sa présence dans les eaux résiduaires de la wilaya de Blida.

#### 4.6. Préparation des solutions étalons

Les solutions de deux polluants utilisées sont préparées dans des flacons sombres à des concentrations inférieures à leurs solubilités.

Les solutions mères de tous les produits testés sont préparées et sont renouvelées une fois par trois mois. Pour les besoins de du travail expérimental, nous avons préparé des solutions mères des deux polluants : le cadmium et le méthyl-parathion à des concentrations égales à  $5\text{mg.L}^{-1}$  et  $50\text{ mg.L}^{-1}$  respectivement, obtenue par dissolution direct d'une masse de 5mg de cadmium et 50 mg de méthyl-parathion dans de l'eau distillée ( $\text{pH} = 5,5 \pm 0,2$ ).

A partir de ces solutions, nous avons préparé des solutions filles obtenues par dilution de la solution mère en utilisant le milieu de culture.

#### 4.7. Détermination du spectre U.V du méthyl-parathion

Afin de déterminer la longueur d'onde à laquelle il faut doser le méthyl-parathion, nous devons déterminer son spectre U.V.

Le principe de la spectroscopie UV-visible repose sur des transitions électroniques, qui est le passage d'un électron d'une orbitale stable vers une orbitale instable—engendrées par l'absorption de radiations électromagnétiques dans les régions UV (200 - 400 nm) et visible (400 - 800 nm). Dans le cas des composés organiques, ces transitions électroniques correspondent à des changements d'orbitales moléculaires de groupes fonctionnels spécifiques (chromophores). Ainsi, les spectres d'absorption d'un composé peuvent être utilisés pour sa caractérisation. La spectroscopie UV-visible a ainsi été utilisée par de nombreux auteurs pour caractériser le méthyl-parathion [137,138].

Le spectrophotomètre, UV-visible à monofaisceau de marque SHIMADZU type UV-1700 avec une cellule en quartz de 1 cm d'épaisseur, a été utilisé.

Pour pouvoir déterminer la longueur d'onde un balayage automatique est effectué entre 200 et 400 nm, le résidu du méthyl-parathion est alors dosé. Nous avons d'abord déterminé son spectre UV, qui a été obtenu par l'analyse d'une solution de 25 mg.L<sup>-1</sup> de matière active pure dans l'eau distillée et dans milieu de culture.

#### 4.8. Détermination du pic du méthyl-parathion

La Chromatographie Liquide Haute Performance permet de séparer et de doser différents composés d'une solution qui absorbe dans l'U.V. Pour des conditions opératoires précises, chaque composé présente un pic avec un temps de rétention bien défini. La hauteur des pics ou l'intégration de la surface de ces pics permet d'obtenir la concentration des produits [139].

Le spectre U.V est obtenu par l'analyse d'une solution de méthyl-parathion de concentration égale à 25 mg.L<sup>-1</sup> L'appareillage utilisé est de marque SHIMADZU type SPD - M10 AV muni d'un détecteur UV-VIS SPD-10AV SHIMADZU et d'une colonne RP- 18 (25 cm, à billes sphériques de diamètres 5 µm en silice greffée octadécyle). La chaîne est équipée d'un passeur automatique Gilson 234 auto injecteur muni d'une boucle d'injection et un dégazeur DGU-14A SHIMADZU. Les données sont enregistrées sur un Achromatope C-R8A SHIMADZU.

Tableau 4.2 : Les conditions d'analyse du méthyl-parathion [140].

Phase mobile	Acétonitrile / Eau Ultra-pure V/V (50 / 50)
Volume d'injection µl	20 µl
Débit	1ml. min <sup>-1</sup>

#### 4.9. Tests de rétention du cadmium et du méthyl-parathion par la plante *Lemna*

Le Cd SO<sub>4</sub> 8/3H<sub>2</sub>O est utilisé comme source de cadmium (Cd<sup>2+</sup>) et le méthyl-parathion (Mp) à 90% de pureté comme source d'insecticides. Quarante colonies de l'espèce *Lemna gibba* ont étéensemencées dans des flacons en verre de capacité de 250 ml contenant 100 ml de solution nutritive contaminée soit par du cadmium

soit par du méthyl-parathion. Le pH est ajusté à  $6,5 \pm 0,5$  à l'aide des solutions d'acide chlorhydrique HCl 0,1N ou de la soude NaOH 0,1N.

Ces flacons sont placés dans une chambre de culture avec photopériode de 16 h de lumière et 8h d'obscurité. Au bout d'un intervalle de temps choisi variant de [0 à 6] jours, des prélèvements sont effectués chaque jour, puis une filtration de ces milieux de culture sur du papier filtre de porosité  $0,45 \mu\text{m}$  permettent de séparer la plante de la phase liquide. Les produits obtenus sont conservés à  $4^{\circ}\text{C}$  par ajout de l'acide nitrique à 2% [141].

Un dosage du métal et/ou du pesticide, permet de quantifier la concentration résiduelle de cet élément en solution. Le taux de fixation ou bien le taux d'accumulation exprime alors le pourcentage de l'élément éliminé en fonction du temps.

Des témoins sont prévus pour chaque série de tests. Les concentrations choisies pour les essais de phytoremédiation sont illustré dans le tableau 4.3.

Tableau 4.3 : Les concentrations choisies pour les bio-essais en ( $\text{mg.L}^{-1}$ )

$[\text{Cd}^{+2}]$ ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	Méthyl-parathion ( $\text{mg.L}^{-1}$ )
$10^{-3}$	8
$10^{-2}$	16
$10^{-1}$	32
1	48

L'évaluation de l'impact de cadmium et le méthyl-parathion sur *Lemna gibba* est établie à partir des données ci-après :

- 1) La cinétique de croissance.
- 2) Le Taux d'inhibition.
- 3) Les Taux et les cinétiques de fixation ou bien d'accumulation des 02 polluants sont étudiés.
- 4) Facteur de bioaccumulation.



Figure 4.8 : Culture expérimentale dans un milieu de culture contaminé par du cadmium et du méthyl-parathion.

#### 4.9.1. Estimation de la croissance

Diverses méthodes peuvent être utilisées pour mesurer ou estimer la croissance. La plus connue et la plus simple est le dénombrement des plantes ou des frondes. Elle est en outre rapide et non destructive (pouvant donc avoir lieu pendant l'essai). Cependant, elle ne renseigne pas sur la taille ou la biomasse des frondes [142].

Pour ce faire, nous procédons régulièrement chaque jour à une observation et un dénombrement des colonies dans chaque flacon d'essais au cours d'une période d'essais de 6 jours. Cette opération est accompagnée par la mesure de pH par un pH mètre de type HANNA pH 211 et de mesure de la biomasse fraîche et sèche après un séchage à l'étuve à 80°C pendant 24 heures. Le poids sec est déterminé par la pesée du matériel végétal sec.

#### 4.9.2. Evaluation la cinétique de la croissance de *Lemna gibba*

L'évaluation la croissance de la *Lemna gibba* en présence du cadmium et du méthyl-parathion à différentes concentrations a été déterminée selon la formule suivante :

$$C(\%) = \frac{N_t - N_0}{N_0} * 100$$

Où :

$N_t$  : Le nombre de colonie moyen à l'instant t.

$N_0$  : Le nombre de colonie moyen à l'instant t = 0 jour.

#### 4.9.3. Evaluation du taux d'inhibition

Le calcul du taux d'inhibition de la croissance de la *Lemna gibba* en présence de cadmium et de méthyl-parathion se fait à partir du dénombrement des frondes de premier jour jusqu'au sixième jour par la formule suivante [143] :

$$I(\%) = \frac{\Delta N_t - \Delta N}{\Delta N_t} * 100$$

Où :

$\Delta N_t$  : L'accroissement moyen du nombre de frondes vertes observé dans les récipients témoins.

$\Delta N$  : L'accroissement moyen du nombre de frondes vertes observé dans les solutions contaminées.

#### 4.9.4. Evaluation taux de rétention du cadmium et du méthyl-parathion

Le taux de rétention de cadmium et du méthyl-parathion est calculé par la formule de GJENGEDAL et al. [143] Suivante :

$$R(\%) = \frac{C_0 - C_t}{C_0} * 100$$

Où :

$C_0$  : représente la concentration initiale du polluant (en solution).

$C_t$  : représente la concentration du polluant à l'instant t (en solution).

#### 4.10. Mesure du facteur de bioaccumulation

- Pour le cadmium

##### 4.10.1. Principe

La minéralisation par voie humide utilise le pouvoir oxydant des acides forts. La matière sèche est attaquée à froid par un mélange acide perchlorique-acide nitrique, puis digérée par chauffage jusqu'à décomposition de la matière organique qui se dégage sous forme de gaz CO<sub>2</sub> et vapeurs nitreuses brunes.

##### 4.10.2. Méthode de minéralisation

Le protocole utilisé est inspiré des travaux de Cottenie et *al.* [144].

Pour évaluer l'accumulation du cadmium, les plantes ont été exposées aux concentrations égales à : 10<sup>-3</sup> ; 10<sup>-2</sup> ; 10<sup>-1</sup> et 1mg.L<sup>-1</sup> pendant 06 jours. Elles sont ensuite lavées 03 fois avec de l'eau distillée acidifiée (pH = 2) avant d'être séchées à l'étuve à 80° C pendant 48 heures et broyées finement. La poudre obtenue est minéralisée avec un mélange d'acide nitrique et perchlorique (3/1, v/v). La minéralisation est considérée achevée lorsque le mélange devient clair.

##### 4.10.3. L'analyse de cadmium

L'analyse des concentrations de cadmium est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre d'absorption atomique SAA équipée d'un système de correction automatique de marque MGE 600371 v1, 14). La longueur de mesure est de 288,8 nm.

Le facteur de bioaccumulation (FBC) de cadmium est estimé par la formule [145] :

$$\text{FBC} = \frac{[\text{métal dans la biomasse de la plante } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}]}{[\text{métal dans la solution } \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}]}$$

#### 4.11. Préparation de la poudre à partir de la plante séchée

##### 4.11.1. Prétraitement physique

La biomasse de la plante *Lemna gibba* est lavée plusieurs fois à l'eau distillée stérile. Le séchage est réalisé pendant trois jours à l'étuve à 65 °C. Un broyage mécanique puis tamisage sont réalisés pour obtenir une gamme de granulométrie 0,5 mm.

##### 4.11.2. Prétraitement chimique

Un échantillon de biomasse obtenu a été lavé deux fois avec une solution de HCl 0,01M pour enlever toutes les biomolécules solubles qui pourraient causer des interférences. La neutralisation de l'acide résiduelle est obtenue par un lavage de la poudre de *Lemna gibba* obtenu avec de l'eau distillée. Le pH de la solution est ajusté à une valeur proche de la neutralité. Une filtration sur du papier filtre par gravitation et un séchage du produit obtenu dans une étuve à 65°C pendant 48 heures sont alors appliqués [146].

#### 4.12. Caractéristiques structurales

Afin de préciser plus amplement la structure de la poudre séchée de *Lemna gibba*, une analyse spectroscopique à infrarouge a été réalisée.

##### 4.12.1. Analyse par Spectroscopie infra-rouge à transformé de Fourier (IRTF)

La méthode d'analyse spectroscopique à infra-rouge (IRTF) permet de mettre en évidence les groupements chimiques de la poudre de *Lemna gibba*. Elle permet de caractériser les fonctions chimiques de produit organique. Une molécule soumise à des radiations dans l'infrarouge peut absorber certaines d'entre elles à des longueurs d'onde qui correspondent aux fréquences de vibration des groupements chimiques constitutifs [147].

L'échantillon des est préparé par micropastillage de 1 ou 2 mm dans du bromure de potassium (KBr) à une concentration d'environ 0,004 % (1 mg du poudre / 250 mg KBr) en masse et soumis à une pression de 20 bar/cm<sup>2</sup>. La pastille ainsi formée est analysée à l'aide d'un appareil de type SHIMADZU de type FTIR 9800.

Les spectres d'absorption infrarouge ont été mesurés entre 500 et 4000  $\text{cm}^{-1}$ . Le spectre obtenu représente  $\text{Abs} = f(1/\lambda)$  avec :

- Abs = Absorbance
- nombre d'onde =  $1/\lambda$  exprimé en  $\text{cm}^{-1}$ .

Logiciel IR solution a été utilisé pour le traitement des spectres obtenus.

#### 4.12.2. Microscope Electronique à Balayage (MEB)

Le principe de la microscopie électronique à balayage consiste en à explorer la surface d'un échantillon par lignes successives et à transmettre le signal du détecteur à un écran cathodique dont le balayage est exactement synchronisé avec celui du faisceau incident. Le microscope à balayage utilise un faisceau très fin qui balaie point par point la surface de l'échantillon. Sous l'impact du faisceau d'électrons accélérés, des électrons rétro diffusés et des électrons secondaires émis par l'échantillon qui sont recueillis sélectivement par des détecteurs qui transmettent un signal à un écran cathodique dont le balayage est synchronisé avec le balayage de l'objet. La résolution spatiale dépend de l'énergie des rayonnements.

L'échantillon placé dans la chambre du microscope, reçoit un flux d'électrons très important [148]. L'examen microscopique a été réalisé à l'aide d'un microscope électronique à balayage (MEB) de marque JCOL JSM 6360 LV piloté par un micro-ordinateur qui permet un grossissement jusqu'à 2000 fois, ce qui donne une information sur le pourcentage atomique des éléments majeurs présents dans la poudre séchée de *Lemna gibba*.

#### 4.13. pH libre de la poudre séchée

Avant d'entamer l'étude de rétention du pesticide et du cadmium sur la biomasse séchée de *Lemna gibba*, nous avons procédé à la détermination des caractéristiques chimiques de la poudre.

Pour mesurer le pH de la poudre, une quantité de biomasse (2 g) introduite dans un 1 litre d'eau distillée. On laisse agiter une demi-heure. La mesure du pH du surnageant nous donne le pH de la biomasse [149].

#### 4.14. Tests de rétention par la plante *Lemna gibba* séchée et transformée en poudre

Dans cette partie, nous nous sommes intéressés à la rétention du cadmium et du méthyl-parathion sur la poudre de *Lemna gibba* prétraitée, selon le protocole expérimental indiqué au paragraphe 4.14.1.1. Dans un système fonctionnant en réacteur discontinu. L'effet des paramètres physico-chimiques régissant la biosorption, la cinétique et l'équilibre de biosorption a été étudié et développé.

##### 4.14.1. Essais de la rétention du cadmium et du méthyl-parathion en réacteur discontinu

###### 4.14.1.1. Etude cinétique

Les cinétiques sont réalisées en mettant en contact, par agitation continue, pendant des temps variables, dans différents flacons, des masses identiques de la poudre de *Lemna gibba* prétraitée avec un volume constant d'une solution du métal ou du pesticide de concentration connue. Les filtrations de ces suspensions à des instants différents permettent de séparer la phase solide de la phase liquide et de connaître, après dosage du métal et du pesticide, la concentration résiduelle de cet élément en solution. La cinétique exprime alors la concentration éliminée par le biomatériau ou la concentration résiduelle de l'élément ou encore le pourcentage de l'élément éliminé en fonction du temps.

Les cinétiques de rétention du cadmium ou du méthyl-parathion sur le biomatériau testés ont été réalisées en réacteur discontinu à une température ambiante ( $21 \pm 2$  °C) dans des flacons en verre sombre de 250 mL de capacité fermés avec du parafilm et contenant 100 ml d'eau distillée dopée à un niveau de concentration de (8 ppm à 48 ppm) pour le méthyl-parathion des concentrations de ( $10^{-3}$  ppm à 1ppm) de cadmium. La masse de la poudre est fixée à 0,1g.

Ces flacons sont placés sous agitation continue assurée par des agitateurs magnétiques à une vitesse constante de 250 tr. min<sup>-1</sup>. Au bout d'un intervalle de temps bien choisis variant de 0 à 5 heures, les échantillons sont immédiatement filtrés par du papier filtre de porosité ( $\Phi = 0,45$  µm) par gravitation.

L'analyse des différents contaminants est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre d'absorption atomique à flamme marque (MGE 600371 v<sub>1</sub>, 14) à une longueur d'onde appropriée  $\lambda = 288,8$  nm pour le cadmium. L'HPLC de marque (SHIMADZU type SPD - M10 AV) est utilisée pour l'analyse du méthyl-parathion à la longueur d'onde appropriée  $\lambda = 275$  nm.

#### 4.14.1.2. Isothermes de rétention

L'isotherme de rétention est un rapport d'équilibre entre la concentration dans la phase liquide et la concentration des particules fixées sur un support solide à une température fixée. Elle consiste en la mise en contact pendant le temps d'équilibre déterminé par la cinétique, dans différents flacons.

Les équilibres de rétention ont été effectués dans des flacons en verre sombre contenant 100 ml de solution contaminée dont les concentrations initiales de métal varient de  $10^{-3}$  ppm à 1ppm. Dans le cas du méthyl-parathion les concentrations initiales varient de 8 ppm à 48 ppm.

Ces flacons fermés sont maintenues sous agitation continue à 250 tr. min<sup>-1</sup> et à une température ambiante de  $(21 \pm 2^\circ\text{C})$  et un temps de contact moyen de 3 heures, le contenu est ensuite centrifugé puis filtré et les filtrats sont analysés dans les mêmes conditions soit par AAS pour le cadmium soit par HPLC pour le méthyl-parathion aux longueurs d'ondes maximales appropriées.

Pour l'ensemble des essais, les analyses sont réalisées avec deux répétitions et pour chaque paramètre des tubes témoins sans poudre ont servi de références.

Un calcul relativement simple permet d'obtenir les quantités de produit fixé. La quantité de produit fixé exprimée en mg de soluté par gramme de solide est donnée par la relation suivante:

$$Q_r = (C_0 - C_e) * V/m$$

Où :

$Q_r$  : Quantité de polluant par unité de masse de la plante en poudre (en mg.g<sup>-1</sup>).

$C_0$  : Concentration initiale du cadmium et du méthyl-parathion (mg.L<sup>-1</sup>).

$C_f$  : Concentrations résiduelles du cadmium et du méthyl-parathion à l'équilibre ( $\text{mg.L}^{-1}$ ).

$V$ : Volume de solution du cadmium et du méthyl-parathion (L).

$m$ : Masse de la poudre de *Lemna gibba* (g).

#### 4.14.1.3. Influence du pH

Afin de mettre en évidence l'influence du pH sur la rétention du cadmium et du méthyl-parathion, nous avons effectué des essais en ajustant la solution synthétique (cadmium et méthyl-parathion) avec une solution d'acide chlorhydrique (HCl 0,1N) ou par une solution de soude (NaOH 0,1N), le pH intermédiaire est obtenu sans ajout de soude ou d'acide chlorhydrique, il correspond au pH de la solution. Aux pH basiques, il a été montré, dans de nombreuses études, que la rétention est défavorisée [150]. Pour cette étude, nous limitons uniquement l'influence du pH en milieu acide et neutre. Nous maintenons constantes, la température ( $22 \pm 2$  °C) et la vitesse d'agitation.

#### 4.14.1.4. Influence de la concentration initiale

Pour étudier la faisabilité d'un procédé de traitement d'effluents du pesticide et /ou de cadmium, il est important de déterminer le comportement du biosorbant en fonction de la concentration initiale en méthyl-parathion et du cadmium.

En appliquant les modèles communément utilisés pour l'adsorption classique (modèle de Freundlich et Langmuir), nous pouvons tirer le rapport maximal: quantité de polluant / masse de biosorbant, c'est la capacité maximale exprimée en mg de méthyl-parathion et/ou du cadmium fixée / g de biosorbant.

Nous avons suivi l'évolution de cadmium et/ou du méthyl-parathion en fonction du temps pour des teneurs initiales suivantes:  $10^{-3}$  ppm,  $10^{-2}$  ppm,  $10^{-1}$  ppm, 1 ppm pour le cadmium et 8 ppm, 16 ppm, 32 ppm et 48 ppm pour le méthyl-parathion.

## CHAPITRE 5

### RESULTATS ET DISCUSSIONS

#### 5.1. Introduction

Dans ce chapitre, nous présentons les résultats expérimentaux relatifs aux tests de rétention du cadmium et du méthyl-parathion sur la plante aquatique *Lemna gibba* à l'état frais (phytoremédiation) et à l'état sec (biosorption). Nous présentons également la caractérisation de ce biomatériau. Une modélisation est réalisée dont les résultats sont mentionnés en dernière étape.

#### ❖ Analyse du méthyl-parathion

##### 1) Bandes maximale d'adsorption U.V

Afin de quantifier les teneurs du méthyl-parathion et des quantités retenues par la plante à son état frais et à son état sec, nous présentons dans un premier paragraphe, les résultats d'obtention de la longueur d'onde maximale du Mp par U.V visible.

Les figures 5.1 et 5.2 nous permettent d'identifier des bandes maximales respectives de 275,8 nm pour Mp dans le milieu de culture et de 277,5 nm pour le Mp dans l'eau distillée.

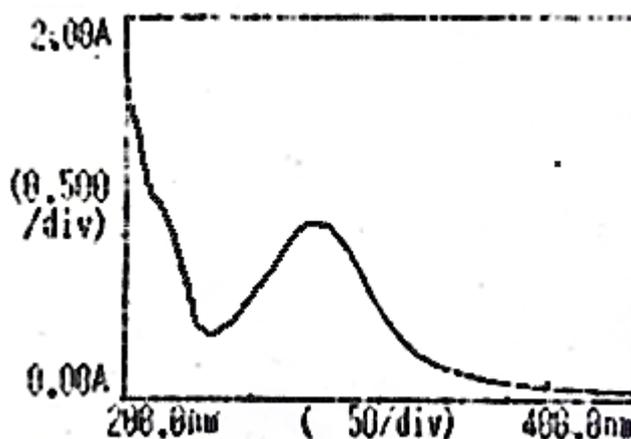


Figure 5.1: Spectre U.V du méthyl-parathion dans le milieu de culture.

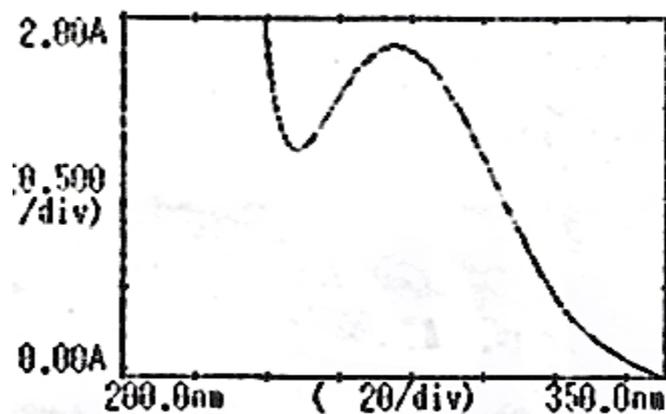


Figure 5.2: Spectre U.V du méthyl-parathion dans l'eau distillée.

## 2) Pics du Mp par Hplc

Les conditions d'analyse sont les suivantes : phase mobile Acétonitrile /eau : 50/50 V/V, débit :  $1\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , injection :  $20\mu\text{L}$  [140]. Nous avons constaté un maximum d'absorbance à 275,8 nm au bout d'un temps de rétention de 1,273 min pour le méthyl-parathion dans le milieu de culture. Un maximum d'absorbance est observé à 277,5 au bout d'un temps de rétention de 1,154 min. Nous avons effectué donc toutes les analyses de nos expériences à ces longueurs d'onde.

Les figures 5.3 et 5.4 présentent les chromatogrammes de pic de méthyl-parathion.

