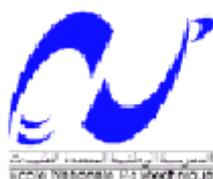


République Algérienne Démocratique Et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Ecole Nationale Supérieure Polytechnique

Département de Génie de l'Environnement

Laboratoire des Sciences et Techniques de l'Environnement

MEMOIRE DE MAGISTER

Présenté par :

M^{me} Bouras Nacéra, épouse Benchebha

Pour l'obtention du titre de Magister en Génie de l'Environnement

Option : Génie de l'Environnement

Thème

Etude de la biodégradabilité d'un insecticide

"La bifenthrine" par des souches bactériennes

Soutenu devant le jury composé de :

Mme. D. HARIK

Mme. A. HELLAL

Mlle. J. ARRAR

Mr. A. NAMANE

Mme. F. ZERROUK

Professeur, ENSP

Professeur, ENSP

Maître de conférences A, ENSP

Maître de conférences B, ENSP

Maitre assistante A, ENSA

Présidente de jury

Directrice de mémoire

Examinatrice

Examinateur

Examinatrice

Année Universitaire 2008/2009



DEDICACES

*À mes chers parents sans qui je ne serais
pas où j'en suis aujourd'hui*

À mon mari Smail ;

*Ta bienveillance, ton soutien et ta
présence à mes cotés me rendent plus
confiante et plus épanouie.*

À mes chers sœurs et frères

*À mes adorables neveux et nièces,
chacun par son nom*



Remerciements

Dieu merci pour le courage la volonté et la santé sans lesquelles mon travail n'aurait jamais pu voir la lumière de ce jour.

Mes remerciements s'adressent tout d'abord à Madame le professeur A. HELLAÏ à l'Ecole Nationale Supérieure Polytechnique (ENSP), pour l'intérêt qu'elle a porté à mon travail, ainsi que pour sa disponibilité dans tous les instants et ses nombreux et précieux conseils.

Mes respects à Madame D.HARIK, professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Polytechnique qui me fait l'honneur de présider le jury de ma soutenance.

Je remercie tout particulièrement Mademoiselle J.ARRAR, Maitre de Conférences à l'ENSP, Madame F.ZERROUK, Chargée de Cours à l'INSA et Monsieur A.NAMANE, Maitre de Conférences à l'ENSP qui ont accepté de juger mon travail.

Je tiens à remercier aussi toute personne ayant contribué à l'élaboration de ce travail, et en particulier Dalila, Hamida, Oumessaad, Assira, Leila et Ali.

Enfin, je remercie mes parents et toute ma famille qui m'a toujours soutenue, encouragée, aidée, guidée et aimée.

LISTE DES ABREVIATIONS :

CAG : Charbon Actif en Grain

CAP : Charbon Actif en Poudre

CEE : Communauté Economique Européenne

CM : Culture Mixte

CMA : Concentration Maximale Admissible

CMB : Concentration Minimale Bactéricide (mg. L^{-1})

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice (mg. L^{-1})

COD : Carbone Organique Dissous (mg.L^{-1})

COT : Carbone Organique Total (mg.L^{-1})

COT_f : Carbone Organique Total au temps final (mg.L^{-1})

COT₀ : Carbone Organique Total au temps zéro (mg.L^{-1})

DBO : Demande biochimique en oxygène (mg.L^{-1})

DBO₅ : Demande biochimique en oxygène au bout de 5 jours (mg.L^{-1})

DBO_{ultime} : Demande biochimique en oxygène ultime (mg.L^{-1})

Δ DBO : Gradient de la Demande Biochimique en Oxygène (mg.L^{-1})

DCO : Demande Chimique en Oxygène (mg.L^{-1})

DCO₀ : Demande Chimique en Oxygène au temps zéro (mg.L^{-1})

DCO₅ : Demande Chimique en Oxygène au bout de 5 jours (mg.L^{-1})

DSE : Dose Sans Effet (mg.Kg^{-1} du poids corporel)

DJA : Dose journalière admissible (mg.Kg^{-1} du poids corporel)

DO : Densité optique

DT50 : Temps de demi-vie

DTHO (DTO): Demande théorique en oxygène (mg.L^{-1})

EPA : Environmental Protection Agency

G : Temps de Génération

GUS : Groundwater Ubiquity Score

H : Constante de Henry ($\text{Pa}\cdot\text{m}^3\cdot\text{mol}^{-1}$ à une température donnée)

K_d : Coefficient de distribution dans le sol

K_{oc} : Coefficient d'adsorption relatif au taux de Carbone Organique

K_{ow} : Coefficient de partage Octanol -water

LMR : Limite Maximale de Résidu ($\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$)

Log : Logarithme Décimal

MO : Matière Organique de l'échantillon ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

n : nombre de divisions

OCDE : Organisation de la for Coopération et le Développement Economique

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PCA : Plate Count Agar

ppm : Partie par million

T : Témoin

UV : Ultra violet

X : Concentration en biomasse ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

X₀ : Concentration en biomasse au temps zéro ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

Symboles grecques

μ : Taux de croissance (h^{-1})

μ_{max} : Taux de croissance exponentielle ou maximale (h^{-1})

Sommaire

Page de garde	
Dédicaces.....	i
Remerciements.....	ii
Liste des abréviations.....	iii
Sommaire.....	iv
Listes des figures.....	viii
Listes des tableaux.....	viii
Introduction générale.....	1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. Les produits phytosanitaires.....	3
I.1.1. Définitions	3
I.1.2. Classification et mode d'action.....	3
I.1.3. Caractéristiques / chimie des pesticides.....	4
I.1.4. Intérêt de l'utilisation de pesticides en agriculture	5
I.1.5. Marché des pesticides : production et consommation.....	5
I.1.6. Situation en Algérie	6
I.1.7. Dispersion des pesticides dans l'environnement	7
I.1.7.1. Devenir dans le sol	8
I.1.7.2. Transport.....	9
I.1.7.3. Contamination des milieux aquatiques	10
I.1.8. Les pesticides, des produits hautement toxiques	12
I.1.9. Cancérogenèse	12
I.1.10. Effets sur la reproduction et le développement.....	12
I.1.11. Troubles immunitaires	13
I.1.12. Effets neurologiques	13
I.1.13. Ecotoxicité	13
I.1.13.1. Les outils de toxicité	13
I.1.14. Normes et réglementation	14
I.2. Procédés de traitement de l'eau pour l'élimination des pesticides	15
I.2.1. Procédés physicochimiques dégradatifs	15
I.2.1.1. Oxydation à l'ozone	15
I.2.1.2. Oxydation au peroxyde d'hydrogène	15
I.2.1.3. Traitement au réactif de Fenton	16
I.2.1.4. Dégradation photochimique	16

Sommaire

I.2.2. Procédés non dégradatifs.....	16
I.2.2.1. Procédés d'adsorption sur charbon actif en poudre ou en grains	16
I.2.2.2. Procédés membranaires : ultrafiltration et nanofiltration.....	17
I.2.3. Procédés de dégradation biologique	17
I.3. La bifenthrine.....	19
I.3.1. Propriétés physico-chimiques	19
I.3.2. Toxicité	20
I.3.2.1. Toxicité aiguë.....	20
I.3.2.2. Toxicité chronique	21
I.3.3. Comportement dans l'environnement	21
I.3.3.1 Air	21
I.3.3.2. Eau.....	22
I.3.3.3. Sol	23
I.4. Méthodes globales de mesure de la pollution.....	24
I.4.1. Evaluation de la pollution.....	24
I.4.2. Mesure de la demande biochimique en oxygène (DBO).....	24
I.4.2.1. Principe.....	24
I.4.2.2. Méthodes de mesure de la DBO	25
I.4.2.3. Etude du phénomène	26
I.4.2.4. Tests de "traitabilité"	26
I.4.3. Mesure de la demande chimique en oxygène (DCO).....	27
I.4.3.1. Principe	27
I.4.3.2. Méthodes de mesure de la DCO	28
I.4.3.3. Relation entre la DCO et la DBO.....	28
I.4.4. Carbone organique total COT.....	29
I.5. Activité bactérienne de dégradation des pesticides.....	29
I.5.1. La croissance microbienne.....	30
I.5.1.1. Paramètres de croissance	30
I.5.1.2. La courbe de croissance	31
I.5.2. Phénomène de résistance bactérienne.....	32
I.5.2.1. Définition de la résistance bactérienne.....	32
I.5.2.2. Résistance des bactéries aux pesticides	32
I.5.2.3. Techniques classiques de détermination de CMI et CMB	32

Chapitre II : Matériel et méthodes de travail

II.1 Matériel	35
II.1.1 Matériel biologique.....	35
II.1.1.1. Souches bactériennes.....	35
II.1.1.2. Milieux de culture.....	35
II.1.2. Dispositif expérimental.....	35
II.2 Méthodes.....	36
II.2.1. Mesure de la biomasse microbienne.....	36
II.2.2. Evaluation de la toxicité de bifenthrine sur les bactéries.....	37
II.2.3. Suivi de la croissance cellulaire par dénombrement sur milieu solide.....	37
II.2.4. Paramètres d'évaluation de la biodégradation du bifenthrine.....	38
II.2.4.1. Mesure de la demande chimique en oxygène (DCO).....	38
II.2.4.2. Mesure du carbone organique total (COT)	38
II.2.4.3. Suivi de l'activité respiratoire (ou demande biochimique en oxygène DBO).....	38

Chapitre III : Résultats et interprétations

III.1 Caractérisation des souches autochtones.....	40
III.2 Cinétique de croissance	41
III.3 Détermination de la CMI, CMB.....	44
III.4. Croissance par dénombrement en milieu minéral.....	47
III.5. Carbone Organique Total (COT).....	49
III.6. Demande Chimique En Oxygène (DCO).....	50
III.7. Demande Biochimique En Oxygène (DBO).....	53
III.7.1. Effet de l'inhibition de nitrification sur la respiration endogène.....	53
III.7.2. Activité respiratoire en présence du pesticide à 50 mg.L ⁻¹	54
III.7.3. Evolution de la DBO sans dissolution du pesticide dans l'éthanol.....	55
III.8. Suivi de l'évolution de la matière sèche.....	56
Conclusion	60

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

LISTE DES FIGURES

Fig. I.1. Répartition mondiale des produits phytosanitaires par catégorie de produits....	6
Fig. I.2. Commercialisation des pesticides en Algérie entre 1970 et 2000.....	7
Fig. I.3. Cheminement des produits phytosanitaires dans l'environnement.....	10
Fig. I.4. Formule développée de la bifenthrine.....	19
Fig. I.5. Voies de dégradation de la bifenthrine.....	23
Fig. I.6. Courbes type de DBO.....	26
Fig. I.7. Courbes types obtenues dans des tests de traitabilité.....	27
Fig. I.8. Présentation de la croissance bactérienne (multiplication).....	30
Fig. I.9. L'évolution de la croissance bactérienne en fonction du temps.....	31
Fig. I.10. Détermination d la CMI en milieu liquide.....	33
Fig. I.11. Diamètre de la zone d'inhibition de la croissance.....	33
Fig. I.12. Détermination de la concentration minimale inhibitrice de par la méthode E test.....	34
Fig. I.13. Détermination de la CMI et CMB.....	34
Fig. II.1. Dispositif expérimental N° 1.....	35
Fig. II.2. Dispositif expérimental N°2.....	36
Fig. III.1. Forme de quelques souches bactériennes étudiées après coloration de Gram.	41
Fig. III.2. Courbes de croissance pour les différentes souches en présence de bifenthrine.....	42
Fig. III.3. Diamètre d'inhibition en fonction de la concentration de bifenthrine.....	45
Fig. III.4. Zones d'inhibition de la croissance de SB5 à différentes concentrations de bifenthrine.....	46
Fig. III.5. Culture des souches SD7 et CM à différentes concentration de bifenthrine	47
Fig. III.6. Courbes de croissance des souches sélectionnées.....	48
Fig. III.7. Evolution de la DCO au cours du temps.....	52
Fig. III.8. Effet de l'inhibiteur de nitrification sur la respiration endogène.....	53
Fig. III.9. Evolution de la DBO pour les souches de SD7 et CM à 50 mg.L ⁻¹ de bifenthrine.	54
Fig. III.10. Activité respiratoire en absence de l'éthanol dans le pesticide de la souche SD7.....	55

Fig. III.11. Evolution de la biomasse bactérienne de SD7 à : (a) 25mg.L⁻¹ (b) 50 mg.L⁻¹ (c) 0,1 et 5 mg.L⁻¹ de bifenthrine.....57

Fig. III.12. Evolution de la biomasse bactérienne de la CM à :

(a) 25mg.L⁻¹ (b) 50 mg.L⁻¹ de bifenthrine.....58

LISTE DES TABLEAUX

Tab. I.1. Classification OMS des pesticides par degré de risque pour l'homme.....	14
Tab. I.2. Caractéristiques physico-chimiques de la bifenthrine.....	20
Tab. III.1. Résumé des différents critères d'identification des sept souches.....	40
Tab. III.2. Valeurs de μ_{\max} (10^{-2}) des souches bactériennes.....	43
Tab. III.3. CMI et CMB des différentes souches.....	45
Tab. III.4 : Taux de croissance maximal pour l'ensemble des cultures.....	49
Tab. III.5. Valeurs du carbone organique total (mg.L^{-1}).....	50

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Les pratiques agricoles ont pour objectif initial de permettre une production quantitativement et qualitativement optimale. Les plantes nécessitent des soins pour croître et produire et cela implique l'utilisation de produits adéquats tels que les engrais et les produits phytosanitaires, plus communément appelés pesticides. L'intensification de l'agriculture survenue après la deuxième guerre mondiale a, en effet, initié puis systématisé l'utilisation de tels intrants dans le but d'améliorer les rendements et de limiter la prolifération de parasites (mauvaises herbes, insectes, champignons,...) [1].

L'utilisation intensive de fertilisants et de produits phytosanitaires principalement par les exploitants agricoles provoque de nombreuses pollutions de milieu naturel; elle entraîne entre autre le passage de molécules indésirables dans les eaux de surface ou les eaux souterraines. Le transfert des pesticides à travers le sol et jusque dans les eaux naturelles peut avoir pour conséquence le dépassement de la concentration limite admissible légale fixée par les autorités ($0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$ par pesticide ou $0,5 \mu\text{g.L}^{-1}$ de pesticides cumulés) jusqu'à parfois entraîner l'interdiction de la consommation de l'eau par les habitants aux alentours de la zone contaminée. D'autre part les rejets issus de la manipulation de ces substances polluantes (lavage des cuves, rejets de production...) peuvent engendrer de fortes pollutions locales (de l'ordre de plusieurs dizaines de mg.L^{-1}) [1].

