



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE IBN KHALDOUN TIARET  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master  
académique

Option: Microbiologie Appliquée à l'Environnement

Présenté par :

**SASSI Soumaya**

**Effet du pH et du Pb sur la biosorption du BM par une biomasse  
d'*Aspergillus niger* et étude de la désorption acide.**

Date de soutenance : 21/ 06 / 2017

Devant un Jury composé de :

Président : Mr. S. KADI  
Promoteur : Mme. S. RAIS  
Co-promoteur : M<sup>lle</sup>. F. ABDELLAH

Année universitaire 2016/2017

## Résumé

Les eaux usées des industries textiles entraînent une décharge d'effluents hautement pollués et difficilement biodégradables. Leur traitement est donc une nécessité primordiale.

La biosorption devient aujourd'hui une alternative prometteuse pour remplacer ou compléter les procédés actuels d'élimination des colorants des eaux usées industrielles par l'intervention des microorganismes.

La présente étude porte sur l'utilisation d'une biomasse fongique inactivée d'*Aspergillus niger* pour l'élimination du colorant bleu de méthylène à partir d'une solution aqueuse et cela sous l'influence de quelques paramètres expérimentaux (pH, présence du plomb).

Le pH optimum obtenu est de 11. Les données d'équilibre sont bien adaptées aux modèles de Langmuir et de Freundlich mais les isothermes sont mieux décrites par le modèle de Langmuir avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,9582$  et des erreurs relatives moyennes  $ERM = 0,4\%$ . La capacité maximale de fixation ( $Q_{max}$ ) est de 90 mg/g. La présence du plomb a nettement perturbé la rétention du BM par la biomasse fongique. La biomasse est également caractérisée par FT-IR à fin de fournir plus d'informations sur les groupements fonctionnels de la surface du biosorbant. L'essai de désorption a révélé que près de 63,64% de BM adsorbé sur *A. niger* peut être désorbé en utilisant HCl à 0,1N.

**Mots clés :** *Aspergillus niger*, biosorption, bleu de méthylène, modélisation, plomb.

## Abstract

Wastewater from textile industries results in a discharge of highly polluted effluents that are hardly *biodegradable*. Their treatment is therefore a paramount necessity. Biosorption is now a promising alternative to replace or supplement existing processes for the removal of industrial wastewater dyes by microorganisms. The present study focuses on the use of an inactivated fungal biomass of *Aspergillus niger* for the removal of methylen blue dye from an aqueous solution under the influence of some experimental parameters (pH, presence of lead). The optimum pH obtained is 11. The equilibrium data are well adapted to the Langmuir and Freundlich models but the isotherms are better described by the Langmuir model with a correlation coefficient  $R^2 = 0.9582$  and an average relative errors  $ERM = 0.4\%$ . The maximum binding capacity ( $Q_{max}$ ) is 90 mg / g. The presence of lead significantly disrupted BM retention by fungal biomass. The biomass is also characterized by FT-IR in order to provide more information on the functional groups of the surface of the biosorbent.

The desorption test revealed that about 63.64% of BM adsorbed on *A. niger* can be desorbed using 0.1N HCl.

**Keywords:** *Aspergillus niger*, biosorption, methylen blue, modeling, lead.

## ملخص

تنتج مياه الصرف الصحي للصناعات النسيجية نفايات سائلة ملوثة للغاية وغير قابلة للتحلل بسهولة. معالجتها تعد ضرورة قصوى. يعد الادمصاص الحيوي اليوم بديلا واعدة لاستبدال أو استكمال الطرق القائمة لإزالة الأصباغ من مياه الصرف الصناعي وذلك عن طريق تدخل الكائنات الحية الدقيقة. تركز هذه الدراسة على استخدام الرشاشية السوداء (*Aspergillus niger*) لإزالة ازرق الميثيلين من محلول مائي، وذلك تحت تأثير بعض المعلمات التجريبية (درجة الحموضة، وجود الرصاص). اظهرت النتائج ان درجة الحموضة المثلى هي 11 وان البيانات المحصل عليها تتبع بصفة جيدة نموذج Langmuir ( $R^2 = 0.9582$  و  $ERM = 0.4\%$ ) كما ان اقصى قدرة للادمصاص ( $Q_{max}$ ) هي 90 ملغ / غ. وجود الرصاص اثر بشكل كبير في ازالة ازرق الميثيلين. خضعت *A.n* أيضا الى تحليل FT-IR من اجل توفير مزيد من المعلومات حول المجموعات الوظيفية لسطح الممتص الحيوي. كشفت تجربة الانتزاز أنه يمكن استرداد نحو 63.64% من ازرق الميثيلين باستخدام (0.1N) من حمض الهيدروكلوريك.

**الكلمات المفتاحية :** الرشاشية السوداء, الادمصاص الحيوي, ازرق الميثيلين, نماذج, الرصاص.

## **Remerciements**

*Ce travail a été réalisé conjointement au niveau des laboratoires de recherche :  
Amélioration et Valorisation des Productions Animales Locales et le laboratoire de Génie  
Physique de l'université IBN KHALDOUN, Tiaret.*

*Je tiens tout d'abord à adresser mes vifs remerciements à mon encadreur Madame **RAIS Sanaa**, enseignante à l'université de Tiaret pour avoir suivi ce travail avec un grand intérêt.*

*J'exprime également ma gratitude à Mademoiselle **ABDELLAH Fatiha**, ingénieur au niveau du laboratoire de recherche d'Amélioration et Valorisation des Productions Animales Locales, pour ses connaissances, pour ses conseils judicieux et surtout ses encouragements.*

*Monsieur **KADI Samir**, enseignant à l'université de Tiaret, qui m'a fait un grand honneur de présider le jury de ce travail. Qu'il veuille bien trouver ici mes sentiments de respect.*

*Je remercie profondément Monsieur **SASSI Mohamed**, enseignant à l'université de Tiaret, pour l'intérêt constant qu'il a porté à ce travail, pour ses orientations, son soutien moral et ses remarques fructueuses qui ont permis de mener ce travail à bon port.*

*Je tiens également à remercier Mademoiselle **Benzerouk Khadidja**, ingénieur au laboratoire de Génie Physique de l'université Ibn Khaldoun Tiaret.*

*Enfin, j'exprime ma reconnaissance à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.*

*A tous ceux qui me sont chers*

# *Sommaire*

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

▪ Introduction : .....	1
Chapitre I : Etude expérimentale : .....	4
I.1 Objectif : .....	5
I.2 Lieu et période de travail : .....	5
I.3 Matériels et méthodes : .....	6
I.3.1 Matériels : .....	6
I.3.2 Matériel biologique : .....	7
I.4 Protocole expérimental : .....	7
I.5 Méthodes : .....	9
I.5.1 Préparation des solutions de bleu de méthylène : .....	9
I.5.2 Spectrophotométrie UV-Visible : .....	9
I.5.3 Détermination de la longueur d'onde maximale : .....	10
I.5.4 Courbe d'étalonnage : .....	10
I.5.5 Effet du pH : .....	11
I.5.6 Isotherme de fixation du bleu de méthylène : .....	12
I.5.7. Caractérisation par IRTF : .....	14
I.5.8 Essai de désorption : .....	15
Chapitre II : Résultats et discussion : .....	16
II.1 Caractéristiques du biosorbant et des biosorbats : .....	17
II.1.1 Aspergillus niger : .....	17

II.1.2 Biosorbats (bleu de méthylène et plomb) : .....	17
II.2 Détermination de la longueur d'onde spécifique : .....	19
II.3 Courbe d'étalonnage : .....	19
II.4 Effet du pH : .....	20
II.4.1 Détermination du pH optimum : .....	20
II.4.2 Variation du pH initial et du pH final : .....	21
II.4.3 Etude cinétique de la variation du pH en fonction du pH initial : .....	21
II.5 Isotherme de fixation : .....	22
II.5.1 Modélisation de la biosorption : .....	23
II.5.2 Effet de la présence du plomb sur la fixation de BM : .....	25
II.6 Caractérisation par IRTF : .....	26
II.7 Essai de désorption : .....	28
▪ Conclusion : .....	30
▪ Références bibliographiques : .....	33
▪ Annexe : .....	36

## *Liste des abréviations*

**A.n** : *Aspergillus niger*

**A** : absorbance ou densité optique

**BM** : bleu de méthylène

**C<sub>e</sub>** : concentration à l'équilibre (**mg/L**)

**C<sub>i</sub>** : concentration initiale (**mg/L**)

**C** : concentration molaire de la solution (**mol/L**)

**E.R.M** : erreurs relatives moyennes (%)

**FT-IR** : Infra Rouge à Transformée de Fourier

**I<sub>0</sub>** : intensité de lumière sortante

**I** : intensité de lumière entrante

**HCL** : acide chlorhydrique

**K<sub>L</sub>** : constante relatant l'affinité entre le biosorbant et le biosorbat (**L /mg**)

**K<sub>f</sub>** : constante de Freundlich relative à la capacité d'adsorption (**L /g**)

**KBr** : bromure de potassium

**L** : longueur du trajet optique (**cm**)

**m** : la masse (**mg**)

**n** : facteur d'hétérogénéité relatif par rapport à la distribution des énergies d'adsorption

**Pb** : plomb

**PCB** : polychlorobiphényles

**pH** : potentiel hydrogène

**Q<sub>e</sub>** : quantité adsorbée à l'équilibre (**mg/g**)

**Q<sub>m</sub>** : quantité adsorbée maximale (**mg/g**)

**RL** : facteur de séparation

**R<sup>2</sup>** : coefficient de détermination (%)

**T** : transmittance (%)

**UV-Vis** : ultraviolet-visible

**V** : volume (L)

**$\epsilon$**  : coefficient d'extinction molaire (**L · mol<sup>-1</sup> · cm<sup>-1</sup>**)

## *Liste des figures*

<b>Figure 1</b> : Etapes de préparation de la biomasse <i>Aspergillus niger</i> .....	7
<b>Figure 2</b> : Protocole expérimental.....	8
<b>Figure 3</b> : Détermination de la longueur d'onde maximale du BM.....	18
<b>Figure 4</b> : Courbe d'étalonnage du BM.....	19
<b>Figure 5</b> : Effet du pH sur la quantité adsorbée du BM par <i>A.niger</i> en fonction du pH initial.....	19
<b>Figure 6</b> : Décoloration de la solution de BM après biosorption au pH optimum (11).....	20
<b>Figure 7</b> : Variation du pH final en fonction du pH initial pendant la biosorption du BM par <i>Aspergillus niger</i> .....	20
<b>Figure 8</b> : Etude cinétique du pH 11 pendant 2h.....	21
<b>Figure 9</b> : Isotherme de biosorption du bleu de méthylène par <i>Aspergillus niger</i> .....	22
<b>Figure 10</b> : Modélisation selon Langmuir et Freundlich du BM.....	23
<b>Figure 11</b> : Evolution du facteur de séparation en fonction de la concentration initiale de BM.....	24
<b>Figure 12</b> : Effet de la présence du plomb sur la fixation de BM par <i>Aspergillus niger</i> .....	25
<b>Figure 13</b> : Spectres FT-IR d' <i>Aspergillus niger</i> brute (a) après biosorption du bleu de méthylène (b) et après biosorption du bleu de méthylène en présence de Pb (c).....	27

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 1</b> : Matériels utilisés au laboratoire .....	6
<b>Tableau 2</b> : Les principales propriétés physico-chimiques du bleu de méthylène.....	17
<b>Tableau 3</b> : Caractéristiques physico-chimiques du plomb.....	17
<b>Tableau 4</b> : Paramètres du modèle de Langmuir et de Freundlich.....	23
<b>Tableau 5</b> : Bandes infrarouges observées dans les spectres FT-IR des différentes biomasses.....	26

## *Introduction*

---

Aussi vitale qu'inégalement répartie par la nature à la surface de la planète, l'eau est de plus en plus souvent évoquée comme un, voire le problème majeur du XXI<sup>e</sup> siècle. 97,5% de ce stock d'or bleu sont salés, donc impropre à la consommation.