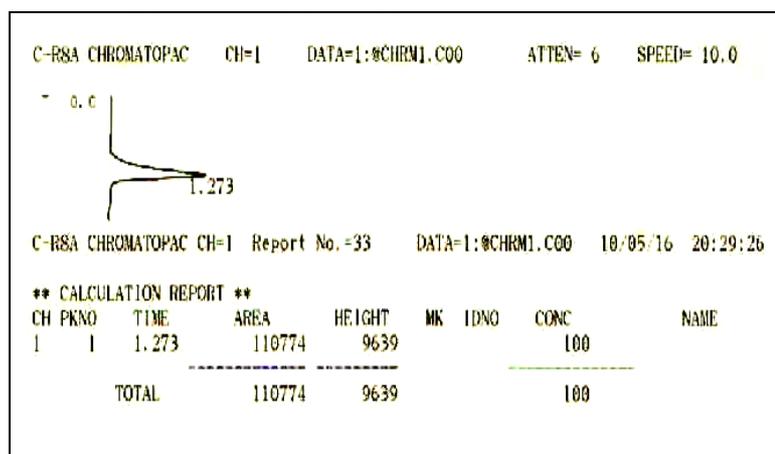


Figure 5.3 : Pic de la méthyl-parathion dans le milieu de culture à 275,8 nm.

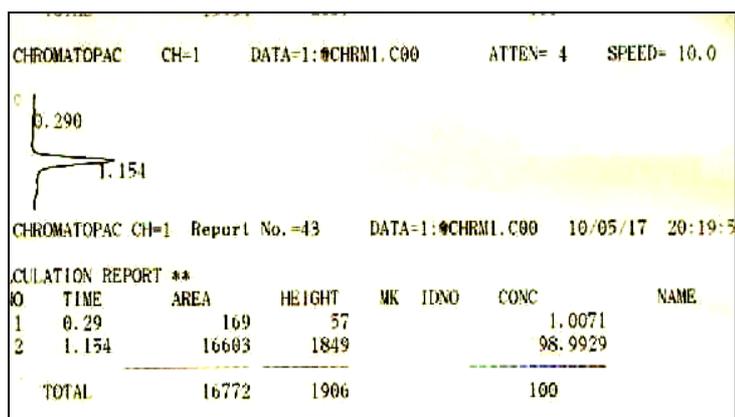


Figure 5.4 : Pic de méthyle-parathion dans l'eau distillée à 277,5 nm.

## 5.2. Etablissement de la courbe d'étalonnage

Une série des solutions étalons de 5 à 50 mg.L<sup>-1</sup> a été préparée par dilutions successives de méthyl-parathion pure dans le milieu de culture pour la plante fraîche et dans l'eau distillée pour la poudre séchée de *Lemna gibba* qui sont analysées par HPLC pour déterminer le domaine de linéarité de l'absorbance. Nous avons constaté, d'après les résultats d'analyse, que le maximum du domaine de linéarité est atteint à une valeur de 50 mg.L<sup>-1</sup>. Nous avons donc choisi la gamme de concentrations constituées de quatre points entre 8 à 48 mg.L<sup>-1</sup> par intervalle de 8 entre deux concentrations successives (solutions filles).

Les résultats de l'analyse des solutions nous ont permis de tracer les courbes d'étalonnage représenté par les figures 5.5 et 5.6.

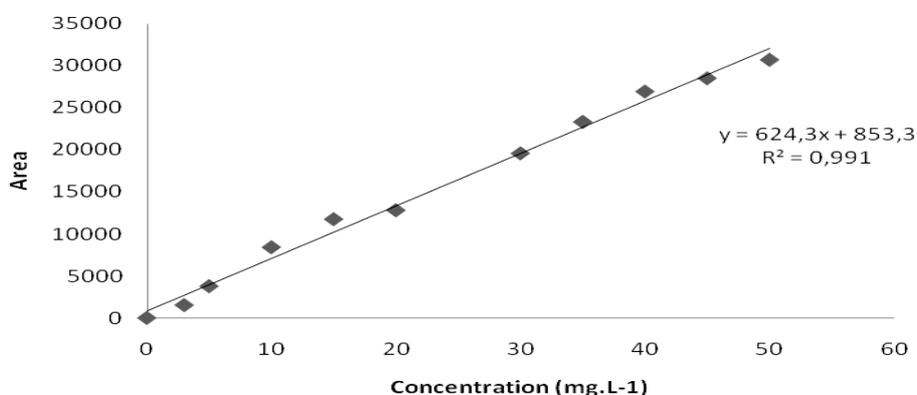


Figure 5.5 : Courbe d'étalonnage pour la plante *Lemna gibba* fraîche

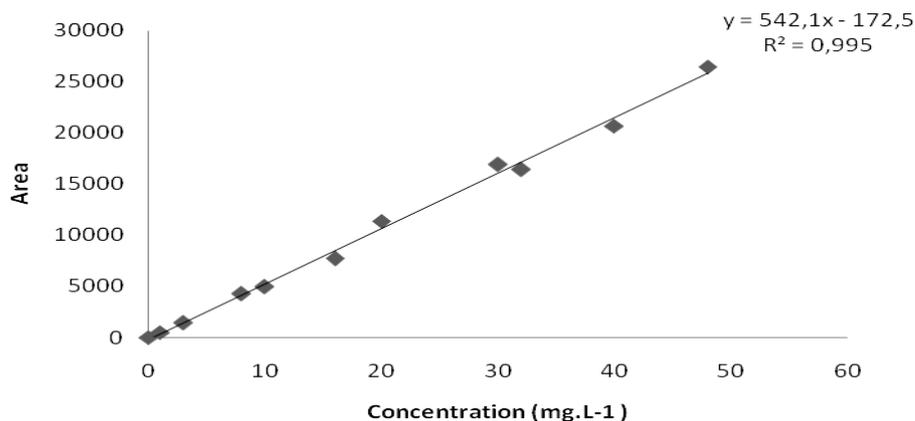


Figure 5.6: Courbe d'étalonnage pour la poudre séchée de plante *Lemna gibba*.

### 5.3. Tests de rétention du cadmium et du méthyl-parathion sur la plante *Lemna gibba* fraîche

### 5.4. Etudes des cinétiques des taux de croissance de *Lemna gibba* en absence et en présence du cadmium ou du méthyl-parathion

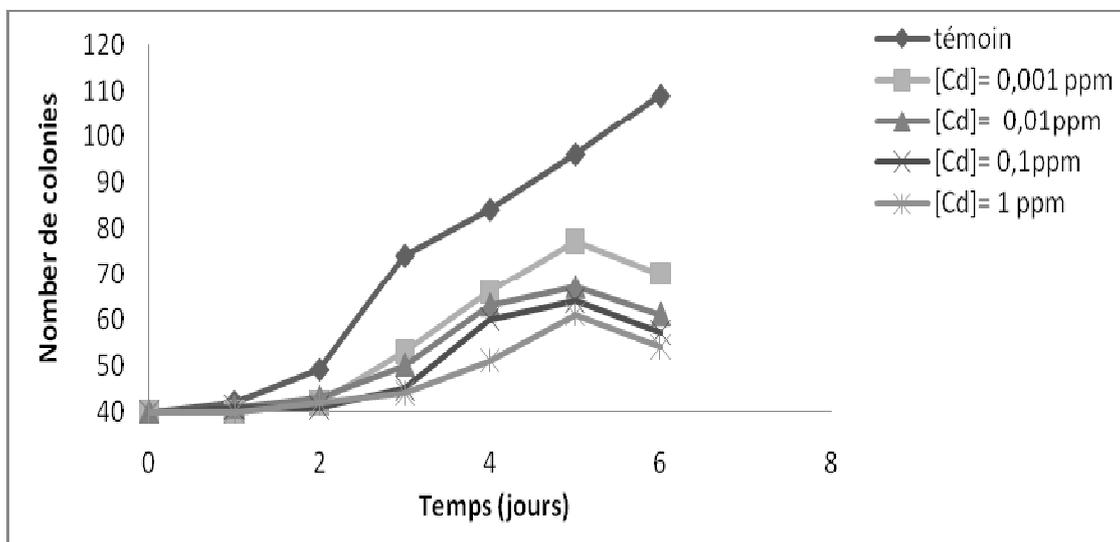


Figure 5.7 : Cinétique de croissance du nombre de frondes de *Lemna gibba* en présence et en absence du cadmium dans les milieux de culture.

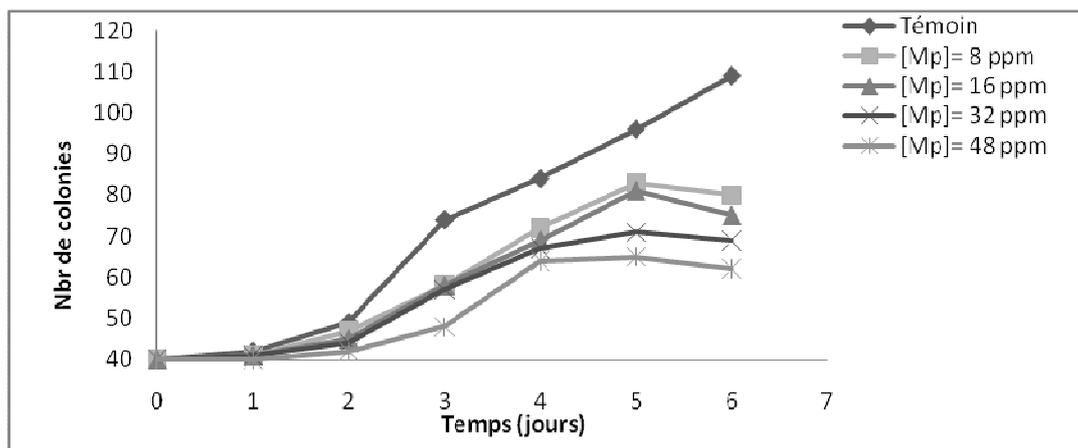


Figure 5.8 : Cinétique de croissance du nombre de frondes de *Lemna gibba* en présence et en absence du méthyl-parathion dans les milieux de culture.

Les représentations schématiques des évolutions des nombres de frondes (figures 5.7 et 5.8) montrent un accroissement qui apparaît continu dans le témoin et se voit ralentir en présence soit de Cd soit du Mp. Le ralentissement de la croissance ce apparaît à partir du 5<sup>ème</sup> jour et il est très prononcé. Pour les concentrations les plus élevées de Cd ou du Mp. En effet, aux concentrations de 1ppm de Cd et de 48 ppm de Mp le nombre de frondes atteint respectivement juste 108 et 142 alors que dans le témoin il est égale à 218.

En effet, les taux d'inhibition atteignent au 6<sup>ème</sup> jour de test de rétention (phytoremédiation) 35,78% à  $10^{-3}$  ppm de  $Cd^{2+}$  et 50,46% à 1 ppm de  $Cd^{2+}$ .

Un même résultat est déduit dans le cas de méthyl-parathion mais avec des taux d'inhibition inférieure comparant avec le cadmium ils sont de l'ordre de 26,60% pour 8 ppm de Mp et 43,11% pour 48 ppm de Mp.

Nous précisons que la détermination de la croissance en fonction des différentes concentrations de Cd et de Mp est réalisée afin de montrer que dans les conditions de contamination ou de non contamination le support végétal demeure vivant à environ 50% dans le cas du méthyl-parathion et à 60% dans le cas de cadmium.

En effet, la phytoremédiation n'a lieu et ne peut être considérée réalisable que sur une biomasse vivante.

L'évolution de la masse (exprimée en poids frais) de la biomasse est déterminée pour tous les concentrations de Cd et du Mp. Les résultats relatifs à ces masses sont représentés dans les tableaux donnés en (Appendice D).

### 5.5. Cinétique de rétention du cadmium et du méthyl-parathion sur *Lemna gibba*

Les variations des concentrations en cadmium et du méthyl-parathion dans les milieux de culture contaminé ainsi que les quantités retenues correspondantes, exprimés en pourcentage sont représentées par les figures 5.9 et 5.10.

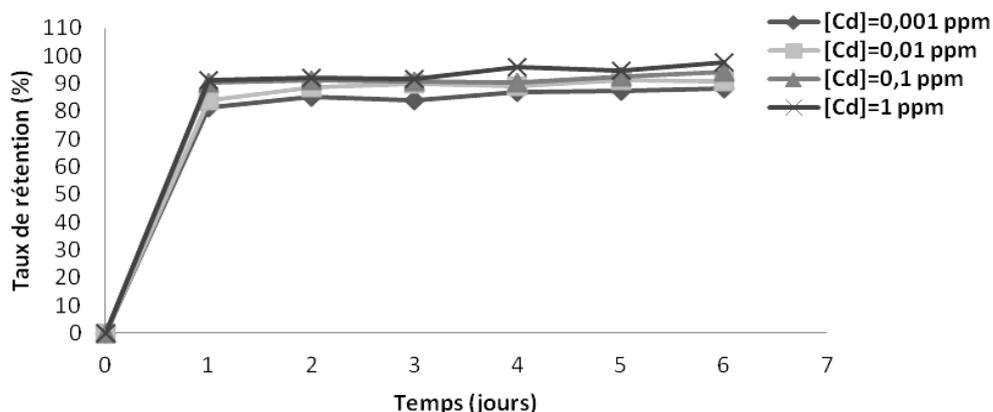


Figure 5.9 : cinétiques de rétention du cadmium à différentes concentrations sur la plante *Lemna gibba*.

Les analyses des concentrations du métal ou du pesticide dans les solutions d'essais sont effectuées par absorption atomique (SAA) et par chromatographie Liquide de Haute performance (CLHP) respectivement. Les quantités du métal et du pesticide retenues sont déterminées selon la formule de Jengendal et *al.*, (paragraphe 4.9.4) [151].

De la figure 5.9 nous notons une augmentation rapide du taux de rétention du cadmium qui atteint un palier compris entre 90% et 95% au bout de 01 jour d'expérimentation.

Cette constatation fait apparaître le temps d'équilibre de fixation du cadmium sur le végétal et qui peut être considéré égal à 01 jour.

Les quantités retenues au premier jour sont égales respectivement à 87,% et 91% pour 0,001 et 1 ppm respectivement semblent demeurer constantes au jour 3<sup>ème</sup>,

4<sup>ème</sup>, 5<sup>ème</sup> et 6<sup>ème</sup> en effet elles n'atteignent 90, 3% et 93,3% respectivement pour les même concentrations au 4<sup>ème</sup> jour.

Les cinétiques de rétention du méthyl-parathion (figure 5.10) sur *Lemna gibba* différent de celles observées dans le cas du cadmium.

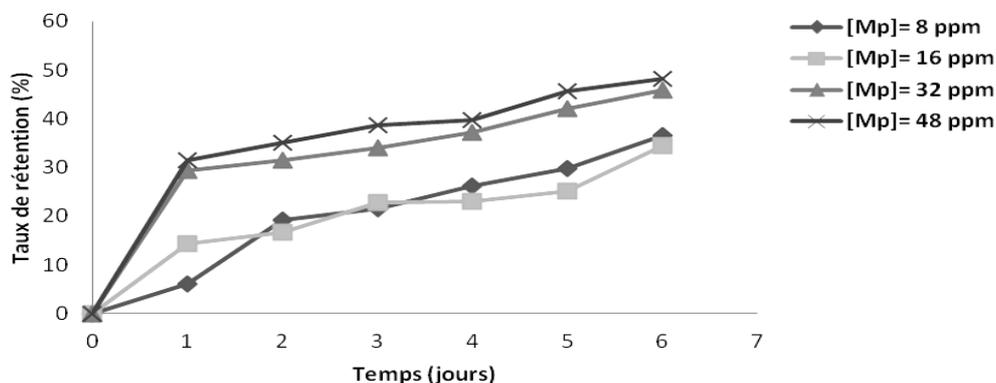


Figure 5.10 : Cinétique de rétention du méthyl-parathion sur *Lemna gibba* à différentes concentrations

Selon les travaux de Taylor et *al.*, il a été démontré que la quantité de cations métalliques fixés par la plante dépend essentiellement de la taille et de la forme de la cellule ou encore d'une espèce à une autre [152].

Carballeire et *al.*, ont montrés que les sites de fixation des métaux sur la paroi cellulaire semblent être dépendants du pH du milieu, de la concentration du métal et de l'affinité relative de chaque élément avec la cellule végétale [153].

Une légère augmentation du pourcentage de Mp retenu est notée pour les jours entre 4 et 5. En effet, ces taux de rétention passent de : 26,25%, 23,06%, 37,25 % et 39,75 % (jour =4) pour 8 ppm, 16 ppm, 32 ppm et 48 ppm respectivement alors pour le 5<sup>ème</sup> jour les taux enregistrée pour les même concentrations sont respectivement : 29,87%, 25,18%, 42,12% et 45,68 % respectivement mais le taux maximale atteint au (06) jour par exemple 48,12% pour 48 ppm de Mp.

La rétention du Mp ne se voit pas dépasser 50% au 6<sup>ème</sup> jour d'expérimentation.

Ceci peut encore confirmer l'hypothèse d'une toxicité élevée du cadmium comparativement à celle du Mp qui peut être accède difficilement les parois cellulaires du fait de la composition biochimique du milieu cellulaire.

Il ressort que la phytoremédiation de la *Lemna gibba* est plus élevée vis-à-vis du cadmium que du méthyl-parathion, ce qui peut être expliqué par la forte affinité de chélation de la phytochélatine (PC) avec les ions  $\text{Cd}^{2+}$  par rapport aux Mp

La complexité des processus d'accumulation des contaminants chez les plantes aquatiques en particulier, le degré d'assimilation ainsi que le degré de rétention varient d'une espèce à une autre selon la paroi cellulaire [154] et dépendent des propriétés biochimiques de chaque élément [154,155].

#### 5.6. Evolution de concentration du cadmium dans le tissu de la plante

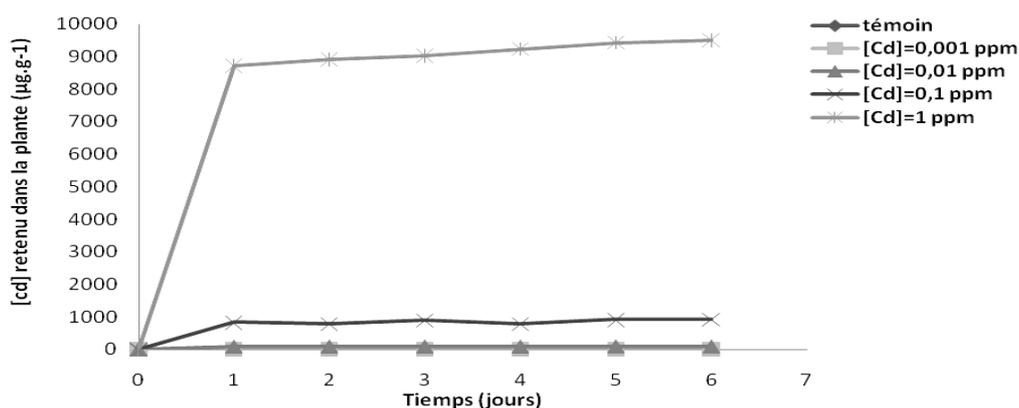


Figure 5.11 : Variation des concentrations du cadmium retenue dans le tissu de la plante *Lemna gibba* en fonction du temps.

Les résultats de la figure 5.11 montrent que les quantités de cadmium sont d'autant plus grandes que les concentrations initiales sont élevées. En effet les quantités retenues pour 1 ppm sont de l'ordre de  $9000 \mu\text{g.g}^{-1}$  de poids sec alors que pour les concentrations initiales égales à  $10^{-3}$  et  $10^{-2}$  ppm aucune rétention n'est déterminée.

Des quantités retenues sont également observées pour une concentration initiale de cadmium égale à 0.1 ppm. Cette observation permet de conclure que la fixation de Cd sur *Lemna gibba* dépend de la contamination initiale du milieu.

Dans le cas de contaminations avec les concentrations  $10^{-1}$  et 1 ppm un équilibre est apparent au bout de 01 jour d'exposition.

Cette accumulation serait expliquée par L'interaction du cadmium avec des processus vitaux comme les réactions redox dans les mitochondries et les chloroplastes [145].

- D'après Jain et *al.*, chez *Lemna minor* peuvent être accumulés environ 5230  $\mu\text{g. g}^{-1}$  après un traitement de 10 jours avec 8 ppm de Cu [145].
- Ater et *al.*, montrent que pour une concentration de 5 ppm du Cr *Lemna gibba* accumulent des teneurs de l'ordre de 1340 et 1060  $\mu\text{g Cr g}^{-1}$ , alors que pour un même traitement du cuivre, elles ne retiennent que 800 et 745  $\mu\text{g Cu g}^{-1}$  respectivement [145].
- Ainsi d'après Qian et *al.*, d'autres espèces de macrophytes montrent un potentiel d'accumulation nettement inférieur à celui des lentilles d'eau à titre exemple *Polygonum hydropiperoides* accumule une teneur maximale égale à 95  $\mu\text{g Cu g}^{-1}$ , après 10 jours d'exposition à 1 ppm de Cu [145].

Pour cette étude d'accumulation nous nous sommes proposé de déterminer également les facteurs de bioaccumulation.

### 5.7. Facteur de bioaccumulation du cadmium

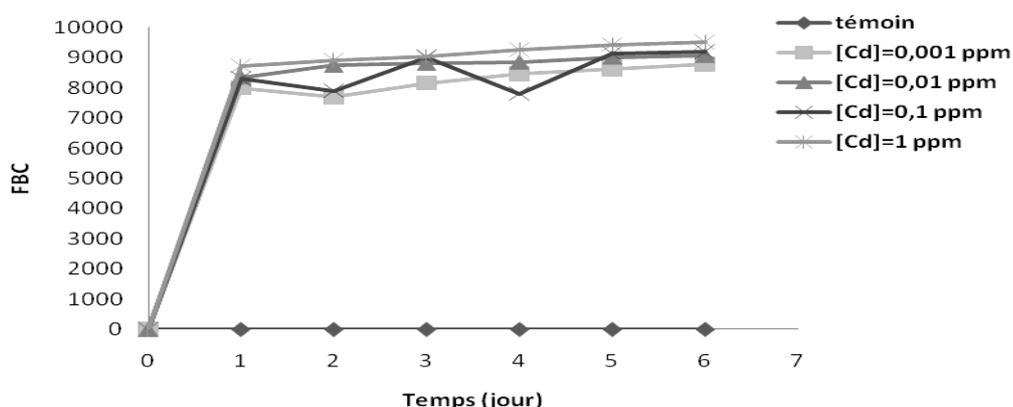


Figure 5.12 : Variation du facteur de bioaccumulation du cadmium en fonction du temps.

\*FBC : Facteur de bioaccumulation

Le FBC obtenu varie de 8460 à 8860 pour des concentrations de  $10^{-3}$  et  $10^{-2}$  ppm et de 7810 à 9240 pour de  $10^{-1}$  et 1 ppm respectivement pour une exposition de 04 jours. Pour cette accumulation atteint 9510 au 6<sup>ème</sup> jour pour une concentration de Cd égale à 1ppm.

On peut même déduire qu'un optimum de quantités de cadmium retenue exprimée en FBC est atteint dès le 1<sup>ère</sup> jour et ce pour tous les cas de concentrations initiales en Cd.

Nous notons que les évolutions schématiques de FBC (figure 5.12) sont similaires à celles représentées en (figure 5.9). Les variations des taux de rétention de Cd exprimés en(%) sont effet semblables aux variations du FBC.

Cette dernière constatation démontre une similitude entre la quantité de Cd extraite de la solution et celle retenue par la plante. Ceci peut confirmer que la quantité de cadmium éliminée de la solution est retenue au niveau de la plante ce qui minimise dans ces cas les phénomènes de précipitation.

Dans ce contexte, Zayed et *al.*, ont trouvé que le FBC relatif au Cu est compris entre 200 - 800 chez *Lemna minor* [145], alors que pour Jain et *al.*, le facteur de bioaccumulation varie entre 696 et 1655 pour le même métal.

Ces résultats confirment que *Lemna gibba* peut être considérée comme un bon accumulateur de métaux comparativement aux autres espèces de macrophytes, telles que, *Eichhornia*, *Polgonumhydropiperoides*, *Typha spp*, et *Spartinaspp*[145].