Face à ces problèmes récurrents, de nombreuses recherches ont été mises en œuvre, d'une part, afin de diminuer le pouvoir polluant (toxicité ou rémanence) des pesticides utilisés, et d'autre part, de traiter les eaux polluées de façon efficace.

Aujourd'hui, de nombreuses techniques existent pour traiter ces eaux chargées en pesticides. Il s'agit le plus souvent de traitements physiques (adsorption sur charbon actif) ou chimiques (procédé d'oxydation variés). Ces procédés relativement coûteux, ne sont finalement que très peu utilisés et des alternatives moins onéreuses ont été développées.

Les traitements biologiques, notamment, répondent à cette contrainte; ils sont souvent simples, bon marché et d'une bonne efficacité. Les traitements biologiques entraînent la consommation par biodégradation ou minéralisation des substances polluantes par une biomasse capable d'utiliser le pesticide comme source nutritive [2].

Notre étude concerne particulièrement l'élimination de la bifenthrine, un insecticide largement utilisé à travers le monde notamment dans les cultures de maïs, de l'orge et du blé, et il est également utilisé en Algérie pour les cultures de la pomme de terre et de quelques arbres fruitiers tels que le poirier et le pommier [3, 4].

Cette étude concerne la faisabilité du traitement d'eaux polluées par la bifenthrine en utilisant une technique biologique mettant en œuvre des souches bactériennes isolées et identifiées localement.

La première partie du manuscrit est consacrée à un aperçu général sur les pesticides dans le monde, la nécessité de leur emploi et le mode d'action ainsi que leur dispersion dans l'environnement et les conséquences pour l'homme et l'environnement.

Une deuxième partie est réservée pour donner un aperçu sur le matériel et méthodes de travail les méthodes globales de traitement de la pollution.

La troisième partie concerne la détermination de quelques paramètres liés au comportement des bactéries vis-à-vis du polluant sélectionné, tels que la CMI et la CMB ; suivie d'une étude de biodégradabilité de la bifenthrine en batch en déterminant les paramètres d'évaluation de la pollution tels que la DBO, la DCO et le COT.

CHAPITRE I

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. LES PRODUITS PHYTOSANITAIRES

I.1.1. Définitions

Plusieurs termes et expressions définissent les produits phytosanitaires. Ainsi, pesticides, produits antiparasitaires à usages agricoles, produits pour lutter contre les ennemis des cultures, produits de protection des plantes, produits agri-sanitaires, produits agropharmaceutiques, produits phytopharmaceutiques sont les autres dénominations de ce terme. Dans la suite, il sera généralement employé le terme anglais courant pesticide ou produit phytosanitaire sans aucune distinction.

Au sens de la directive 91/414/CEE, les produits phytosanitaires désignent les substances actives et les préparations contenant une ou plusieurs substances actives qui sont destinées à :

- protéger les végétaux contre tous les organismes nuisibles ou à prévenir leur action,
- exercer une action sur les processus vitaux des végétaux,
- assurer la conservation des végétaux,
- détruire les végétaux indésirables,
- détruire les parties des végétaux, freiner ou prévenir une croissance indésirable [5, 6].

Les pesticides regroupent un nombre important de molécules, aujourd'hui presque toutes de synthèse, destinées à lutter contre de nombreux groupes d'organismes (algicides, fongicides, nématicides, insecticides, rodenticides...). Ces dénominations sont trompeuses, dans la mesure où ces produits ont en général une action sur l'environnement qui dépasse largement la cible officiellement visée [7].

I.1.2. Classification et mode d'action

Les utilisations des substances actives sont nombreuses et variées mais la lutte contre les ennemis des cultures est, bien entendu, leur principale vocation [5].

Devant le nombre considérable de produits phytosanitaires (plus de 500 matières actives différentes dans près de 7000 formulations commerciales), les fabricants et utilisateurs les classent suivant la nature de l'espèce nuisible [8].

- les fongicides: servant 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. Depuis plusieurs décennies, les composés organiques représentent la part la plus importante: carbamates, triazoles et dérivés du benzène.

- les insecticides: sont destinés à détruire les insectes nuisibles. Les insecticides appartiennent à trois grandes familles chimiques: les organophosphorés, les carbamates et les pyréthrinoides de synthèse.

- les herbicides: permettent d'éliminer les mauvaises herbes.

Ils appartiennent à plus de 35 familles chimiques différentes. Les plus représentés sont les carbamates, les urées substituées, les triazines, les phytohormones et les amides.

On distingue entre autre:

- les acaricides (contre les acariens),
- les nématocides (toxiques pour les vers du groupe des nématodes),
- les rodenticides (contre les rongeurs),
- les taupicides (contre les taupes),
- les molluscicides (contre les mollusques, limaces, escargots),
- les corvicides et les corvifuges (contre les corbeaux, et tous les oiseaux ravageurs de cultures) [8].

I.1.3. Caractéristiques / chimie des pesticides

L'identité d'un produit chimique tel qu'un pesticide est donnée par ses propriétés:

- physiques (température de changement d'état, solubilités...),
- chimiques (acidité, aptitude à subir l'hydrolyse...),
- organoleptiques (couleur, goût, activité toxique).

Les caractéristiques essentielles pour étudier le devenir et le transport d'un pesticide dans l'environnement sont

- Au niveau physique :

- la pression de vapeur saturante (en unité de pression à une température donnée) renseignant sur la volatilité d'un produit et la constante associée de Henry (en $\text{Pa}\cdot\text{m}^3/\text{mol}$ à une température donnée) évaluant la répartition d'un produit entre la solution du sol et l'atmosphère,
- la solubilité (en $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ à une température donnée), dans l'eau généralement, qui est un des paramètres de la lessivabilité des pesticides,
- le coefficient de distribution dans le sol K_d , normalisé par le pourcentage massique de carbone organique pour les molécules non ionisées (K_{oc} en $\text{cm}^3\cdot\text{g}^{-1}$), utilisés respectivement, pour prévoir la répartition des pesticides entre la solution et la fraction organique insoluble du sol (K_{oc}) ou simplement entre la

solution et une masse de sol (K_d), globalement il est le paramètre évaluant la capacité d'adsorption.

- Au niveau chimique :

- les états ioniques (cationique, anionique, basique ou acide),
- les caractères hydrophiles/hydrophobes,
- la réactivité chimique, photochimique et biologique (constante de transformation de premier ordre par exemple).

Ces propriétés, combinées avec le taux de pesticide appliqué et entrant dans l'environnement peuvent déterminer la distribution des pesticides dans les différents compartiments environnementaux (sol, solution du sol, air, végétaux...) et donc leur potentialité à être transportés le long de chaque voie de transport (atmosphère, eau superficielle...) [5, 6].

I.1.4. Intérêt de l'utilisation de pesticides en agriculture

Toutes les productions agricoles destinées à l'alimentation humaine ou animale ont besoin d'être protégées contre des maladies, notamment fongiques, et contre les attaques de ravageurs de tout genre ou encore contre la compétition des adventices. Les pertes en rendement des productions agricoles dues aux maladies, aux ravageurs et aux adventices peuvent atteindre des proportions importantes, jusqu'à 48% dans certaines parties dans le monde comme l'Afrique, l'Amérique du sud ou l'Asie. Depuis la fin de la seconde guerre mondiale, avec l'introduction du DDT suivie rapidement d'autres organochlorés, des organophosphorés et des premiers herbicides de type hormone, les dégâts ont été diminués de manière significative [9].

I.1.5. Marché des pesticides : production et consommation

La production mondiale de produits phytosanitaires a connu une croissance considérable depuis la fin de la deuxième guerre mondiale. Une tendance au ralentissement s'est observée depuis les années 1990 dans les pays développés ; elle est liée en partie à la découverte de substances plus efficaces nécessitant donc des quantités épandues plus faibles, à la mise en œuvre, à l'évolution de la réglementation et à l'interdiction de certaines substances (cas des insecticides organochlorés dans la plupart des pays développés) [8].

La figure I.1 présente, au niveau mondial en 2002, la répartition des différentes familles de produits phytosanitaires [9].

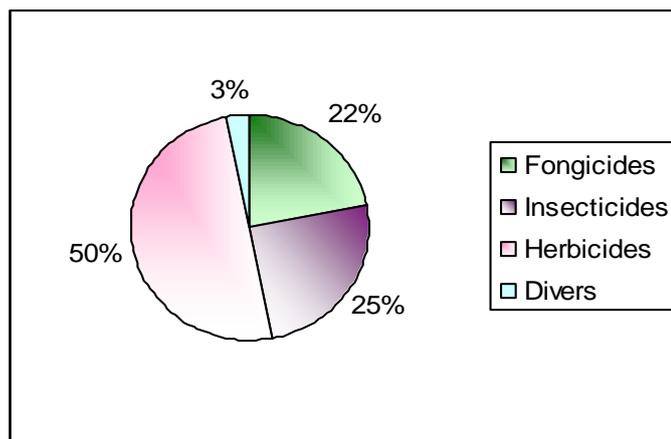


Fig. I.1. Répartition mondiale des produits phytosanitaires par catégorie de produits [9].

Les herbicides sont les pesticides les plus utilisés dans le monde sur toutes les cultures confondues (50 % du tonnage mondial en 2002), suivis des insecticides avec un taux de 25 % et enfin des fongicides avec 22% [9].

Notons que le marché européen est le 2^{ème} marché mondial. Par pays, la France est le premier de l'Union européenne et le 3^{ème} après les USA et le Japon, avec une consommation de 80.000 tonnes en 2002 (toutes catégories de pesticides confondues) [10, 11].

I.1.6. Situation en Algérie

En Algérie, la fabrication des pesticides a été assurée par des entités autonomes de gestion des pesticides: telle que Moubydal. Mais avec l'économie de marché actuelle, plusieurs entreprises se sont spécialisées dans l'importation d'insecticides et divers produits apparentés. Ainsi, environ 400 produits phytosanitaires sont homologués en Algérie, dont une quarantaine de variétés largement utilisées par les agriculteurs. Récemment, dans notre pays, l'usage des pesticides ne cesse de se multiplier dans de nombreux domaines et en grandes quantités. C'est le milieu agricole d'abord qui utilise des tonnes de pesticides et des raticides; ces produits sont consacrés en majorité pour le traitement des cultures, la lutte contre les rongeurs et pour augmenter la production agricole. Ainsi, l'épandage de pesticides est courant sur les champs de pommes de terre dans le but de détruire les parasites pour la protection des récoltes [12].

La figure I.2 nous présente la commercialisation des pesticides en Algérie de 1970 à 2000.

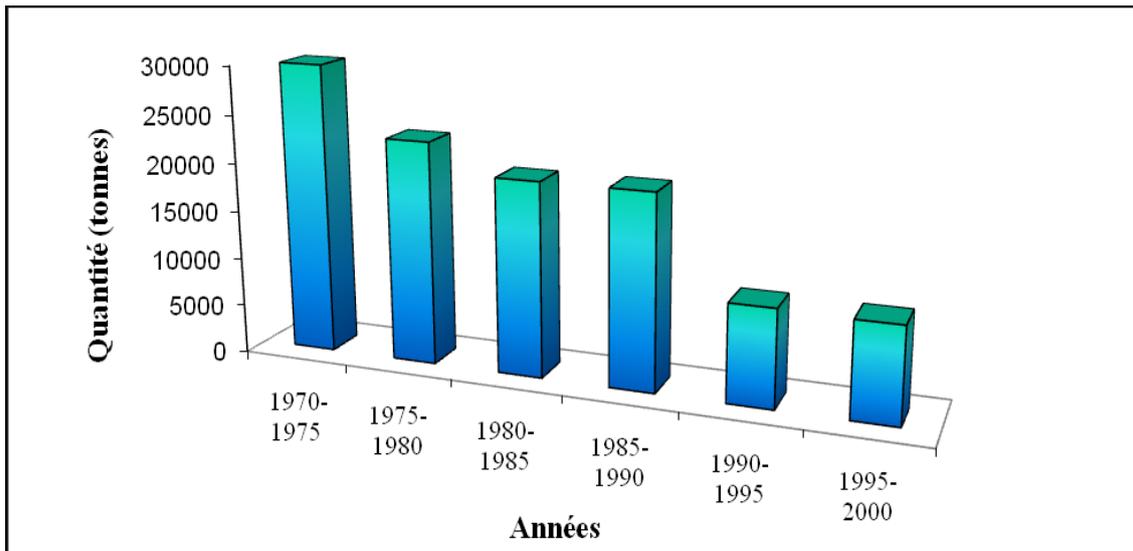


Fig. I.2. Commercialisation des pesticides en Algérie entre 1970 et 2000 [13].

D'après l'association algérienne pour la protection de l'environnement; L'Algérie est un grand consommateur de pesticides : 30 000 tonnes sont épandues chaque année. Les conséquences sanitaires de l'exposition à ces milliers de composants chimiques, par le biais de l'eau et de l'alimentation, sont massives et inquiétantes.

Les études ne cessent de montrer les liens entre pesticides et cancer. Or, le cancer tue 40 000 personnes, chaque année, en Algérie. Dans ce lot macabre, des milliers d'innocents trouvent la mort pour avoir consommé des produits contenant des pesticides. Des milliers d'autres personnes sont affectées de graves pathologies [14].

I.1.7. Dispersion des pesticides dans l'environnement

Dans les années 40, les premiers pesticides sont apparus sur le marché, avec des résultats très probants quant à l'augmentation des rendements agricoles. Vingt ans plus tard, les premières accusations d'atteinte à la santé publique et à l'environnement commençaient à se faire entendre.

On estime aujourd'hui que 2,5 millions de tonnes de pesticides sont appliqués chaque année sur les cultures de la planète. La part biodégradable qui entre en contact avec les organismes est minime; la plupart des chercheurs l'évaluent à moins de 0,3 % [8].

Les propriétés intrinsèques des pesticides (solubilité, volatilité, polarité) et les conditions du milieu dans lequel ils se trouvent sont déterminantes pour expliquer leurs comportements dans l'environnement [8].