La qualité des eaux de surface et des eaux souterraines s'est dégradée à la suite de plusieurs décennies de densification de la production industrielle. [1]

L'industrie des colorants constitue aujourd'hui un domaine capital de la chimie. Les colorants sont employés pour l'impression et la teinture des fibres textiles, des papiers, des cuirs, des fourrures, des bois, des matières plastiques et des élastomères. Ils servent aussi à préparer des peintures, des encres d'imprimerie, des vernis et, comme additifs, à colorer des produits alimentaires et pharmaceutiques. Ils sont utilisés dans l'industrie des cosmétiques, la coloration des métaux (aluminium anodisé), la photographie (sensibilisateurs), la biologie (coloration des préparations microscopiques), les indicateurs colorés, et certains d'entre eux sont employés en thérapeutique (antiseptiques, antimalariques, etc.). [2]

Ces colorants entraînent une décharge d'effluents hautement pollués et difficilement biodégradables, qui une fois évacués dans l'environnement, pose un risque important sur les écosystèmes et la santé humaine en affectant la transparence de l'eau et la solubilité des gaz dans les masses d'eau. La couleur acquise par ces dernières empêche la croissance de la vie aquatique nécessaire à l'autoépuration en réduisant la pénétration de la lumière du soleil, entraînant une réduction de l'activité photosynthétique. [3]

Un certain nombre de colorants utilisés en industrie semblent aussi être cancérigènes et mutagènes. [4]

En plus des colorants, les métaux lourds font également partie des effluents textiles. Ceux-ci sont utilisés pour améliorer la liaison du colorant avec la fibre. Les colorants peuvent réagir avec les ions métalliques pour former des substances très toxiques pour les poissons et autres espèces aquatiques. [5]

Le traitement de ces effluents est donc une nécessité primordiale. Cependant la majorité des technologies actuellement utilisées pour l'élimination des colorants reposent sur des processus physico-chimiques comme la dilution, l'adsorption, la coagulation/floculation, les précipitations chimiques, l'oxydation, l'échange d'ions, l'osmose inverse et la filtration

membranaire et dont l'inconvénient majeur est en grande partie attribué au coût élevé, qu'ils ne sont pas toujours efficaces ou qu'ils sont non respectueux pour l'environnement. [3]

Par conséquent, de nouveaux procédés ont été développés pour répondre à ce problème dont la biosorption qui devient une alternative prometteuse pour remplacer ou compléter le processus actuel d'élimination des colorants des eaux usées industrielles.

La biosorption est définie comme étant la capacité que possèdent certaines molécules ou biomasses à fixer et à concentrer quelques molécules ou ions, y compris les métaux et les colorants présents en solution.

C'est un processus qui est indépendant du métabolisme et qui utilise une biomasse morte ou vivante incluant des bactéries, des champignons, des algues, des boues etc. [6]

L'utilisation de la biomasse morte semble être plus attrayante par rapport à la biomasse vivante, car la nature toxique des ions ou des polluants ne peut avoir aucun effet sur le processus de sorption. En outre, il n'y a pas besoin d'avoir des nutriments ou de maintenir un environnement de croissance. Outre ces facteurs, des études ont également signalé que la biomasse morte est plus efficace pour adsorber les polluants organiques que la biomasse vivante. [7]

Par rapport aux autres technologies mentionnées auparavant, la biosorption est un processus écologique qui donne des performances comparables à très faible coût et qui est plus efficace à faible concentration en polluants. D'autres avantages sont également la régénération possible du biosorbant et du biosorbat et cela à faible coût.

Parmi les microorganismes utilisés, la biomasse fongique semble être un bon matériau de sorption, car elle peut être produite économiquement en utilisant des techniques de fermentation simples et des milieux de croissance économiques. La biomasse fongique est également disponible en sous-produit ou en déchets provenant de divers procédés industriels.

Son rôle dans le traitement des eaux usées a été largement étudié. Les champignons se sont révélés être un organisme approprié pour le traitement des effluents textiles et l'élimination des colorants. [8]

## *Introduction*

---

Dans cette optique, l'utilisation du champignon *Aspergillus niger* en tant que biosorbant présente un grand intérêt en raison de son efficacité, son coût accessible et son abondance.

Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à l'étude de la biosorption d'un colorant (bleu de méthylène), modèle de colorant synthétique textile, par une biomasse fongique en présence et en absence du plomb.

Cette étude est structurée en deux chapitres :

- ❖ Le premier chapitre aborde la partie matériels et méthodes, le protocole expérimental, le matériel et les réactifs employés ainsi que les méthodes expérimentales utilisées.
- ❖ Le second chapitre est consacré aux résultats obtenus.

Une conclusion générale ainsi que quelques perspectives sont présentées en fin du document.

### **I.1. Objectif :**

Ce travail est mené dans le but d'étudier la capacité de fixation du colorant (**bleu de méthylène**) à partir d'une solution aqueuse en utilisant une biomasse fongique inactivée d'*Aspergillus niger* et cela sous l'influence de quelques paramètres.

Afin de mieux comprendre le mécanisme de biosorption, la biomasse a été analysée avant et après fixation du bleu de méthylène par **spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier**.

Enfin, un essai de désorption a été réalisé afin d'obtenir des informations supplémentaires sur la nature des interactions de biosorption du bleu de méthylène à la surface de la biomasse ainsi que la détermination du rôle de la désorption pour le recyclage du biosorbant et la récupération du biosorbat.

### **I.2. Lieu et période du travail :**

Ce travail est réalisé au niveau du laboratoire de recherche : Amélioration et Valorisation des Productions Animales Locales ainsi que le laboratoire de génie physique de l'université IBN KHALDOUN, Tiaret et cela dans une période allant du 27 octobre 2016 jusqu'au 7 février 2017.

## I.3. Matériels et méthodes :

## I.3.1. Matériels :

Tableau 1 : matériels utilisés au laboratoire

<b>Appareils</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Agitateur (IKA MINI-MR) ;</li> <li>▪ Autoclave ;</li> <li>▪ Balance (DHAUS ; Pioneer) ;</li> <li>▪ Etuve ; (HERAEUS) ;</li> <li>▪ Hotte bactériologique ;</li> <li>▪ Microonde (LG iwave) ;</li> <li>▪ pH mètre ; (OHAUS ; Starter 2100) ;</li> <li>▪ Spectrophotomètre UV-Visible (SHIMADZU ; UV 1202) ;</li> <li>▪ Spectroscopie IRTF.</li> </ul>
<b>Verreries</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Bêchers ;</li> <li>▪ Boîtes de Pétri ;</li> <li>▪ Cuves ;</li> <li>▪ Entonnoirs ;</li> <li>▪ Eprouvettes graduées ;</li> <li>▪ Erlenmeyers ;</li> <li>▪ Tubes à essai ;</li> <li>▪ Verre à montre.</li> </ul>
<b>Réactifs</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ NaOH (0,1N) ;</li> <li>▪ HCL (0,1N) ;</li> <li>▪ Bleu de méthylène ;</li> <li>▪ Bromure de potassium (KBr) ;</li> <li>▪ Chlorure de plomb.</li> </ul>
<b>Milieus de culture</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Sabouraud. (voir annexe)</li> </ul>
<b>Autres</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Barreaux magnétiques ;</li> <li>▪ Micro pipettes ;</li> <li>▪ Mortier et pilon ;</li> <li>▪ Papiers filtre (110 mm) ;</li> <li>▪ Tamis (63<math>\mu</math>m).</li> </ul>

### I.3.2 Matériel biologique :

Le biosorbant utilisé pour cette étude est une biomasse fongique d'*Aspergillus niger* inactivée par la chaleur et dont le mode de préparation comprend les étapes indiquées sur la figure 1.

### I.4. Protocole expérimental :

La réalisation de ce travail a suivi le protocole expérimental indiqué sur les figures 1 et 2.