La toxicité d'un métal vis-à-vis des organismes, est généralement la conséquence de: l'accumulation (comprenant à la fois l'adsorption et l'assimilation) le premier phénomène s'exprime par la fixation du métal sur les parois des membranes cellulaires (polysaccharide, peptidoglycane, etc..) alors que le second fait intervenir des protéines facilitant le transport membranaire [156] et la modification de l'activité photosynthétique, de la mobilité ou de la croissance l'interaction des métaux traces avec les organismes aquatiques peut être décrite en trois étapes principales :

1. L'advection ou la diffusion du métal vers la surface de la membrane cellulaire,
2. La complexation u métal au niveau de sites à la surface des membranes,
3. Le transport du métal de la surface de la cellule à l'intérieur de l'organisme [156].

### 5.8. Evolution du pH après les tests de rétention (phytoremédiation)

Les résultats relatifs à l'évolution du pH des milieux de cultures témoins et contaminée par le cadmium et du le méthyl-parathion sont représentées par les figures 5.13 et 5.14.

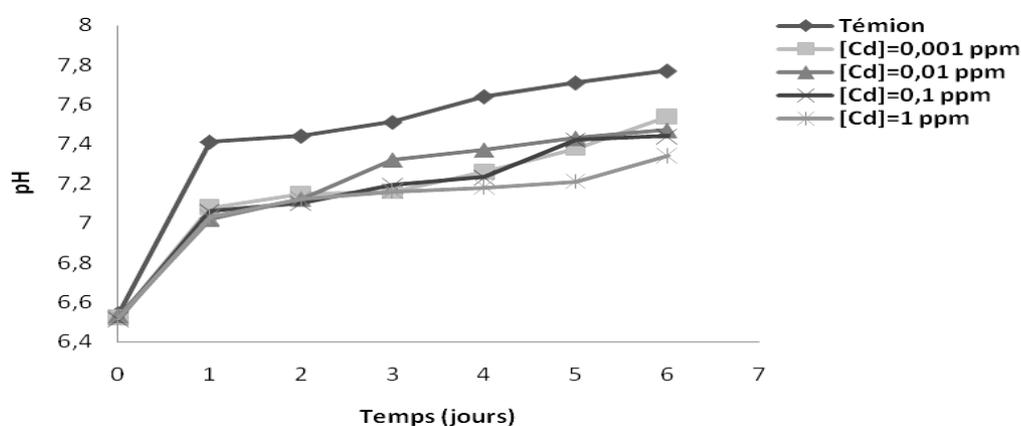


Figure 5.13 : Evolution du pH des milieux de cultures contaminées par différents concentrations du cadmium après le test de rétention en fonction du temps.

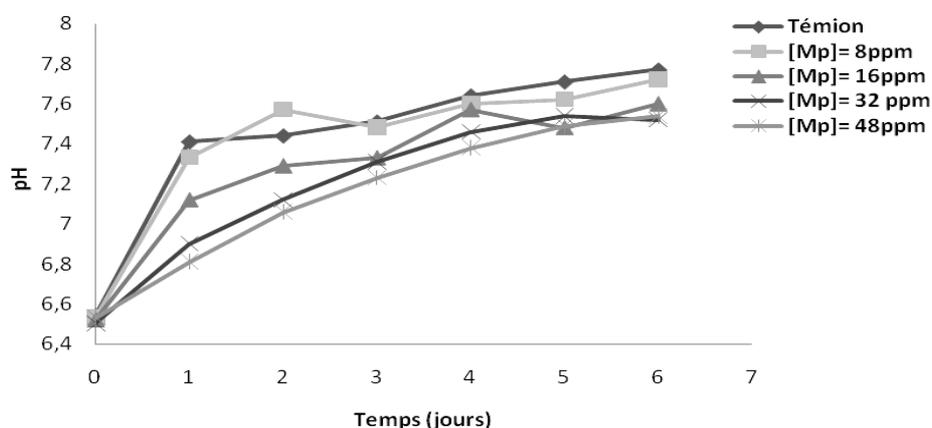


Figure 5.14 : Evolution du pH des milieux de cultures contaminées par différents concentrations du méthyl-parathion après le test de rétention en fonction du temps.

La plus part des plantes ont donc une croissance optimale lorsque le pH de milieu est de  $(6 \pm 0,5)$  car la majorité des éléments nutritifs sont assimilables dans cette zone [162].

Une augmentation du pH entre le 1<sup>ère</sup> et le 6<sup>ème</sup> jour après les tests de rétention (phytoremédiation) cette augmentation est observée pourrait correspondre à la réduction de  $NO_2^-$  en  $NH_3$  en libérant des  $OH^-$ , aussi l'activité photosynthétique «les métabolisme» des plantes aquatique provoque une augmentation du pH [157], nous remarquons pour les concentrations  $10^{-3}$  et 1 ppm du cadmium le pH au 6<sup>ème</sup> jour est de l'ordre 7,54 et 7,34 respectivement contrairement au milieu contaminée par le méthyl-parathion à des concentrations de 8 et 16 ppm les pH marquée est 7,72 et 7,60. Néanmoins le pH obtenu dans le milieu témoin sont caractérisé par une alcalinité est de 7,97.

#### 5.9. Prétraitement de la poudre séchée de *Lemna gibba*

La performance d'un procédé de dépollution est évaluée par le bilan de la quantité d'eau dépolluée par rapport à la quantité d'eau ayant servi à la préparation du biosorbant.

Une fois la phase de lavage achevée, le biosorbant est pré séchés à une température de 65 °C puis stockés avant utilisation. Cette température ne modifie pas sa structure. Il est à noter que plusieurs modes de séchage de biomasse ont été utilisés par divers auteurs séchage à l'air [158], séchage à la chaleur [159], séchage sous-vide [160] ainsi que la lyophilisation [161].

Cependant, le séchage à la chaleur est le plus communément cité par plusieurs auteurs [159,160] et est généralement réalisé sous une température située entre 50°C et 80°C.

Au cours des travaux antérieurs sur la biosorption des polluants certains auteurs ont utilisé des biomasses natives sans aucune transformation; d'autres auteurs ont préconisé le traitement de la biomasse avant utilisation, car ce dernier améliore sa capacité d'adsorption. Le procédé de traitement change d'une étude à une autre selon la nature des biomasses utilisées.

Le traitement chimique consiste à mettre les biosorbant en contact avec des solutions acides ou basiques. Selon le matériau, ces traitements peuvent soit libérer

certaines sites d'adsorption, préalablement obstrués par des cations échangeables se trouvant au niveau de la surface utile soit favoriser l'élimination, la création ou le renforcement de certaines fonctions de surface [156].

Pour ce faire, nous présentons en premier lieu une caractérisation par Spectroscopie Infra-rouge (IRTF) de la poudre obtenue par séchage de *Lemna gibba*

## 5.10. Caractérisation structurales de la poudre séchée de la *Lemna gibba*

### 5.10.1. Analyse par l'infrarouge (IRTF)

La présence des différents groupements sur la biomasse de la poudre *Lemna gibba* brute et traitée peut être confirmée par l'analyse (IRTF). Les spectres infrarouges obtenus sont présentés sur la figure 5.15.

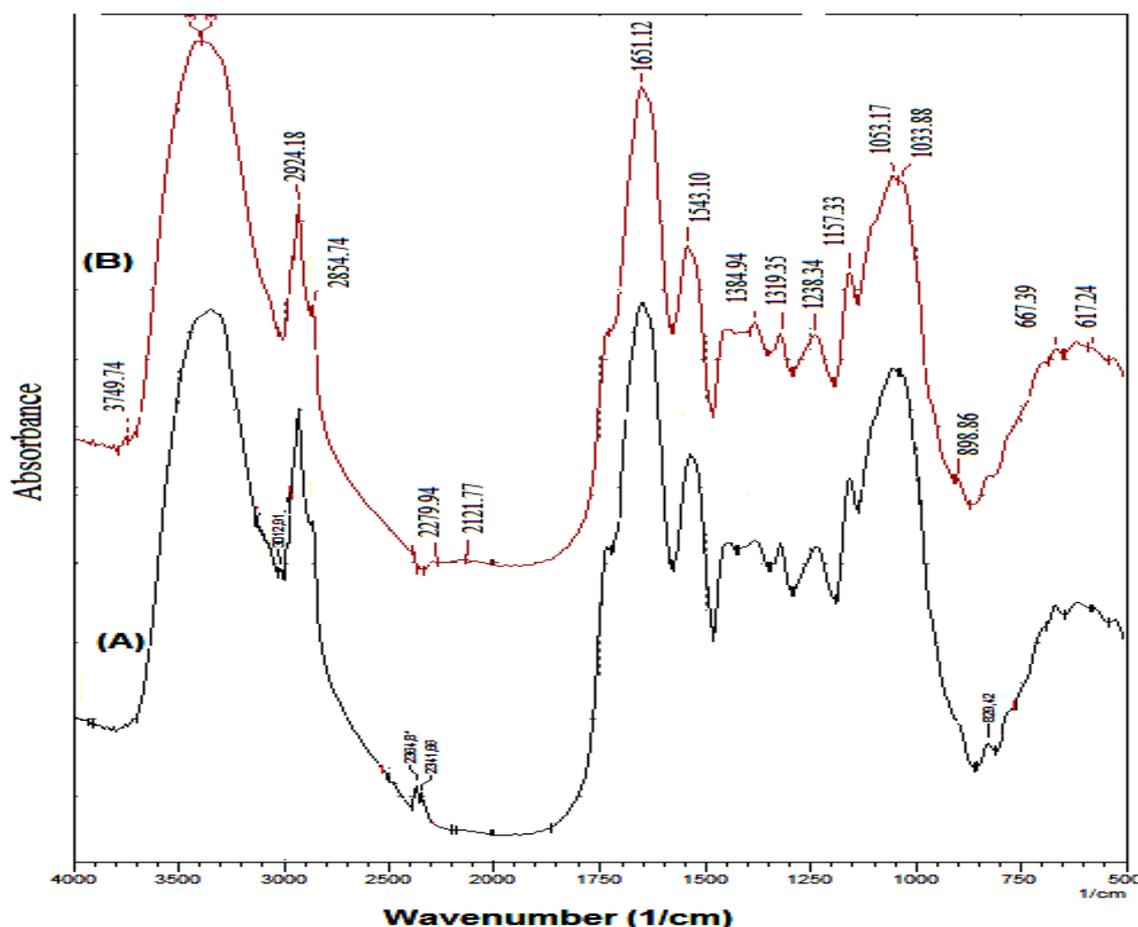


Figure 5.15 : Spectres IRTF de : (A) poudre séchée de *Lemna gibba* avant le traitement chimique ; (B) poudre séchée de *Lemna gibba* après le traitement chimique

- Tous ces spectres font apparaître des bandes d'absorption qui se présentent comme suit : Les bandes d'absorption caractéristiques des groupements hydroxyles et amines sont identifiées à 3402,54, 3340,82, 3012,91, 2854,74 et 2924,18  $\text{cm}^{-1}$  correspondant aux vibrations valence de OH, NH et de  $\text{CH}_2$  [162].
- La bande 2364,81  $\text{cm}^{-1}$  correspond aux groupements  $\text{NH}_2$ .
- Le groupement C=O provenant soit de la protonation des groupements carboxyliques ou des groupements esters est caractérisé par le nombre d'onde 1732  $\text{cm}^{-1}$  [163].
- Les bandes qui apparaissent dans la région 1630-1650  $\text{cm}^{-1}$  sont attribuées à  $>\text{C}=\text{N}$ .
- 1450-1412  $\text{cm}^{-1}$  correspondent aux déformations du C-H, du groupement phénolique et des carboxylates [162].
- la bande 1238,34 et 1319,35  $\text{cm}^{-1}$  est la vibration de l'acide carboxylique.
- 1157,33  $\text{cm}^{-1}$  est la vibration de C-O-C et O-H des polysaccharides.
- Les bandes  $< 800 \text{ cm}^{-1}$ , peuvent être attribuées aux groupements fonctionnels de phosphates et de sulfure [163].

Ces groupements fonctionnels ont été observés pour les deux fractions de biomasse (avant et après le traitement) avec néanmoins des différences en ce qui concerne l'absorbance ou la transmittance relative aux groupements présents sur la surface de la biomasse. Bien qu'on ait observé de légers changements sur certaines fréquences d'absorption, Il est difficile de proposer une interprétation précise de ces modifications mineures qui probablement sont dues aux groupements carboxyliques (Tableau 5.3) dont les niveaux de protonation/estérification peuvent être modifiés par le traitement acide.

Ces résultats prouvent que la biomasse brute et la biomasse traitée contiennent une série de groupements fonctionnels qui peuvent se manifester séparément ou simultanément pendant le processus de biosorption et ce suivant la nature de l'adsorbant et les conditions opératoires.

Tableau 5.1 :Fonctions de surface de la poudre de *Lemna gibba* avant et après le traitement chimique [164].

Nombre d'ondes en $\text{cm}^{-1}$	Domaine spectral en $\text{cm}^{-1}$	Groupements	Identification probable
3340,82 (A) 3012,91 (A) 3402,54 (B) 3387,11 (B)	[3200 – 3600]	Hydroxyde OH Amines NH	- OH (alcool et phénol) - NH (Amines I <sup>aire</sup> )
2924,18 (B) 2854,74 (A et B)	[2800 – 3200]	Groupement -CH	-CH (alcane)
2364,81 (A) 2341,66 (A)	[2120 – 2260]	C≡N, C=N, -N=C=O et N=C=S	-NH <sub>2</sub>
1732,13 (A)	[1700 – 1750]	Groupement -CO	-NH-C=O (fonction amide) -C=O (cétone) -COOH (acide carboxylique)
1651,12 (A et B)	[1550 – 1650]	Amines II <sup>aire</sup>	-NH (Amines II <sup>aire</sup> )
1535,39 (A) 1543,10 (B)	[1515 – 1650]	N-H	-Amide (I <sup>aire</sup> et II <sup>aire</sup> )
1450,52 (A)	[1400 – 1500]	Groupement CH(Alcane)	-CH <sub>3</sub> (Groupement méthyle)
1319,35 (A) 1238,34 (A et B)	[1250 – 1340]	C≡N	R-NH <sub>2</sub> (Amine I <sup>aire</sup> )
1157,33 (a et b)	[1140 – 1230]	C-OH	(phénol)
1033,88 (A et B) 1053,17 (A et B)	[1010 – 1075]	C-OH P-O-C	R-CHN <sub>2</sub> OH (OH I <sup>aire</sup> ) O □ □ R-C-O-P-O-C-R' □ OH
829,42 (A) 898,86 (B)	[700 – 1200]	Groupement alcane	C-C
524,66 (A) 528,51 (B) 578,66 (A) 582,52 (b)	[440 – 590]	O-P-O S-S	O □ □ R-C-O-P-O-C-R' □ OH

(A) : poudre séchée de *Lemna gibba* avant le traitement chimique ;

(B) : poudre séchée de *Lemna gibba* après le traitement.

### 5.10.2. Identification de la bioaccumulation par (IRTF) du méthyl-parathion et du cadmium par la plante *Lemna gibba* fraiche par infrarouge

La figure 5.16 et 5.17 montre les spectres IRTF superposés des échantillons de différentes concentrations de méthyl-parathion et du cadmium retenu par la plante *Lemna gibba* fraiche respectivement.

Globalement, l'analyse des spectres de la plante *Lemna gibba* fraiche après le test de rétention du méthyl-parathion ou du cadmium montre une augmentation de l'intensité des groupements fonctionnels sur la bande  $2360,24\text{cm}^{-1}$ , L'intensité de ce pic augmentation au fur et à mesure que la concentration du méthyl-parathion augmenté ce qui explique clairement l'accumulation sur la plante.

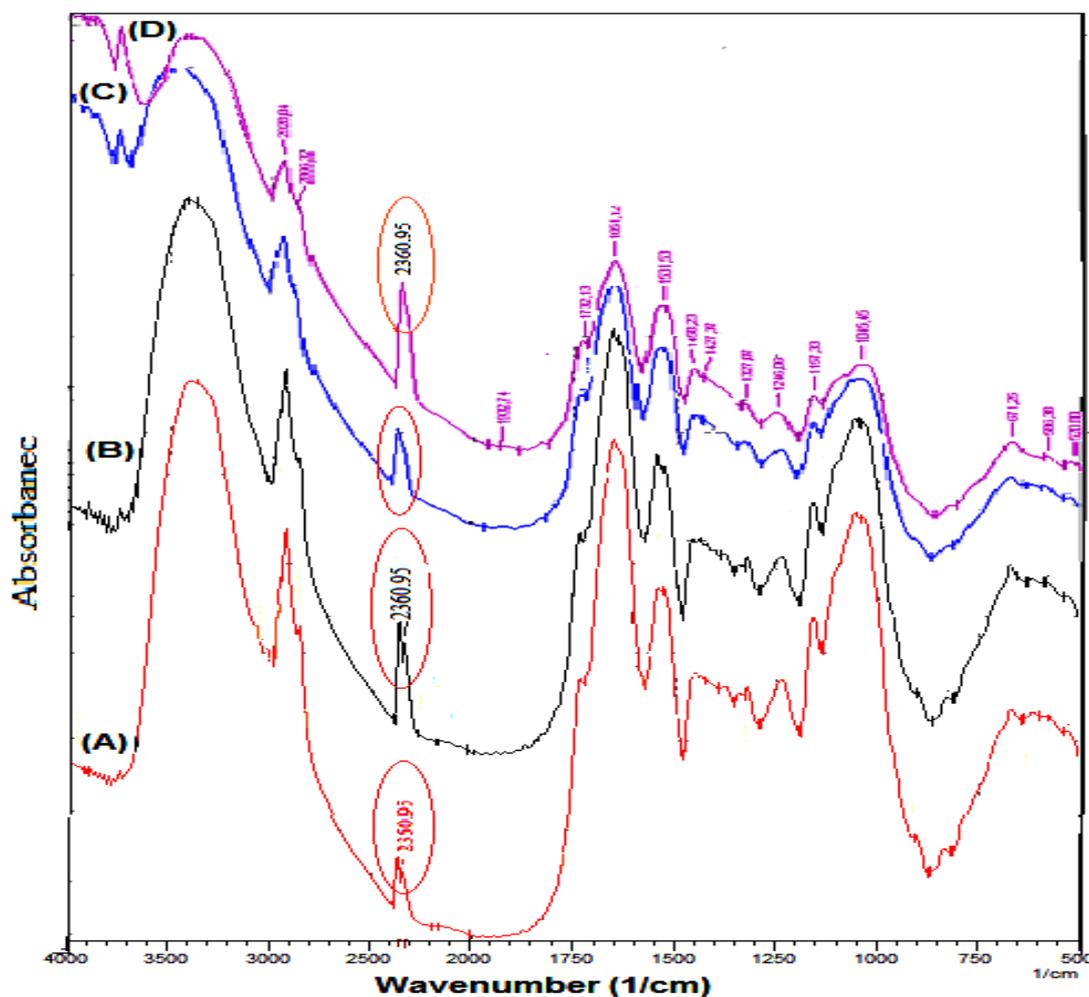


Figure 5.16 : Identification de la bioaccumulation du méthyl-parathion par la plante *Lemna gibba* fraiche: (A): [Mp]= 8ppm; (B): [Mp]=16ppm; (C): [Mp]=32ppm; (D): [Mp]=48ppm.

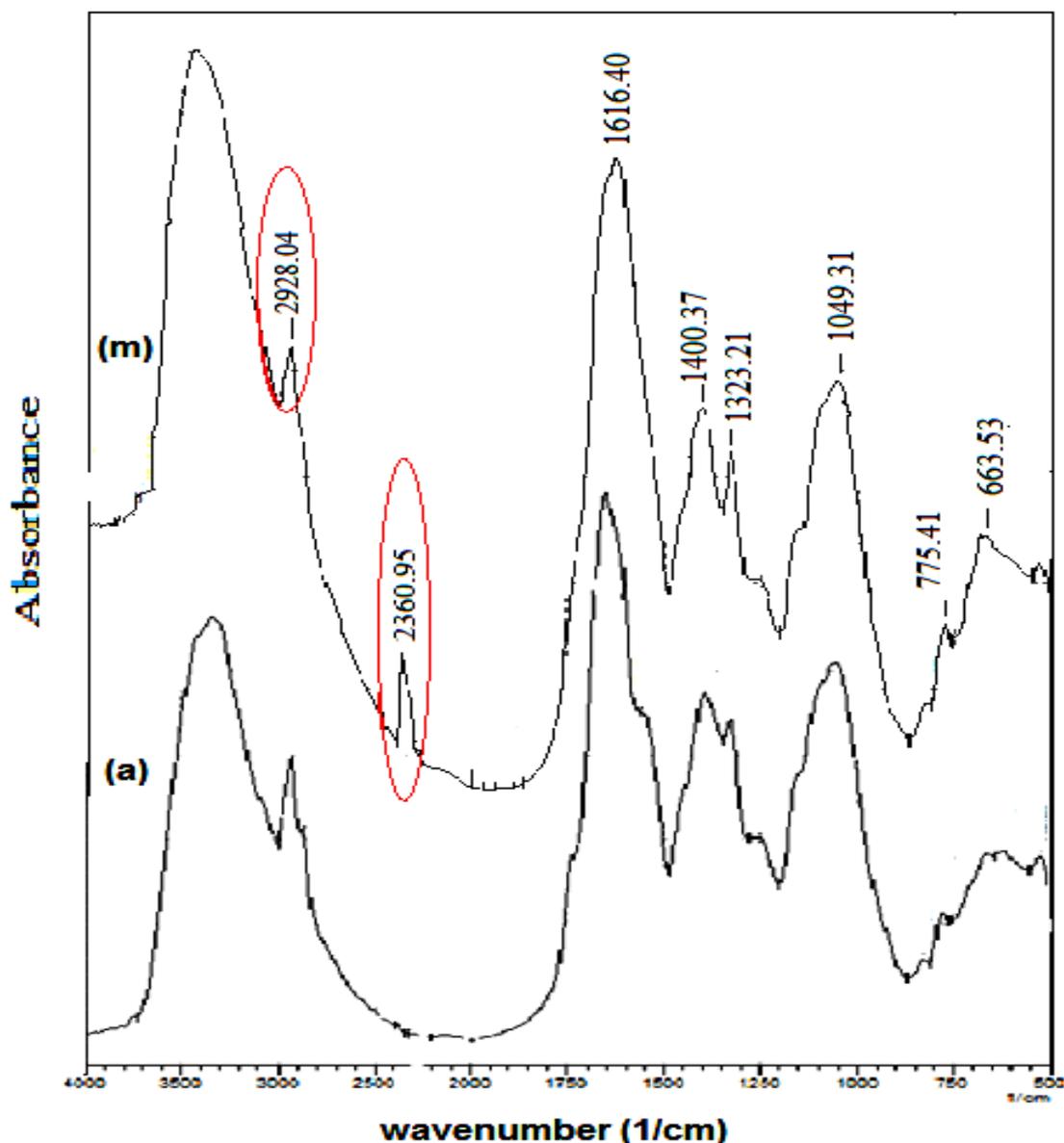


Figure 5.17 : Identification de la bioaccumulation du cadmium par la plante *Lemna gibba* fraiche.

(a) : La plante avant la rétention du cadmium.

(m) : La plante après la rétention du cadmium.

### 5.10.3. Les spectres infrarouges de la bioaccumulation du méthyl-parathion sur la poudre après séchage de la plante *Lemna gibba*

La figure 5.18 montre les spectres IRTF superposés échantillons de différentes concentrations de méthyl-parathion retenu par la poudre de la plante séchée. Globalement, l'analyse des spectres de la plante *Lemna gibba* après le test de rétention du méthyl-parathion montre une augmentation de l'intensité de pic à  $2360,24\text{cm}^{-1}$ . L'intensité de ce pic augmente au fur et à mesure que la

concentration du méthyl-parathion augmenté ce qui explique clairement l'accumulation.