1.1.7.1. Devenir dans le sol

Les processus suivants déterminent les différents comportements des pesticides dans les sols :

- Dégradation par les micro-organismes ;
- Dégradation chimique (hydrolyse, oxydation, photodégradation...);
- Rétention par des composants organiques et minéraux du sol ;
- Absorption par les racines des plantes ;
- Volatilisation ;
- Effet de dilution par les mouvements de l'eau [2].

a. Rétention des pesticides dans le sol

La rétention englobe les processus d'adsorption sur le complexe argilo-humique, sur les micro-organismes du sol ainsi que sur les plantes. La rétention est contrôlée par des procédés de transformation chimique ou biologique; elle influence la volatilisation du pesticide vers l'atmosphère, par ruissellement vers les eaux de surface ou par lixiviation vers les eaux souterraines. [2]

b. Dégradation des pesticides dans le sol

L'élimination des pesticides dans le sol, du fait de la présence de micro-organismes ou de réactions chimiques, sont confondues sous le vocable de dégradation. [2]

b.1. Dégradation abiotique

Des phénomènes chimiques peuvent conduire à une transformation dans le sol des substances actives.

* Réactions chimiques en solution

- Hydrolyse: beaucoup de pesticides subissent ce type de réaction chimique, comme les esters d'acides, les amides, les carbamates et les sulfonilurées.

- Oxydoréduction: ces réactions sont encore incomplètement décrites. Elles semblent surtout importantes pour les organochlorés et les dinitroanilines.

- Réactions avec d'autres composés organiques des sols, (ex: acides flaviques)

* Réactions chimiques des molécules adsorbées : Elles ont lieu principalement sur les surfaces de minéraux. Ce sont des hydrolyses et moins fréquemment des réactions d'oxydoréduction et ont surtout été observées pour des organochlorés, des organophosphorés et des triazines.

* Réactions photochimiques : Elles ont lieu dans les eaux, à la surface des végétaux et du sol. Beaucoup de pesticides peuvent être dégradés par les rayonnements ultraviolets [6].

b.2. Dégradation biologique

Cette dernière est due à l'activité des microorganismes du sol, les bactéries et les champignons, principalement.

Trois mécanismes sont impliqués:

- le métabolisme direct: il s'agit de transformations chimiques qui font des pesticides une source d'énergie pour la croissance des micro-organismes. Il conduit souvent à la minéralisation des pesticides.

- le cométabolisme: il s'agit de transformations chimiques des pesticides mais ils ne sont pas une source d'énergie utilisée et d'éléments pour les micro-organismes dégradants qui les trouvent dans d'autres composés organiques.

- la conjugaison: ce sont des réactions chimiques entre les molécules de pesticides ou d'autres molécules présentes dans le sol [6].

1.1.7.2. Transport

La volatilisation est l'une des causes principales de fuite hors de la zone cible, notamment lorsque les traitements visent la surface du sol ou celle des végétaux; elle est maximale lorsque l'application est faite par dépôt aérien, et est considérablement réduite par l'incorporation du pesticide directement dans les sols (sous forme de granulés ou par aspersion).

Le taux d'évaporation dépend des propriétés physico-chimiques de la molécule en question et des conditions climatiques et environnementales (humidité et température de l'air; du sol, intensité du vent).

La constante de Henry H, rend compte du taux de volatilisation d'une substance. Les produits ayant un H dépassant largement 2,5 sont considérés comme très volatils.

D'autre part, le mode de travail du sol influe sur la volatilisation. Pour un sol non travaillé, la teneur en matières organiques est importante: l'adsorption augmente et la volatilisation diminue.

La volatilisation est la principale voie de transfert vers les plantes et donc vers l'homme et les animaux. Glotteley (1987), rapporte également que les vapeurs peuvent se concentrer dans les gouttelettes de brouillard puis se redéposer sur les végétaux [2].

I.1.7.3. Contamination des milieux aquatiques

Tous les ans, des consommateurs sont privés d'eau courante dans les régions des cultures intensives.

Les fortes pollutions des eaux sont en général de courte durée, on parle de pic de pollution. La contamination des eaux souterraines est plus discrète mais aussi plus permanente.

La figure I.3 illustre le devenir des pesticides dans l'environnement.

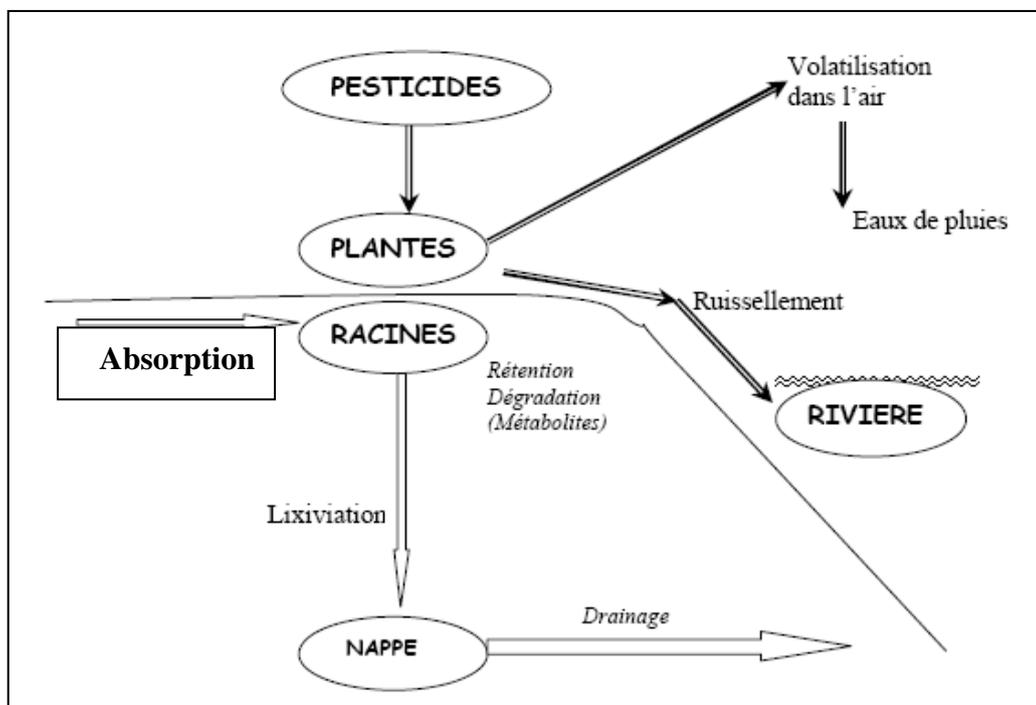


Fig. I.3. Cheminement des produits phytosanitaires dans l'environnement [15].

a. Le ruissellement : Contamination des eaux de surface

Le ruissellement a lieu chaque fois que l'intensité des pluies dépasse la capacité d'infiltration du sol. Cet écoulement peut entraîner les pesticides dissous, en suspension ou adsorbés sur les sédiments. Ce phénomène dépend donc de la solubilité des produits dans l'eau et de la stabilité de leurs liaisons avec les constituants du sol, mais aussi du mode d'application du pesticide et du mode de travail du sol. D'après Leonard (1990) et Schiavon (1995), le ruissellement emporte pendant la saison d'épandage en moyenne 2 % d'un pesticide appliqué à un sol, rarement plus de 5 à 10 % [16].

Les substances peu volatiles sont fortement adsorbées et résistent à la dégradation. Elles restent longtemps à la surface du sol et sont de ce fait plus sensibles à l'entraînement particulaire ou colloïdal par l'eau. Leur incorporation dans le sol réduira les risques de ruissellement. Les pesticides solubles seront plutôt entraînés dans le sol par lessivage [17].

b. La lixiviation: Contamination des eaux souterraines

Le transfert par lessivage ou lixiviation, peut causer la pollution des eaux souterraines de façon diffuse et par mouvement vertical. Dans ce cas, la mobilité des pesticides, et donc le risque de contamination, dépend des propriétés du composé, de celles du sol, de la vitesse d'infiltration et de l'épaisseur de la zone non saturée et de la présence de macropores (fissures, galeries de vers de terre, passages de racines). On note que même les molécules de pesticides de faible solubilité peuvent être entraînées vers les couches profondes du sol et les eaux de drainage à travers les failles naturelles du sol [8, 16].

L'indice empirique de lixiviation GUS (Groundwater Ubiquity Score) (Gustafson, 1989) permet de classer les pesticides par rapport à leur aptitude à être transférés vers les eaux souterraines. Il a été élaboré en confrontant des mesures de concentrations en pesticides dans les eaux, obtenues in situ, aux K_{oc} et DT50 des molécules. C'est donc un indice qui n'a qu'une cible, les eaux souterraines, et qui nécessite la connaissance des DT50 et des K_{oc} des pesticides. L'indice GUS est calculé de la façon suivante : [17]

$$GUS = \log(DT50) \cdot [4 - \log(K_{oc})]$$

Où

DT50 : le temps de demi-vie

K_{oc} : coefficient d'adsorption relatif au taux de carbone organique

Les niveaux de concentrations en pesticides sont en général plus faibles dans les profondeurs que dans les eaux de surface.

Les composés ayant un GUS inférieur à 2,8 présentent peu de risques [8].

I.1.8. Les pesticides, des produits hautement toxiques

C'est dans les années soixante que les premières accusations contre l'usage des pesticides sur l'atteinte à la santé publique et à l'environnement se firent entendre. On distingue différentes toxicités:

- une toxicité aigue qui provient d'une exposition à court terme (24 heures au maximum) aux produits phytosanitaires ou à leurs produits de dégradation.

- une toxicité chronique lorsque la pollution se diffuse dans l'environnement [18].

Les pesticides sont connus pour avoir des effets néfastes sur la santé. Les êtres humains peuvent les absorber via les aliments, l'eau, par contact avec la peau ou encore par inhalation [19]. Chaque année il est estimé que 3 millions d'empoisonnement ont lieu. Les agriculteurs et paysans des pays en voie de développement risquent plus que le reste de la population d'être atteints [11, 18].

I.1.9. Cancérogenèse

A ce jour, plusieurs pesticides ont été identifiés comme des cancérigènes connus, probables ou possibles pour l'homme, cela par différents organismes internationaux. Le potentiel cancérigène de ces pesticides a été déterminé à partir d'études expérimentales ou épidémiologiques. La relation entre les métabolites de DDT et le cancer du sein a été confirmée [12]. Il n'est pas exclu que d'autres facteurs de risque présents en milieu agricole puissent jouer un rôle important dans le déclenchement du cancer (comme le tabagisme, le rayonnement solaire, l'alimentation...) [18].

I.1.10. Effets sur la reproduction et le développement

Les pesticides et leurs sous-produits ont été identifiés en tant qu'agents susceptibles de porter atteinte au processus de fertilité masculine, via une toxicité testiculaire suite aux conséquences d'utilisation du dibromochloropropane.

La synergie des pesticides semblerait accroître les effets néfastes sur la reproduction. De plus, pour les femmes exposées à des pesticides, il a été remarqué une augmentation du risque de mortalité intra-utérine et une diminution de la croissance fœtale. Quant au développement du fœtus, des malformations congénitales ont été observées, comme des anomalies du système nerveux central. Mais il n'existe, à l'heure actuelle, pas de preuve convaincante que cette association est causale [18, 19, 20].

I.1.11. Troubles immunitaires

Les études ont montré également l'implication éventuelle des pesticides dans les dysfonctionnements du système immunitaire et donc une plus grande sensibilité aux maladies infectieuses. En mer du Nord, où s'est produit un déversement accidentel de substances chimiques (pesticides) en 1987, plus de 18.000 phoques sont morts d'infections liées à une dépression immunitaire grave à la suite d'une contamination aux pesticides dont une forte concentration a été retrouvée dans leurs tissus adipeux [12].

I.1.12. Effets neurologiques

Certains pesticides, dont la neurotoxicité est le mécanisme même de leur mode d'action par inhibition de l'activité acétylcholinestérasique, peuvent entraîner chez l'homme des convulsions épileptiformes, des polyneuropathies, des troubles neurologiques centraux, etc. Ces produits sont principalement des organophosphorés et des carbamates [18].

I.1.13. Ecotoxicité

Comparée à la toxicité humaine, la toxicité pour les espèces environnementales passe souvent au second plan. Mais l'impact des pesticides sur les espèces pollinisatrices, la microflore et la microfaune des sols, peut être sévère aussi [12]. Les conséquences à long terme de l'utilisation accumulée de pesticides se traduisent par une dégradation lente et progressive de la biodiversité des sols. Les déversements de pesticides à proximité des oueds et des rivages entraînent aussi une destruction de la vie biologique aquatique (poissons) [11, 18].

I .1.13.1. Les outils de toxicité

Les principaux paramètres qui contrôlent la toxicité des résidus de pesticides dans l'eau et les aliments sont :

- **Dose Létale 50 (DL50):** C'est la dose d'une substance provoquant cinquante pour cent de décès chez une population animale donnée après un temps d'application et une durée d'observation fixée. Elle s'exprime en mg. Kg⁻¹ ou g.Mg⁻¹ de poids vif de l'animal expérimental [21].

Le tableau I.1 donne la classification OMS des pesticides par degré de risque pour l'homme.

Tab. I.1. Classification OMS des pesticides par degré de risque pour l'homme [21].

Classe des risques	DL ₅₀ pour le rat (mg.Kg ⁻¹ de poids corporel)			
	Par voie orale		Par voie cutanée	
	Solide	Liquide	Solide	Liquide
Extrêmement dangereux	< 5	< 20	< 10	< 40
Très dangereux	5 à 50	20 à 200	10 à 100	40 à 400
Modérément dangereux	50 à 500	200 à 2000	100 à 1000	400 à 4000
Peu dangereux	> 500	> 2000	> 1000	> 4000

▪ **Dose Sans Effet (DSE) :** C'est la dose la plus élevée qui ne provoque encore aucun effet décelable chez les animaux soumis à un essai donné. Elle s'exprime en mg.Kg⁻¹.

▪ **Dose Journalière Admissible (DJA) :** C'est la quantité de produit pouvant être quotidiennement absorbée au cours d'une vie d'homme sans manifestation d'effets secondaires (en mg.Kg⁻¹ du poids corporel).

▪ **Limite Maximale de Résidu (LMR) :** Elle se rapporte aux denrées alimentaires. Elle représente la concentration en résidus la plus élevée légalement acceptable pour que les denrées restent commercialisables. Elle s'exprime en mg.Kg⁻¹.

▪ **Concentration Maximale Admissible (CMA) :** Elle indique la concentration maximale admissible dans l'atmosphère des lieux de travail [21].

I.1.14. Normes et réglementation

La réglementation algérienne concernant l'utilisation et le contrôle des produits phytosanitaires en agriculture est très stricte. Les deux textes de base sont :

- La loi 87-17 du 1^{er} Août 1987 relative à la protection phytosanitaire,
- Le décret 95-405 du 2 Décembre 1995 relatif au contrôle des produits phytosanitaires à usage agricole. A ce titre, il couvre les activités de commercialisation et d'homologation [13].