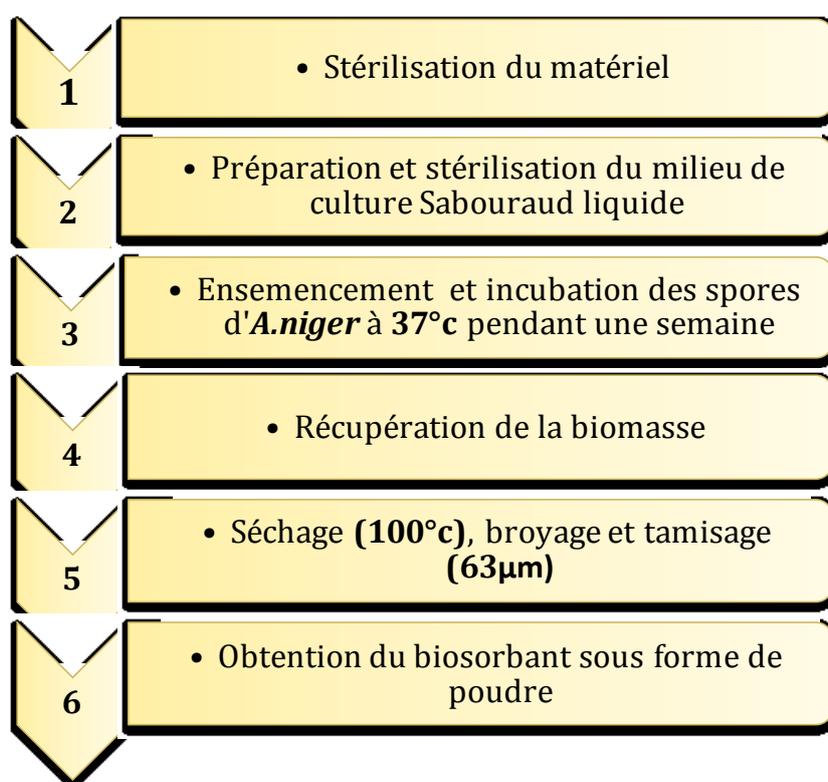


Figure 1 : Etapes de la préparation de la biomasse *Aspergillus niger*

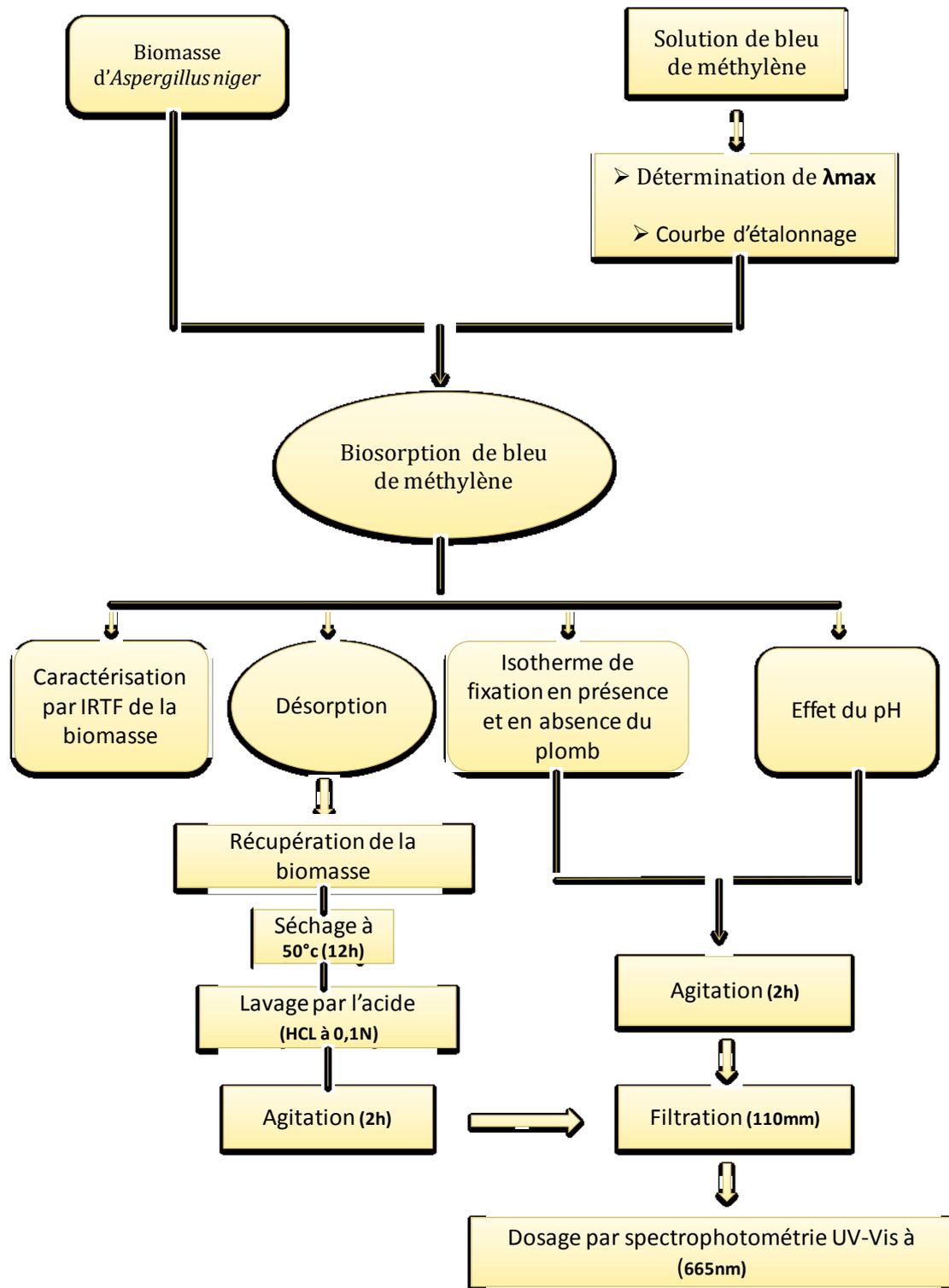


Figure 2 : Protocole expérimental

## I.5. Méthodes :

### I.5.1 Préparation des solutions de bleu de méthylène :

Pour la préparation d'une solution de bleu de méthylène à une concentration de 10 mg/L qui constitue notre solution mère, peser 1mg du colorant et le dissoudre dans 1L d'eau distillée. Les solutions filles (1 ; 3 ; 5 ; 7 et 9 mg/L) sont préparées à partir de la solution mère suivant la formule ci-dessous :

$$C_1.V_1 = C_2.V_2$$

Où :

$C_1$ : concentration de la solution mère (mg/L).

$V_1$  : volume de la solution mère (L).

$C_2$  : concentration de la solution finale (mg/L).

$V_2$  : volume de la solution finale (L).

### I.5.2 Spectrophotométrie UV-Visible :

La spectrophotométrie est l'étude des interactions entre la matière et les radiations électromagnétiques se réalisant par l'intermédiaire des photons.

Lorsqu'un faisceau monochromatique pénètre dans un milieu, les molécules constituant ce milieu peuvent absorber une partie du rayonnement.

Un spectromètre comprend une source constituée de deux lampes qui permettent un continuum d'émission sur toute la gamme de la longueur d'onde UV-visible.

- Lampe au deutérium qui émet des longueurs d'ondes de 180 à 400 nm (Domaine UV).
- Lampe au tungstène qui émet des longueurs d'ondes de 400 à 800 nm (Domaine du visible). [9]

La lumière monochromatique d'intensité  $I_0$ , traverse une cuve de verre ou de quartz où se trouve une solution de la substance absorbante. L'intensité  $I$  transmise est mesurée par un détecteur. [10]

Les spectromètres UV/visible permettent d'obtenir le spectre des composés examinés sous la forme d'un tracé de l'absorbance en fonction des longueurs d'onde. Le principe du spectrophotomètre repose sur la loi de **BEER-LAMBERT** exprimée ci-dessous :

$$A = D.O = \log (I_0/I) = \epsilon.C.L$$

- $I_0$  : intensité de lumière sortante.
- $I$  : intensité de lumière entrante.
- $A$  : l'absorbance ou densité optique.
- $\epsilon$  : coefficient d'extinction molaire ( $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ ).
- $L$  : longueur du trajet optique (cm).
- $C$  : concentration molaire de la solution (mol/L).

Cette technique apporte peu d'informations structurales, mais en revanche, elle permet beaucoup d'applications en analyse quantitatives. [9]

### I.5.3 Détermination de la longueur d'onde spécifique :

Dans le but de déterminer la longueur d'onde spécifique du bleu de méthylène, une solution de ce dernier est préparée à raison de 7 mg/L et soumise à un balayage par spectrométrie UV-Vis dans un intervalle allant de 500 jusqu'à 700 nm en augmentant de 10 nm, ensuite, de 600 à 670 nm en augmentant de 1nm à fin de cerner le maximum d'absorbance ( $\lambda_{max}$ ).

### I.5.4 Courbe d'étalonnage :

A fin d'estimer la quantité fixée du BM, il est nécessaire de tracer une courbe d'étalonnage  $DO = f(C)$  avec une gamme de témoins, dans des conditions où la loi de **Beer-Lambert** est vérifiée.

Pour cela, on mesure l'absorbance de plusieurs solutions de BM à des concentrations connues (1 ; 3 ; 5 ; 7 ; et 9 mg/L) en se plaçant à la longueur d'onde maximale déterminée.

### **I.5.5. Effet du pH :**

#### **I.5.5.1. Détermination du pH optimum :**

On prélève 20 ml de la solution mère de BM (10 mg/L) et cela à des pH différents (1 ; 3 ; 5 ; 7 ; 8 ; 9 et 11) pour chaque solution. Le pH est fixé par l'ajout de quelques gouttes de l'acide chlorhydrique (0,1N) ou de la soude (0,1N). Chaque solution est mise en contact avec 20 mg de la biomasse *Aspergillus niger*. Les solutions sont agitées pendant 2h avec une vitesse de 120 tr/min.

Le mélange de chaque solution est filtré à l'aide d'un papier filtre. Le surnageant contenant la quantité du BM non fixée est estimé par dosage spectrophotométrique pour chaque pH. La quantité fixée du BM est déterminée à partir des équations obtenues à partir de la courbe d'étalonnage. Le pH optimum est déterminé à partir de la quantité maximale adsorbée du BM par la biomasse fongique.

**Remarque :** le pH initial de la solution de BM est près de 6,95 et n'a pas été ajusté.

#### **I.5.5.2 Variation du pH final en fonction du pH initial :**

Après l'étape de filtration de chaque solution de BM aux différents pH initiaux, on mesure le pH final pour chaque essai.

#### **I.5.5.3 Etude cinétique de la variation du pH final (pH initial 11) :**

Prélever 20 ml de BM (10 mg/L) en fixant la solution au pH optimum, puis observer les variations du pH pendant 2h (1 ; 3 ; 5 ; 10 ; 15 ; 30 ; 45 ; 60 ; 90 et 120 min).

### **I.5.6. Isotherme de fixation du bleu de méthylène :**

L'analyse des données par isothermes d'adsorption est très importante pour le calcul de l'efficacité d'adsorption des systèmes adsorbants ainsi que la détermination du type de l'isotherme d'adsorption. [11]

Dans cette étude, l'isotherme de fixation de BM par la biomasse fongique a été réalisée en absence et en présence d'ions métalliques de plomb ( $Pb^{+2}$ ). Des expériences

d'adsorption ont été réalisées en mettant en contact un volume de 20 ml de BM à des concentrations connues (6 ; 10 ; 20 ; 30 ; 40 ; 50 ; 60 ; 80 et 100 mg/L) avec la même quantité de biomasse (20 mg). L'expérience est effectuée au pH optimum et à la température ambiante du laboratoire (22 °c). Chaque solution est d'abord portée à une agitation pendant 2h avec une vitesse de 120 tr/min, ensuite filtrée avec un papier filtre et dont le surnagent est estimé par la méthode spectrophotométrique.