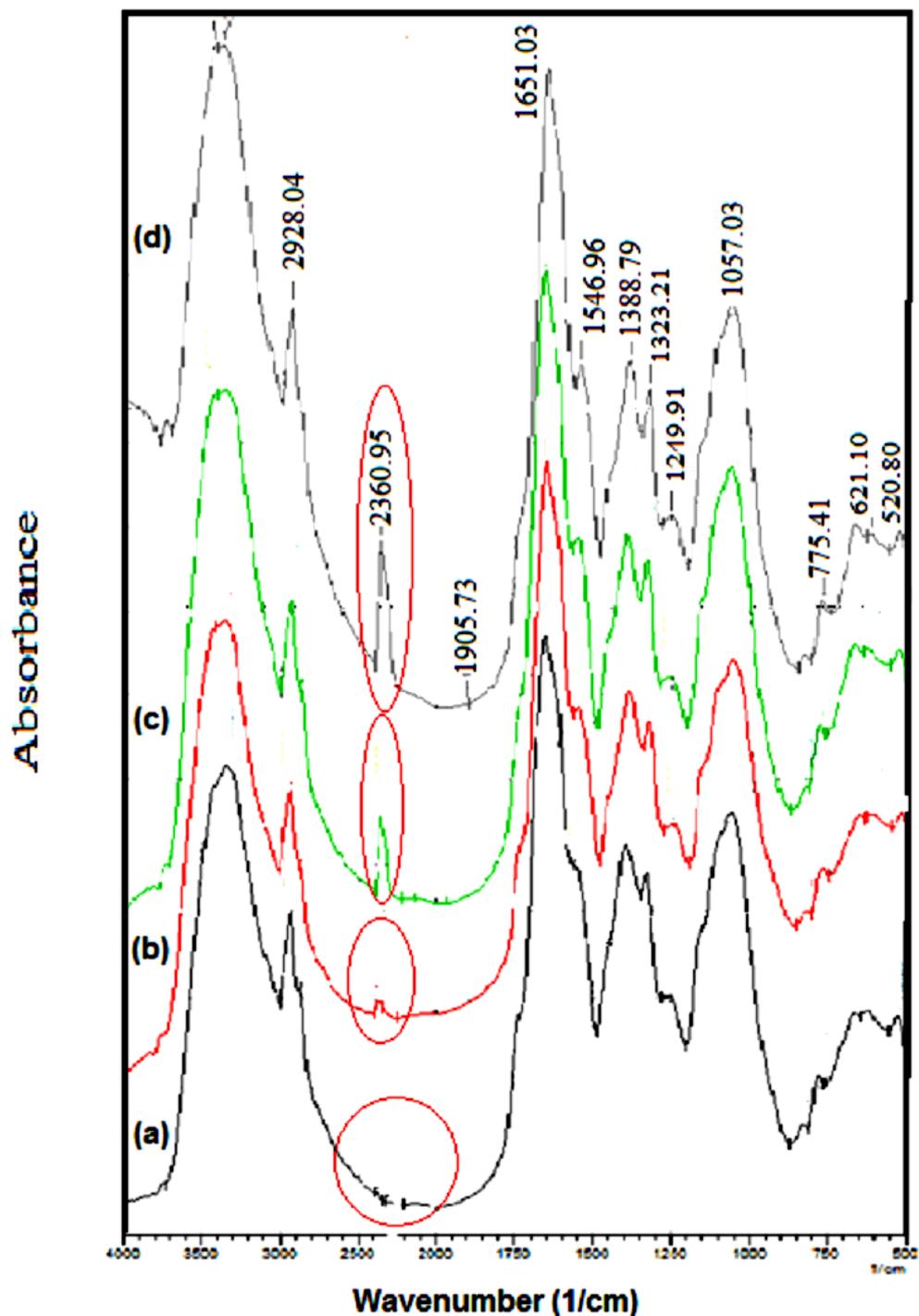


Figure 5.18 : Identification de la bioaccumulation du méthyl-parathion par la poudre séchée de *Lemna gibba* : (a): [Mp]=8ppm; (b): [Mp]=16ppm; (c): [Mp]=32ppm; (d): [Mp]=48ppm.

#### 5.10.4 Analyse par la microscopie électronique à balayage de la poudre séchée de *Lemna gibba*

L'analyse des échantillons représentant les biomasses de la poudre obtenue suite au séchage de *Lemna gibba* avant et après traitement chimique ainsi que après le test de biosorption du méthyl-parathion, nous permet d'observer la morphologie des particules biosorbant qui sont illustrée par les figures 5.19, 5.20 et 5.21. Le micrographe de la poudre de *Lemna gibba* brute présentés dans la figure 5.19 montre un aspect régulier sous forme des baguettes.

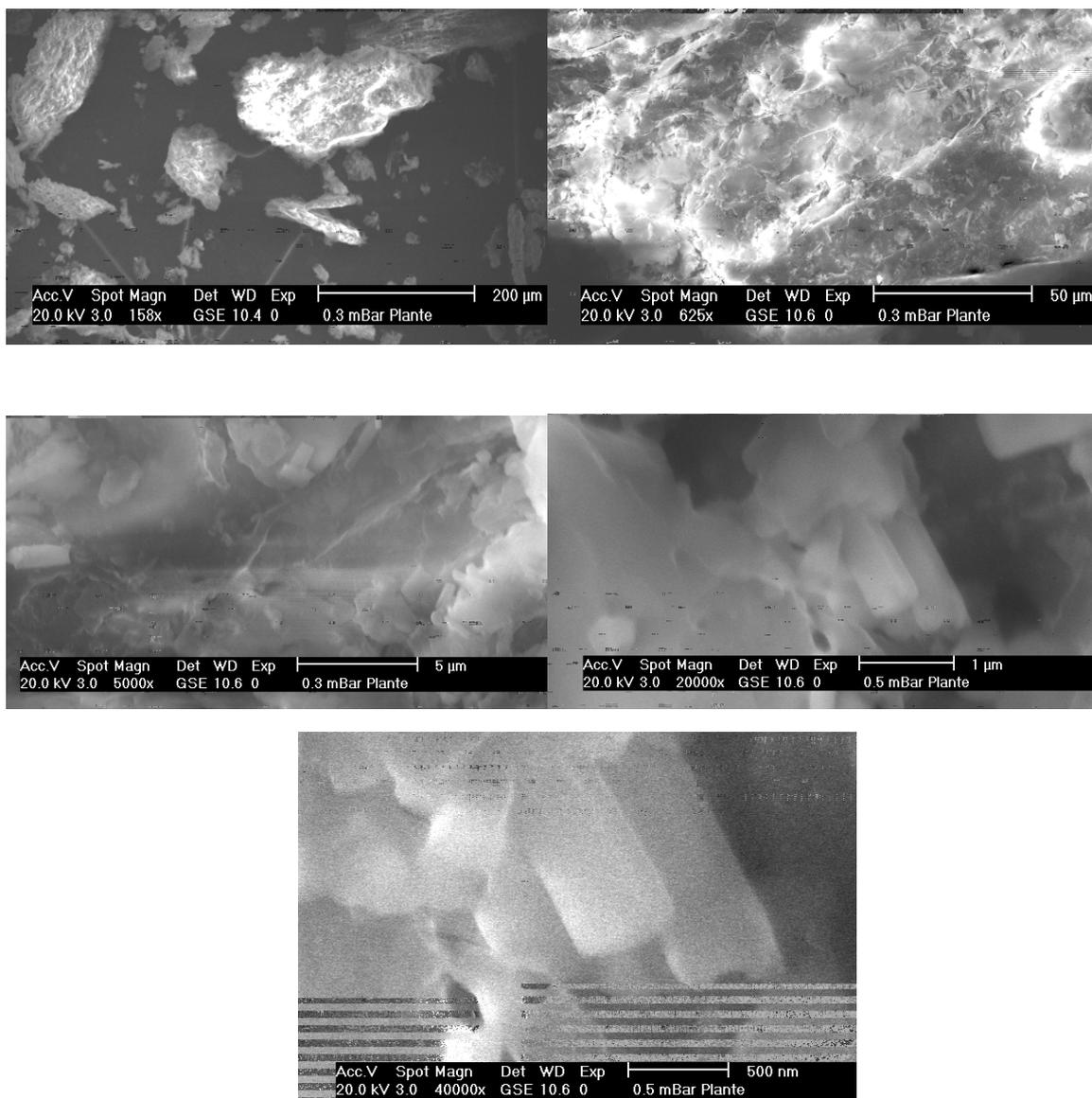


Figure 5.19 : Observation par MEB à (200, 50, 5, 1  $\mu\text{m}$  et 500 nm) de la poudre du *Lemna gibba* brute.

Le micrographe de la poudre du *Lemna gibba* traitée présenté par la figure 5.26 montre que la surface de ses particules est trouée sous forme des feuillets liés les uns aux autres et semblent très rapprochés. Une forme également régulière est constatée.

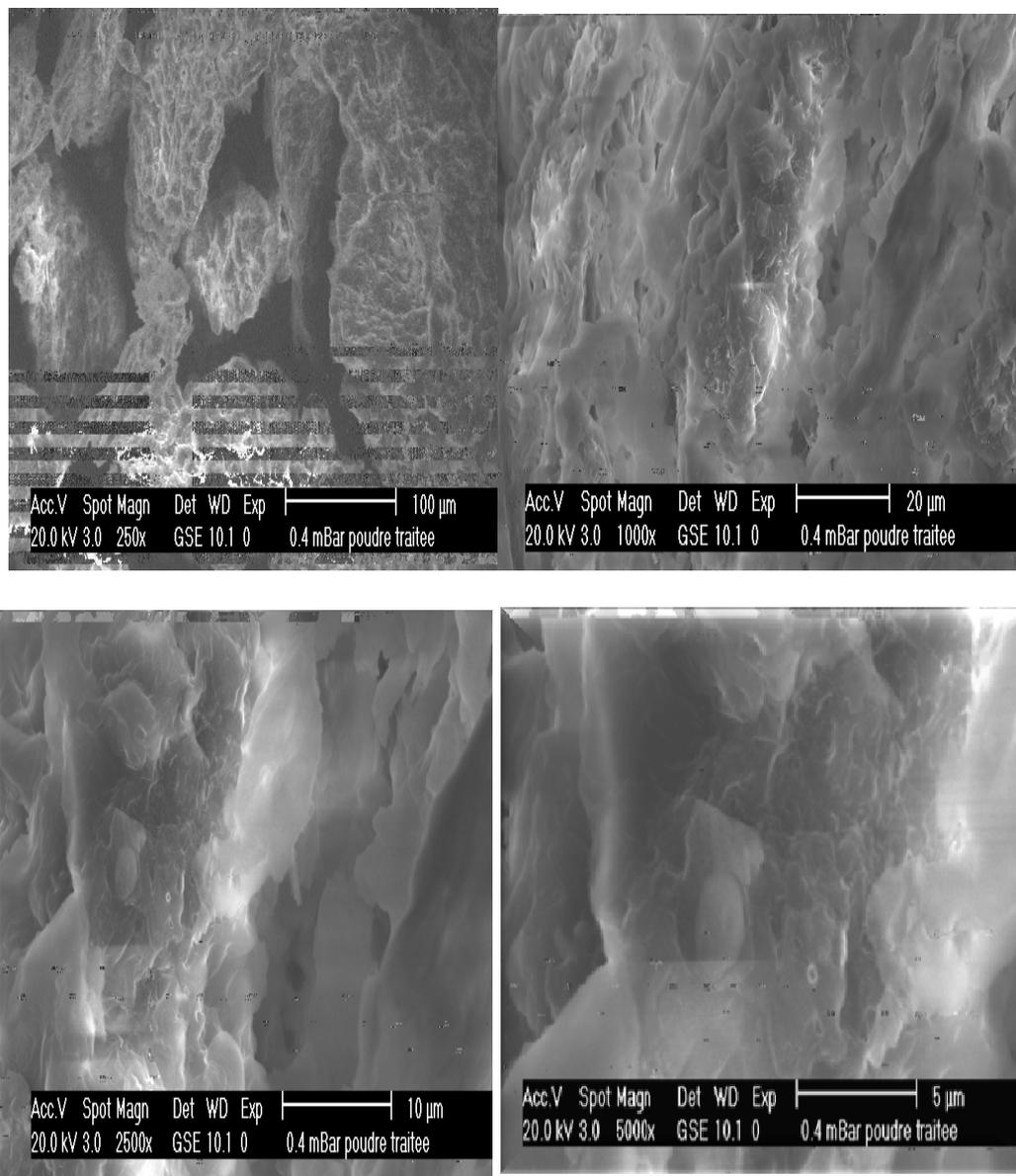


Figure 5.20 : Observation par MEB à (100, 20, 10 et 5 $\mu\text{m}$ ) de la poudre du *Lemna gibba* traitée.

L'image MEB de la poudre traitée après la rétention du méthyl-parathion dans la figure 5.21 montre un rassemblement des feuillets sous forme des couches superposées les uns par rapport aux autres.

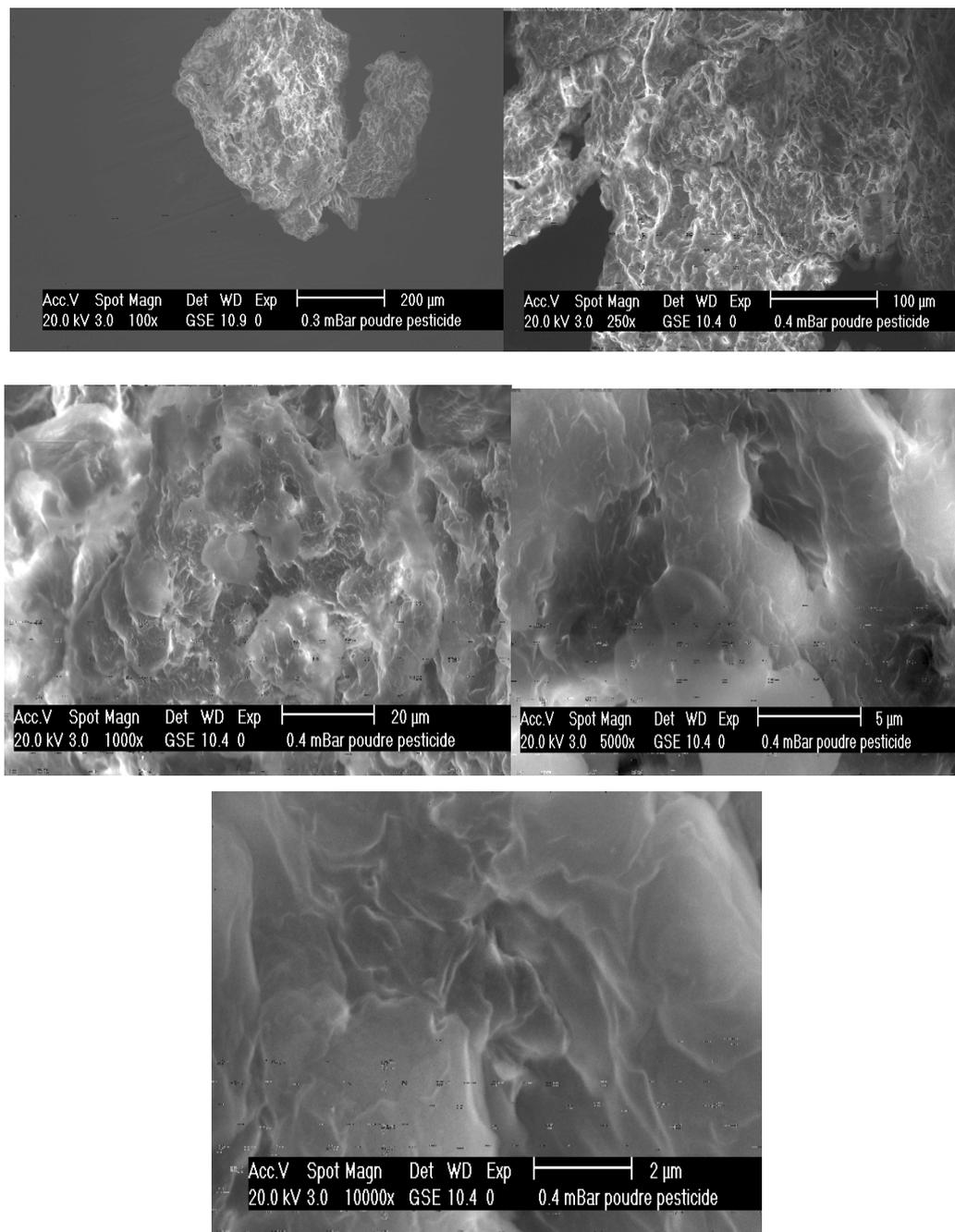


Figure 5.21 : Observation par MEB à (200, 100, 20, 5 et 2  $\mu$ m) de la poudre du *Lemna gibba* traitée après la rétention du méthyl-parathion.

#### 5.10.5. Analyse par la microscopie électronique à balayage de la plante *Lemna gibba* fraîche

Les figures ci-dessous 5.23 et 5.24 montrent une très forte modification au niveau des tissus de la plante par rapport à celui du témoin (figure 5.22). Elles nous permettent d'identifier des nécroses à ce niveau de la plante mise en contact avec le

méthyl-parathion et le cadmium. Cette modification est aussi constatée au niveau des ostioles (l'orifice à lèvres épaissies).

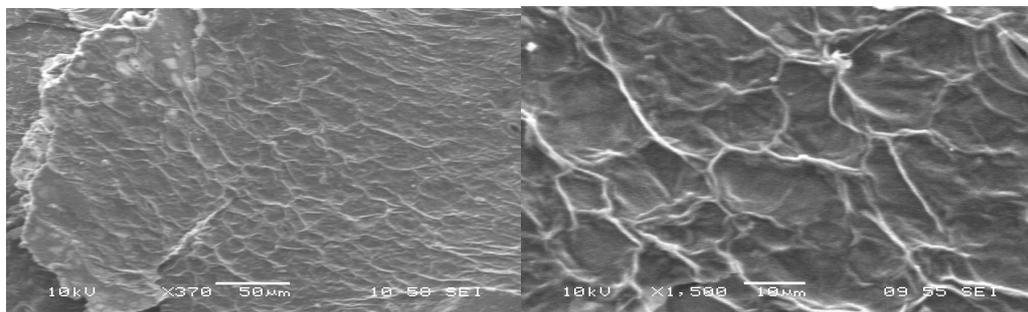


Figure 5.22 : Visualisation du MEB à (10-50  $\mu\text{m}$ ) de la plante *Lemna gibba* fraîche (témoin).

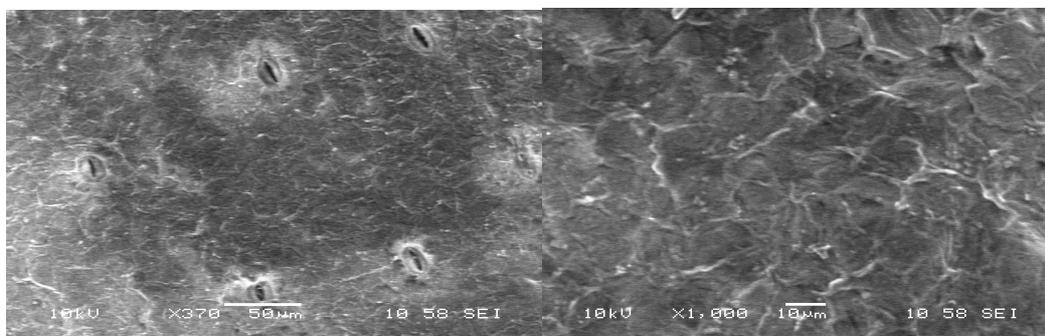


Figure 5.23 : Visualisation du MEB à (10-50  $\mu\text{m}$ ) de la plante *Lemna gibba* fraîche après la rétention du Cadmium.

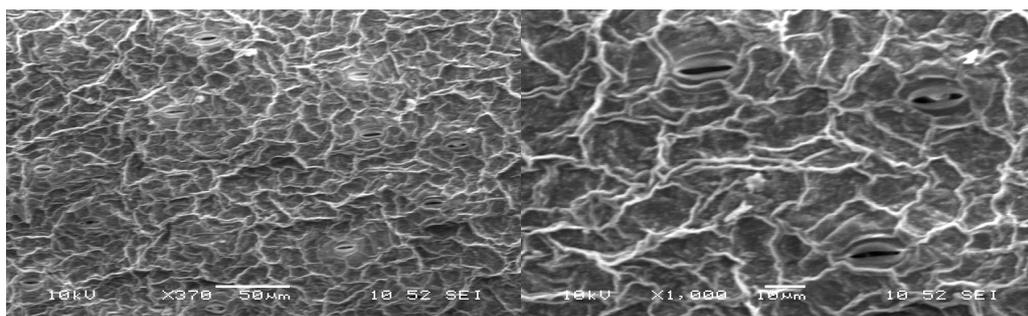


Figure 5.24 : Visualisation du MEB à (10-50  $\mu\text{m}$ ) de la plante *Lemna gibba* après la rétention du méthyl-parathion.

Cette caractérisation des 02 matériaux par le MEB permet de mettre en évidence l'impact de la fixation de Cd ou du Mp sur ces produits (biomasse fraîche ou poudre obtenue après séchage de cette biomasse fraîche).

Des nécroses morphologiques ont bien été observées. Une interprétation plus détaillée aurait été possibles si d'autres examens biochimiques ont été considérés pour mettre des comparaisons du phénomène d'interférence de Cd ou du Mp avec les mécanismes d'assimilation de ces produits par la plante.

#### 5.11. Mesure du pH libre de la poudre séchée de *Lemna gibba*

On appelle pH libre de la biomasse, le pH du surnageant (eau distillée) dans lequel se trouve la biomasse après agitation et stabilisation. La valeur du pH mesurée dépend de la quantité de biomasse et du volume d'eau distillée utilisée. Cependant, nous avons appliqué la méthode normalisée *NFT 90008*, concernant la mesure du pH des sols qui est d'ailleurs largement appliquée par plusieurs auteurs pour les boues et biomasses [149]. Nous utilisons la biomasse à une concentration de  $2\text{g.L}^{-1}$  sous une agitation moyenne correspondant à 250 tr/min, et ce, pendant une durée de 90 minutes.

L'étude de l'évolution du pH libre en fonction du temps d'agitation a conduit aux résultats illustrés sur la figure 5.25.

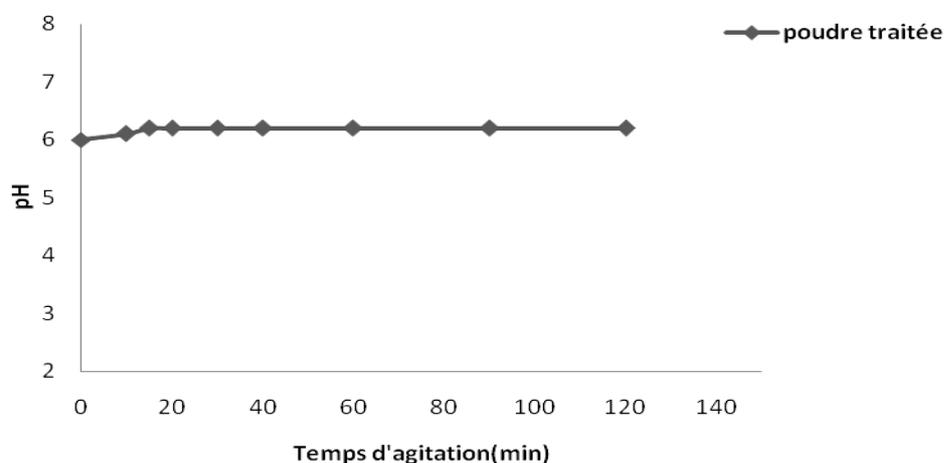


Figure 5.25 : Mesure du pH libre de biomasse traitée en fonction du temps.

Au vu de ces résultats, il apparaît que pour la biomasse, la valeur du pH obtenue s'est stabilisée dès le début de l'agitation et n'a point varié durant l'agitation.

Les valeurs de pH obtenues sont donc de 6,2 pour la poudre de *Lemna gibba* qui ce confèrent un caractère légèrement acide.