La directive européenne n° 98/83 du 3 Novembre 1998 prévoit pour les pesticides et produits apparentés (métabolites) en matière d'eau potable une valeur maximale de 0,1 µg.L⁻¹ pour chaque pesticide (à l'exception de l'aldrine, le dieldrine, l'heptachloroépoxyde : 0,03 µg.L⁻¹), et 0,5 µg.L⁻¹ pour le total des substances mesurées [22].

I.2. PROCÉDES DE TRAITEMENT DE L'EAU POUR L'ÉLIMINATION DES PESTICIDES

L'élimination des pesticides représente aujourd'hui un enjeu important pour préserver la qualité de l'eau. La panoplie des procédés existants permet de bien adapter le traitement en fonction de la matière polluante (accidentelle ou chronique) et des caractéristiques de l'eau à traiter. De nombreuses techniques de traitement sont aujourd'hui à la disposition des industriels. Les principaux procédés utilisés, énumérés ci-dessous (ozonation, dégradation photochimique, adsorption sur charbon actif, procédés membranaires) ont déjà fait leur preuve. D'autres procédés, encore à l'état de recherche (oxydation de réactif de fenton, traitements biologiques...), sont très prometteurs pour l'élimination des pesticides.

I.2.1. Procédés physicochimiques dégradatifs

I.2.1.1. Oxydation à l'ozone

L'ozone, un oxydant puissant couramment utilisé pour le traitement des eaux potables, peut agir par une réaction directe ou de façon indirecte par l'intermédiaire d'espèces secondaires comme les radicaux OH^\cdot , formés par décomposition de la molécule d'ozone. Ainsi, l'ozone dégrade les molécules avec plus ou moins d'efficacité [2]. Par exemple il est totalement inefficace envers le lindane [2, 23], et dans le cas de l'atrazine ; Husley et *al.* (1993) constatent une réduction de 80 % d'une concentration initiale de $5 \mu\text{g.L}^{-1}$ [2].

Lors d'un traitement à l'ozone, il est nécessaire de mettre en place une filtration sur charbon actif en aval afin de retenir d'une part, les sous produits d'oxydation pouvant être nocifs, et d'autre part, les bromates (composés cancérigènes) qui peuvent se former si l'eau brute contient de bromures [2, 23].

Beltran et *al.* (1994) ont étudié la possibilité de couplage de l'ozone avec l'irradiation UV. Lal et *al.* (1995) observent ainsi que le niveau de biodégradabilité de la simazine est considérablement augmenté lorsqu'un prétraitement à l'ozone/UV est appliqué [2].

I.2.1.2. Oxydation au peroxyde d'hydrogène

L'utilisation de ce réactif permet d'augmenter la quantité de radicaux OH^\cdot disponibles pour l'oxydation radicalaire. Les radicaux OH^\cdot extrêmement réactifs, sont consommés rapidement par la matière organique, les bicarbonates, les carbonates, l'ammonium et les alcools tertiaires [2].

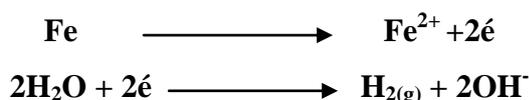
Le couplage $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ permet d'éliminer 90 % de l'atrazine avec des taux d'ozonation de l'ordre de 3mg.L^{-1} d'ozone [2].

1.2.1.3. Traitement au réactif de Fenton

Ce procédé consiste en une oxydation par les radicaux OH^\cdot formés à partir de la réaction de Fenton:



Cette méthode utilise une cellule électrochimique composée d'électrode de fer. L'anode délivre du Fe^{2+} à la solution tandis que la cathode fonctionne comme une électrode inerte. Les demi-réactions suivantes illustrent les phénomènes mis en jeu lors de la réduction de l'eau pour former les radicaux OH^\cdot réactifs [2].



Brillas et al (2005) ont observé que la minéralisation d'une solution aqueuse de l'herbicide 2,4-Dichlorophenoxyacétique de concentration initiale de 1 m mol.L^{-1} est quasi-totale en utilisant le traitement au réactif de Fenton (> 95 % d'élimination du COT) [24].

1.2.1.4. Dégradation photochimique

Récemment de nombreuses études se sont concentrées sur la dégradation des composés organiques toxiques des eaux usées par l'intermédiaire de la photocatalyse de divers semi-conducteurs [25]. En fait, cette technique est basée sur l'élimination des molécules organiques par une radiation lumineuse qui peut être un rayonnement solaire ou ultraviolet (UV) à la fin de la filière de traitement. Pour les polluants organiques, la destruction reste fonction de la molécule, de la radiation et de la durée d'exposition [26].

Plusieurs types de pesticides organiques peuvent être aisément détruits et totalement minéralisés à température ambiante par voie photocatalytique, en utilisant TiO_2 comme photocatalyseur [27].

1.2.2. Procédés non dégradatifs

1.2.2.1. Procédés d'adsorption sur charbon actif en poudre ou en grains

L'adsorption sur charbon actif est actuellement l'un des procédés les plus utilisés pour éliminer les composés organiques et notamment les micropolluants du type pesticide des eaux destinées à la consommation humaine [2, 28].

La mise en place d'une ozonation en amont permet d'améliorer le rendement d'adsorption du charbon et de le protéger contre toute prolifération bactérienne [2].

Il existe deux principaux procédés distincts d'adsorption par charbon actif : l'un utilise le charbon actif en poudre (CAP), l'autre de charbon actif en grains (CAG). Tous deux reposent sur l'accumulation à la surface ou à l'intérieur des particules de charbon, des polluants contenus dans l'eau par interactions physicochimiques. Chacun est utilisé dans des conditions bien définies [23].

Le CAP est utilisé par injection de barbotine (mélange eau-charbon en suspension). Cette injection s'effectue idéalement le plus en amont possible dans la filière de traitement afin d'obtenir le temps de contact le plus long possible. Il permet notamment de traiter des pollutions accidentelles.

Le CAG est utilisé dans le cas des pollutions chroniques, mais pour des concentrations relativement faibles ; il s'utilise en lit filtrant généralement placé en fin de la chaîne de traitement, lits dans lesquels l'eau percole avec un temps de séjour de 10 à 15 minutes [23].

1.2.2.2. Procédés membranaires : ultrafiltration et nanofiltration

La performance des membranes a été évaluée principalement sur la base de l'élimination de la turbidité, le carbone organique total et les microorganismes. La littérature a montré que l'ultrafiltration est très efficace dans l'élimination des solides en suspension et les microorganismes, alors que la nanofiltration est destinée à la séparation des matières organiques naturelles présentes dans l'eau de surface à cause de leur faible taille, et compléter la séparation du contenu microbien dans les eaux brutes. La combinaison de la filtration membranaire et traitement au charbon actif est connue pour l'élimination de la couleur, l'odeur, les matières organiques dissoutes et les micropolluants tels que les pesticides à partir des eaux de surface [29].

1.2.3. Procédés de dégradation biologique

La biodégradation correspond à la destruction d'une substance organique en produits minéraux simples, tels que H_2O , H_2 , CO_2 , NO_3 , ou en composés organiques simples tels que CH_4 , CH_3-COO^- et d'autres produits de fermentation [8]. Cette opération nécessite que le composé (pesticide) soit biodégradable c'est-à-dire que les micro-organismes possèdent l'appareil enzymatique nécessaire pour l'attaquer [1].

Si la molécule peut être utilisée directement par la microflore dégradante comme source de carbone et d'énergie, on parle de métabolisme; et quand l'énergie nécessaire aux micro-organismes est fournie par la dégradation d'un autre substrat nommé co-substrat; on parle de cométabolisme [8].

Les traitements biologiques pour la décontamination des eaux sont susceptibles d'offrir un avantage économique important comparé aux procédés physico-chimiques classiques, souvent plus complexes dans leur réalisation et souvent onéreux [2].

Les procédés biologiques font appel à des microorganismes tels que les bactéries, les levures ou les moisissures pour la réduction de la charge polluante des eaux résiduelles ou l'élimination des micropolluants toxiques.

Les techniques biologiques présentent l'avantage de l'élimination totale des polluants, contrairement aux techniques d'adsorption où le polluant est immobilisé mais non dégradé ou bien aux techniques physicochimiques dans lesquelles la dégradation est souvent partielle [2].

I.3. LA BIFENTHRINE

I.3.1. Propriétés physico-chimiques

La bifenthrine fait partie des pyréthrinoïdes de synthèse de troisième génération qui est structurellement et biologiquement unique: structurellement pour le fragment d'alcool de diphenyle ; biologiquement pour la forte activité acaricide (miticide) qui complète efficacement l'activité insecticide [30].

Cet insecticide d'origine américaine, est développé en France par Pépro [4]. La bifenthrine $C_{23}H_{22}O_2F_3Cl$ ou (2-méthyl [1,1'-biphenyl]3-yl)-méthyl-3-(2-chloro-3,3,3-trifluoro-1-propenyl)-2,2-diméthylcyclopropanecarboxylate) [31] est une substance brune légère caractérisée par son odeur aromatique [32, 33] ; soluble dans l'acétone, le chloroforme, le dichlorométhane, le diéthyl éther et le toluène, et légèrement soluble dans l'heptane et le méthanol [31]. Le TALSTAR est l'un des noms commerciaux de la bifenthrine, c'est un liquide visqueux de couleur beige et ayant une concentration de 100 g.L^{-1} de solution.

La structure de la bifenthrine est représentée par la figure I.4.

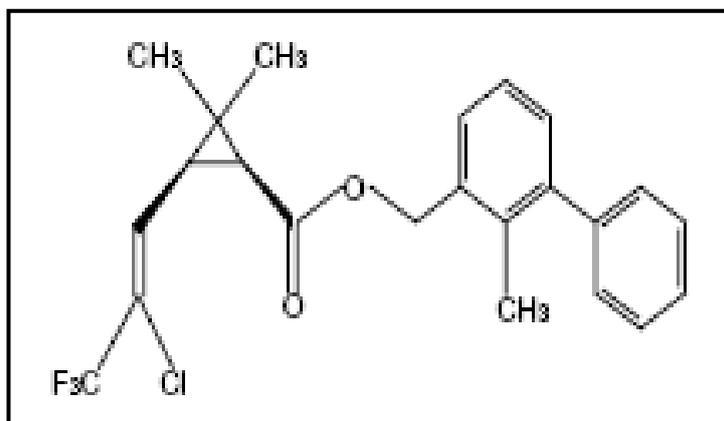


Fig. I.4. Formule développée de la bifenthrine [34].

Les caractéristiques physico-chimiques dont l'ordre de grandeur est indiqué ci après influencent les risques de transfert de cette substance active vers les eaux, et donc le risque de la pollution des eaux.

Tab. I.2. Caractéristiques physico-chimiques de la bifenthrine [35].

Propriété	Grandeur
Poids moléculaire	422,9
Solubilité dans l'eau (à 25 °C)	0,1 mg.L ⁻¹
Pression de vapeur (à 25 °C)	1,81.10 ⁻⁷ mm.Hg ⁻¹
Constante d'Henry ((pH 7, 25 °C)	7,20.10 ⁻³ atm m ³ .mol ⁻¹
Demi vie d'hydrolyse (dans l'eau naturelle, à pH 6,7 et 25 °C)	Stable
Coefficient de partage Octanol-eau (K _{ow})	1,0.10 ⁶
Demi vie anaérobie	97 - 156 jours
Demi vie aérobie	65 - 125 jours
Demi vie de dissipation dans le champ	122 à 345 jours
Gravité spécifique (à 25 °C)	1,212 g.mL ⁻¹
Facteur de bioconcentration (Corps entier, poissons bleus)	6000 x
Coefficient d'adsorption dans le sol (K _{oc})	1,31 - 3,02.10 ⁵
Photolyse	276 - 416 jours

I.3.2. Toxicité

La bifenthrine affecte le système nerveux central et périphérique et provoque des paralysies aux insectes: elle est hautement toxique sur les poissons et les organismes aquatiques. L'EPA (Environmental Protection Agency) a classifié la bifenthrine comme substance de toxicité modérée [35].

I.3.2.1. Toxicité aigue

La bifenthrine est modérément toxique aux mammifères lors de l'ingestion. À fortes doses, elle peut causer: incoordination, tremblement, salivation, vomissement, diarrhée et irritabilité du toucher et de l'odorat. La bifenthrine ne sensibilise pas la peau des cobayes bien qu'elle ne cause pas l'inflammation ou l'irritation sur la peau humaine. Elle peut causer la sensation de bourdonnement qui dure environ 12 heures. Elle est pratiquement non irritante aux yeux de lapin.

1.3.2.2. Toxicité chronique

a. Effets de reproduction

La dose de bifenthrine pour laquelle aucun effet toxique n'est observé chez la mère est de $1 \text{ mg.Kg}^{-1}.\text{jour}^{-1}$ pour le rat et $2,67 \text{ mg.Kg}^{-1}.\text{jour}^{-1}$ pour le lapin. À des doses plus élevées, les animaux examinés présentent des tremblements. La dose pour laquelle aucun effet toxique n'est observé sur le développement est $1 \text{ mg.Kg}^{-1}.\text{jour}^{-1}$ pour les rats et est supérieure à $8 \text{ mg.Kg}^{-1}.\text{jour}^{-1}$ pour les lapins [33].

b. Effets tératogéniques

La bifenthrine n'a montré aucun effet aux plus hauts niveaux examinés (100 ppm, approximativement $5,5 \text{ mg.Kg}^{-1}.\text{jour}^{-1}$) dans une étude de deux générations de rats [33].

c. Effets de mutagénicité

L'évidence des effets mutagéniques de l'exposition à la bifenthrine est peu concluante. Les études sur les cellules blanches des souris étaient positives pour la mutation des gènes. Cependant, d'autres essais, y compris l'essai d'Ames et les études sur les cellules étroites d'os de rat, étaient négatifs [33].

d. Effets cancérigènes

Il n'y avait aucune évidence de cancer dans une étude de deux ans sur des rats qui ont consommé pas moins de $10 \text{ mg.Kg}^{-1}.\text{jour}^{-1}$ de bifenthrine. Cependant, une étude d'alimentation des souris sur 87 semaines avec des doses de 7, 29, 71 et 86 mg.Kg^{-1} a montré une tendance reliée de dose sensiblement plus élevée d'incidence accrue de tumeur dans le réservoir souple urinaire de CMA [33].