Pour tracer l'isotherme d'adsorption, il est nécessaire de déterminer la quantité adsorbée du colorant ( $Q_e$ ) en fonction de sa concentration dans la solution à l'équilibre ( $C_e$ ).

Le bilan-matière est déterminé suivant la formule ci-dessous :

$$Q_e = (C_i - C_e) \times \frac{V}{m}$$

Où :

$Q_e$  : quantité fixée du soluté (mg/g).

$C_i$  : concentration initiale du colorant (mg/L).

$C_e$  : concentration du colorant à l'équilibre (mg/L).

$V$  : volume de la solution (L).

$m$  : masse de biosorbant (g).

Les données d'équilibre de biosorption de BM sont interprétées suivant les conditions expérimentales sélectionnées en utilisant les modèles d'isotherme d'adsorption de Langmuir et Freundlich qui sont représentés respectivement par les équations linéaires suivantes:

$$\frac{C_e}{Q_e} = \frac{1}{Q_m \cdot C_e} + \frac{1}{Q_m \cdot K_L}$$

Où :

$Q_m$  : quantité fixée maximale du soluté (mg/g).

$K_L$  : constante relatant l'affinité entre le biosorbant et le biosorbat.

$$\text{Ln } Q_e = \text{Ln } K_f + \frac{1}{n} \text{Ln } C_e$$

Où :

$K_f$ : constante de Freundlich relative à la capacité d'adsorption.

$n$  : facteur d'hétérogénéité relatif par rapport à la distribution des énergies d'adsorption ( $n$  doit être compris entre 1 et 10). [12]

### I.5.6.1. Effet de la présence du plomb :

#### Préparation de la solution mère du plomb :

Peser 53,6 mg de chlorure de plomb (II) ( $\text{PbCl}_2$ ) et le dissoudre dans 200 ml d'eau distillée avec une agitation moyenne pour une bonne homogénéisation de la solution.

Des essais d'adsorption ont été réalisés en prenant pour chaque cas 10 ml de la solution mère du plomb avec 10 ml de BM à des concentrations différentes (10 ; 20 ; 30 ; 40 ; 60 ; 80 et 100 mg/L). Mettre en contact 20 mg d'*Aspergillus niger* avec 20 ml de la solution précédente et cela pour chaque concentration. Agiter pendant 2h avec une vitesse de 120 tr/min, filtrer avec un papier filtre puis analyser le surnageant au spectrophotomètre UV-Visible.

**Remarque :** Pour éviter les précipitations du plomb, les tests de biosorption ne sont pas effectués au-delà du pH 6.

### I.5.7. Caractérisation par IRTF :

La spectrométrie infrarouge (IR) est utilisée principalement pour l'analyse qualitative d'une molécule. Elle permet de mettre en évidence la présence d'une liaison particulière. Dans le domaine infrarouge ( $\lambda > 0,8 \mu\text{m}$ ), l'absorption d'une radiation électromagnétique correspond à une transition entre des états de vibration de la molécule. On détermine les raies d'absorption en mesurant la transmission du faisceau électromagnétique par la substance étudiée, en fonction du nombre d'onde  $\sigma = 1/\lambda$ , qu'on mesure habituellement en  $\text{cm}^{-1}$  ; le domaine infrarouge prédominant est situé entre 650 et 4000  $\text{cm}^{-1}$  (2,5 et 15  $\mu\text{m}$ ). [13]

Afin de comprendre la nature chimique de la surface adsorbante, avant et après adsorption de BM en présence et en absence du plomb, *Aspergillus niger* est examinée par spectromètre infrarouge à transformée de Fourier.

Pour l'analyse FT-IR, 2 mg de biomasse (après adsorption de BM avec et sans plomb) sont mélangés avec 200 mg de KBr dans un mortier. [14]

Le mélange est d'abord broyé très finement puis versé dans une presse et étalé d'une manière homogène. L'ensemble est mis sous une pression à l'aide d'une pompe hydraulique. La formation de pastille prend 2 à 5 minutes. Au bout de ce temps, la pastille est sortie de la presse et est placée dans un support adapté au spectromètre puis analysée.

**Remarque :** 3 pastilles sont réalisées pour cette étude et une à KBr pour l'étalonnage de l'appareil.

- a- Une pastille de biomasse d'*Aspergillus niger* brute.
- b- Une pastille de biomasse d'*A. n* après adsorption de BM.
- c- Une pastille de biomasse d'*A. n* après adsorption de BM et en présence de plomb.

#### I.5.8. Essai de désorption :

Les études de désorption sont extrêmement utiles pour le recyclage de l'adsorbant et la récupération de l'adsorbat. [11] Le protocole suivant a été suivi pour récupérer le BM adsorbé :

- Préparer une solution de BM à raison de 50 mg/L en l'ajustant au pH optimum.
- Mettre en contact 100 ml de la solution de BM avec 100 mg de biomasse fongique en agitant pendant 2h avec une vitesse de 120 tr/min.
- Après filtration sur un papier filtre, le surnageant est analysé au spectrophotomètre UV-Vis.
- La biomasse est récupérée du filtre puis séchée à 50°C pendant 12 h.
- Peser la biomasse puis ajouter un volume équivalent (rapport 1) d'acide chlorhydrique (0,1N).
- Le mélange est de nouveau porté à une agitation pendant 2h puis filtré.
- Analyser l'échantillon par spectrophotométrie UV-Vis.

## II-1 Caractéristiques du biosorbant et des biosorbats :

### II-1-1 *Aspergillus niger*:

*Aspergillus* est le nom utilisé pour le genre de moisissures qui ne se reproduisent que par des moyens asexués. La morphologie des conidiophores, structure qui porte des spores asexuées, est le caractère taxonomique le plus important utilisé dans la taxonomie d'*Aspergillus*. Les espèces d'*Aspergillus* sont communes et répandues. Elles ont des rôles importants dans les écosystèmes naturels et l'économie humaine.

*Aspergillus niger* est l'une des espèces les plus communes du genre *Aspergillus* qui apparaît sous forme d'une moisissure de couleur noire. C'est un champignon filamenteux ascomycète de l'ordre des Eurotiales préférant habituellement les sols secs et chauds. Il peut être isolé dans des substrats très variés.

Actuellement, *A. niger* est utilisé pour la production d'acides organiques tels que l'acide citrique et l'acide gluconique, d'enzymes telles que l'amylase ou les lipases et de protéines hétérologues (protéine recombinante).

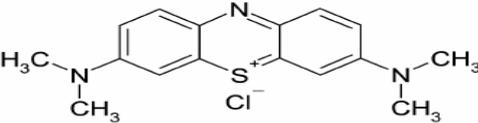
C'est un micro-organisme de choix en raison de sa stabilité génétique, de ses rendements élevés, de son aptitude à fermenter une variété de substrats bon marché et de l'absence de métabolites produits qui seraient indésirables. [15]

### II-1-2 Biosorbats:

#### II-1-2-1 Bleu de méthylène:

Le BM est une molécule organique appartenant à la famille des Xanthines. Ce colorant est choisi comme modèle représentatif des polluants organiques de taille moyenne. Le tableau 2 représente les principales propriétés physico-chimiques du colorant.

**Tableau 2** : les principales propriétés physico-chimiques du bleu de méthylène [16]

<b>Nom</b>	Bleu de méthylène (BM)
<b>Famille</b>	Colorants Basiques
<b>Formule brute</b>	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> N <sub>3</sub> SCl
<b>Appellation chimique</b>	3,7-bis-(diméthylamino) phenazathionium
<b>Masse molaire (g/mol)</b>	320 g/mol
<b>Dimensions (A°)</b>	15 (diamètre)
<b>λ<sub>max</sub></b>	665 nm
<b>Structure</b>	

**II-1-2-2 Le plomb :**

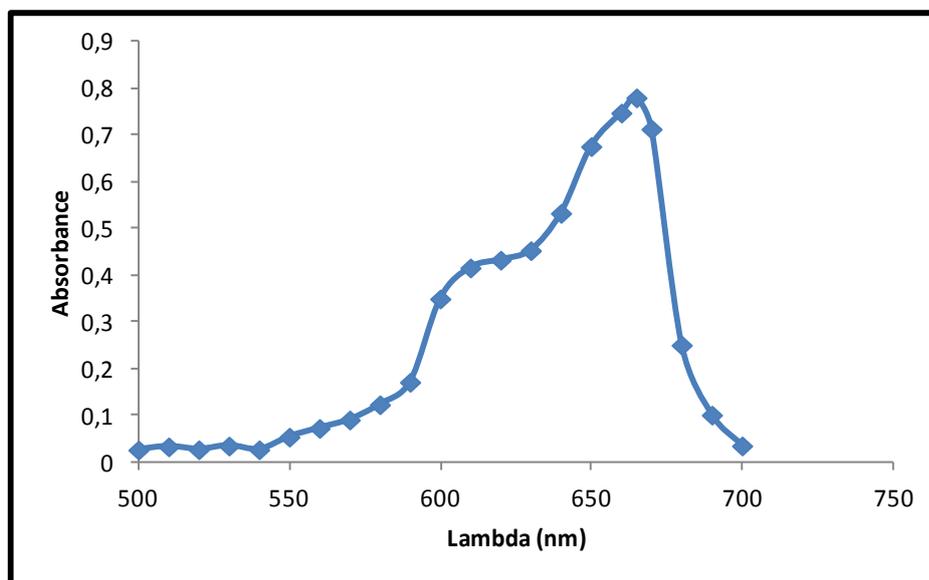
Les métaux lourds font également partie des effluents textiles. Parmi ceux le plomb. L'essentiel de ses caractéristiques physico-chimiques est mentionné dans le tableau 3.

**Tableau 3** : Caractéristiques physico-chimiques du plomb. [17]

<b>Symbole chimique</b>	Pb
<b>Numéro atomique (Z)</b>	82
<b>Masse atomique</b>	207,2
<b>Masse volumique (g.cm-3) à 20°C</b>	11,34
<b>Température de fusion °C</b>	327
<b>Température d'ébullition °C</b>	1755
<b>Densité (g.cm-3)</b>	1,34
<b>Étages d'oxydations</b>	+2 et +4
<b>Rayon de covalence (pm)</b>	147
<b>Rayon ionique (pm)</b>	120

## II -2 Détermination de la longueur d'onde spécifique :

On remarque d'après la courbe illustrée sur la **figure 3** que le maximum d'absorption (**DO = 0,78**) correspond à la longueur d'onde  $\lambda = 650 \text{ nm}$ .