## 5.12. Tests de rétention du cadmium et du méthyl-parathion par *Lemna gibba* sous forme de poudre séchée

Dans le but d'étudier les propriétés de rétention de notre biomatériau vis-à-vis du cadmium ou du méthyl-parathion nous nous sommes intéressés à l'étude de la cinétique de rétention, isotherme de rétention et l'influence de certains paramètres physico-chimiques et enfin la modélisation des résultats de cette réaction.

### 5.12.1. Les cinétiques de la rétention

Ces cinétiques de rétention ont permis de déterminer le temps nécessaire pour l'établissement de l'équilibre dans chaque cas. Il existe plusieurs manières de tracer une courbe de cinétique d'adsorption. Nous avons choisi de tracer le rendement de rétention du cadmium et du méthyl-parathion adsorbé en fonction du temps d'agitation  $C_r=f(t)$ .

### 5.12.2. Détermination du temps d'équilibre pour la rétention du cadmium et du méthyl-parathion par la poudre séchée

L'influence du temps d'agitation sur la rétention du cadmium et du méthyl-parathion à différentes concentrations sur le biomatériau étudié à pH=7 et pH= 4 est présentée par les figures 5.26, 5.27, 5.28 et 5.29.

L'examen de toutes ces courbes montre clairement qu'elles sont de même allure et indiquent que la rétention du cadmium et du méthyl-parathion augmente au fur et à mesure que la concentration augmente.

Les investigations préliminaires sur la vitesse de rétention du cadmium et du méthyl-parathion étudiés montrent que :

- le processus de rétention est très rapide dans le cas du cadmium et même pour le méthyl-parathion, on a obtenu 31,9 et 44,4 % de la quantité présente initialement du  $[Cd^{2+}]$  à 1 ppm pour le pH= 7 et pH= 4 respectivement, alors pour la concentration de 48 ppm du méthyl-parathion le rendement de rétention est de 40,22 et 51,7% pour les même pH respectivement est retenu en 30 min. La pente devient très faible et presque nulle à l'approche de l'équilibre qui est atteint au bout de (03) heures de temps d'agitation ;

- A l'équilibre, les courbes se présentent sous forme d'un plateau montrant que l'adsorption du soluté est maximale. Cette valeur maximale représente la capacité ultime d'adsorption et traduit par un recouvrement total de la surface de l'adsorbant utilisé. A ce niveau, il y a un pseudo – équilibre, les cinétiques d'adsorption deviennent relativement très lentes.

Aussi, nous avons fixé le temps d'équilibre à (03) heures pour tous les essais de la biosorption.

Ces figures montre que le processus d'adsorption est très rapide pendant la première heure (première phase de la cinétique d'adsorption), moyen à très lent jusqu'à 5 heures (deuxième phase de la cinétique d'adsorption).

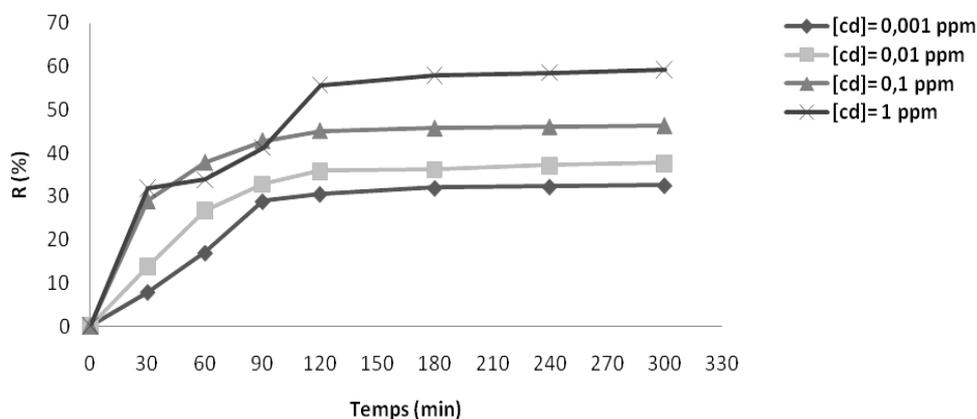


Figure 5.26 : La cinétique de rétention du cadmium par de la poudre séchée de *Lemnagibba* à pH= 7.

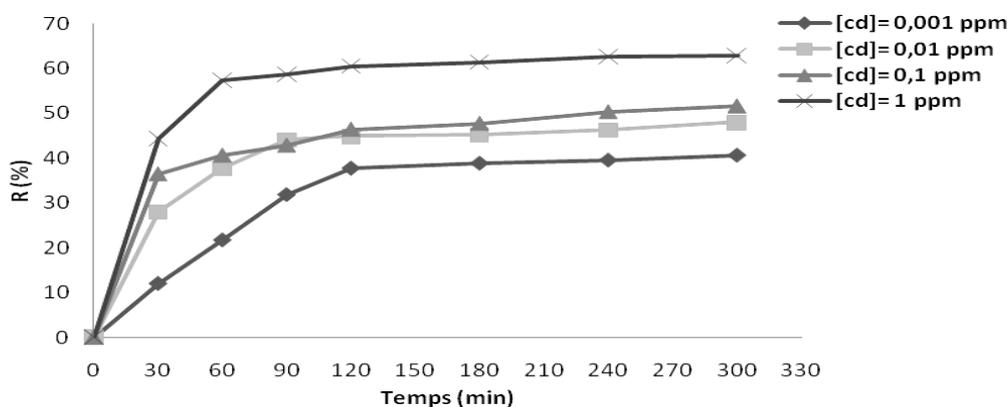


Figure 5.27 : La cinétique de rétention du cadmium par de la poudre séchée de *Lemnagibba* à pH= 4.

Pour une durée de (03) heures à une concentration de 1 ppm de  $[Cd^{+2}]$  le rendement d'élimination est de 55,7% et 60,5% à pH=7 et pH= 4 respectivement.

Pour le méthyl-parathion à une concentration de 48 ppm les rendements de fixation pour les même pH que le cadmium est de 59% et 69% respectivement.

Cette durée aurait été suffisante pour étudier l'adsorption du cadmium ou du méthyl-parathion sur la poudre séchée, bien que de faibles quantités continuent à s'adsorber au-delà de (03) heures.

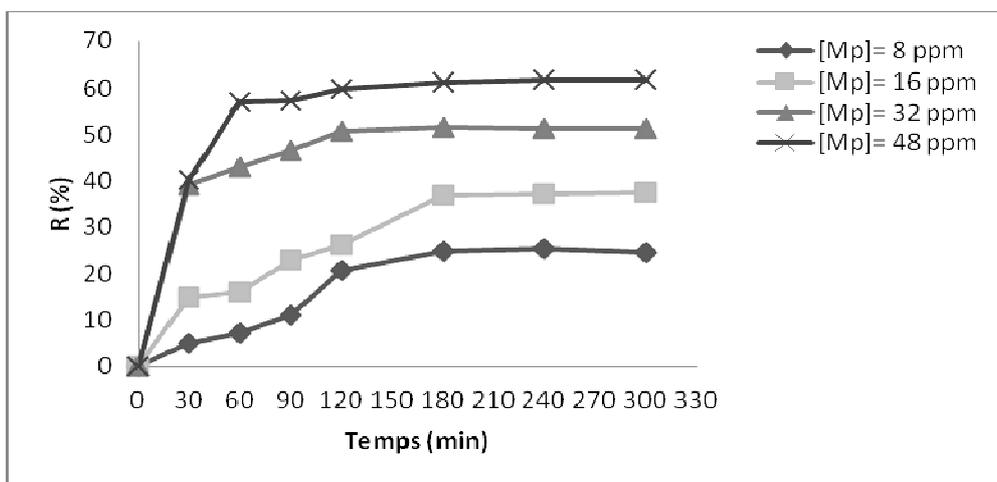


Figure 5.28 : La cinétique de rétention du méthyl-parathion par de la poudre séchée de *Lemnagibba* à pH= 7.

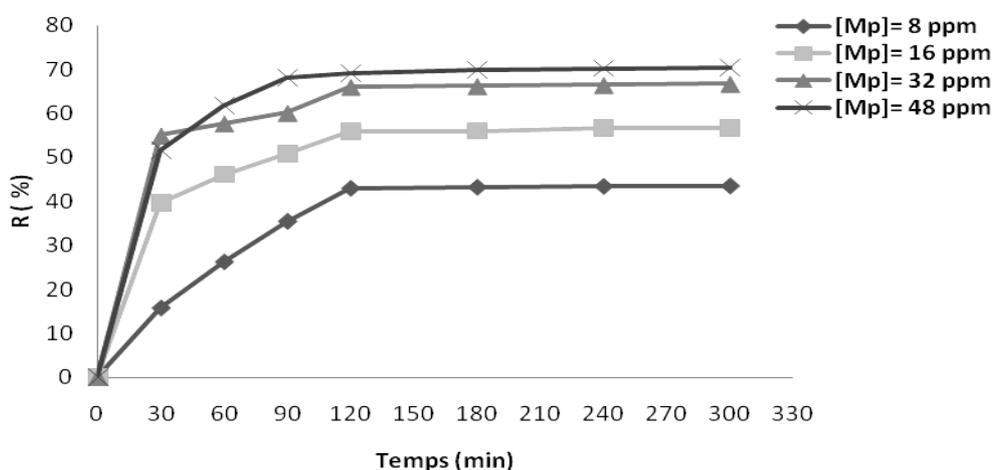


Figure 5.29 : La cinétique de rétention du méthyl-parathion par de la poudre séchée de *Lemnagibba* à pH= 4.

L'adsorption des métaux sur les parois cellulaires de la poudre de la plante peut intervenir par attraction électrostatique. Avec une augmentation du pH, les parois cellulaires de poudre de la plante, constituées de groupements donneurs de protons (acide polygalacturonique ou pectine, polyacétylglucosamine, polysaccharides, etc.) peuvent se charger négativement (formation de groupes anioniques) et ainsi fixer les ions métalliques ainsi que les complexes métalliques chargés positivement (cations). Crist *et al.*, [165].

La durée nécessaire pour atteindre l'équilibre. Elle correspond à la somme de deux temps [166] :

- Le temps mis par les molécules pour arriver au voisinage des surfaces absorbantes qui représente une durée de transport ;
- Le temps mis par ces molécules pour se lier à la surface adsorbante qui représente la durée réelle de l'adsorption.

La figure 5.30 représente les deux systèmes modèles qui permettent de décrire les systèmes réels rencontrés au laboratoire.

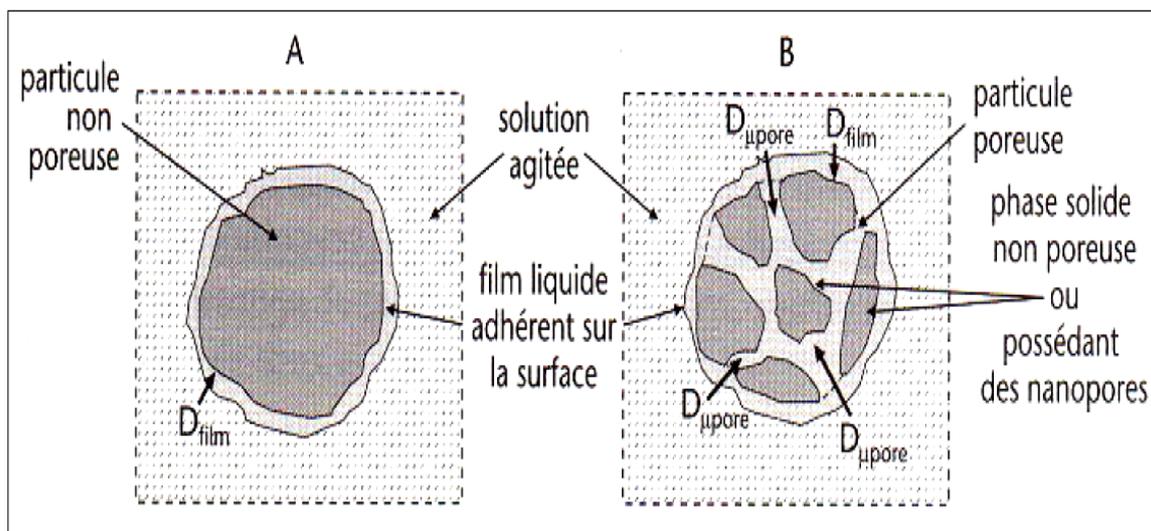


Figure 5.30: Représentation schématique des deux différents systèmes modèles permettant de définir la vitesse de biosorption d'un polluant [166].

Le système (A) représenté sur la figure 5.30 correspond à une suspension d'un matériau solide adsorbant et non poreux dans une solution de pesticide ou du métal. Quand la suspension est agitée mécaniquement, on peut admettre que les molécules de soluté se trouvent très rapidement au voisinage de la surface (première phase de la cinétique étudiée).

Le système (B) schématise aussi une suspension mais cette fois avec des particules poreuses. Même avec une agitation mécanique de la suspension, toutes les surfaces absorbantes ne sont pas également accessibles. Les surfaces des parois des pores ne sont accessibles que par la diffusion des molécules et plus elles sont situées profondément dans la particule, plus les molécules de pesticide ou du métal mettront de temps pour les atteindre (deuxième phase de la cinétique étudiée).

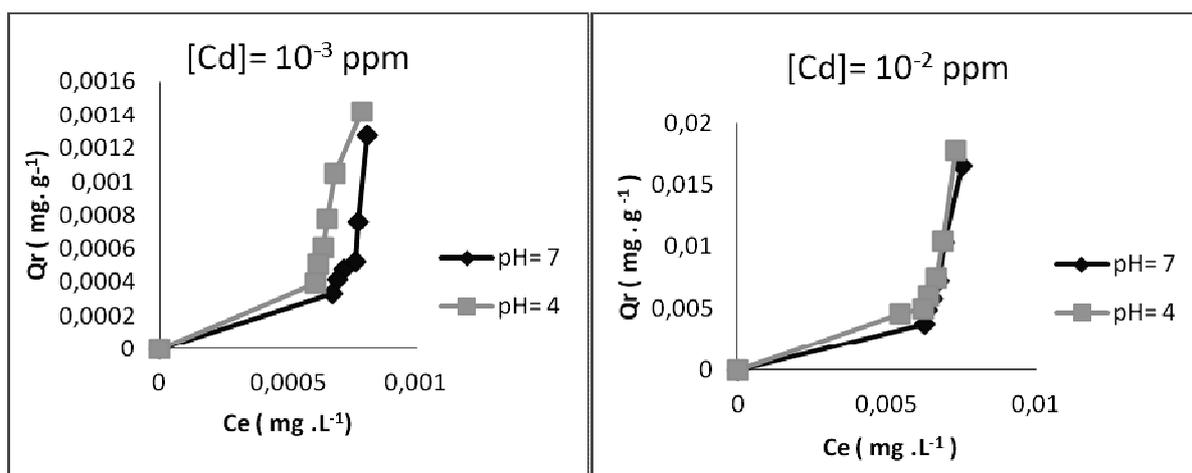
### 5.12.3. Isothermes de rétention

L'étude des isothermes sont mises en œuvre selon le protocole décrit précédemment. La description des isothermes d'adsorption est la première difficulté que l'on rencontre dans les études relatives à l'adsorption. Elle concerne la détermination des valeurs numériques. La deuxième difficulté est celle de l'interprétation de la forme des isothermes d'adsorption et des valeurs des paramètres.

Les résultats obtenus lors de l'adsorption du cadmium et du méthyl-parathion sur la poudre séchée nous ont permis, en premier lieu, de tracer l'isotherme d'adsorption  $Q_r$  (Quantité retenue) en fonction de  $C_e$  comme le montre les figures 5.31 et 5.32.

De façon globale, l'examen de ces différentes isothermes montre clairement qu'elles s'approchent de l'isotherme de classe S1 selon la classification de Giles [67].

a)b)



c) d)

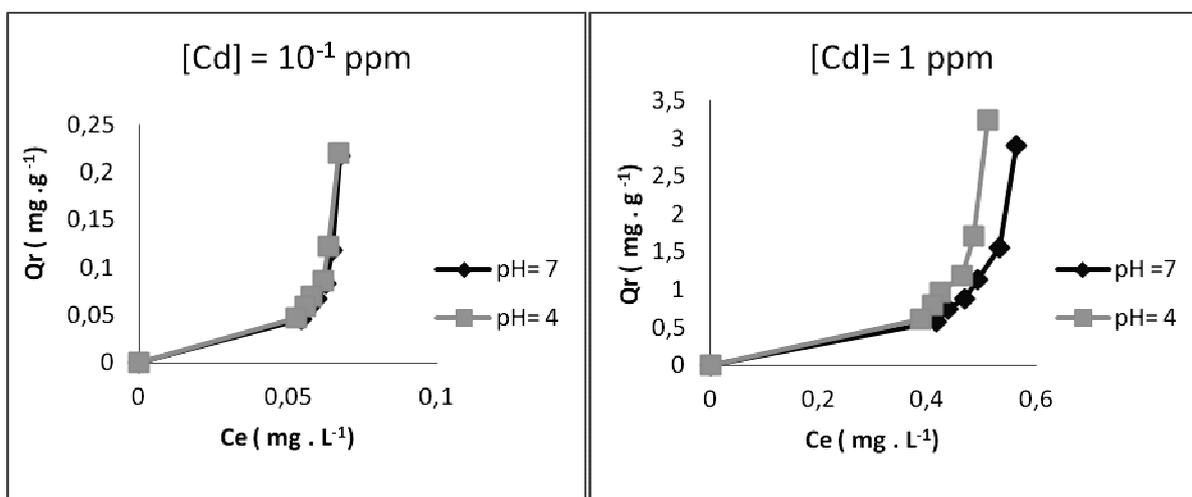


Figure : 5.31 : Les isothermes d'adsorption du cadmium sur la poudre séchée de la plante *Lemna gibba* à pH=7 et pH=4.

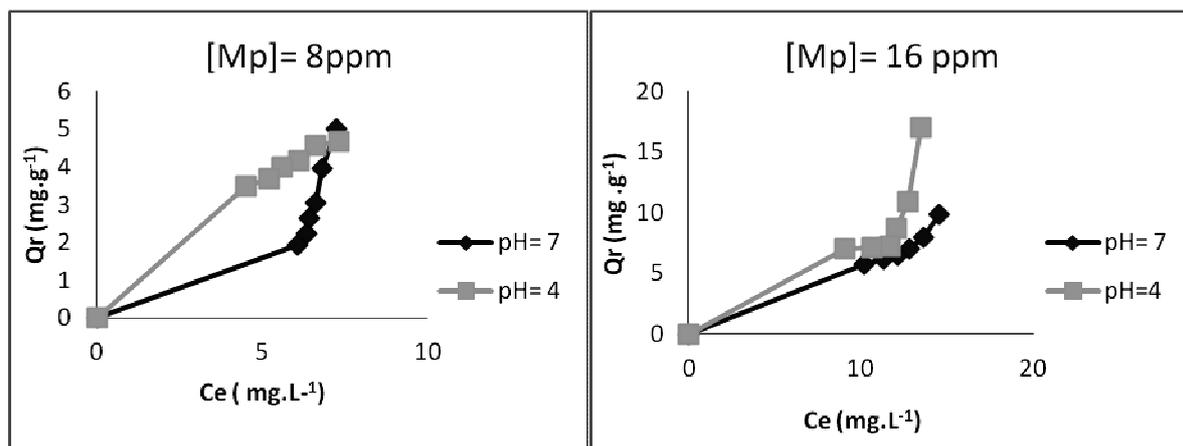
((a):  $[\text{Cd}] = 0,001\text{ppm}$ ; (b):  $[\text{Cd}] = 0,01\text{ppm}$ ; (c):  $[\text{Cd}] = 0,1\text{ppm}$ ; (d):  $[\text{Cd}] = 1\text{ppm}$ ).

La quantité adsorbée la plus élevée obtenue avec la concentration initiale la plus élevée de cadmium (1ppm) est de  $0,61\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$  alors pour le méthyl-parathion à une concentration de 48 ppm la quantité retenue est de  $33,22 \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$  pour un pH=4.

Le processus de fixation des molécules de méthyl-parathion ou du cadmium peut s'expliquer probablement par les interactions de type attraction électrostatique entre les charges positives du Mp et  $\text{Cd}^{2+}$  et les charges négatives des sites d'adsorption situés sur la surface de la poudre séchée de *Lemna gibba*.

La rétention des molécules du méthyl-parathion ou du cadmium pendant une durée de 03 h à  $T = (20 \pm 1^\circ\text{C})$  est due probablement à la grande hydrophobie acquise par la présence d'un grand nombre de groupements hydroxyliques et carboxyliques existants dans la chaîne de la poudre séchée de *Lemna gibba*.

a) b)



c) d)

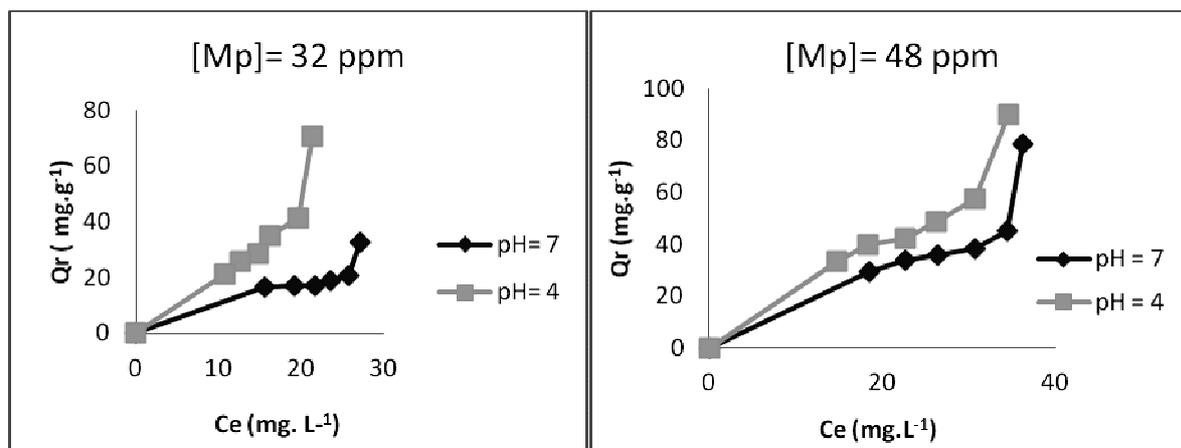


Figure : 5.32 : Les isothermes d'adsorption du méthyl-parathion sur la poudre séchée de la plante *Lemna gibba* à pH=7 et pH=4.

((a): [Mp] =8 ppm; (b): [Mp] =16 ppm; (c): [Mp] =32 ppm; (d): [Mp] =48 ppm).

L'adsorption des pesticides cationiques comme le méthyl-parathion a lieu par échange de cations [167]. Pour formation de liaisons hydrogènes entre le méthyl-parathion et la matière organique de la poudre. Lagaly montre que les pesticides

possédant la fonction  $\text{NH}_2$  peuvent former des liaisons par des forces électrostatiques (dipôle-ion) [168].

Pour plus de détail et de discussion, nous avons jugé qu'il était intéressant d'exploiter encore plus les résultats expérimentaux obtenus en utilisant une modélisation mathématique des différents phénomènes étudiés que nous représentons dans la partie suivante.

#### 5.12.4. Modélisation mathématique

Il est impérativement intéressant de vérifier si certains modèles mathématiques de la littérature permettent la description mathématique des résultats expérimentaux.

L'application des modèles d'adsorption de Freundlich et de Langmuir nous permettent de tracer les isothermes linéarisées présentées dans la partie (APPENDICE E).

Les courbes obtenues sont des droites donc les modèles de Freundlich et de Langmuir peuvent être utilisés pour déterminer les paramètres nécessaires pour décrire une telle adsorption.