1.3.3. Comportement dans l'environnement

1.3.3.1 Air

La bifenthrine a une pression de vapeur de $1,81.10^{-3} \text{ mm.Hg}^{-1}$ et une faible constante d'Henry de $7,20.10^{-3} \text{ atm.mol}^{-1}$. Ces valeurs indiquent que la bifenthrine a un faible coefficient de volatilisation dans l'air lorsqu'elle est appliquée à un sol sec, et un peu plus élevé pour un sol mouillé. Elle peut être retrouvée dans l'air attachée aux particules du sol ou comme mouvement d'aérosol [35].

I.3.3.2. Eau

Etant donné que la bifenthrine est une molécule apolaire et ayant un haut K_{ow} de 10^6 , elle est de faible solubilité dans l'eau. Cette molécule est avérée stable à l'hydrolyse abiotique à pH 5, 7 et 9, à 25°C pour une période qui peut dépasser les 30 jours. La demi-vie de la photolyse aqueuse est de 276 jours pour le 14-C-cyclopropyl et 416 jours pour le C-14-phenyl appelé bifenthrine, ce qui explique sa photostabilité [35]. Ce pesticide peut donc persister dans l'eau, le sol et la matière organique trouvée dans l'eau, mais sa volatilisation vers les eaux de surface est faible [36, 37].

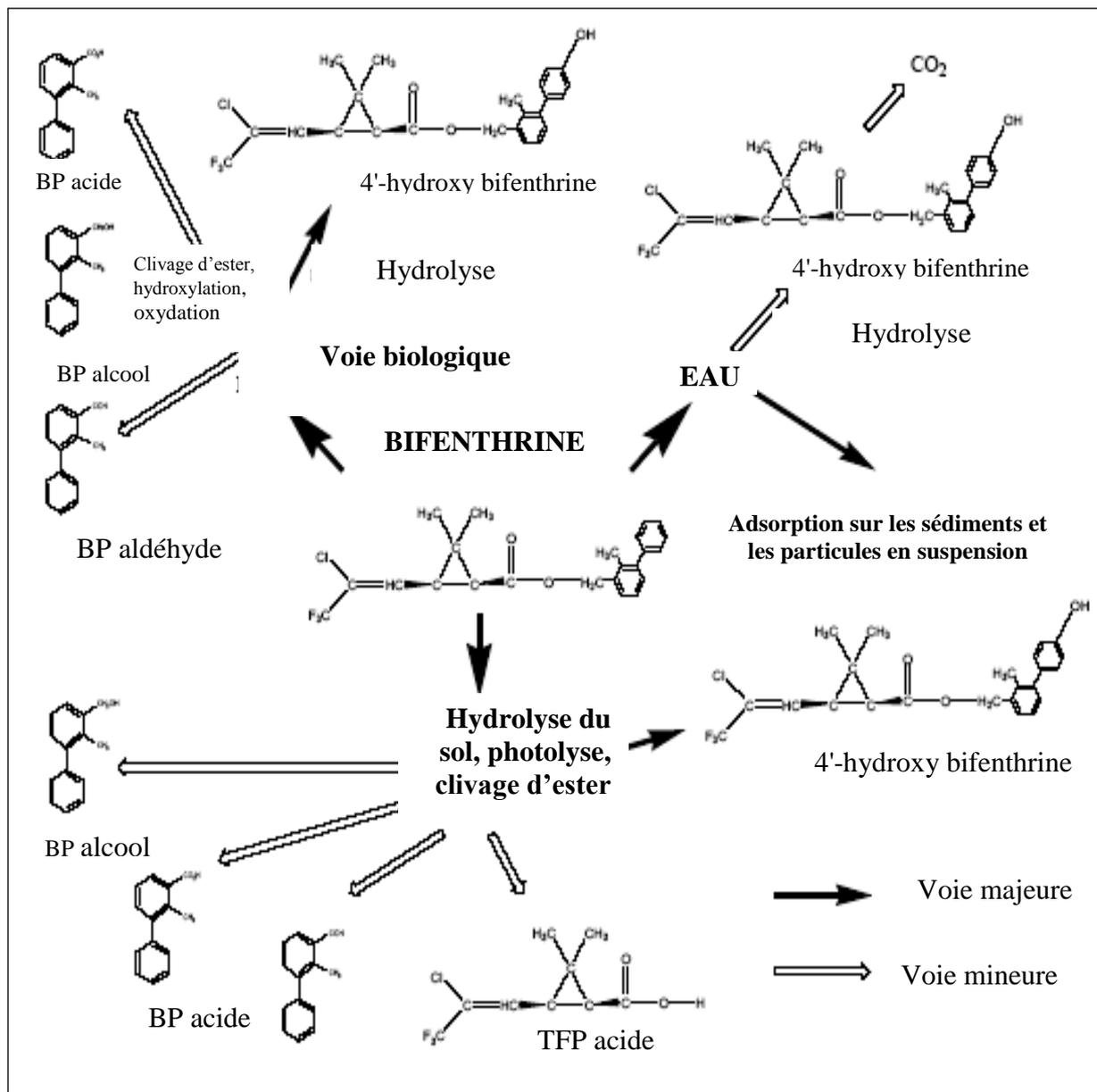


Fig. I.5. Voies de dégradation de la bifenthrine [35].

I.3.3.3. Sol

En raison de sa valeur élevée de K_{oc} ($1,31 \cdot 10^5 - 3,02 \cdot 10^5$), la bifenthrine se lie étroitement aux particules du sol, et elle a une grande affinité au carbone organique. Généralement, la bifenthrine est active dans le sol, une petite quantité est absorbée dans le sol par les plantes; elle est immobile dans le sol qui contient de grandes quantités de matière organique, argile et limon ; sa mobilité est élevée dans les sols sablonneux qui ne sont pas riches en matière organique.

Dans le sol, la demi vie de la bifenthrine peut varier de 7 jours à 8 mois, sa dégradation est dépendante de l'activité microbienne du sol. La rupture principale en sous produits de bifenthrine dans le sol en sont : alcool 3-phényle-2-méthyle, acide-3-phenylbenzoic-2-méthyle-3-phenylbenzaldehy-2-méthyle-4-hydroxyde de bifenthrine, et acide cis, trans-4-(2-chloro-3,3,3-trifluoro-1-propenyle)-3,3-dimethylcyclopropanecarboxylic [37].

I.4. METHODES GLOBALES DE MESURE DE LA POLLUTION

I.4.1. Evaluation de la pollution

La plupart des effluents pollués, qu'ils soient d'origine urbaine ou industrielle, sont des mélanges très complexes caractérisés par l'extrême variabilité dans le temps de leur débit et de leur niveau de pollution. C'est pour ces raisons, que les analyses chimiques longues et complexes sont inutiles et qu'on a recours aux tests "globaux". Ces tests sont spécifiques d'un ensemble de propriétés ou de produits :

- Produits biodégradables,
- produits oxydables dans des conditions réactionnelles précises,
- hydrocarbures,
- matières ionisables,
- matières en suspension...

Parmi les tests globaux les plus utilisés et les plus représentatifs de la pollution, figurent les tests de demande en oxygène. Que cette demande soit d'origine chimique ou biochimique, elle correspond en effet à l'évolution spontanée ou imposée d'un effluent vers une certaine stabilisation. Elle est à la fois la mesure d'une partie généralement importante de la pollution et un indice de traitabilité.

Dans ces tests globaux, il est essentiel de définir un "équivalent" de pollution qui serve d'unité de mesure commune à tous les composants d'un ensemble. Ainsi dans les tests d'oxydabilité chimique ou biologique, cet équivalent sera la demande en oxygène exprimée en mg d'O₂ par litre d'effluent [38].

I.4.2. Mesure de la demande biochimique en oxygène (DBO)

I.4.2.1. Principe

La demande biochimique en oxygène est la quantité d'oxygène consommée par les microorganismes aérobies pour assurer l'oxydation et la stabilisation de tous les composés présents biodégradables.

C'est de tous les moyens d'évaluer une pollution, le plus ancien, le plus utilisé mais aussi le plus ambigu et par conséquent le plus controversé. En fait, ce test est très difficile à cerner du point de vue théorique car il recouvre un très grand nombre de phénomènes élémentaires se déroulant simultanément ou successivement [39, 40].

1.4.2.2. Méthodes de mesure de la DBO

On mesure la concentration en oxygène dissous immédiatement après le mélange et après 5 jours d'incubation à l'obscurité à 20 °C. La différence des concentrations multipliées par le taux de dilution donne la DBO₅.

Dans le cas des eaux industrielles, il est nécessaire de faire un ensemencement. La souche utilisée doit être adaptée aux produits à dégrader, cette précaution est indispensable afin d'éviter une période de latence qui fausserait grossièrement la DBO₅ [18].

a. Méthodes manométriques

Elles consistent à réaliser une culture en batch, en atmosphère close. Si le CO₂ libéré est fixé sur une cartouche de potasse ou de soude, la variation de la pression enregistrée sur l'atmosphère surmontant la culture sera due à la consommation d'oxygène que l'on peut ainsi évaluer.

Ces méthodes manométriques semblent en général plus reproductibles que les méthodes de dilutions et elles ont surtout l'intérêt de permettre facilement de tracer la courbe de la DBO en fonction du temps qui apporte des informations sur la cinétique de dégradation qui ont beaucoup plus d'importance que la valeur numérique de la DBO₅. Ces méthodes manométriques permettent aussi de travailler sur des volumes d'échantillon beaucoup plus importants et donc plus représentatifs [39].

La figure I.6 représente les courbes type de la DBO

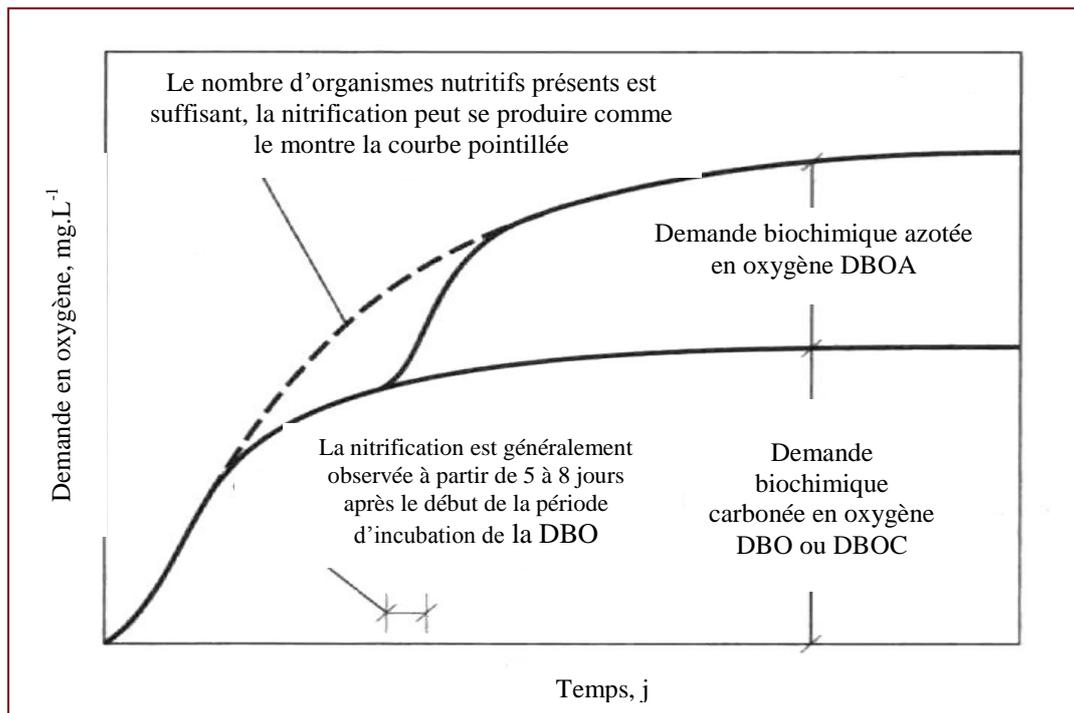


Fig. I.6. Courbes type de DBO [41].

1.4.2.3. Etude du phénomène

La réaction biochimique se déroulant dans un flacon à DBO est identique à toutes celles qui sont relatives aux fermentations aérobies et s'effectue en deux phases distinctes et successives [40]. Au départ, la matière organique est utilisée par les microorganismes pour assurer leurs besoins énergétiques et de croissance. Il en résulte une consommation d'oxygène et une croissance microbienne. Après disparition de la matière organique initiale, les microorganismes continuent à consommer de l'oxygène pour assurer leur métabolisme endogène. Après oxydation complète, le processus est achevé. Ce stade définit la DBO ultime.

1.4.2.4. Tests de "traitabilité"

Tous les DBO-mètres pourvus d'un enregistrement de la demande en oxygène sont utilisables pour effectuer des tests de traitabilité sur un effluent. La méthode consiste :

1) à mesurer la demande en oxygène sur une culture amenée en phase de respiration endogène pour avoir une référence,

2) à ajouter des quantités plus ou moins importantes de l'échantillon à tester et à mesurer la demande en oxygène qui en résulte.

Ainsi une augmentation de la demande en oxygène est considérée comme un bon indice de traitabilité alors qu'une diminution indique la présence de toxiques ou d'inhibiteurs [38].

La figure I.7 donne quelques courbes types obtenues par cette méthode :

- Pour un composé toxique, on remarque une baisse continue de la DBO ;
- Lorsqu'il s'agit d'un composé inhibiteur à concentration élevée, la DBO augmente légèrement au début puis décroît considérablement vu qu'il y a une inhibition de la croissance ;
- Pour un composé non biodégradable et qui ne présente aucune toxicité, les bactéries sont en phase de respiration endogène et la DBO enregistrée est nulle ;
- Dans le cas d'un composé biodégradable, la DBO croît jusqu'à atteindre une valeur maximale correspondant à la DBO_{ultime} .