**Figure 3:** Détermination de la longueur d'onde maximale du BM

## II -3 Courbe d'étalonnage :

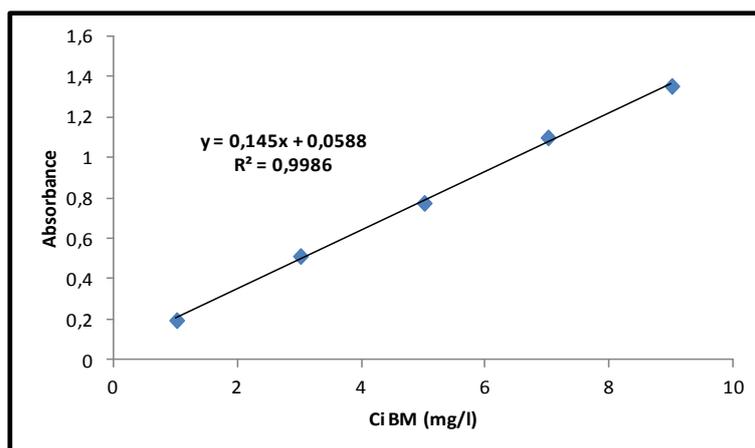
Les valeurs obtenues, montrent qu'il y a une variation linéaire entre l'absorbance et la concentration du BM avec un coefficient de corrélation égale à  $R^2 = 0,9986$  suivant l'équation suivante :

$$y = 0,145x + 0,0588$$

Où :

y : l'absorbance à  $\lambda = 650 \text{ nm}$ .

x : concentration du BM en mg/L.

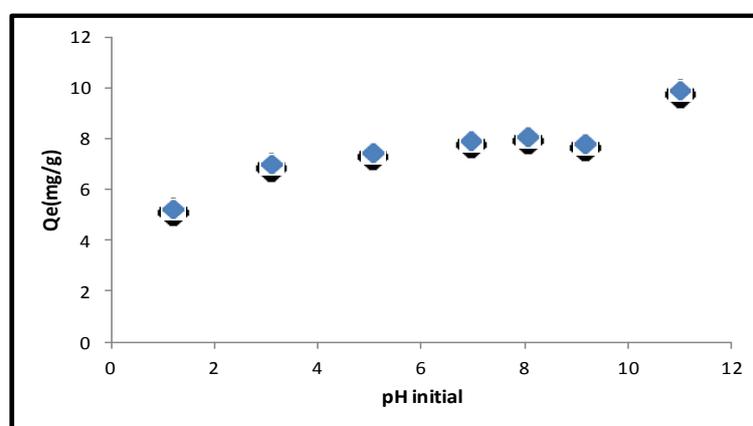


**Figure 4** : Courbe d'étalonnage du BM

## II -4 Effet du pH :

### II -4-1 Détermination du pH optimum :

La capacité de fixation du bleu de méthylène par la biomasse fongique a été étudiée sur une large gamme de pH allant de 1 jusqu'au 11.



**Figure 5** : Effet du pH sur la quantité adsorbée du BM par *A.niger* en fonction du pH initial

La figure ci dessus montre une augmentation de la quantité adsorbée de BM entre pH=1-3. Pour le domaine du pH=3-10 on remarque une stabilité de la quantité adsorbée. Cela peut être expliqué du fait qu'à des faibles valeurs du pH, la surface du biosorbant est entourée par les ions  $H^+$  ce qui diminue l'interaction des ions du bleu de méthylène (polluant cationique) avec les sites du biosorbant, par contre au pH élevé, la concentration en  $H^+$  diminue ce qui engendre une augmentation de la fixation des ions du colorant par la surface de la biomasse. [10]

On peut observer que le meilleur pourcentage d'élimination du bleu de méthylène est obtenu à la valeur du pH de 11 et la capacité de biosorption correspondante est de 9,86 mg/g.



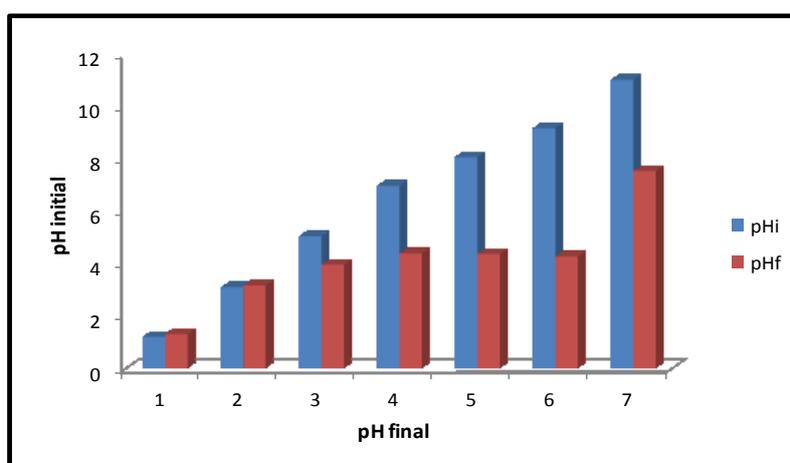
**Figure 6 :** Décoloration de la solution de BM après biosorption au pH optimum (11)

Pour vérifier si cette valeur de pH est réellement optimale, nous avons procédé à l'étude cinétique de l'effet du pH initial sur le pH final.

**Remarque :** Après avoir laissé un volume de la solution de BM pendant 2h au pH optimum de la solution (11) on remarque que cette dernière n'a pas été décolorée.

#### II -4-2 Variation du pH initial et du pH final :

Sur la figure 7, nous avons tracé l'évolution du pH final en fonction du pH initial.



**Figure 7 :** Variation du pH final en fonction du pH initial pendant la biosorption du BM par *Aspergillus niger*

On remarque que la variation du pH entre 1 et 3 après biosorption n'est pas significative. Le pH final après biosorption diminue dans la gamme de pH de 5-9 pour atteindre la valeur de 4. Pour le pH 11, le pH final est égal à 7,52. La diminution du pH final indique qu'il y a eu libération des protons par la biomasse. [18] Les biosorbants peuvent exprimer un faible effet tampon en modifiant le pH du milieu à l'occasion des échanges protoniques entre la solution et le biosorbant. [14]

### II -4-3 Etude cinétique de la variation du pH :

Une étude cinétique est réalisée au pH optimum (pH =11) afin de déterminer les variations du pH pendant l'intervalle d'étude (2h).

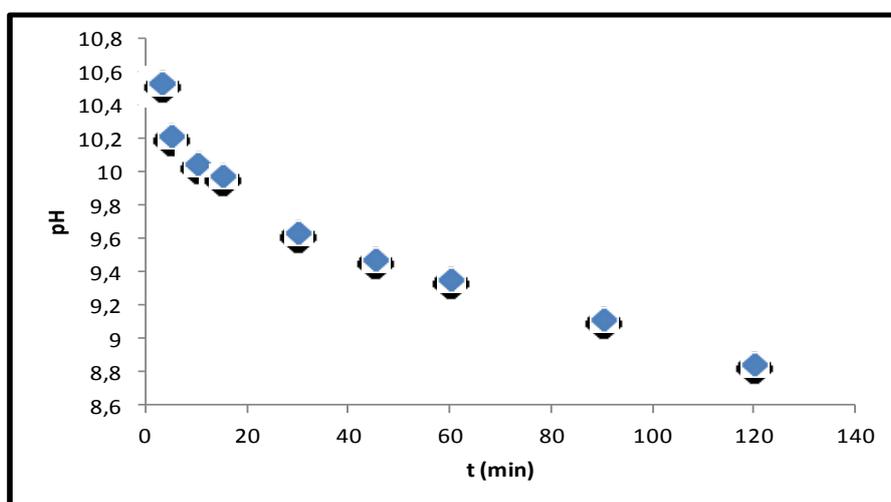


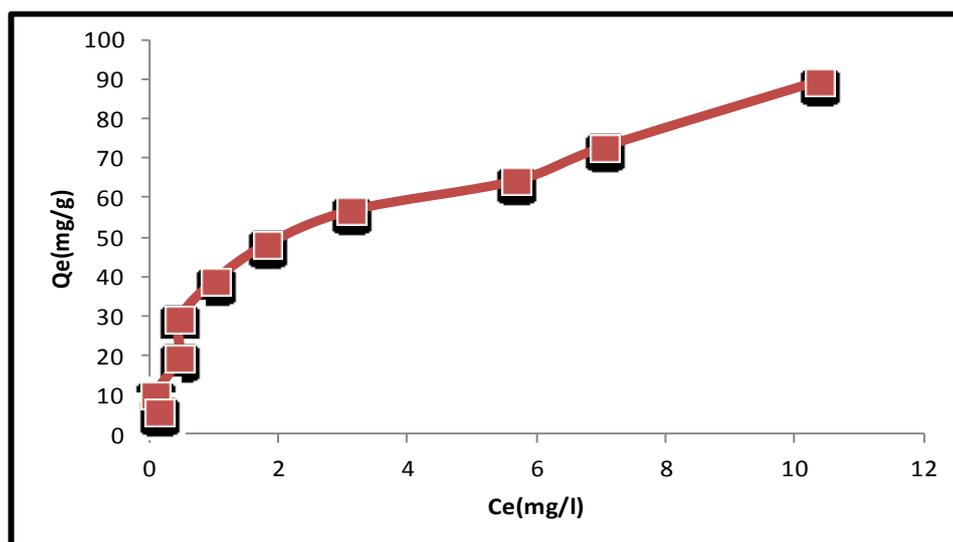
Figure 8 : Etude cinétique du pH 11 pendant 2h

D'après la figure ci-dessus on remarque que le pH diminue progressivement en fonction du temps ce qui confirme bien que le biosorbant possède un certain pouvoir tampon.

### II-5 Isotherme de fixation :

Les isothermes décrivent la relation existante à l'équilibre d'adsorption entre la quantité adsorbée et la concentration en soluté à une température constante.

Expérimentalement, on distingue quatre classes principales selon Giles (cité in [19]) nommées : **S** (Sigmoïde), **L** (Langmuir), **H** (Haute affinité) et **C** (partition Constante).