Le calcul des paramètres liés à ces modèles a été effectué en utilisant le logiciel « STATISTICA ». Les graphes ont été obtenus à l'aide du logiciel « Excel » dont le principe est basé sur les méthodes d'optimisation non linéaire, parmi lesquelles on cite les systèmes suivant :

- Simplexe
- Quasi-Newton
- Simplexe et quasi-Newton.

Il est à préciser que le choix de l'une de ces méthodes est basé sur la convergence du système de résolution. Nous présentons dans le tableau 5.4 les différents paramètres liés à chaque modèle.

Tableau 5.2 : Les paramètres des modèles de Langmuir et Freundlich.

		Langmuir			Freundlich			pH
		R <sup>2</sup>	Q <sub>m</sub>	b	R <sup>2</sup>	K	1/n	
Cadmium	[Cd]=10 <sup>-3</sup> ppm	0,7839	1,13	1,12	0,8352	41,66	1,51	4
		0,9249	0,43	0,40	0,8528	2,6* 10 <sup>-4</sup>	4,34	7
	[Cd]=10 <sup>-2</sup> ppm	0,8532	1,18	1,15	0,7909	0,073	0,385	4
		0,9123	1,03	1,12	0,9841	110,44	1,89	7
	[Cd]=10 <sup>-1</sup> ppm	0,9861	2,96	0,61	0,9199	1,42	0,933	4
		0,9890	1,65	0,88	0,9251	2,61	1,16	7
	[Cd]=1 ppm	0,9932	7,07	0,58	0,9339	161,93	6,03	4
		0,9891	2,96	0,61	0,9563	33,87	4,95	7
Méthyl-parathion	[MP]=8 ppm	0,9735	8,15	0,17	0,9730	0,84	0,81	4
		0,9629	13,26	0,04	0,9797	0,018	0,84	7
	[Mp]=16 ppm	0,6182	77,97	0,01	0,6120	0,40	2,17	4
		0,9026	48,94	0,01	0,8843	0,13	1,56	7
	[Mp]=32 ppm	0,9429	803,99	0,0003	0,8836	0,18	1,89	4
		0,5619	541,68	0,0017	0,5687	0,38	1,28	7
	[Mp]=48 ppm	0,8846	3816,2	0,0005	0,2163	0,83	1,28	4
		0,7517	4466,8	0,0003	0,6736	0,26	1,51	7

Au vu de ce tableau, il apparaît clairement que la plus part des valeurs du coefficient de corrélation R<sup>2</sup> sont très élevés et s'approchent de l'unité (1). Celle-ci confirme, en effet, la bonne corrélation de ces résultats avec les points expérimentaux. De plus, les modèles de Langmuir et de Freundlich s'approchent visiblement des résultats expérimentaux.

Les valeurs du paramètres de Freundlich (1/n<1) indiquent de façon générale que l'adsorption du cadmium ou du méthyl-parathion est beaucoup plus importante

en milieu acide (pH=4) sur la poudre de *Lemna gibba* qu'en le milieu neutre. Et aussi pour ( $1/n \leq 1$ ) l'adsorption diminue avec l'augmentation des concentrations du cadmium et du méthyl-parathion c'est-à-dire que l'adsorption est plus importante pour les faibles concentrations.

Les valeurs ( $1/n > 1$ ) suggèrent que les liaisons d'adsorption sont fragiles et plutôt de type physique. Les molécules de méthyl-parathion ou du cadmium ne s'accrochent à la poudre que par l'intermédiaire d'un seul groupement et l'adsorption devient plus facile. Ainsi, la quantité adsorbée augmente et les premières molécules fixées facilitent l'adsorption des molécules suivantes à cause de l'attraction latérale ce qui se traduit par une couche bien adsorbée.

La valeur de ( $K \leq 1$ ) à pH=7 pour le méthyl-parathion implique une faible adsorption à ce pH.

Par ailleurs, nous remarquons des différences notables au niveau des capacités maximales d'adsorption  $Q_m$ . De plus, nous ne constatons que la rétention du méthyl-parathion plus que celles de la rétention du cadmium (figure 5.15 et 5.16).

La rétention du cadmium et/ou du méthyl-parathion sur la poudre séchée de *Lemna gibba* est influencée par divers facteurs liés à la nature du biomatériau et la nature de polluants. Pour contribuer à l'étude de cette influence, nous avons fait varier certains paramètres tels que le pH et la concentration initiale du pesticide ou du métal.

Le pH est un paramètre essentiel à prendre en compte dans les processus de biosorption (rétention) des pesticides ou des métaux puis qu'il agit à la fois sur la solubilité des polluantes et sur état d'ionisation de la paroi cellulaire de l'adsorbant.

Nous avons suivi simultanément l'évolution du pH et la fixation des particules du cadmium et du méthyl-parathion dont les pH initiaux sont fixés à 4 et 7 (figures 5.31 et 5.32).

Ces valeurs de pH sont obtenues après ajustement graduel, par ajout d'acide chlorhydrique ou de la soude. La mesure se fait à l'aide d'un pH mètre étalonné.

Nous constatons que pour les deux pH, les cinétiques d'adsorption obtenues sont meilleures pour des pH=4 ou les taux d'adsorption sont de l'ordre 5% et 69 % sont atteints respectivement pour le cadmium à 1ppm et pour 48 ppm de méthyl-parathion.

A pH = 4 la capacité de fixation du cadmium ou du méthyl-parathion est très remarquable, des résultats similaires ont été trouvés par Bouras qui a constaté que la capacité d'adsorption du PCB par une argile pontée organophile augmente considérablement à pH= 3,1 [169].

Min-WooJungaet *a.l.*, ont montré de même que l'adsorption du phénol par le CAG est meilleure pour pH = 3 [170].

Rascon A. E *et al.*, montre que la capacité d'adsorption des substances organométalliques sur une biomasse de *Solanumelaeagnifaliumest* nettement améliorée lorsqu'on passe du pH = 2 à pH=5 mais tout en maintient un milieu acide [171].

De même, Jiri Ludvik et Petr Zuman ont montré que 62% de la métribuzine ont été adsorbée sur un tissu organique à pH = 4.9 pendant 24 heures de manière irréversible [172].

Benhima H. *et al.*, montre aussi que la capacité de rétention du cadmium sur des plantes séchés est de 89 % à des pH entre [2 et 6] [173].

Rifaqat A. *et al.*,notent que pour un pH= 4,3 un maximum de biosorption (92%) pour la biosorption du Cd<sup>2+</sup> par une biomasse du fenouil (*Foeniculumvulgari*) [174].

Les pH optimal pour nos essais se situent à une valeur 4 égale à puisque a des valeurs de pH ≤ 2 les ions H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>sont en concurrence avec les ions du métal pour les sites d'échange de la matière organique. La biosorption des ions métalliques augmente avec l'augmentation de la valeur de pH entre 2 et 6 c'est-à-dire à pH= 4,3 [173].

Les résultats constatés dépendent de la structure de la matière biosorbantes qui nous oriente vers les divers groupements fonctionnels pouvant intervenir lors du

phénomène de biosorption et qui sont essentiellement: carboxyles, phosphoryles et hydroxyles. En connaissant l'ensemble des groupements susceptibles d'être des sites d'adsorption du cadmium et du méthyl-parathion, nous pouvons expliquer l'effet du pH sur les capacités de rétention de la biomasse.

Les groupements impliqués dans la biosorption des matières organiques sur une biomasse sont majoritairement carboxyles [174]. Ils semblent être responsables de l'accumulation rapide des substances organométalliques par une biomasse [180].

Le rôle des phospholipides membranaires n'est pas à négliger puisque leurs têtes polaires chargées négativement forment une bicouche offrant une surface d'échange importante [175].

Pour étudier la faisabilité d'un procédé de traitement d'effluents des métaux ou des pesticides, il est important de déterminer le comportement du biosorbant en fonction de la concentration initiale du cadmium ou du méthyl-parathion.

En appliquant les modèles communément utilisés pour l'adsorption classique (modèle de Freundlich et Langmuir), nous pouvons tirer le rapport maximal: quantité de polluant / masse de biosorbant, c'est la capacité maximale exprimée en mg de cadmium ou méthyl-parathion fixée / g de biosorbant.

Nous avons suivi l'évolution du cadmium en fonction du temps pour les teneurs initiales suivantes: 0.001ppm, 0.01ppm, 0.1ppm et 1ppm. Et pour le méthyl-parathion : 8ppm, 16 ppm, 32 ppm et 48 ppm.

Les résultats sont représentés sur les figures 5.26, 5.27, 5.28 et 5.29 Nous constatons que pour les teneurs examinées des deux polluants la meilleure cinétique d'adsorption du cadmium ou du méthyl-parathion est établie pour une concentration initiale de 1ppm et 48 ppm respectivement.

Les capacités maximales d'adsorption à l'équilibre sont 33,22 mg.g<sup>-1</sup> pour le méthyl-parathion et 0,612 mg.g<sup>-1</sup> pour le cadmium par de biosorbant respectivement.

Pour une concentration initiale de 10<sup>-3</sup> ppm l'adsorption de cadmium présente une cinétique très lente avec un taux d'adsorption de 30,5 % de biosorption très faible.

La même remarque pour une concentration de 8 ppm de méthyl-parathion la capacité à titre d'exemple est de 42,87% pour un pH=4.

Il est à noter aussi que la capacité de la rétention augmente avec l'augmentation de concentration soit du cadmium ou bien du méthyl-parathion. Ce qui est généralement conclu dans la majorité des revues bibliographiques

## CONCLUSION

Dans cette présente étude le but principal est l'utilisation et la valorisation des nouveaux supports pour la rétention des micropolluants organiques et inorganiques susceptibles de polluer les eaux ainsi que la modélisation des résultats expérimentaux de ce phénomène.

Les résultats trouvés nous ont conduit aux constatations suivantes :

- Les contaminations algales inhibent la croissance et aussi le processus d'accumulation de cette espèce. En effet une stérilisation de la plante *Lemna gibba* avant toute culture s'avère indispensable.
- Il ressort des cinétique de croissance de *Lemna gibba* à l'état frais en présence du cadmium ou du méthyl-parathion, que le temps d'équilibre de croissance pour le cadmium et le méthyl-parathion étudié est au 4<sup>ème</sup> et au 5<sup>ème</sup> jour respectivement.
- Les taux enregistré pour une concentration de 1 ppm de Cd<sup>+2</sup> et 48 ppm de Mp est de 50 et 60 % respectivement pour le 4<sup>ème</sup> jour d'exposition.
- En effet les taux inhibition atteignent au 6<sup>ème</sup> jour 50,46% à 1 ppm de Cd<sup>+2</sup> et 43,11% de Mp, nous permettent de dire que le cadmium est le plus toxique vis-à-vis de la croissance de *Lemna gibba* malgré les fortes concentrations de méthyl-parathion utilisé dans le processus de phytoremédiation.
- Les essais réalisés ont montré que le méthyl-parathion est moins toxique et que la rétention du cadmium est plus élevée, par conséquent, la rétention n'entraîne pas forcément la toxicité pour des faibles doses en polluant.
- Les cinétiques de rétention du cadmium favorisent la fixation à une concentration de 1ppm ou le taux de rétention atteint 96,1 % alors pour le méthyl-parathion atteint 37,25 % pour une concentration de 48 ppm pour une période d'exposition de 04 jours.
- Les teneurs en cadmium dans les tissus augmentent avec l'augmentation de la concentration initiale. Les teneurs les plus élevée sont observées dans les traitements avec les concentrations les plus élevées : 10<sup>-1</sup> ppm et 1 ppm dont

les quantités retenues sur la biomasse sont : de 920  $\mu\text{g/g}$  de  $\text{Cd}^{+2}$  et 9510  $\mu\text{g/g}$  de  $\text{Cd}^{+2}$  respectivement.

- Le FBC du cadmium augmente aussi avec l'augmentation des concentrations en cadmium.
- *Lemna gibba* a une croissance optimale à  $\text{pH} = 6 \pm 0,5$  car la majorité des éléments nutritifs sont assimilables. L'augmentation du pH après les tests de phytoremédiation est certainement liée à l'activité photosynthétique.

L'étude de l'efficacité de la poudre obtenue après séchage et prétraitement de la plante dans la rétention ou bien la biosorption du cadmium et du méthyl-parathion nous a permis de conclure que :

- Le temps de pseudo-équilibre de rétention est atteint au bout de trois heures pour l'ensemble des tests.
- Pour les deux polluants cadmium et méthyl-parathion, les maximums de taux de fixation sont obtenus aux conditions suivantes [diamètre de la poudre  $\Phi = 0,5 \text{ mm}$  ; vitesse d'agitation = 250 tr/min ;  $T = (21 \pm 2) ^\circ\text{C}$  et  $\text{pH} = 4$  et 7].
- Pour une concentration de cadmium égale à 1 ppm les rendements de rétention sont de : 55,7 % et 60,5 % à  $\text{pH} = 7$  et  $\text{pH} = 4$  respectivement et pour une concentration de 48 ppm du méthyl- parathion les rendements de fixation pour les même pH est de 59 % et 69 % respectivement.
- La poudre de *Lemna gibba* a une affinité de rétention plus forte pour le méthyl-parathion que le cadmium.
- L'allure des isothermes d'adsorption du cadmium et du méthyl-parathion sur la poudre à différents pH est du type S1.
- L'évolution des quantités retenues en fonction du pH montre que la rétention est favorisée en milieu acide  $\text{pH} = 4$ .
- La modélisation des résultats expérimentaux selon les modèles de Langmuir et Freundlich a montré globalement que le modèle de Langmuir s'applique à nos résultats.
- L'examen du MEB a donné une explication relative de l'état de surface de la plante, cette méthode peut être utilisée comme indicateur physiologique de l'organisme végétal.
- Les analyses par la spectroscopie RTIF de la poudre avant et après la rétention montrent l'apparition d'un pic situé à  $2364,81\text{cm}^{-1}$  ce qui explique

clairement l'accumulation du métal ou du pesticide suivant l'augmentation de la concentration quel que soit l'état de la plante [frais ou sec].

En conclusion, nous pouvons dire que la poudre préparée à partir de la plante a une capacité de rétention très importante et que l'espèce *Lemna gibba* présente une possibilité d'accumulation intéressante ce qui justifieraient leur classement comme espèces hyperaccumulatrices.

Tenant compte de la valorisation, la tolérance, la capacité d'accumulation et de la productivité en biomasse, *Lemna gibba* montre une potentialité réelle pour l'éventuelle application dans la technologie verte de la phytoremédiation ou bien de la biosorption.

A travers les résultats obtenus dans ce travail, il est souhaitable de poursuivre cette étude en examinant :

- L'évaluation du FBC des pesticides.
- L'étude des mélanges des polluants.
- L'étude de la rétention dynamique en colonne.
- L'étude d'autres modèles mathématiques.

## APPENDICE A

### LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS

A°	: Angströms.
AAS	: Spectrophotomètre d'absorption atomique.
ABC :	: ATP binding cassette.
Abs	: Absorbance.
BCF	: Facteur bioaccumulation.
C°	: degré Celsius.
Cd	: Cadmium
CDF	: Cation diffusion facilitator.
Cd-pc	: Complexe à poids moléculaire.
DES	: Dose sans effet.
DJA	: Dose journalière acceptable.
DL <sub>50</sub>	: Dose létale.
ERM	: Mycélium fongique extra racinaire.
ETM	: Élément trace métallique.
f	: Frondes.
FAO	: Food and agriculture organisation.
FC	: Facteur de concentration.
g	: Gramme.
g.L <sup>-1</sup>	: Gramme par litre.
HCH	: Lindane.
HHDN	: Aldine.
HMA	: Heavy-Metals.
HPLC	: Chromatographie liquide haute performance.
HSPS	: Heat shock proteins.
IRM	: Mycélium fongique intracellulaire (arbuscules).

IRTF	: Spectroscopie infra-rouge à transformé Fourier.
LMR	: Limite maximale de résidus.
LMW	: Complexe à haut poids moléculaire.
m <sup>3</sup>	: Mètre cube.
MEB	: Microscope électronique à balayage.
METOX	: Métaux toxiques.
mg.L <sup>-1</sup>	: Milligramme par litre.
Mp	: Méthyl-parathion.
MTS	: Metallothioneins.
nf	: Nouvelles fondes.
nm	: nanomètre.
Nramps	: (Natural resistance associated macrophage proteins).
OMS	: Organisation Mondiale de la santé.
Pa	: Pascal.
PC <sub>s</sub>	: Phytochelatins.
pH	: potentiel d'hydrogène.
PKa	: Constante de dissociation.
ppm	: Partie par million.
Qr	: Quantité retenu.
r	: Racine.
R <sup>2</sup>	: Coefficient de corrélation.
ROS	: Espaces réactives de l'oxygène.
t :	Temps.
tr/min	: Tours par minute
USA	: Etats-Unis.
µg	: Microgramme.
µg.g <sup>-1</sup>	: Microgramme par gramme.
µm	: Micromètre.
µ	: Microlitre.



## APPENDICE B

### PRODUITS ET APPAREILLAGE

#### 1. Produits

- Sulfate de cadmium  $\text{CdSO}_4 \cdot 8/3\text{H}_2\text{O}$  (98%) (Panreac).
- Acide chlorhydrique HCl (37%) (Biochem chemopharma).
- Hydroxyde de sodium NaOH (98%) (Panreac).
- Nitrate de calcium  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (99%) (Panreac).
- Nitrate de potassium  $\text{KNO}_3$  (99%) (Fluka Chemika).
- Sulfate de magnésium  $\text{Mg SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (99%) (Panreac).
- Dihydrogénophosphated de potassium  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (□98%) (Reidel de Haën).
- Sulfate de fer  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (98%) (Panreac).
- Acide borique  $\text{H}_3\text{BO}_4$  (98%) (Panreac).
- Sulfate de manganèse  $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (99,8%) Panreac).
- Sulfate de zinc  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (□98%) (Panreac).
- Sulfate de Cuivre  $\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (98%) (Merck).

#### 2. Appareillage

- Centrifugeuse.
- Etuve (Memmert de type UNB 400).
- pH mètre type HANNApH21.
- Chambre de culture.
- Balance analytique de type (KERN ALS 220-4N).
- Plaque chauffante et d'agitation.
- Autoclave AESCULAP de type (JA. 154.1600).
- Pompe à vide PHYWE de type (MP 7722-a 353).
- Spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier (SHIMADZU de type FTIR-8900).
- Microscope électronique à balayage MEB (JCOL JSM 6360 LV).
- Spectrophotomètre UV- Visible (SHIMADZU de type UV-1700).
- Chromatographie Liquide Haute Performance HPLC de marque (SHIMADZU type SPD - M10 AV).
- spectrophotomètre d'absorption atomique à flamme (AAS) marque (MGE 600371 v<sub>1</sub>, 14).

## APPENDICE C

### La gamme des pesticides les plus utilisés dans la willaya de Blida

D'après la direction de services agricoles de la willaya de Blida (DSA), le classement des pesticides par volume d'utilisation agricole, sont cités d'abord les insecticides, puis les fongicides et les herbicides dans les cultures maraichères et on arboricultures.

Gamme de produit	Appellation commerciale	Matière active	Spectre d'action
Insecticides	-CONFIDOR® - MALATOX 50	-L'imidachlopride -Malathion	-Assure la protection contre la : cératite, le carpocapse et les pucerons.
	-METHYL- PARATOX 1.25	-Parathion-Methyl	-Assure la protection contre la : Eudémis, Altise, Cicadelle, Psylle.
	-MALATOX 50 -ALPHYZOL 35 EC	-Malathion -Phosalone	-Assure la protection contre la : Cératite, Pucerons, Carpocapse.
	-ALPHYTHRINE 25 EC	-Deltamethrine	-Assure la protection contre la : Pucerons, Carpocapse, Cératite, Punaise des céréales.
	-SOUFRE FLEUREXTRA- LEGERE	-Soufre	-Puissante protection des cultures contre L'oidium. Action secondaire sur les acariens.
Herbicides	-ALCAUDAN 50WP	-Linuron	-Assure la protection contre la : Adventices Graminées et Dicotyledonnes, Pomme de Terre, Carotte, Fève, Fenouils.
	- MAMBA 360 SL	- Glyphosate	-Le MAMBA 360 SL détruit les mauvaises herbes (Graminée dicotylédones annuelle).
	- 2,4-D	2,4 Dichlorophénoxy- Acétique	-Utiliser dans la lutte contre les mauvaises herbes dans les cultures céréalières.

## APPENDICE D

### D.1. Evolution de la biomasse fraiche de Lemna gibba en fonction du temps en présence et en absence du cadmium

Jour	0	1	2	3	4	5	6
Témoin	0	0,1121	0,1344	0,1752	0,1764	0,2268	0,2623
[Cd]= 0,001 ppm	0	0,1081	0,1233	0,1598	0,1663	0,2014	0,2425
[Cd]= 0,01 ppm	0	0,0917	0,1188	0,1552	0,1641	0,1891	0,2276
[Cd]= 0,1 ppm	0	0,0896	0,1176	0,1483	0,1224	0,1754	0,2127
[Cd]= 1 ppm	0	0,0739	0,1095	0,1176	0,1392	0,1483	0,1993

### D.2. Evolution de la biomasse fraiche de Lemna gibba en fonction du temps en présence et en absence du méthyl-parathion

Jour	0	1	2	3	4	5	6
Témoin	0	0,1121	0,1344	0,1752	0,1764	0,2268	0,2623
[Mp]= 8 ppm	0	0,0692	0,0774	0,0811	0,1074	0,1525	0,1259
[Mp]= 16 ppm	0	0,0689	0,0748	0,0809	0,0851	0,1324	0,1123
[Mp]= 32 ppm	0	0,0687	0,0758	0,0711	0,089	0,1002	0,0977
[Mp]= 48 ppm	0	0,065	0,0651	0,066	0,085	0,0978	0,0729

## APPENDICE E

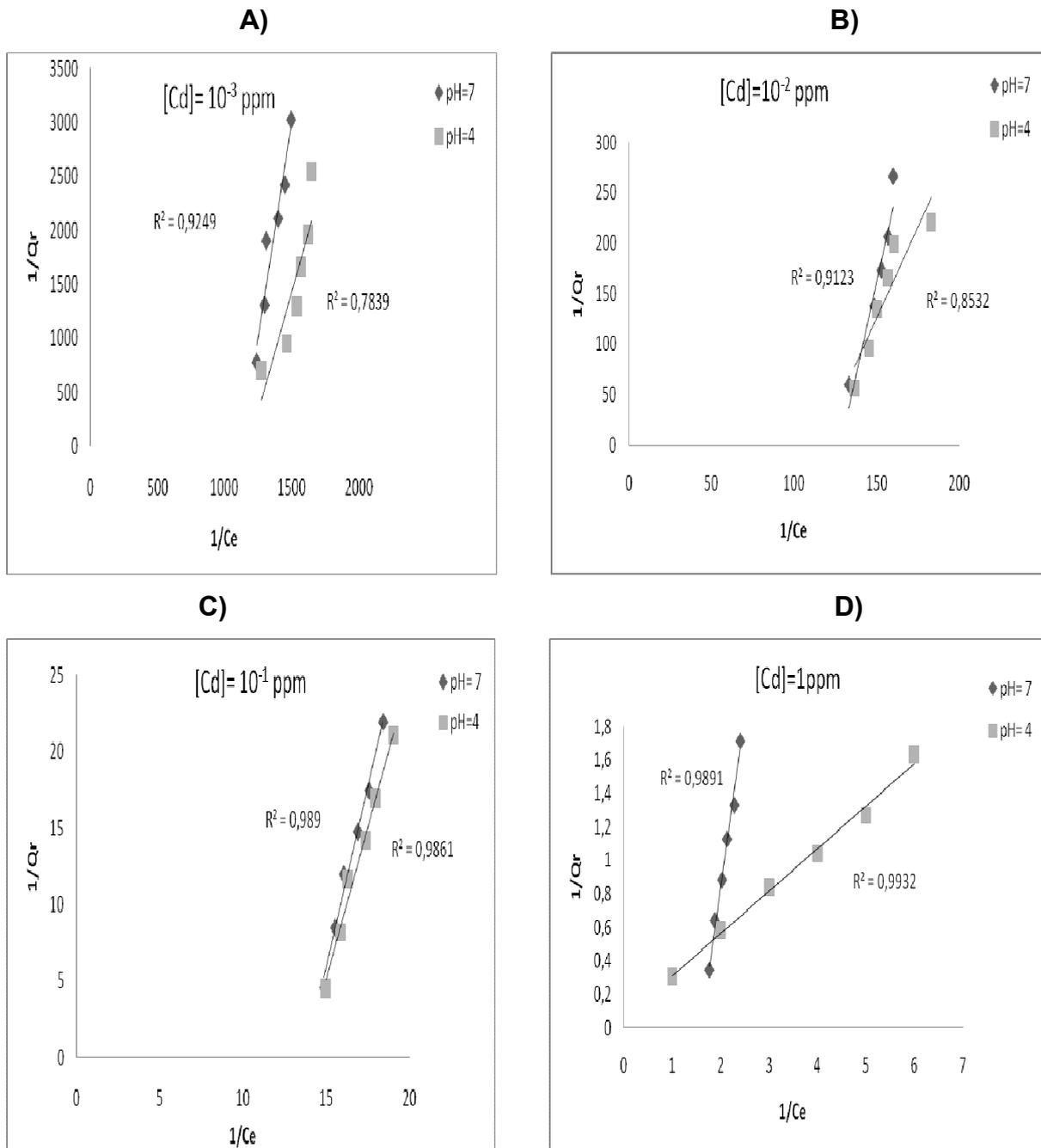


Figure E.1 : Modélisation des isothermes d'adsorption du cadmium à pH=4 et pH= 7 selon le modèle de Langmuir pour des concentrations de :  
 (A) = $10^{-3}$  ppm ; (B)=  $10^{-2}$  ppm ; (C)= $10^{-1}$  ppm et (D)=1 ppm.