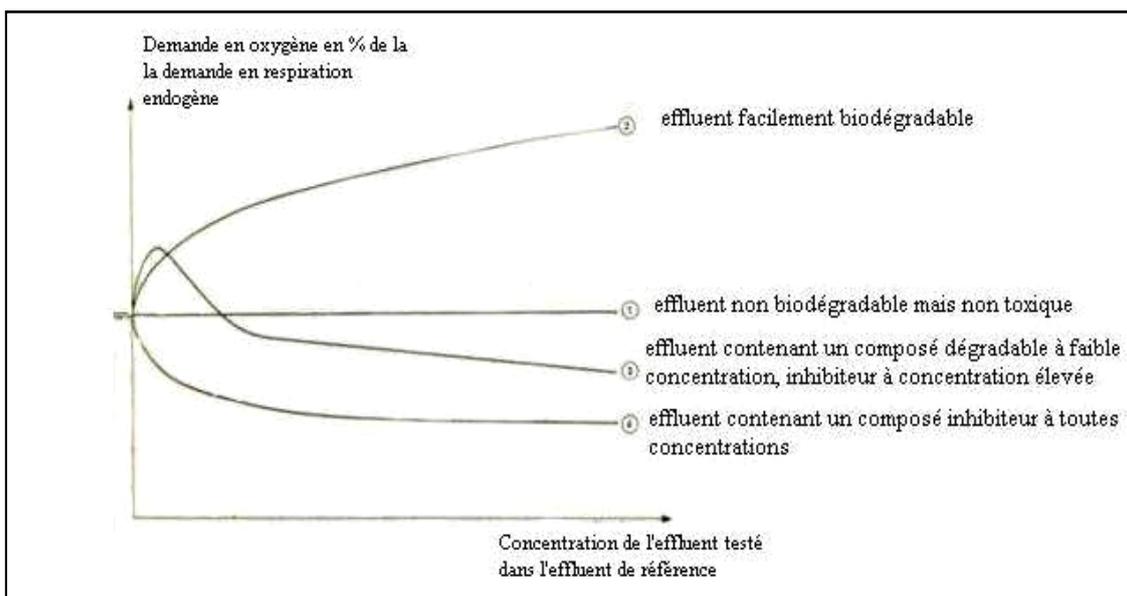


Fig. I.7. Courbes types obtenues dans des tests de traitabilité [38].

I.4.3. Mesure de la demande chimique en oxygène (DCO)

I.4.3.1. Principe

La demande chimique en oxygène représente la quantité d'oxygène nécessaire pour oxyder, dans un certain contexte réactionnel, les substances oxydables contenues dans l'échantillon. La DCO intéresse indifféremment les substances minérales et organiques [38].

Par ailleurs, la technique de la DCO présente sur la DBO les avantages suivants :

- Plus grande précision: l'écart standard pour la DCO serait de 8 % contre 20 % pour la DBO.

- Plus grande rapidité : la mesure s'effectue en quelques heures.

1.4.3.2. Méthodes de mesure de la DCO

Parmi les principaux oxydants qui ont été préconisés pour la mesure de la DCO, on peut citer le permanganate de potassium, le sulfate sérique et l'acide iodique. Mais actuellement, c'est la méthode au bichromate de potassium qui est la plus utilisée car le permanganate, les sels sériques et iodiques se sont révélés être des oxydants trop faibles, laissant inattaquées des proportions importantes de matière organique [38].

La procédure normalisée dans les Standard Methods fait appel à une oxydation à chaud par le bichromate de potassium. Du sulfate d'argent est ajouté comme catalyseur, utile en particulier pour permettre l'oxydation des composés aromatiques. Les chlorures interfèrent sur la DBO parce qu'ils précipitent les ions Ag^+ , leur élimination est réalisée par addition de sulfate mercurique. La teneur maximale admissible en chlorures est de 3 mg.L^{-1} [38, 40].

On peut considérer que, dans ces conditions, les composés présents sont oxydés à plus de 95 %. Il existe cependant des exceptions comme la pyridine qui n'est pratiquement pas dégradée et les carbures aromatiques qui le sont incomplètement. Une autre exception concerne l'azote ammoniacal qui reste sous forme de NH_3 ou NH_4^+ [38].

Les méthodes utilisant des réactifs chimiques sont les méthodes classiques qui ont fait l'objet de diverses tentatives d'automatisation. Récemment les méthodes instrumentales ont fait leur apparition, on peut citer comme exemple la méthode de l'"Aquarator" ou "CO₂ demande" qui consiste à faire réagir les matières organiques avec un courant de CO₂ à 900 °C sur un catalyseur en platine [38].

1.4.3.3. Relation entre la DCO et la DBO

La DCO peut être réalisée plus rapidement que la DBO et donne une image de la matière organique présente, pour cela il est important de développer des relations entre la DBO, la DCO et la DTO. Dans le cas d'un composé totalement biodégradable, tel que le glucose, la $\text{DBO}_{\text{ultime}}$ représentera environ 90% de la DTO et dans ce cas, la DCO mesurera la demande théorique en oxygène [40]. On a donc :

$$DCO = \frac{DBO_{Ultime}}{0.9} = DTO$$

Le rapport DCO-DBO₅ permet d'évaluer le caractère biodégradable de la matière organique. On convient généralement des limites suivantes [42] :

- DCO/DBO₅ < 2 : l'effluent est facilement biodégradable ;
- 2 < DCO/DBO₅ < 3 : l'effluent est biodégradable avec des souches sélectionnées ;
- DCO/DBO₅ > 3 : l'effluent n'est pas biodégradable.

Généralement, la DCO vaut de 1,5 à 2 fois la DBO₅ pour les eaux usées domestiques.

La relation empirique suivante lie la DBO₅, la DCO et la matière organique de l'échantillon (MO) :

$$MO = (2 DBO_5 + DCO) / 3$$

I.4.4. Carbone organique total COT

Le carbone organique total est un bon marqueur pour la mesure de la pollution des eaux potables, il est habituellement utilisé afin d'étudier des pollutions ponctuelles ou l'influence anthropique au sein des aquifères [43].

Pour l'analyse du carbone organique total (COT), tout comme le carbone organique dissous (COD), l'échantillon contenant des composés carbonylés est introduit dans un tube chauffé à plus de 900 °C qui contient un catalyseur agissant comme oxydant. Les composés de combustion et de dégradation sont sous forme de CO₂, qui est analysé par détection infrarouge et quantifié par comparaison à une courbe d'étalonnage. Le carbone organique dissous (COD) et le carbone organique total (COT) réfèrent au carbone organique non volatil, qui est mesuré en acidifiant l'échantillon au préalable à l'acide chlorhydrique 1N et en y faisant barboter de l'air de qualité ultra pure [44].

I.5. ACTIVITE BACTERIENNE DE DEGRADATION DES PESTICIDES

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires capables de croître et de se diviser rapidement.

En tant que Procaryotes, elles se caractérisent par l'organisation de l'acide désoxyribonucléique (ADN, qui définit le matériel génétique) en un chromosome circulaire simple, non inclus dans une structure membranaire, et en éléments circulaires plus petits appelés plasmides; par des ribosomes de petite taille et uniformément distribués dans le cytoplasme; et par l'absence d'organites délimités par une membrane. La plupart des bactéries

sont des cellules de forme sphérique ou ovoïde, en bâtonnet, ou en spirale, d'une largeur de 0,2 à 5 microns et d'une longueur d'au maximum 150 microns, parfois plus [45].

I.5.1. La croissance microbienne

La croissance se définit comme l'accroissement ordonné de tous les composants d'un organisme.

Chez les microorganismes unicellulaires (bactéries, levures), elle aboutit à une augmentation du nombre d'individus. Cet accroissement est donc synonyme de multiplication.

Parallèlement, cette croissance se traduit par un appauvrissement du milieu en substrats catabolisables et par un enrichissement en divers métabolites.

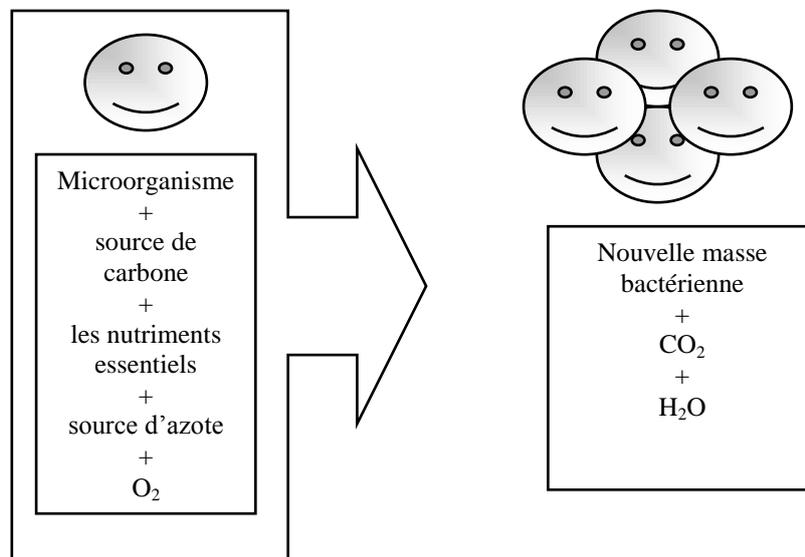


Fig. I.8. Présentation de la croissance bactérienne (multiplication) [46].

I.5.1.1. Paramètres de croissance

La croissance bactérienne peut être définie par deux constantes, le temps de génération et le taux de croissance.

a. Le temps de génération G

Il correspond à l'intervalle de temps compris entre deux divisions successives ou le temps nécessaire au doublement de la population.

$$G=t/n \quad \text{où } t : \text{ temps et } n : \text{ nombre de divisions}$$

b. Le taux de croissance μ

Il correspond à la vitesse d'accroissement du nombre bactérien ; c'est le nombre de divisions par unité de temps.

$$\mu = 1/G = n/t$$

I.5.1.2. La courbe de croissance

En milieu non renouvelé, la croissance bactérienne est limitée et suit différentes phases [47].

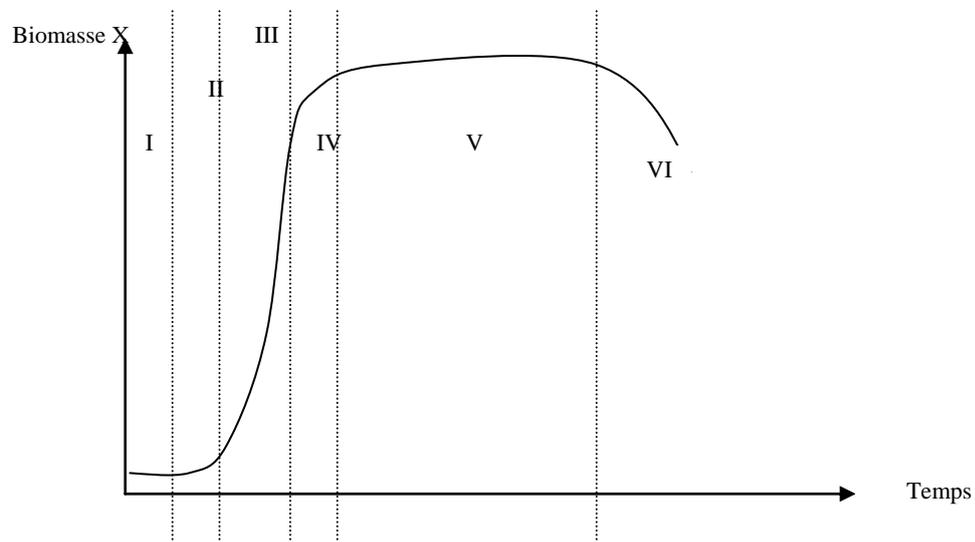


Fig. I.9. L'évolution de la croissance bactérienne en fonction du temps.

On distingue les différentes phases suivantes :

- La phase I: elle suit immédiatement l'ensemencement du microorganisme dans le milieu de culture et c'est une période d'adaptation pour les microorganismes dans leurs nouvelles conditions de vie ; où X reste identique à X_0 c'est la phase de latence caractérisée par $\mu=0$ -
- La phase II ou phase d'accélération : c'est le démarrage de la croissance cellulaire avec augmentation de sa vitesse. X augmente, μ augmente, G diminue ;
- La phase III correspond à la croissance exponentielle, où X augmente en fonction du temps de façon exponentielle où μ est maximale et G est minimale ;
- La phase IV dite de décélération ou de ralentissement : elle est caractérisée par une diminution de la vitesse de croissance suite à l'épuisement des nutriments et

l'accumulation de produits inhibiteurs résultant du métabolisme microbien. L'augmentation de X est faible, μ diminue et G augmente

- La phase V est la phase stationnaire où X est à son maximum et s'y maintient. C'est la phase stationnaire avec $\mu=0$ et G tendant vers l'infini ;
- La phase VI où X diminue proportionnellement à t. Elle est appelée phase de déclin [47].

I.5.2. Phénomène de résistance bactérienne

Pour qu'un antimicrobien soit actif sur une bactérie, un certain nombre de conditions doit être rempli : il doit en premier lieu, pénétrer dans la cellule ; ensuite rencontrer le récepteur ou la cible moléculaire de son action à modifier ou à perturber ; enfin au cours de son contact avec la cellule, il ne doit subir aucune transformation susceptible de l'inactiver [48].

I.5.2.1. Définition de la résistance bactérienne

Une bactérie est dite résistante lorsqu'elle est capable de se développer en présence d'un taux antibactérien significativement plus élevé que le taux habituel [48, 49].

I.5.2.2. Résistance des bactéries aux pesticides

La résistance aux pesticides est généralement étudiée par la détermination des deux paramètres suivants :

- Concentration minimale inhibitrice (**CMI**) : la plus petite concentration de pesticide qui inhibe toute culture visible d'une souche bactérienne après 18 - 24 heures de culture à 37 °C.
- Concentration minimale bactéricide (**CMB**) : la plus petite concentration du pesticide laissant 0,01% au moins de survivants de l'inoculum initial après 18 heures de culture à 37 °C.

Ces deux paramètres sont déterminés habituellement pour les antibiotiques [50, 51].

I.5.2.3. Techniques classiques de détermination de CMI et CMB

a. Techniques classiques de détermination de la CMI

Différentes techniques dérivent de ces deux mesures ; le laboratoire de bactériologie effectuera ces techniques en fonction des différentes étapes de l'analyse bactériologique

a.1. Méthode de dilution

Cette dernière est effectuée en milieu liquide ou solide. Elle consiste à mettre un inoculum bactérien en contact avec des concentrations croissantes de l'agent antimicrobien

- en milieu liquide, l'inoculum est distribué dans une série de tubes ou de cupules contenant de l'agent antimicrobien à des concentrations variables.

- en milieu solide, l'antibiotique est incorporé dans un milieu gélosé coulé en boîtes de Pétri. La surface de la gélose estensemencée avec un inoculum des souches à étudier [50, 51].