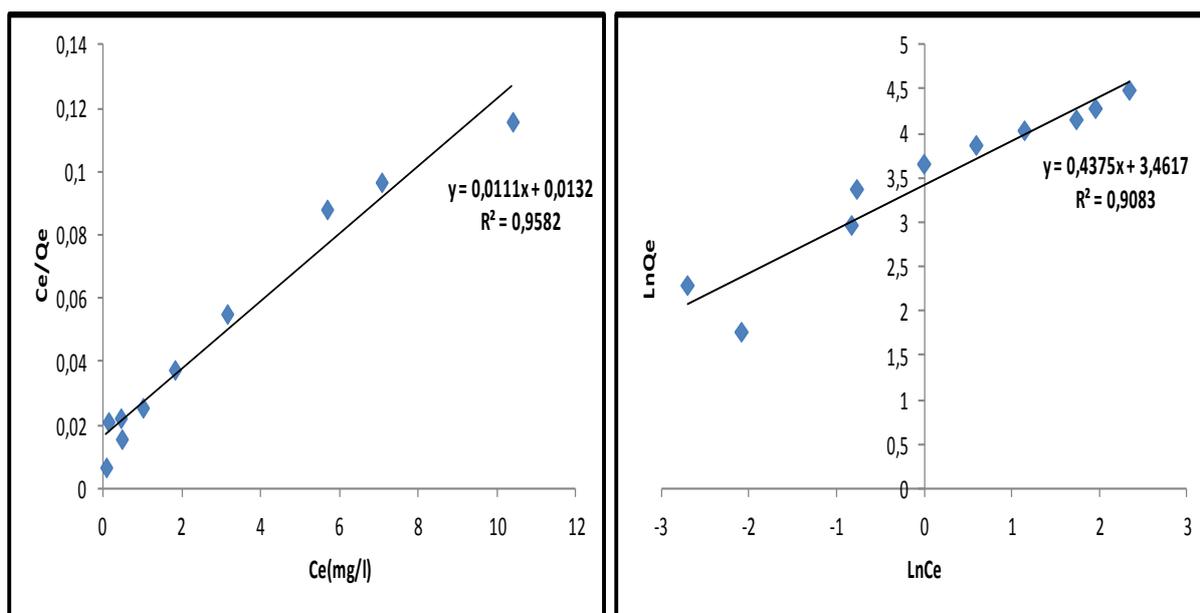
**Figure 9** : Isotherme de biosorption du bleu de méthylène par *Aspergillus niger*

En observant la **Figure 9** et en se référant à la classification de Giles, l'isotherme expérimentale obtenue est de type L. Les isothermes de classe L présentent, à faible concentration en solution, une concavité tournée vers le bas qui traduit une diminution des sites libres au fur et à mesure de la progression de l'adsorption. Ce phénomène se produit lorsque les forces d'attraction entre les molécules adsorbées sont faibles.

D'après la **figure 9**, il est possible d'observer que la quantité adsorbée à l'équilibre ( $Q_e$ ) augmente avec l'augmentation de la concentration en colorant ( $C_e$ ), ce qui est conforme aux données bibliographiques. Pour cette étude et selon les concentrations utilisées, le plateau n'est pas atteint.

### II -5-1 Modélisation de la biosorption

Pour décrire la biosorption du colorant étudié, deux modèles les plus fréquemment utilisés sont testés à savoir les modèles de Langmuir et de Freundlich. L'ensemble de leurs équations ainsi que leurs linéarisations sont citées dans la partie méthodes.



(a)

(b)

Figure 10 : Modélisation selon Langmuir (a) et Freundlich (b) du BM

A partir des équations mentionnées sur les courbes, nous pouvons déduire les paramètres relatifs à la loi de Freundlich (**n**, **k<sub>f</sub>**) et à la loi de Langmuir (**k<sub>L</sub>**, **Q<sub>m</sub>**).

Le **tableau 3** mentionne l'ensemble de ces résultats pour l'isotherme de biosorption du BM par la biomasse fongique.

Tableau 4 : Paramètres du modèle de Langmuir et de Freundlich

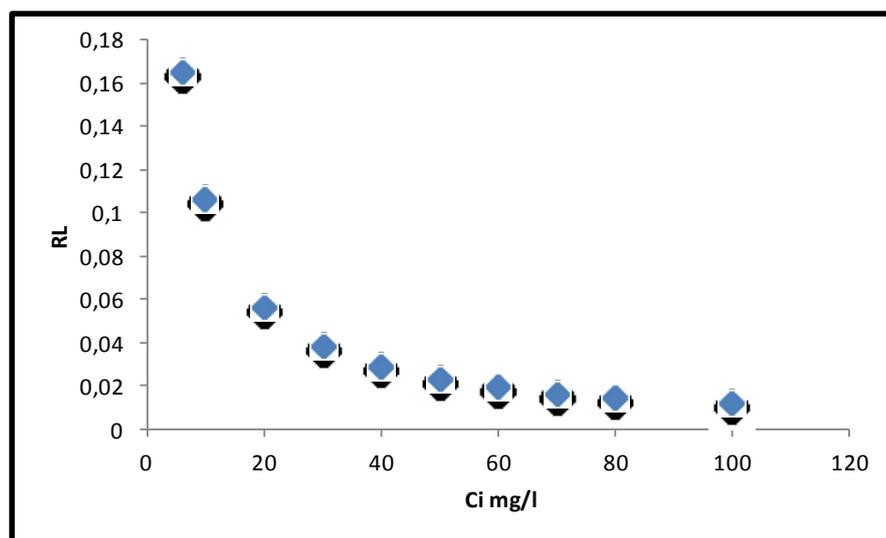
Isotherme de Langmuir				
équation	Q <sub>m</sub> (mg/g)	K <sub>L</sub>	R <sup>2</sup>	ERM (%)
y = 0,0111x + 0,0132	90,09	0,84	0,9582	0,4

Isotherme de Freundlich				
équation	n	K <sub>f</sub>	R <sup>2</sup>	ERM (%)
y = 0,4375x + 3,4617	2,28	31,87	0,9083	10

Les allures des courbes de la **figure 10** et surtout les données du **tableau 3**, montrent la possibilité d'appliquer ces deux modèles aux essais réalisées dans cette étude. Cependant, le modèle de Langmuir est le plus approprié avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,9582$ , des erreurs relatives moyennes très faibles ( $ERM = 0,4 \%$ ) et la quantité adsorbée maximale ( $Q_m$ ) = **90,09** qui est proche de celle expérimentale ( $Q_{exp}$ ) = **89,62**.

Les caractéristiques de l'isotherme de Langmuir sont également définies par le facteur de séparation  $R_L$  ( $R_L = \frac{1}{1+kl \cdot C_i}$ ). L'évolution de ce facteur en fonction de la concentration initiale du BM est représentée sur la figure 10. Les valeurs de  $R_L$  obtenues sont toutes comprises entre 0 et 1. Ceci montre que le processus de biosorption du BM par la biomasse d'*A. niger* est favorable.

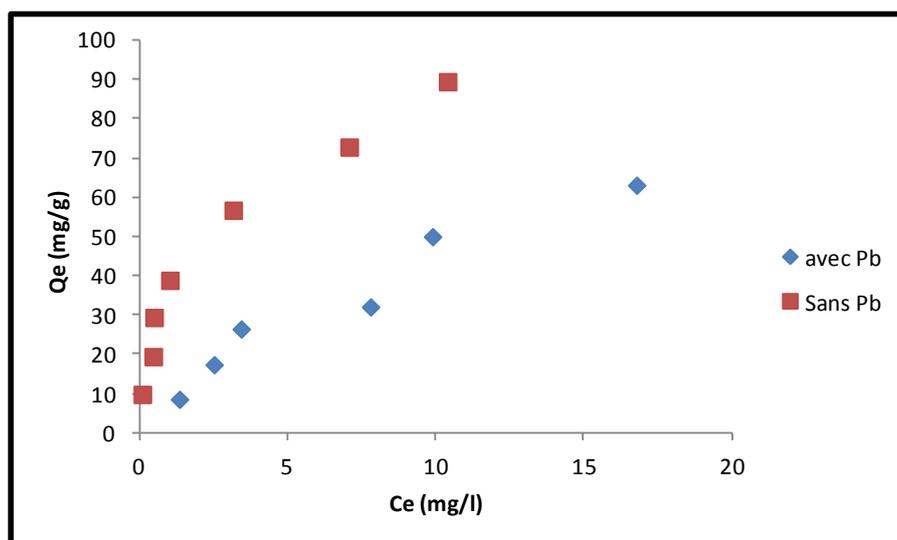


**Figure 11** : Evolution du facteur de séparation en fonction de la concentration initiale de BM.

### II -5-2 Effet de la présence du plomb sur la fixation de BM :

La présence des métaux lourds dans les eaux résiduaires des industries textiles perturbe la rétention des colorants ce qui diminue le bon traitement de ces eaux. [5]

La **figure 12** montre l'effet de la présence du Pb sur la fixation du BM.