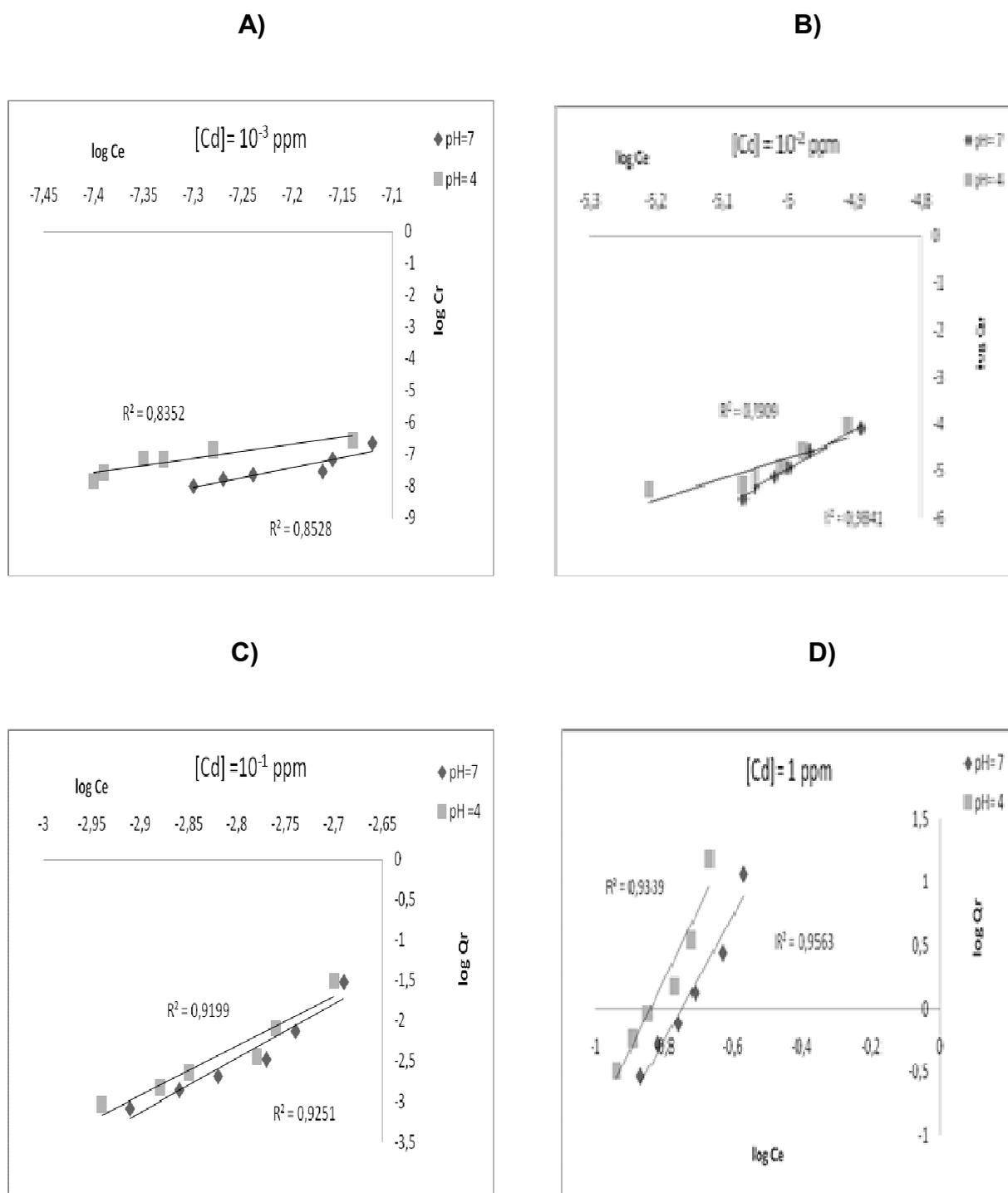


Figure E.2 : Modélisation des isothermes d'adsorption du cadmium à pH=4 et pH= 7 selon le modèle de Freundlich pour des concentrations de :  
 (A)  $=10^{-3}$  ppm ; (B)=  $10^{-2}$  ppm ; (C) $=10^{-1}$  ppm et (D) $=1$  ppm.

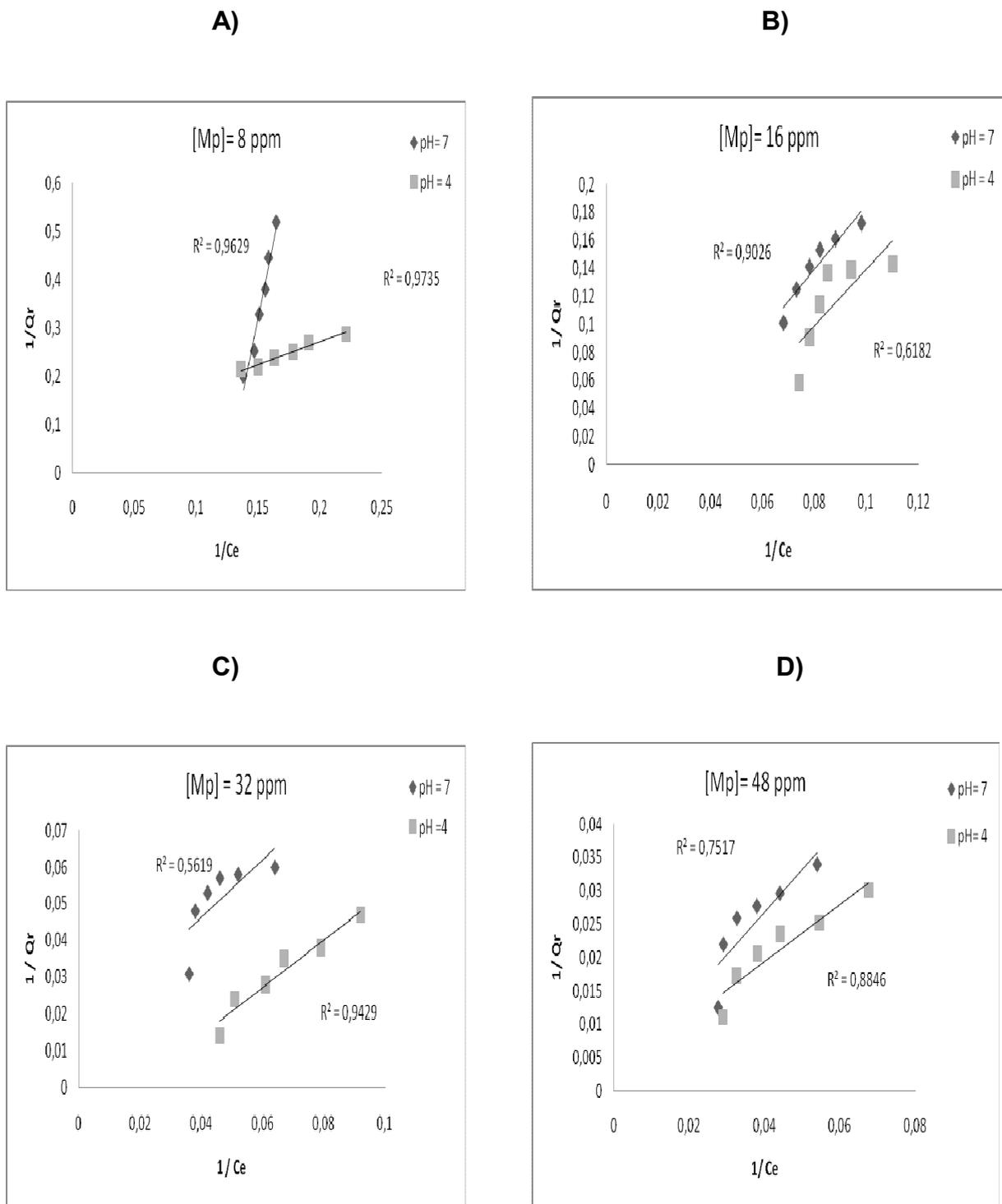


Figure E.3 : Modélisation des isothermes d'adsorption du méthyl-parathion à pH=4 et pH= 7 selon le modèle de Langmuir pour des concentrations de :  
 (A) =8 ppm ; (B)= 16 ppm ; (C)=32 ppm et (D)=48 ppm.

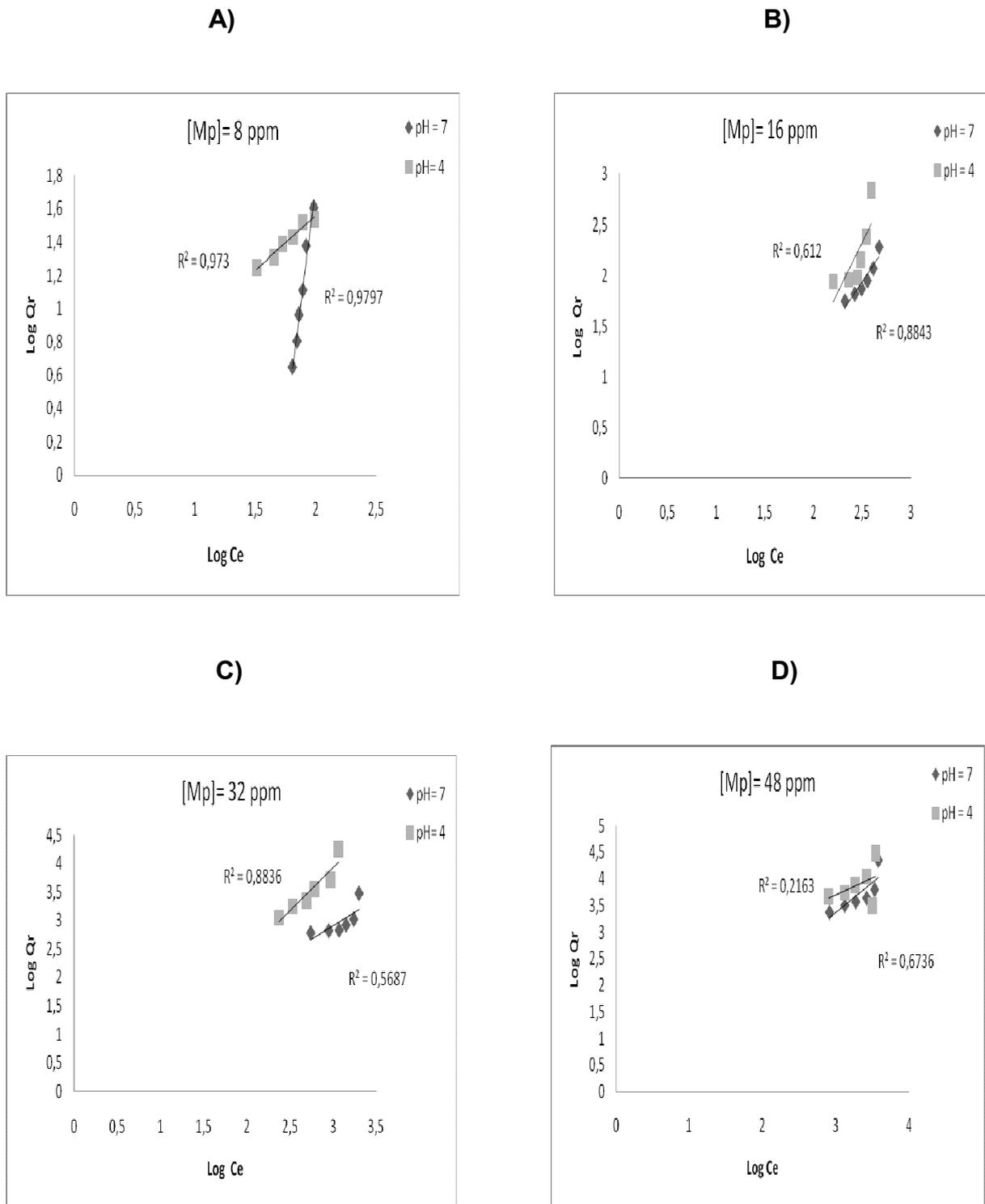


Figure E.4 : Modélisation des isothermes d'adsorption du méthyl-parathion à pH=4 et pH= 7 selon le modèle de Freundlich pour des concentrations de :  
 (A)=8 ppm ; (B)= 16 ppm ; (C)= 32 ppm et (D)= 48 ppm.

## REFERENCES

1. Aurélie, D., «Caractérisation des risques induits par les activités agricoles sur les écosystèmes aquatiques», thèse de Doctorat, Ecole nationale du génie rural des eaux et des forêts, Montpellier, (30 mars 2004).
2. François, L., Vincent, B., «Devenir et comportement des métaux dans l'eau : biodisponibilité et modèles BLM», rapport technique, paris, (2004).
3. Many, L., Barriuso, E., Gabrielle, B., «Evaluer les risques environnementaux des pesticides», Innovations agronomiques, V.3, (2008), 121-143
4. Sun, Z., Yang, J., «Photocatalytic degradation of cationic azo dye by TiO<sub>2</sub>/bentonitenanocomposite», journal of phytochemistry and photobiology chemistry, V.149, (2002), 169-174.
5. Vander Bruggen, B., Vandecasteele, C., «Removal of pollutant from surface water and groundwater by nanofiltration: overview of possible applications in the drinking water Industry», Environmental Pollution, V.122, N°3, (2003), 435-445.
6. Barriuso, E., Calvet, R., Schiavon, M., Soulas, C., «Les pesticides et les polluants organiques des sols », paris, (24 octobre 1996).
7. Saqrane, S., El ghazali, I., Oudra, B., Bouarab, L., Dekayir, S., Mandi, L., Ouzzani, N., Vasconcelos, V.M., «Detection of microcystin contamination by the measurement of the variability of the in vivo chlorophyll fluorescence in aquatic plant *Lemna gibba*», journal toxic, V.53, (2009), 9-14.
8. Stambolie, J.H., «Lenticule – une ressource potentielle de fourrage à haute valeur protéique pour les animaux domestique et les poissons», Revue N°1, V.7, (1995), 81-89.
9. Oron, P., Porath, D., «Performance of the duckweed species *Lemna gibba* on municipal wastewater for effluent renovation and protein production», Biotechnology Bioenergy, (1987), 258-268.
10. Mohan, B.S., Hosetti, B.B., «Potential phytotoxicity of lead and cadmium to *Lemna minor* grown in sewage stabilisation ponds », Environmental Pollution, V.2, (1997), 233-238.

11. Hartman, W.A., Martin, D.B., «Effect of four agricultural pesticides on *Daphnia pulex*, *Lemna minor* and *Potamogetonpectinatus*», Environmental international, V.35, (1985), 646-651.
12. Pignol, D., Coves, J., «Biodépollution, bioremediation des plantes pour nettoyer les sols et les eaux», CLEFS CEA, N° 48, (2003).
13. Ghosh, M., Singh, S., «A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its byproducts», Environmental Resource, V.3, (2005), 1-18.
14. Alkorta, I., Hernandez-Allica, J., Becerril, J.M., Amezaga, I., Albizu, I., Garbisu, C., «Recent findings on the phytoremediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead and arsenic», Environmental Science Biotechnol, V.3, ( 2004), 71-90.
15. Kirkham, M.B., «Cadmium in plants on polluted soils: Effects of soil factors, hyperaccumulation, and amendments», Geoderma, V.137, (2006), 19-32.
16. Angle, J.S., Linacre, N.A., «Metal phytoextraction-a survey of potential risks», international journal of phytoremediation, V.7, (2005), 241-254.
17. Dabouineau, L., Lamy, Y., Collas, P., «Phytoremediation et phytorestoration ou l'utilisation des plantes pour la dépollution et l'épuration des eaux usées», le rale d'eau, V.24, (2005), 8-15.
18. Aprill, W., Sims, R.C., «Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soil», Chemosphere V.20, (1990), 253-265.
19. Komárek, M., Tlustoš, P., Száková J., Chrastný, V., «The use of poplar during a two year induced phytoextraction of metals from contaminated agricultural soils», Environmental Pollution, (30 Avril 2007).
20. Turgeon, M., «Phytoremediation des composes organiques», Institut de recherche en biotechnologie, canada, (janvier 2008).
21. Chaudhry, T.M., Hayes, W.J., Khan, A.G., Khoo, C.S., «Phytoremediation-focusing on accumulator plants that remediate metal-contaminated soils », journal of ecotoxicology, V.4, (1998), 27-51.
22. Allinson, G., Nishikawa, M., De Silva, D.D., Laurenson, L.J.B., Silva, K., «Observations on metal concentration in Tilapia (*Oreochromismossambicus*) in reservoirs of South Sri Lanka », ecotoxicology and environmental, V.51, (2002), 197-202.
23. Keller, C., «Factors limiting efficiency of phytoextraction at multi-metal contaminated sites», Phytoremediation of Metal-Contaminated Soils, Earth and Environment Sciences, (2006), 241-266,

24. Sridhar, S., Victor, F., Medina C., «Phytoremédiation: An ecological solution to organic chemical contamination», *Ecological Engineering*, V.18, (2002), 647-658.
25. Bizily, S.P., Rugh, C.L., Summers, A.O., Meagher, R.B., «phytoremédiation of methyl mercury pollution» herb expression in *Arabidopsis thaliana* confers resistance to organomercurials, *proceedings of the national academy of sciences*, V.96, (1999), 6808-6813.
26. Dabouineau, L., Lamy, Y., Collas, P., «Phytoremédiation et phytorestauration ou l'utilisation des plantes pour la dépollution et l'épuration des eaux usées», (2005).
27. Benavides, M.P., Gallego, S.M., Tomaro, M.L., «Cadmium toxicity in plants», *Journal of Plant Physiology*, V.17, (2005), 21-34.
28. Krämer, U., «phytoremédiation: Novel approaches to cleaning up polluted soils», *Biotechnol*, V.2, (2005), 133-141.
29. Brown, S.L., Chaney, R.L., Angle, J.S., Baker, A.J.M., «phytoremédiation potential of *Thlaspi caerulescens* and bladder campion for zinc- and cadmium-contaminated soils», *Journal Environmental Qual*, V.23, (1994), 1151-1157.
30. Soong, V.Y., Sohn, E., «Tolerance and accumulation of lead and cadmium in transgenic plants», *Biotechnol*, V.8, (2003), 914-919.
31. Ahgle, J.S., Linacre, N.A., «Metal phytoextraction-a survey of potential risks», *international journal of phytoremédiation*, V.7, (2005), 241-254.
32. OCDE (Organisation de coopération et de développement économiques), Méthode d'essai biologique : Essai de mesure de l'inhibition de la croissance de la plante macroscopique dulcicole *Lemna minor*, environnement Canada, Ottawa (Ontario), (2007).
33. Smith, S., Kwan, M.K.H., «Use of aquatic macrophytes as a bioassay method to Assess relative toxicity, uptake kinetics and accumulated forms of trace metals», *Hydrobiologia*, V.188, (1989), 345-351.
34. Khellaf, N., Zerdaoui, M., «Phytoaccumulation of zinc by the aquatic plant, *Lemna gibba L.* », *Bioresource Technology*, V.100, (2009), 6137-6140.
35. Brix, H., «Treatment of wastewater in the rhizosphere of wetland plants- the root-zone method», *Water Science Technology*, V.19, (1987), 107-118.
36. Ben chnaya, A., Charles, G., « Phytoremédiation apport de la sélection in vitro pour l'obtention de colza (*Barrasicanapus L.*) tolérant aux métaux toxiques, *Geo-Eco-Trop*, V.30, N°2, (2006), 69-86.
37. Chaney, R.L., Brown, S.L., Homer, F.A., Malik, M., «Improving metal hyperaccumulator wild plants to commercial phytoextraction systems», Boca Raton, USA, (2000), 129-158.

38. Cherian, S., Oliveira, M.M., «Transgenic plants in phytoremediation: Recent advances and new possibilities» *environmental science and technology*, V.39, (2005), 9377-9390.
39. Blais, J.F., «Etat du développement technologique en matière d'enlèvement des métaux des effluents industriels», *Science de l'Eau*, V.12, (2000), 687-711.
40. Ramdane, A., Jacquinet, B., «Traitement et valorisation des effluents liquides industriels», Ed Lavoisier techniques et documentation, Paris, (1993).
41. Volesky, B., «Biosorption and metal», *Water Resource*, V.41, (2007), 4017-4029.
42. Zho, J., Lbanks, C.J., «Mechanism of humic acid colour removal from natural waters by fungal biomass biosorption», *Chemosphere*, V.27, (1993), 607-620.
43. O'Connell, D.W., Birkinshaw, C., O'Dwyer, T.F., «Heavy metal adsorbents prepared from the modification of cellulose», *Bioresource Technology*, V.99, (2008), 6709-6724.
44. Lin, S.H., Juang, R.S., «Adsorption of phenol and its derivatives from water using synthetic resins and low-cost natural adsorbents», *Environmental in Management*, (2008).
45. Gauthier, D., «Utilisation de biomasse résiduelle pour la décontamination d'effluents», Département de chimie et biochimie, faculté des sciences, université de Moncton, Canada, (2006).
46. Davis, T.A., Volesky, B., Mucci, A., «the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae», *Water Resource*, V.37, (2003), 4311-4330.
47. Leng, J.H., Bell, S., «Lenticule : une source potentielle de fourrage à haute valeur protéique pour les animaux domestique et les poissons », *revue N°1*, V.7, (2001), 3-13.
48. Noss, P., «Evaluer la croissance de la lentille d'eau à l'aide de Mesurim Pro : un protocole mis en œuvre pour l'étude de l'autotrophie en seconde», France, (2006).
49. Landolt, E., «Biosystematic investigations in the family of duckweeds *Lemnaceae*», Institut E.T.H, Zurich, V.12, (1986), 515-517.
50. Armstrong, W., «Treatment of lemnaceae», LMNA Corporation 1408 Northland Drive Suite 310 St, Paull, Minnesota, USA, (2001).
51. Oron, G., Porath, D., «Exécution de Jansen MH e Lemna gibba d'espèce de Lenticule d'eau déchets municipaux pour la production effluente de rénovation et de protéine», *biotechnologie et technologie biologique*, V.29, (1987), 258-268.