Fig. I.10. Détermination de la CMI en milieu liquide [50, 51].

a.2. Méthode de diffusion

La méthode de diffusion en gélose [52] consiste à déposer des disques de papier imprégnés d'antibiotiques sur une géloseensemencée avec la bactérie à étudier. Il s'établit dans la gélose, un gradient de concentration d'antibiotique autour de chaque disque. Après 18 heures d'incubation, il se produit un halo d'inhibition autour de chaque disque qui permet de mesurer un diamètre. Ce diamètre reflète la valeur de la CMI.

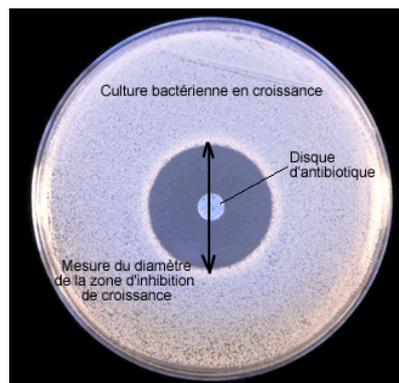


Fig. I.11. Diamètre de la zone d'inhibition de la croissance [52].

a.3. Méthode du E-test

Techniquement, l'antibiotique est contenu dans un espace limité à une extrémité de la bandelette. Lorsque celle-ci est déposée sur une gélose Müller-Hinton (milieu spécifique pour la mesure de l'activité des antibiotiques), préalablementensemencée à l'aide d'un inoculum

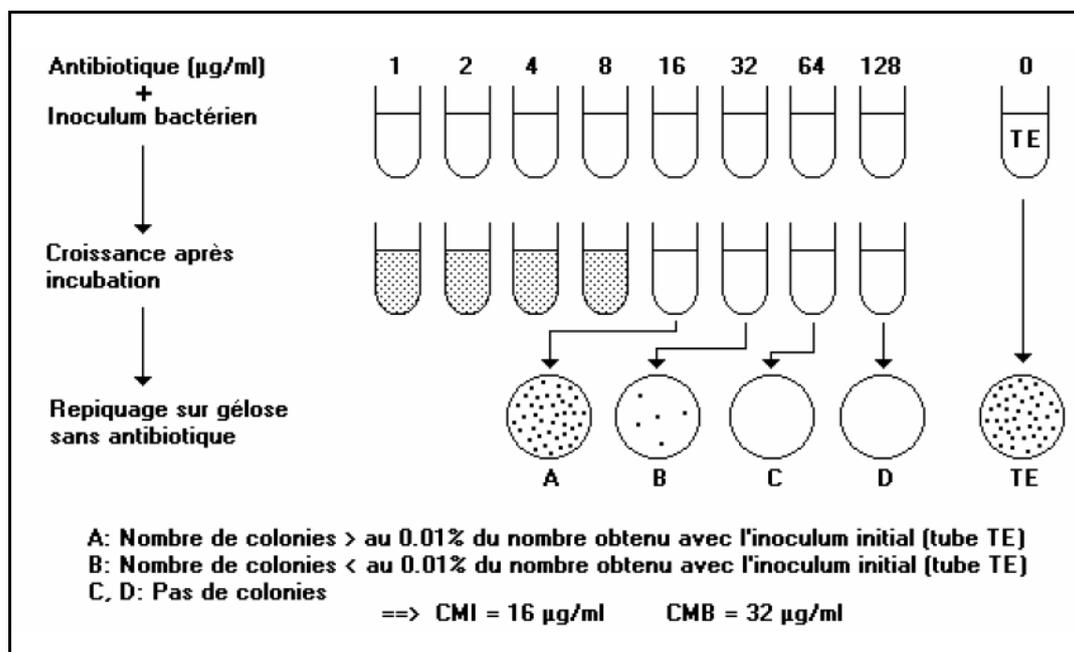
bactérien contenant l'antibiotique se répartit selon un gradient de concentration très précis. La lecture est réalisée après 24 ou 48 heures d'étuve à 37 °C. Une ellipse d'inhibition de culture se dessine autour de la bandelette et la CMI correspond à la valeur lue à l'intersection de la culture bactérienne et de la bandelette [53].



Fig. I.12. Détermination de la concentration minimale inhibitrice de par la méthode E test [53].

b. Technique de détermination de la CMB

La technique est basée sur des numérations bactériennes qui comparent le nombre de bactéries entre inoculum de départ et après l'action des antibiotiques. Cette technique est le plus souvent réalisée en milieu liquide.



TE : témoin

Fig. I.13. Détermination de la CMI et CMB [54].

CHAPITRE II

MATERIEL ET METHODES DE TRAVAIL

II.1 MATERIEL

II.1.1 Matériel biologique

II.1.1.1. Souches bactériennes

Sept souches bactériennes (SB5, SB6, SE6, SE7, SE8, SC7 et SD7) provenant de l'eau d'Oued El Harrach ont fait l'objet de notre étude. Ces dernières ont été isolées et identifiées au niveau du Laboratoire des Sciences et Techniques Environnementales (LSTE) du département de Génie de l'Environnement [55]. Il s'agirait de :

Genre Bacillus : SB5, SB6, SC7

Genre Micrococcus : SD7

Genre Chrysobacterium : SE6, SE7

Genre Aeromonas : SE8

II.1.1.2. Milieux de culture

Plusieurs milieux de culture solides ou liquides ont été utilisés au cours de notre étude :

- **Milieu de conservation** : Les souches bactériennes sont conservées à 4°C dans des tubes de gélose inclinée dont la composition est citée dans l'annexe 1.
- **Milieu de préculture** : La composition du bouillon nutritif utilisé pour la revivification des bactéries réfrigérées à 4°C est citée dans l'annexe 2.
- **Milieu de culture** : Tout le long de cette étude, nous avons utilisé un milieu minéral préconisé par Sheeja, et al (2002) (voir annexe 3) [56].

II.1.2. Dispositif expérimental

Pour les manipulations sans aération, on a utilisé le dispositif représenté par la figure II.1.



Fig. II.1. Dispositif expérimental N° 1

Le dispositif de la figure II.1 est un agitateur incubateur de marque Heidolph incubateur 1000, type Unimax 1010 DT, sur lequel on peut placer quatre réacteurs de 1 l ou bien huit réacteurs de 250 mL

Le schéma suivant représente le dispositif utilisé lors des expériences avec aération.

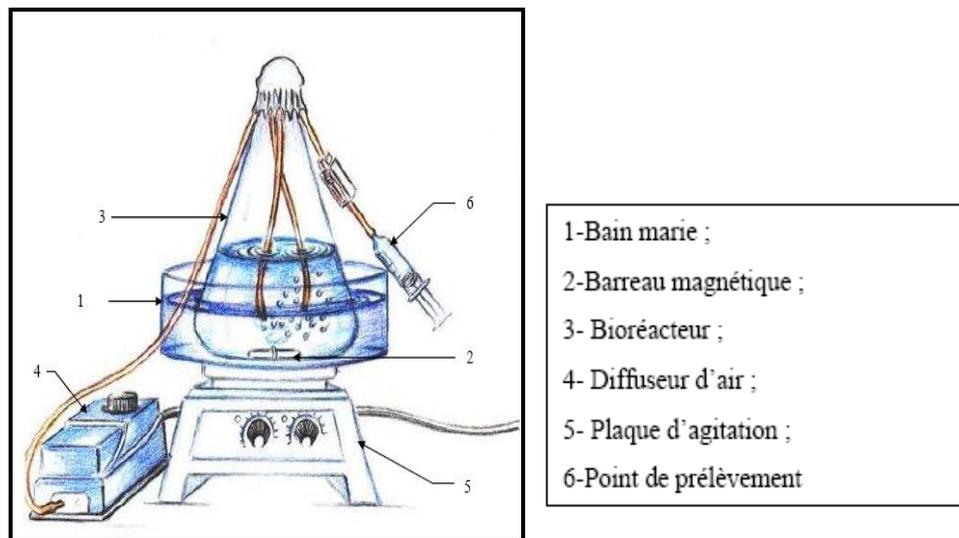


Fig. II.2. Dispositif expérimental N°2.

II.2 METHODES

II.2.1. Mesure de la biomasse microbienne

L'étude de la croissance microbienne ne peut être faite correctement que si l'on dispose de techniques appropriées d'évaluation de la population microbienne dont on souhaite étudier l'évolution. Il existe beaucoup de techniques, aucune ne convenant à tous les cas.

Mais la détermination de la matière sèche cellulaire est la méthode la plus rigoureuse. La biomasse microbienne est récupérée généralement par centrifugation, lavée afin d'éliminer le milieu de culture retenu entre les cellules et séchée à 105 °C jusqu'à poids constant [57].

La croissance cellulaire a été suivie par mesure de la turbidité des cultures à 600 nm sur un spectrophotomètre UV-Visible SHIMADZU UV MIN-1240.

II.2.2. Evaluation de la toxicité de bifenthrine sur les bactéries

Pour déterminer la CMI, on a utilisé la méthode de dilution et la méthode de diffusion, ou ce qu'on appelle la méthode des puits, ces derniers de diamètre égal à 6 mm, sont réalisés au centre de chaque boîte Pétri contenant de la gélose nutritiveensemencée par 0,1 mL de préculture uniformément étalée à l'aide d'une pipette râteau, et dans ces puits, on dispose 50 μ L de pesticide à différentes concentrations.

Après incubation à 37 °C pendant 24 h on mesure le diamètre d'inhibition, là où il n'y a pas de poussée des bactéries ; et de là on détermine la CMI [58, 59].

Pour déterminer la CMB on procède comme suit

- Préparer des flacons contenant 100 ml de bouillon nutritif et les stériliser (à l'autoclave)
- Préparer des précultures de toutes les souches dans ces flacons et les incuber pendant 24 à 48h à 37°C
- Lire la densité optique des flacons avant centrifugation à 600 nm
- Centrifuger les précultures et récupérer le culot, le remettre en suspension en milieu neuf dans des tubes de 10 ml de bouillon nutritif
- Ajouter à chacun des tubes 0.1 ml de pesticide dilué dans de l'éthanol à différentes concentrations, et incuber à 37°C
- préparer un témoin pour chaque souche
- Lire la densité optique de chaque tube à différents intervalles de temps (plusieurs jours) jusqu'à stabilisation de cette dernière
- A ce moment, et à partir de ces tubes, on fait un ensemencement en stries dans des boîtes Pétri contenant de la gélose nutritive et on incube à 37°C pendant 24h
- Par la suite on détermine la concentration du pesticide là où il n'y a pas de poussée microbienne, et c'est la CMB

II.2.3. Suivi de la croissance cellulaire par dénombrement sur milieu solide

Le suivi de la croissance bactérienne a été réalisé par étalement, sur boîtes Pétri sur milieu PCA (voir annexe1), des suspensions bactériennes non centrifugées et diluées entre 10^{-1} et 10^{-7} . Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant plusieurs jours. Le dénombrement est effectué par comptage à l'œil nu des colonies formées. Ce test est réalisé afin de déterminer le taux de croissance maximal de l'ensemble des souches sélectionnées et de la culture mixte.

II.2.4. Paramètres d'évaluation de la biodégradation du bifenthrine:

II.2.4.1. Mesure de la demande chimique en oxygène (DCO)

La DCO est effectuée selon la méthode du centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (2007), (voir annexe 4).

La matière oxydable contenue dans un échantillon est oxydée par chauffage sur un bloc chauffant HACH DRB 200 à une température de $150\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ pendant deux heures en milieu fortement acide avec une quantité connue de bichromate de potassium dans une éprouvette fermée.

La consommation d'oxygène par l'échantillon provoque un changement de couleur dont l'absorbance est proportionnelle à la quantité de bichromate de potassium réduit et se mesure en équivalent d'oxygène.

La mesure de la densité optique des échantillons minéralisés a été faite à 600 nm sur un spectrophotomètre UV-Visible SHIMADZU UV MIN-1240, en utilisant la courbe d'étalonnage préalablement établie (voir annexe 5), cette densité optique est convertie en concentration d'oxygène exprimée en ($\text{mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$) [60].

L'équation de conversion est $\text{DO} = 3\cdot 10^{-4} \text{DCO}$.

II.2.4.2. Mesure du Carbone organique total (COT)

Ce paramètre a été mesuré par un COT-mètre, Formacs^{HT} TOC Analyzer Skalar. Pour l'analyse du carbone organique total (COT), tout comme le carbone organique dissous (COD), l'échantillon contenant des composés carbonylés est introduit dans un tube chauffé à 950 °C qui contient un catalyseur agissant comme oxydant. Les composés de combustion et de dégradation sont sous forme de CO₂, qui est analysé par détection infrarouge et quantifié par comparaison à une courbe d'étalonnage [61].

Le carbone organique total (COT) réfère au carbone organique non volatile, qui est mesuré en acidifiant l'échantillon au préalable à l'aide de l'acide chlorhydrique 1 N et en y faisant barboter de l'air de qualité ultrapure.

II.2.4.3. Suivi de l'activité respiratoire (ou demande biochimique en oxygène DBO)

La respiration des microorganismes, d'une activité biologique aérobie, a été mesurée par la méthode manométrique de OCDE 301 (Organisation for Economic Co-operation and Development) en utilisant des flacons de 500 mL équipés de têtes à affichage numérique permettant la mesure directe de la pression à l'intérieur des flacons [62].

Dans des flacons hermétiques, le CO₂ expiré par les microorganismes résultant de la consommation d'oxygène pour l'oxydation de la matière organique du milieu est dissous dans la soude, placée sous forme de pastilles solides dans une cupule de caoutchouc au-dessus de la solution.

CHAPITRE III

RESULTATS ET INTERPRETATIONS

III.1 CARACTERISATION DES SOUCHES AUTOCHTONES

Le tableau suivant résume les différents critères obtenus dans cette partie d'identification pour les sept souches [55].

Tab. III.1. Résumé des différents critères d'identification des sept souches [55].

	Aspect de la colonie			Aspect de la cellule		Tests			
	forme	couleur	élévation	Forme	Gram	Catalase	oxydase	King A	King B
SB5	filamenteuse	beige	centrée	bacille	+	+	/	/	/
SB6	filamenteuse	beige	centrée	bacille	+	+	/	/	/
SC7	ondulée	beige	plate	bacille	+	+	/	/	/
SD7	circulaire	beige	convexe	coque	+	+	/	/	/
SE6	filamenteuse	beige	centrée	Bacille en chainette	-	/	+	-	d
SE7	irrégulière	beige	plate	bacille	-	/	+	-	-
SE8	irrégulière	beige	plate	bacille	-	/	+	-	-

Les tests effectués par Hamdi [55] pour l'identification des sept souches, ont permis d'aboutir à trois souches Gram+ (SB5, SB6, SC7) de forme bacille appartenant au genre *Bacillus* ou *Actinobacter*, et une souche Gram+ de forme coque (SD7) appartenant aux Microcoques. Des tests par galeries API spécifiques pourraient confirmer l'identification de ces espèces.