**Figure 12 :** Effet de la présence du plomb sur la fixation de BM par *Aspergillus niger*

D'après la figure 12, la présence du plomb fait nettement diminuer la fixation du BM. Ceci peut être expliqué par la bonne affinité du plomb pour la biomasse par rapport à celle de BM. Beaucoup de travaux ont montré la bonne affinité du Plomb vis-à-vis des biomasses à cause de ses propriétés chimiques. [14]

#### II-6 Caractérisation par IRTF :

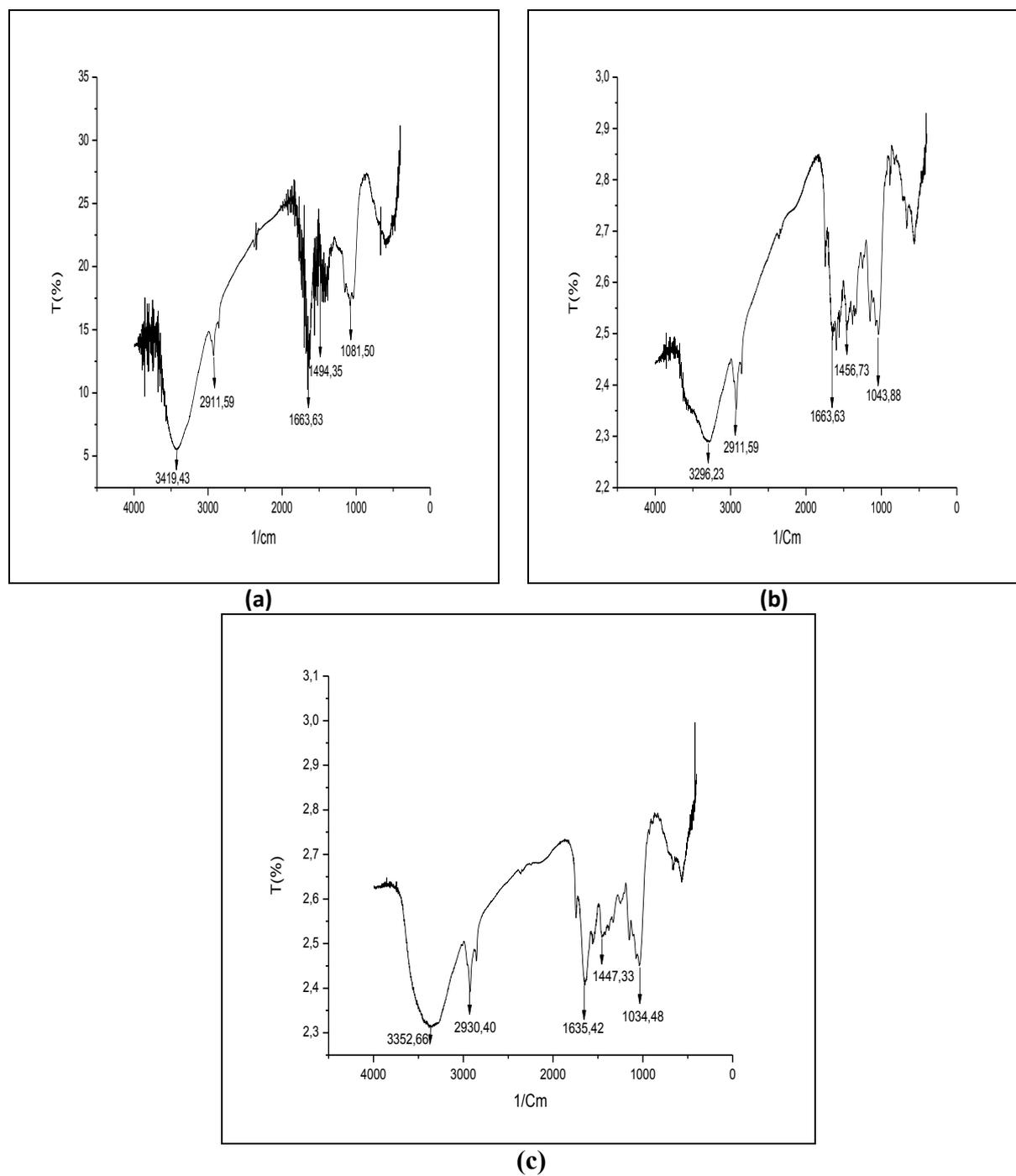
Les spectres FT-IR peuvent fournir des informations importantes sur les groupements fonctionnels de la surface du biosorbant. Les spectres d'analyse par infra rouges des différentes biomasses (Brute, après fixation du BM avec et sans Pb) sont représentés sur la **figure 13**. Les bandes les plus intenses sont reportées dans le **tableau 4**.

Dans cette étude, les résultats de la biosorption du bleu de méthylène sur la biomasse fongique d'*A. niger* sont similaires à ceux observés par Kapoor et Viraraghavan (1997) [20] sur la biosorption des métaux lourds sur la même souche de biomasse fongique. Cela pourrait suggérer que les mécanismes impliqués dans la biosorption de bleu de méthylène sont similaires à la biosorption des métaux lourds.

**Tableau 5** : Bandes infrarouges observées dans les spectres FT-IR des différentes biomasses (Brute, après fixation du BM avec et sans Pb)

Nombres d'ondes (cm-1)					
Biomasse	N-H amine	C-H alcane	C=C alcènes	C=C aromatique	C=O ester
<b>Brute (a)</b>	3419	2911	1663	1494	1081
<b>BM (b)</b>	3296	2911	1663	1456	1043
<b>BM-Pb (c)</b>	3352	2930	1635	1447	1034

Par conséquent, les groupes carboxyle et amine pourraient être les principaux sites de liaison sur la surface de la biomasse fongique pour la biosorption du BM et du Pb, alors que les groupes phosphates et la fraction lipidique sont moins susceptibles d'être les principaux sites de liaison. [21]



**Figure 13 :** Spectres FT-IR d'*Aspergillus niger* brute (a) après biosorption du bleu de méthylène (b) et après biosorption du bleu de méthylène en présence de Pb (c).

**II -7 Essai de désorption :**

La désorption est une étape importante dans la régénération de la biomasse fongique pour une réutilisation dans un processus de biosorption. Les bio-adsorbants peuvent être régénérés par des traitements avec certains produits chimiques comme des alcalis, des agents chélatants, etc. La récupération du biosorbant et du colorant rend le traitement plus économique. [14]

Ce test de désorption nous a permis d'obtenir un taux de 63,64 %. L'acide utilisé (HCL à 0,1N) apparaît comme un bon éluant.

## Conclusion

---

Les colorants sont utilisés dans de nombreux secteurs industriels. Ils ont la réputation d'être des substances toxiques et persistantes dans l'environnement. Les effluents non traités contenant ces colorants sont responsables de la dégradation de l'environnement ce qui rend leur traitement d'un grand intérêt [16]. Cependant, les structures moléculaires compliquées de ces polluants les rendent difficiles à traiter par des procédés biologiques et physico-chimiques conventionnels [18].

L'emploi d'un processus rentable et d'une méthode sûre est donc nécessaire afin de les éliminer. Parmi eux, la biosorption qui constitue aujourd'hui une technologie alternative importante. C'est dans ce cadre qu'une biomasse fongique d'*Aspergillus niger* est testée pour la biosorption du colorant bleu de méthylène à partir d'une solution aqueuse sous l'influence de certains paramètres expérimentaux.

Les résultats obtenus indiquent que le processus de biosorption dépend du pH du milieu, le pH 11 étant la valeur optimale permettant la meilleure fixation qui correspond à 9,86 mg/g. Les variations du pH final en fonction du pH initial montrent que notre biomasse possède un certain pouvoir tampon.

Les isothermes de biosorption sont mieux décrites par le modèle de Langmuir avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,9582$  et des erreurs relatives moyennes  $ERM = 0,4\%$ . La capacité maximale de fixation ( $Q_{max}$ ) est de 90 mg/g et qui est proche de celle expérimentale ( $Q_{exp} = 89,62 \text{ mg/g}$ ).

La rétention du BM est perturbée en présence des ions de plomb en raison de ses propriétés chimiques qui lui confère une meilleure affinité avec notre biomasse.

La caractérisation par FT-IR met en évidence que les groupements carboxyle et amine pourraient être les principaux sites de liaison sur la surface de la biomasse fongique pour la biosorption du BM et du Pb.

L'essai de régénération suggère que le biosorbant est capable de désorber un taux de 63,64% de BM en utilisant HCl à 0,1N

## *Conclusion*

---

On se basant sur tous les résultats, on peut conclure que la biomasse d'*Aspergillus niger* peut être utilisée comme un biosorbant efficace et alternatif pour l'élimination du BM d'une solution aqueuse en raison de sa disponibilité et de son faible coût.

Au terme de notre travail, il convient de s'interroger sur quelques perspectives de recherche. Il serait intéressant :

- D'essayer de traiter d'autres familles de colorants en utilisant cette biomasse pour voir l'efficacité du système ;
- D'appliquer le traitement sur des effluents textiles réels au niveau du laboratoire;
- De tester ce système de traitement à grand échelle ;
- D'essayer le traitement sur d'autres polluants récalcitrant comme les PCB, les phénols, les pesticides, les métaux lourds, ...

## Références bibliographiques

- [1] A. Rolland (2000). « H<sub>2</sub>O : l'étoffe de la vie ». *Science et Vie*, n° 211, p. 4.
- [2] H. Ben Mansour, O. Boughzala, D. Dridi, D. Barillier, L. Chekir-Ghedira et R. Mosrati, (2011). « Les colorants textiles sources de contamination de l'eau : Criblage de la toxicité et des méthodes de traitement ». *Revue des sciences de l'eau*, Volume 24, Numéro 3, p. 209-238.
- [3] S. Rodríguez (2009). « Dye removal by immobilised fungi ». *Biotechnology Advances*, doi:10.1016/j.biotechadv.2008.12.001.
- [4] M. SASSI, A.HADJ SAID, B. BESTANI, E.GUIBAL, M.H. MANERO. «Biosorption d'un colorant (A-BG) par une boue de laiterie». Colloque international sur la «Biosurveillance des Écosystèmes, Faculté SNV, Université Ibn-Khaldoun Tiaret, 11 et 12 mars 2012.
- [5] K.Prachi, M. Anushree. (2009). « Fungal dye decolourization: Recent advances and future potential». *Environment International*, volume 35, issue 1, p.136.
- [6] M. Sassi. (2015). «Biosorption of micropollutants by a dairy sludge ». LAMBERT Academic Publishing, Allemagne.
- [7] S. O. Lesmana, N. Febriana, F.E. Soetaredjo, J. Sunarso. S. Ismadji. (2009). « Studies on potential applications of biomass for the separation of heavy metals from water and wastewater ». *Biochemical Engineering Journal*, doi :10.1016/j.bej.2008.12.009.
- [8] N.S. Maurya, A. K. Mittal, P. Cornel, E. Rother. (2006). «Biosorption of dyes using dead macro fungi: Effect of dye structure, ionic strength and pH». *Bioresource Technology* 97 512–521.
- [9] Cl. Audigié, G. Dupont et F. Zonszain. (1982). « Principes des méthodes d'analyse biochimique ». Tome 1. Doin, Paris.

[10] K. Henni, H. Boutamra et N. Kebdi. (2007) Biosorption de deux colorants des industries textiles « A-BG et A-GRL » par une boue de laiterie. Mémoire de Master. Université Ibn khaldoun, Tiaret.

[11] N. K. Mondal, A. Samanta, S. Dutta, S. Chatteraj. (2017). « Optimization of Cr(VI) biosorption onto *Aspergillus niger* using 3-level Box-Behnken design: Equilibrium, kinetic, thermodynamic and regeneration studies ». *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgeb.2017.01.006>.

[12] K. Bousmaha, K. Braik et F.Z. Sofiane. (2015). « Etude de la biosorption d'un colorant industriel (AB-G) par une biomasse fongique ». Mémoire de Master. Université Ibn Khaldoun, Tiaret.