52. Bado, R., Hausher, R., Azouz, A., «Approche multicritère pour la sélection de plantes aquatiques au vue d'une exploitation rationnelle», Revue des sciences de l'eau, V.19, N°3, (2006), 181-197.
53. Peng, C., «Mise au point d'un outil diagnostique base sur l'utilisation de la mousse aquatique *Fontinalis antipyretica* Hedw, en culture pour l'estimation de la qualité des cours d'eau», Thèse de Doctorat université de Lille, (2003), 149-152.
54. Samecka-Cymerman, A., Kempers, A.J., Kolon, K., «Concentrations of heavy metals in aquatic bryophytes used for biomonitoring in rhyolite and trachybasalt areas: a case study with *platyphnidium rustciforme* from the Sudety Mountains», Annales Botanici Fennici, (2000), V.34, 95-104.
55. Claveri, B., Morhain, E., Mouvet, C., «A methodology for the assesement of accidental copper pollution using the aquatic moss *Rhynchostegium riparioides*», Chemosphere, V.28, (1994), 2001-2010.
56. Say, P.J., Harding, J.P.C., Whitton, B.N., «Aquatic mosses as monititor of heavy metal contamination in the river Etherow», Environmental pollution, Great Britain, V.2, (1981), 285-307.
57. Chergui, A., «Biosorption et électro-oxydation dans le traitement des effluents cyanurés», Thèse de doctorat, Ecole nationale supérieure polytechnique, Alger, (Décembre 2006).
58. Silva, R.M.P., Rodriguez, A., Montes, J.M.G., «Biosorption of chromium, copper, manganese and zinc by *Pseudomonas aeruginosa* AT18 isolated from a site contaminated with petroleum», Bioresource Technology, V.100, (2009), 1533-1538.
59. Ramdane, A., Jacquinet, B., «Traitement et valorisation des effluents liquides industriels», Ed Lavoisier techniques et documentation, Paris, (1993).
60. Choi, J., Lee, J.Y., Yang, J.S., «Biosorption of heavy metals and uranium by starfish and *Pseudomonas putida*», Journal of Hazardous Materials, V.161, (2008), 157–162.
61. Aksu, Z., «Application of biosorption for the removal of organic pollutants», review Process Biochimie, V.40, (2005), 997–1026
62. Cui, J., Zhang, L., «Metallurgical recovery of metals from electronic waste», review, Journal of Hazardous Materials, V.158, (2008), 228–256.
63. Mucci, A., «The biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae», Water Resource, V.37, (2003), 4311–4330.
64. Alexeev, A., «Analyse qualitative», Ed. Moscou, (1970).

65. Technique de l'ingénieur, traité génie des procédés, J2 730, 1-16.
66. Robert, L., Technique d'ingénieur Génie des procédés, J2 730, 2-1989.
67. Giles, O.H., D'Silva, H.P., Easton, A.J., «A general treatment and classification of the solute adsorption isotherm I. Theoretical», *Colloid and Interface science*, V. 47, N°3, (1974), 765-755.
68. Sag, Y., Kaya, A., Kutsal, T., «The simultaneous biosorption of Cu (II) and Zn on *Rhizopus arrhizus*: application of the adsorption models», *Hydrometallurgy*, V.50, N°3, (1998), 297–314.
69. Abollino, O., Aceto, M., Malandrino, M., Sarzanini, C., «Adsorption of heavy metals on Na-montmorillonite: Effect of pH and organic substances», *Water Research*, V.37, N°7, (2003), 1619–1627.
70. Adriano D.C., «Trace Metals in Terrestrial Environments Biogeochemistry, Bioavailability and Risks of Metals», Springer-Verlag, New York, Second Ed, (2001), 866.
71. Alkorta I., Hernandez-Allica J., Becerril J.M., Amezaga I., Albizu I. Garbisu C., «Recent findings on the phytoremediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead and arsenic», *Environmental Science .Biotechnology*, V.3, (2004), 71-90.
72. Raskin, I., Kumar, P.B.A.N., Dushenkov, S., Salt, D.E., «Bioconcentration of heavy metals by plants », *Biotechnol*, V.5, (1994), 285-290.
73. Koller, E., «Traitement des pollutions industrielles», Ed Dunod, Paris, (2004), 424.
74. Sanita Di Toppi, L. Gabbrielli, R., «Response to cadmium in higher plants», *Environ Exp Bot*, V.41, (1999), 105-130.
75. Baize, D., Sterckeman, T., «Of the necessity of knowledge of the natural pedogeochemical background content in the evaluation of the contamination of soils by trace elements», *Environmental*, (2001), V.264, 127-139.
76. Di benedetto, M., «Méthodes spectrométriques d'analyse et de caractérisation», Centre SPIN, Ecole de Mines de Saint-Étienne, (1997).
77. Champeau, O., « Biomarqueurs d'effets chez *C. fluminea* : du développement en laboratoire à l'application en mesocosme, thèse de doctorat, Université de Bordeaux 1, (Septembre 2005).
78. Cseh, E., «Metal permeability, transport and efflux in plants», in *Physiology and Biochemistry of Metal Toxicity and Tolerance in Plants*, (2002), 1-36.
79. Romanowska, E., «Gas exchange functions in heavy metal stressed plants», *Physiology and Biochemistry*, V.20, (2002), 257- 285.

80. Fodor, F., «Physiological responses of vascular plants to heavy metals» *Physiology and Biochemistry*, (2002), 149-177.
81. Gouia, H., Ghorbal, M.H., Meyer, C., «Effects of cadmium on activity of nitrate reductase and on other enzymes of the nitrate assimilation pathway in bean», *Plant Physiology*, V.139, (2003), 95-99.
82. Klobus, G., Burzynski, M., Buczek, J., «Heavy metals and nitrogen metabolism», *Physiology and Biochemistry*, (2002), 349 –355.
83. Chugh, I.K., Sawhney, S.K., «Effect of cadmium on activities of some enzymes of glycolysis and pentose phosphate pathway in pea», *Biology Plant*, V.42, (1999), 401-407
84. Eun, S.O., Youn, H.S., Lee, Y., «Lead disturbs microtubule organization in the root meristem of *Zea mays* », *Physiology Plant*, V.110, (2000), 357-365.
85. Gouia H., Ghorbal M.H., Meyer, C., «Effects of cadmium on activity of nitrate reductase and on other enzymes of the nitrate assimilation pathway in bean», *Journal of Physiology plant*, V.139, (2000), 95-99.
86. Hall, J.L., «Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance», *Botanic*, V.366, (2002), 1-11.
87. Clemens, S., «Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants», *Biochimie*, V.88, (2006), 1707-1719.
88. INERIS, «Cadmium et ses dérivés. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques», (2005), 60.
89. Das, P., Samantaray, S., Rout, G.R., «Studies on cadmium toxicity in plants », *A review Environmental Pollution*, V.98, (1997), 29-36.
90. Chaoui, A., Jarrar, B., El Ferjani, E., «Effects of cadmium and copper on peroxidase, NADH oxidase and IAA oxidase activities in cell wall, soluble and microsomal membrane fractions of pea roots », *Journal of Plant Physiology*, V.161, (2004), 1225-1234.
91. Baryla, A., Carrier, P., Franck, F., Coulomb, C., Sahut, C., Havaux, M., «Leaf chlorosis in oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil causes and consequences for photosynthesis and growth», *Planta*, V.212, (2001), 696-709.
92. Cosio, C., Vollenweider, P., Keller, C., « Localization and effects of cadmium in leaves of a cadmium-tolerant willow (*Salix viminalis*L.) », *Environmental*, (2005), 58, (2005), 64-74.
93. Mysliwa-Kurdziel, B., Prasad, M.N.V., Strzalka, K., «Heavy metal influence on the light phase of photosynthesis», *Physiology and Biochemistry of Metal Toxicity and Tolerance in Plants*, Netherlands, (2002), 229-255.

94. Ali, G., Srivastava, P.E., Iqbal, M., «Influence of cadmium and zinc on growth and photosynthesis of *Bacopamonnieracultivated in vitro*», *Biology Plant*, V.43, (2000), 599-601.
95. Sandalio, L.M., Dalurzo, H.C., Gomez, M., Romero-Puertas, M.C., Del Rio, L.A., «Cadmium induces changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants», *Journal Exp Bot*, V.52, (2001), 2115-2126.
96. Prasad, M.N.V., «Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants», *Environmental Botanic*, V.35, (1995), 525-545.
97. Siedlecka, A., Krupa, Z., «Functions of enzymes in heavy metal treated plants», *Physiology and Biochemistry of Metal Toxicity and Tolerance in Plants*, (2002), 303-324.
98. Benavides, M.P., Gallego, S.M., Comba, M.E., Tomaro, M.L., «Relationship between polyamines and paraquat toxicity in sunflower leaf discs», *Plant Growth Regulation*, V.31, (2000), 215-224.
99. Brita, J.F., Lebrun, M., «Plant responses to metal toxicity», *Plant biology and Pathology*, V.322, (1999), 43-54.
100. Chaignon, V., «Biodisponibilité du cuivre dans la rhizosphère de différentes plantes cultivées. Cas de sols viticoles contaminé par des fongicides», thèse de doctorat, Université d'Aix-Marseille, (2001).
101. Salt, D.E., Prince, R.C., Pickering, I.J., Raskin, I., «Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in India mustard», *journal of Plant physiology*, V.109, (1995), 1427-1433.
102. Hall, J.L., Williams, L.E., «Transition metal transporters in plants», *Journal of Experimental Botany*, V.54, (2003), 2601-2613.
103. Axelson, K.B., «Inventory of the superfamily of type ion pumps in *Arabidopsis*», *journal of Plant Physiology*, V.126, (2001), 696-706.
104. Williams, L.E., Pittman, J.K., Hall, J.L., «Emerging mechanisms for heavy metal transport in plants», *Biochemical et Biophysical*, V.1465, (2000), 104-126.
105. Thomine, S., Lelièvre, F., Debarbieux, E., Schroeder, J.I., Barbier-Brygoo, H., «At NRAMP<sub>3</sub>, a multispecific vacuolar metal transporter involved in plant responses to iron deficiency», *The Plant Journal*, V.34, (2003), 685-695.
106. Haney, C.J., Grass, G., Franke, S., Rensing, C., «New developments in the understanding of the cation diffusion facilitator family», *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, V.32, (2005), 215-226.
107. Aoun, M., «Action du cadmium sur les plantes de moutarde indienne (*Brassicajuncea L.*) néoformés à partir de couches cellulaires minces et issus de

semis. Analyses physiologiques et rôle des polyamines », Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale, (May 2009).

108. Guerinot, M.L., «The ZIP family of metal transporters», *Biochemical et Biophysical*, V.1465, (2000), 190-198.
109. Cohen, C.K., Fox, T.C., Garvin, D.F., Kochian, L.V., «The role of iron-deficiency stress responses in stimulating heavy-metal transport in plants», *Plant Physiology* V.116, (1998), 1063-1072.
110. Clemens, S., Palmgren, M.G., Krämer, U., «A long way ahead understanding and engineering plant metal accumulation», *Trends in Plant Science*, V.7, (2002), 309-315.
111. Wojcik, M., Tukiendorf, A., «Cadmium uptake, localization and detoxification in *Zeamays*», *Biologia Plantarum*, V.49, (2005), 237-245.
112. Alloway, B.J., «Soil processes and the behaviour of heavy metals», Ed Chapman and Hall, London, (1995), 11-35.
113. Foy, C.D., Chaney, R.L., White, M.C., «The physiology of metal toxicity in plants», review of plant physiology and plant Molecular Biology, V.29, (1978), 511-566.
114. Boyd, R.S., «Hyperaccumulation as a plant defensive strategy», in books R.R. Ed, plants those hyperaccumulate heavy metals, Wallingford, (1998), 181-200.
115. Ramade, F., «Ecotoxicologues», Coll Ecologie, ISBN Masson, (1992), 295.
116. Dubourguier, H.C., PETIT, D., Deram, A., «Le phytomangement élément de synthèse», Pôle de Compétence Sites et Sédiments Pollués, Edouard Delesalle, LILLE, Octobre 2001.
117. Leita, L., De Nobili, M., Cesco, S., Mondini, C., «Analysis of intercellular cadmium forms in roots and leaves of bush bean» *Journal of Plant*, V.19, (1996), 527-533.
118. Boussahel, R., «Recherche et Dosage des pesticides présents dans l'eau en vue de leur élimination», Thèse de doctorat, Université de Limoges, (2001).
119. Martin, H., Classes et modes 171 INPV «Institut National de la Protection des Végétaux », Rapport sen agricultures, Alger, (1995).
120. Gevao, B., Semple, K.T., Jones, K.C., «Bound pesticide residues in soils», review *Environnemental Pollution*, V.108, (2005), 3-14.

121. Maison de la Consommation et de l'Environnement, «Pesticides réglementation et effets sur la santé l'environnement », Edition MCE, Rennes 2003.
122. Walker, W.W., «Insecticide persistence in natural sea water as affected by salinity, temperature and sterility Washington», Environmental Protection Agency, Office of Research Development , (EPA-600/3-78-044), (1978).
123. Worthing, C.R., Hance, R.J., «The pesticide manual», 9<sup>th</sup> Ed Croydon, British Crop Protection Council, (1990).
124. Ouldsid'Ahmedouldkankou, M., «Vulnérabilité des eaux et des sols de la rive droit du fleuve Sénégal en Mauritanie: Etude en laboratoire du comportement de deux pesticides», thèse de doctorat, en chimie et microbiologie de l'eau, Université de Limoges, (Novembre 2004).
125. Hertel, R.F., «Environmental Health Criteria 145 METHYL PARATHION», Fraunhofer Institute of Toxicology and Aerosol Research, Hanover, Germany, (1993), 11-22.
126. Margoum, C., «Contribution à l'étude du devenir des produits phytosanitaires lors d'écoulements dans les fossés : caractérisation physico-chimique et hydrodynamique», Thèse de doctorat, Université Joseph Fournier, Grenoble I, (2003).
127. INPV, Institut National de la Protection des Végétaux, «Rapport sur les produits chimiques utilisés en agricultures», (1995).
128. Jawich, D., «Etude de la toxicité de pesticides vis-à-vis deux genres de levures approche cinétique et moléculaire », thèse de doctorat, Université de Saint Joseph de Beyrouth, (Novembre2006).
129. Moussauik, M., Boussahel, R., Harik, D., «Pesticide et environnement; Utilisation, Contrôle, Recherche des résidus dans l'eau et les aliments, Bulletin international de l'eau et de l'Environnement, Edeline-Eau, (1999), 5-12.
130. Sculhof, P., «Les problèmes posés par les pollutions organiques diffuses, L'exemple des pesticides», V.2, (1999), 35-36.
131. Bali, B., «Contribution à la mise au point d'une méthode d'extraction liquide – liquide d'un pesticide organochloré (DDT) dans l'eau», Mémoire de Magister, ENP Alger, 2005.
132. Ramade.F., « Caractères éco toxicologie et impacts environnemental potentiel des principaux insecticides utilisés dans lutte anti-acridienne », Ed Aupeff-Uree, Paris(1991), 179-191.
133. Journal Officiel de la R.A.D.P , Réglementant les rejets d'effluents liquides décrets exécutifs N°93-16, (1997).

134. Jaquin, N., Bittner, K., «Mesure et traitement des pesticides dans l'eau destinée à la consommation humaine», *Environnement et Technique*, N°177, (1998), 45-52.
135. Hoagland, D., Arnon, D. I., «The water cultured method for growing plants without», *soil Calif .Agric.Exp.Stn.Circ*, (1938), 347.
136. Ndangekouma, D., « Etude de la cinétique et modélisation de la biosorption de quelques métaux lourds :  $Cd^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  par la plante aquatique *Lemnagibba* », Mémoire de magister, Université de Blida, (Mai 2006).
137. Bertrand, D., Clotaire, Y.K., Blondeau, R., « $^{13}C$  NMR spectroscopic of soil humic acid recovered after incubation with some white rot fungi and actinomycets », *Ed. Soil, Biol, Biochem*, V.24, (1992), 667-673.
138. Richard, J.F., «Caractérisation de substances humiques-like, comparaison avec des substances humiques naturelles», Toulouse, (2002).
139. Smith, A.E., «A review of analytical Methods for Sulfonylurea Herbicides in Soil », *International Journal environmental Chime*, V.59, (1995), 97-106.
140. Chovelon, J.M., Dzyadevytch, S., «Monitoring of methyl parathion photodegradation using enzymatic biosensor Correlation between the photoproducts toxicity, their nature and their concentration», (2003), 287-291.
141. Olette, R., Couderchet, M., Biagianti, S., Eullaffroy, P., «Bioaccumulation et effets de pesticides sur trois plantes aquatiques: *Cabbombaquatic*, *ElodeaCanadensis*, *Lemna minor*», Université de Reims Champagne-Ardenne, France, (2008).
142. Wang, W.K.F., «The use of plants for environmental monitoring and assessment, ecotoxicology and environmental», *safety*, V.30, (1995), 289-301.
143. Ribeyre, F., Boudou, A., « Trophic chains and experimental ecosystems study of bioaccumulation and transfer processes, Aquatic Ecotoxicology: Fundamental concepts and Methodologies», *Environmental Monitoring and Assessment*, V.14, (1990), 77-87.
144. Cottenie, A., Verloo, M., Kiekens, L., Velghe, G., Camerlynck, R., «Chemical analysis of plants and soils», *Analytical and agrochemistry state university, Ghent Belgium*, (1982).
145. Ater, M., Ait ali, N., Kasmi, H., «Tolérance et accumulation du cuivre et du chrome chez deux espèces de lentilles d'eau : *Lemna minor L.* et *Lemna gibba L.*», *journal of water science*, V.19, N°1, (2006), 57-67.

146. Jianping, Li., Qingyu, Lin., Xuehong, Z., Yan, Y., «Kinetic parameters and mechanisms of the batch biosorption of Cr(VI) and Cr(III) onto *Leersiahexandra Swartz* biomass», journal of colloid and interface science, V.333, (2009), 71-77.
147. Eyeraguibel, B., «Caractérisation des substances humiques biomimétiques-effets sur les végétaux», Thèse de doctorat, Toulouse, (2004).
148. O'Brien, H.E., Parrent, J.L., Jackson, J.A., Moncalvo, JM., Vilgalys, R., «Fungal community analysis by large-scale sequencing of environmental samples», Ed Applied and Environmental Microbiology, V.71, (2005), 5544–5550.
149. Tassist, A., «Valorisation d'une biomasse mycélienne dans le traitement des eaux chargées en métaux lourds», Mémoire de Magister, ENP- Alger 2003.
150. Drazkiewicz, M., Skorzynska, E., and Krupa, Z., «Copper induced oxidative stress and antioxidant defence in Arabidopsis thaliana», Bio-Metals, V.17, (2004), 379-387
151. Taylor, G., Baird, D.J., «Surface binding of contaminants by algae: consequence for lethal toxicity and feeding to daphnia magna Straus», Environmental Toxicology and Chemistry, V.17, N°3, (1998), 412-419.
152. Carballeira, A., Lopez, L., «Physiological and statistical methods to identify background levels of metals in aquatic bryophytes-dependence and lithology», Journal of Environmental Quality, V.26, N°4, (2001), 980-988.
153. Brow, D.H., Whitehead, A., «The effect of mercury on the physiology of Rhytidiadelphus Squarrosus», Journal of Biology, V.14, (1986), 367-374
154. Vazquez, M.D., Lopez, J., Carballeira, A., «Uptake of heavy metal to the extracellular and intracellular compartment in tree species of aquatic bryophytes», Ecotoxicology and Environment Safety, V.44, (1999), 12-24.
155. Osnick, J., «Etude du potentiel d'utilisation de résidus agricoles haïtiens pour le traitement par biosorption d'effluents pollués», Thèse de doctorat, Institut national des sciences appliqués de Lyon, (17décembre 2009).
156. Collectif, «Biologie et écologie des espèces végétales proliférant en France, Synthèse bibliographique», In les études de l'Agence de l'eau N°68, (1997), 199.
157. Azam, F., Stevenson, F.J., Mulvaney, R.L., «Chemical extraction of newly immobilized N and native soil N as influenced by substrate addition rate and soil treatment», Biochemical, V. 21, N°5, (1989), 715-722.
158. Znaidi, I.A., «Etude et évaluation du compostage de différents types de matières organiques et des effets des jus de composts biologiques sur les maladies des plantes», Master of Science degré Méditerranéen organic, Tunisie, (2002).

159. Volesky, B., Advances in biosorption of Metals: Selection of biomass types; FFMS Microbiology Reviews; 14: 291-302, (1994).
160. pagnanelli, F., Papini, M.P., Toro, L., Trifoni, M., Veglio, F., «Biosorption of metal ions on *Arthrobacter Sp* Biomass characterization and biosorption modeling», Environmental Science Technology, V.34, (2000), 2773-2778.
161. Ning, F., Xue-yi, G., Liangs, S., «Kinetic and thermodynamic studies on biosorption of Cu (II) by chemically modified orange peel», Transaction of nonferrous metals society of china, V.19, (2009), 1365-1370.
162. Guzel, F., Yahut, G., «Determination of kinetic and equilibrium parameters of the batch adsorption of Mn(II), Co(II), Ni(II) and Cu(II), from aqueous solution by black carrot (*Daucuscarota L.*) Residues», journal of hazardous materials, V.153, (2008), 1275-1287.
163. Zerarka, T.C., «Méthodes spectroscopiques d'analyses chimiques», Ed, OPU, Alger, (1994).
164. Aliténor, S., « Etudes physico-chimiques d'algues et charbons actifs issus de déchets lignocellulosique de la Caraïbe et Faisabilité de leur application pour le traitement des eaux », thèse de doctorat, Université de Antilles et de Guyane, (Mars2008).
165. Calvet, R., Barriusso, E., Bedos, C., Charnay, M.P., Coquet, Y., «Les pesticides dans le sol : conséquences agronomiques et environnementales», Édition France Agricole, (2005), France.
166. Yaron, B., «General Principles of Pesticide Movement to Groundwater», Agriculture Ecosystems and Environment, V.26, (1989), 275-297.
167. Lagaly, G., «Pesticide - clay interactions and formulations», Applied Clay Science, V.18, (2001), 205-209.
168. Bouras, O., «Propriétés adsorbantes d'argiles pontées organophiles : synthèse et caractéristique», Thèse de doctorat, Université de Limoges, Paris, 2003.
169. Junga, M.W., Ahna, K.H., Leea, Y., Kimb, K.P., Rheec, J.S., Parkd, J.T., Paengb, K.J., «Adsorption characteristics of phenol and chlorophenols on granular activated carbons GAC», Microchemical Journal, V.707, (2001), 123-131.
170. Rascon, A.E., Tiemann, K.J., Dokken, K., Gamez, G., Parsons, J.G., R. Chianelli, R., Torresday, J.L., «Study of the Binding Mechanism of heavy metals

by inactivated Tissues of *SolanumElaeagnifolium*», Proceeding of the conference on Hazardous Waste research, (2000).

171. Ludvík, J., Zuman, P., «Adsorption of 1, 2, 4 triazine pesticides metamitron and metribuzin on lignin», *Microchemical Journal*, V.64, (2000), 15-20.
172. Benhima, H., Chiban, M., Sinan, F., Seat, P., Persin, M., «Removal of lead and cadmium ions from aqueous solution by adsorption onto micro-particles of dry plants, colloids and surfaces», V.61, (2008), 1-6.
173. Rifaqat, A., Moonis, A., Rehan, F., «utilization of Fennel biomass *FoeniculumVulgari* a medicinal herb for the biosorption of Cd (II) from aqueous phase», *Chemical Engineering journal*, V.156, (2001), 106-113.
174. Fourest, E., Roux, J.C., «Improvement of heavy metal biosorption by mycelial dead biomass (*Rhizopusarrhizus*, *Mucormiehei* and *Penicilliumchrysogenum*), pH control and cationic activation », *FEMS Microbiology Reviews*, V.14, (1994), 325-332.