[13] Cl. Audigié, G. Dupont et F. Zonszain. (1982). « Principes des méthodes d'analyse biochimique ». Tome 2. Doin, Paris.

[14] M. SASSI. (2011). « Mise en œuvre d'une boue de laiterie dans l'élimination des micropolluants ». Thèse de Doctorat. Université Abdehamid Ibn badis, Mostaganem.

[15] Masayuki Machida, Katsuya Gomi. (2010). *Aspergillus : Molecular Biology and Genomics*. Caister Academic Press. Norfolk, UK.

[16] M.A. Madani. (2014). « Adsorption d'un colorant basique (Bleu de méthylène) sur différents adsorbants (charbon actif en poudre, charbon en grain et la bentonite) ». Mémoire de Master. Université Mohamed Khaider, Biskra.

[17] G. Derafa. (2014). « *Synthèse et caractérisation de montmorillonite modifiée : Application à l'adsorption des colorants cationiques* ». Mémoire de Magister. Université Farhat Abbas, Sétif.

[18] F. Yuzhu, T. Viraraghavan (2002). « Removal of Congo Red from an aqueous solution by fungus *Aspergillus niger* ». *Advances in Environmental Research*, p. 239-247.

- [19] N. Nait Merzoug. (2014). « Application des tiges de dates dans l'adsorption de polluants organiques ». Mémoire de Magister. Université Mohamed Cherif Massaadia, Souk-Ahras.
- [20] A. Kapoor, T. Viraraghavan. (1997). « Heavy metals biosorption site in *Aspergillus niger* ». *Bioresource Technology*. 61, 221-227.
- [21] F. Yuzhu, T. Viraraghavan. (2002). « Dye biosorption sites in *Aspergillus niger* ». *Bioresource Technology* 82 (2002) 139–145.

## *Annexe*

**Annexe I :** Composition du milieu de culture Sabouraud :

- 20 mg de glucose
- 10g de peptone
- 15g d'Agar-agar
- 1L d'eau distillée

**Annexe II :** formule mathématique de l'erreur relative moyenne

L'erreur relative moyenne est déterminée par la relation suivante :

$$ERM (\%) = \frac{100}{n} \sum_0^n \frac{|Q_{exp} - Q_{cal}|}{Q_{exp}}$$

Où :

$Q_{exp}$  : quantité adsorbée expérimentale.

$Q_{cal}$  : quantité adsorbée calculée.

$n$  : nombre d'échantillons.

**Annexe III :**

**Tableau 1 :** Détermination de la longueur d'onde maximale

$\lambda$ (nm)	D.O	$\lambda$ (nm)	D.O
500	0,027	650	0,6759
510	0,0338	660	0,7477
520	0,0276	661	0,7532
530	0,0355	662	0,7637
540	0,0276	663	0,7556
550	0,0546	664	0,7589
560	0,0732	665	0,7802
570	0,0913	666	0,7695
580	0,1238	667	0,7621
590	0,1719	668	0,7467
600	0,3501	669	0,7327
610	0,4164	670	0,7131
620	0,433	680	0,2511
630	0,4534	690	0,1017
640	0,5331	700	0,0358

**Tableau 2 : Courbe d'étalonnage**

<b>Ci (mg/l)</b>	<b>D.O</b>
9	1,35
7	1,0956
5	0,7721
3	0,5096
1	0,1926

**Tableau 3 : Détermination du pH optimum**

<b>Ci (mg/l)</b>	<b>Ce (mg/l)</b>	<b>D.O</b>	<b>pH<sub>i</sub></b>	<b>Qe (mg/g)</b>
10	4,817	0,7574	1,19	5,183
10	3,024	0,4974	3,08	6,976
10	2,546	0,4281	5,03	7,454
10	2,109	0,3647	6,95	7,891
10	1,924	0,3379	8,05	8,076
10	2,235	0,3829	9,15	7,765
10	0,135	0,0784	11	9,865

**Tableau 4 : Variation du pH final en fonction du pH initial**

<b>pH<sub>i</sub></b>	<b>pH<sub>f</sub></b>
1,19	1,3
3,08	3,15
5,03	3,94
6,95	4,37
8,05	4,35
9,15	4,26
11	7,52

**Tableau 5 : Etude cinétique de la variation du pH final (pH initial 11)**

<b>t (min)</b>	<b>pH</b>
3	10,54
5	10,22
10	10,05
15	9,98
30	9,64
45	9,48
60	9,36
90	9,12
120	8,85

**Tableau 6** : Isotherme de biosorption du bleu de méthylène :

$C_i$ (mg/l)	D.O	$C_e$ (mg/l)	$Q_e$ (mg/g)	$pH_f$
100	1,5646	10,38	89,62	9,32
80	1,0818	7,055	72,945	8,84
70	0,8811	5,671	64,329	9,58
60	0,5137	3,137	56,863	9,35
50	0,321	1,808	48,192	9,37
40	0,2035	0,997	39,003	9,6
30	0,126	0,463	29,537	9,91
20	0,1221	0,436	19,564	10,74
10	0,0686	0,067	9,933	9,4
6	0,0768	0,124	5,876	9,05

**Tableau 7** : Valeurs du modèle de Langmuir

$Q_e$ (mg/g)	$C_e$ (mg/l)	$C_e/Q_e$	RL	Qm	KL	Qcal	$\sum Qcal$	$\sum Qexp$
89,62	10,38	0,115822	0,011765	90,09	0,84	80,820719	455,7273	435,862
72,945	7,055	0,096717	0,014663	90,09	0,84	77,082868		ERM(%)
64,329	5,671	0,088156	0,016722	90,09	0,84	74,459253		-0,45577
56,863	3,137	0,055168	0,019455	90,09	0,84	65,306501		
48,192	1,808	0,037517	0,023256	90,09	0,84	54,321832		
39,003	0,997	0,025562	0,028902	90,09	0,84	41,060895		
29,537	0,463	0,015675	0,038168	90,09	0,84	25,226653		
19,564	0,436	0,022286	0,05618	90,09	0,84	24,149902		
9,933	0,067	0,006745	0,106383	90,09	0,84	4,8001147		
5,876	0,124	0,021103	0,165563	90,09	0,84	8,498564		

**Tableau 8** : Valeurs du modèle de Freundlich

$C_e$ (mg/l)	$Q_e$ (mg/g)	$\ln Q_e$	$\ln C_e$	$\ln kf$	1/n	$\ln Qcal$	Qcal	$\sum Qcal$	$\sum \ln Qexp$
10,38	89,62	4,495579	2,339881	3,4617	0,4375	4,4853979	88,71224	424,8898	34,94873221
7,055	72,945	4,289706	1,953737	3,4617	0,4375	4,3164598	74,92291		Qexp
5,671	64,329	4,164011	1,735365	3,4617	0,4375	4,2209224	68,09627		1,50675E+15
3,137	56,863	4,040645	1,143267	3,4617	0,4375	3,9618793	52,556		ERM (%)
1,808	48,192	3,875193	0,592221	3,4617	0,4375	3,7207968	41,29729		10
0,997	39,003	3,663639	-0,003	3,4617	0,4375	3,4603855	31,82925		
0,463	29,357	3,379531	-0,77003	3,4617	0,4375	3,1248127	22,75563		
0,436	19,564	2,973691	-0,83011	3,4617	0,4375	3,0985255	22,16525		
0,067	9,933	2,295863	-2,70306	3,4617	0,4375	2,2791101	9,767984		
0,124	5,876	1,770876	-2,08747	3,4617	0,4375	2,5484303	12,78702		

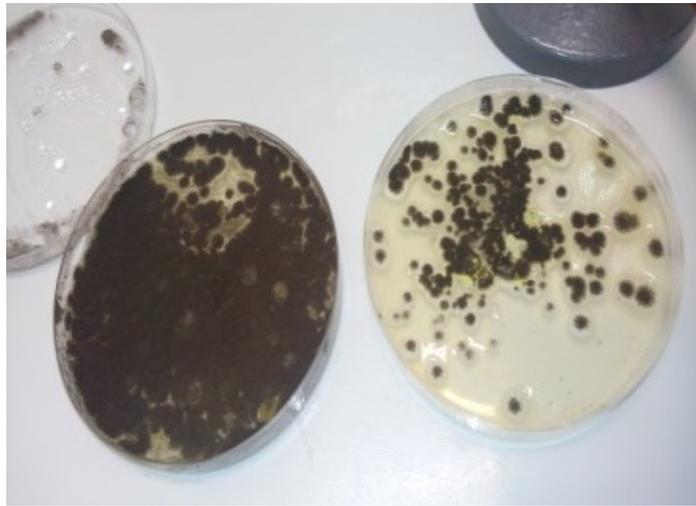
**Tableau 9** : Effet de la présence du plomb sur la fixation du bleu de méthylène

<b>Ci (mg/l)</b>	<b>D.O</b>	<b>Ce (mg/l)</b>	<b>Qe (mg/g)</b>	<b>pH<sub>i</sub></b>	<b>pH<sub>f</sub></b>
100	0,9564(x2)	12,38	87,62	5,82	4,95
80	0,8558(x4)	16,764	63,236	6	6,61
60	0,7744(x2)	9,87	50,13	5,92	6,13
40	0,6226(x2)	7,776	32,224	5,86	4,29
30	0,5527	3,406	26,594	5,77	5,69
20	0,4202	2,492	17,508	5,65	4,25
10	0,2504	1,321	8,679	5,7	4,2

#### **Annexe IV : Essai de désorption**

- Prendre 100 ml du BM à une concentration de 50 mg/l avec 100 mg de biomasse d'*Aspergillus niger*.
- Agiter pendant 2h (120 tr/min).
- Filtrer puis mesurer au spectrophotomètre la quantité non fixée : la D.O est de 0,4332, elle correspond à la concentration à l'équilibre (Ce) de 2,58 mg/l et la quantité adsorbée (Qe) est de 47,42 mg/g.
- Faire sécher la biomasse après fixation du BM, broyer puis tamiser.
- Mélanger cette biomasse avec HCl puis agiter pendant 2h. Filtrer puis mesurer la DO du filtrat (elle correspond à 17,24mg/L).
- La quantité désorbée est de :  $47,42 - 17,24 = 30,18$  mg/g, elle correspond à un taux de désorption de : 63,64%.

**Annexe V : Photos**



**Une culture d'*Aspergillus niger***



**Ensemencements des spores d'*Aspergillus niger***



**Récupération de la biomasse d'*Aspergillus niger* après séparation du jus**