Pour les trois souches Gram- ; SE7 et SE8 appartiendraient à l'espèce *Chrysobacterium meningosepticum* et la souche SE6 se rapproche d'*Aeromonas salmonicida*.

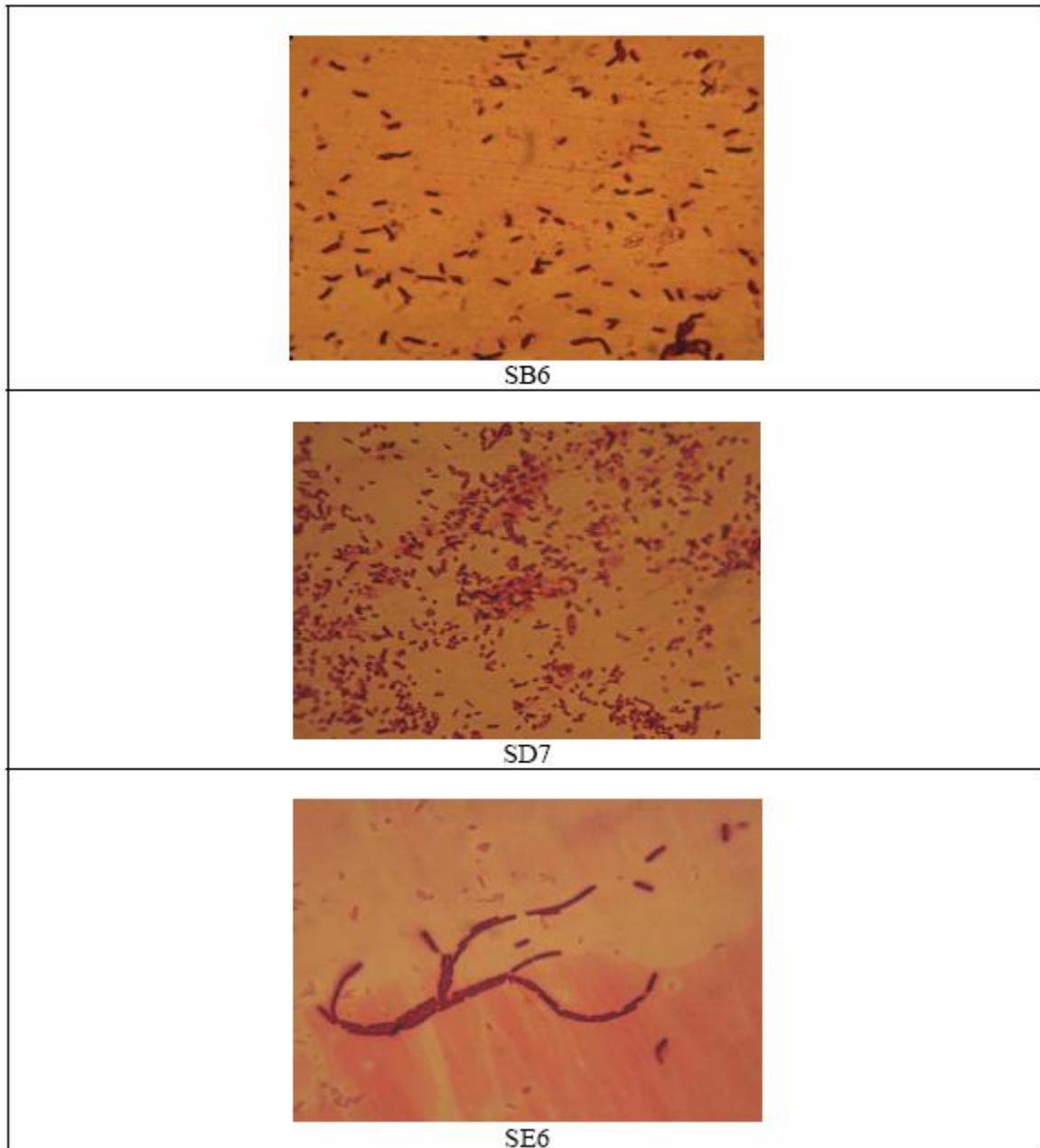
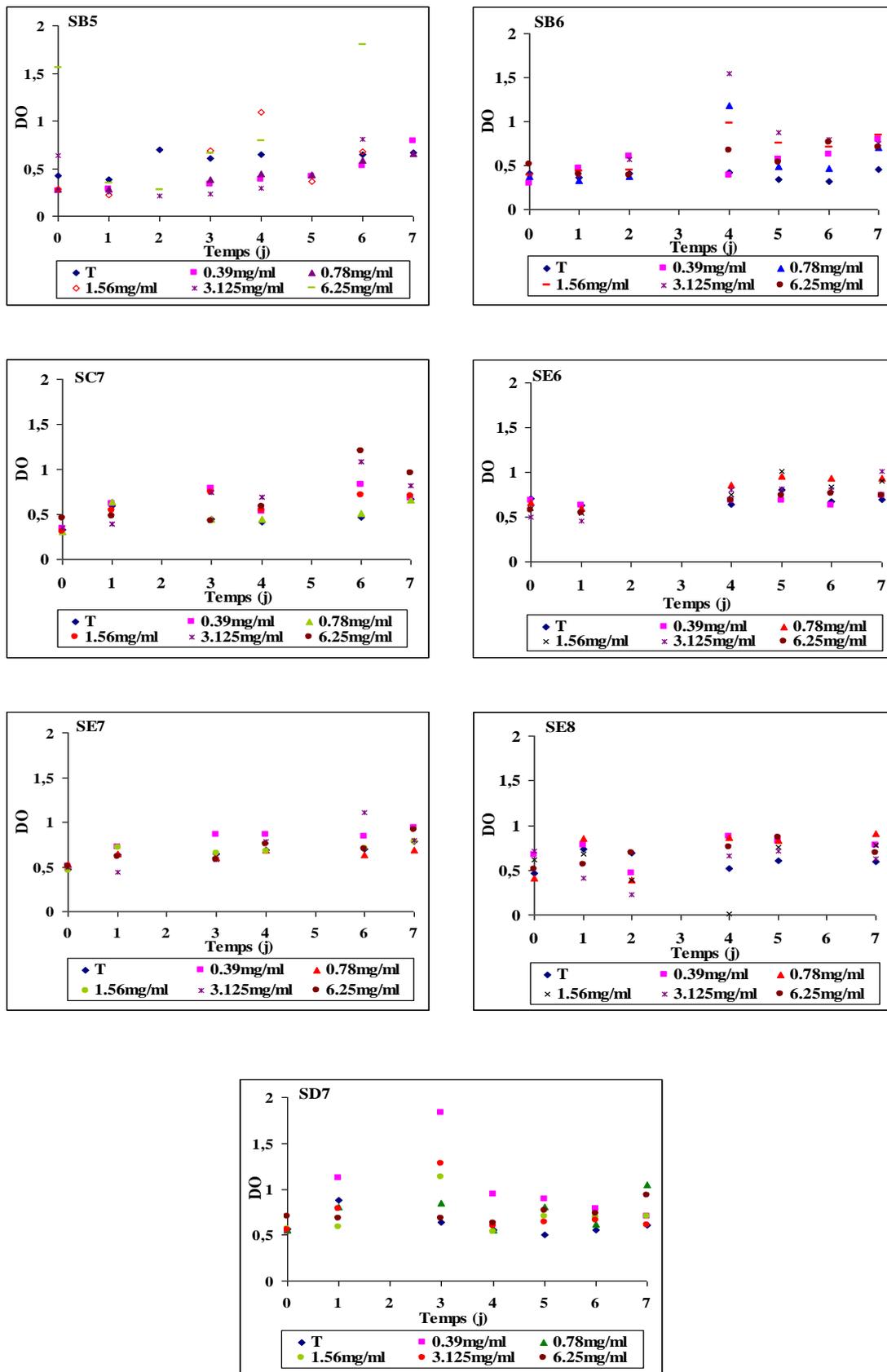


Fig. III.1. Forme de quelques souches bactériennes étudiées après coloration de Gram [55].

III.2 CINÉTIQUE DE CROISSANCE

Dans une série de flacons contenant le milieu de culture liquide, nous inoculons la même quantité de microorganismes et nous suivons l'évolution de la biomasse par spectrophotomètre à 600 nm en présence de différentes concentrations de bifenthrine, un témoin contenant de l'éthanol est préparé pour chaque souche.

Sachant que la bifenthrine présente une hydrosolubilité limitée, elle est donc préalablement dissoute dans l'éthanol, à raison de 5 % (V/V) à partir d'une solution de bifenthrine de concentration de 100 g.L⁻¹[63].



T : Témoin

Fig. III.2. Courbes de croissance pour les différentes souches en présence de bifenthrine.

Afin de comparer l'effet de la concentration du pesticide sur la croissance des souches, on a déterminé le taux de croissance maximal de chaque souche. Pour cela on utilise l'équation suivante :

$$\mu_{\max} = \frac{\text{Log}[N] - \text{Log}[N_0]}{(t - t_0)\text{Log}2}$$

N : nombre de colonies au temps t

N₀ : nombre de colonies au temps zéro

Selon la loi de **Beer Lambert**, le nombre de germes peut être assimilé à la DO, ce qui donne :

$$\mu_{\max} = \frac{\text{Log}DO - \text{Log}DO_0}{(t - t_0)\text{Log}2}$$

D'après les courbes de croissance, on peut déterminer les valeurs de μ_{\max} (h⁻¹) (exprimés par la pente de la phase exponentielle) qui sont donnés dans le tableau III.2

Tab. III.2. Valeurs de μ_{\max} (10⁻²) des souches bactériennes.

		<i>SB5</i>	<i>SB6</i>	<i>SE6</i>	<i>SE7</i>	<i>SE8</i>	<i>SC7</i>	<i>SD7</i>
<i>Témoin</i>		0,6	0,78	0,72	1,7	2,8	3,6	2,6
<i>Bifenthrine (g.L⁻¹)</i>	0,39	0,4	2,9	0,5	2,0	0,9	3,6	4,5
	0,78	0,6	0,8	0,5	1,2	4,4	4,3	2,2
	1,56	0,5	0,5	0,6	2,7	3,4	3,3	2,0
	3,12	0,5	0,1	0,5	0,5	3,4	0,6	2,0

Globalement, on remarque que les souches SD7 et SC7 présentent les meilleurs taux de croissance, les plus faibles sont ceux des souches SB5, SB6 et SE6.

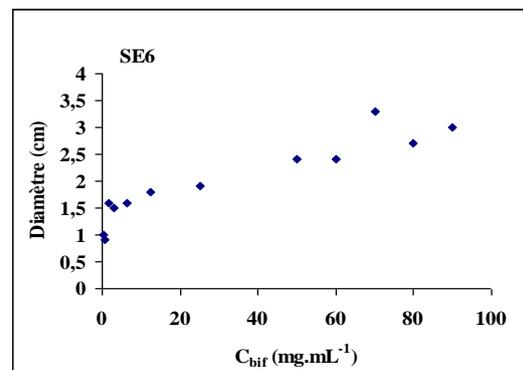
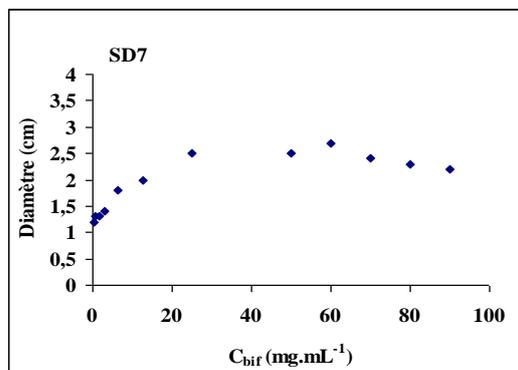
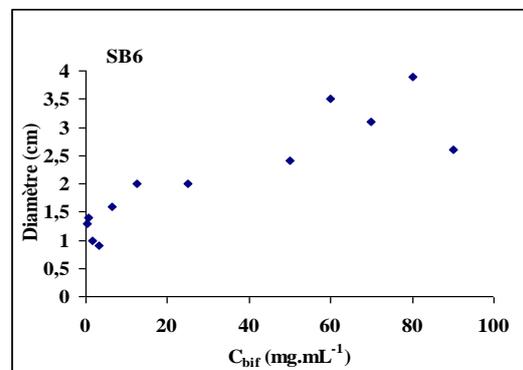
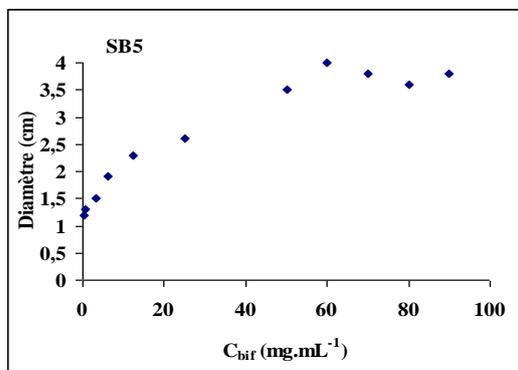
Ces premières remarques nous laissent supposer que, à priori la souche SC7 présente la meilleure résistance au pesticide et qu'à l'inverse la souche SB5 serait la plus sensible. Mais ces observations ne pourront être vérifiées que par la détermination des concentrations de CMI et CMB.

III.3 DETERMINATION DE LA CMI, CMB

Différentes techniques d'évaluation de l'activité d'un antimicrobien peuvent être mises en œuvre au laboratoire de bactériologie : elles reposent sur les mesures de CMI (concentration minimale inhibitrice) et CMB (concentration minimale bactéricide).

- Concentration minimale inhibitrice : C'est la plus petite concentration d'antimicrobien empêchant toute croissance bactérienne après un temps d'incubation de 18 à 24 heures, par rapport à un contrôle de croissance ne contenant pas l'antimicrobien testé. Cette méthode peut être utilisée dans l'objectif de mettre en évidence un mécanisme de résistance d'une souche donnée, donc valeur indicatrice du pouvoir bactériostatique d'un antimicrobien [64].
- Concentration minimale bactéricide : Elle correspond à la plus petite concentration d'antibactérien capable de détruire 99,99 % d'un inoculum bactérien. Déterminée par dénombrement des bactéries sur milieu gélosé ; elle est une valeur indicatrice du pouvoir bactéricide [65].

Les résultats de la CMI sont représentés par les figures suivantes



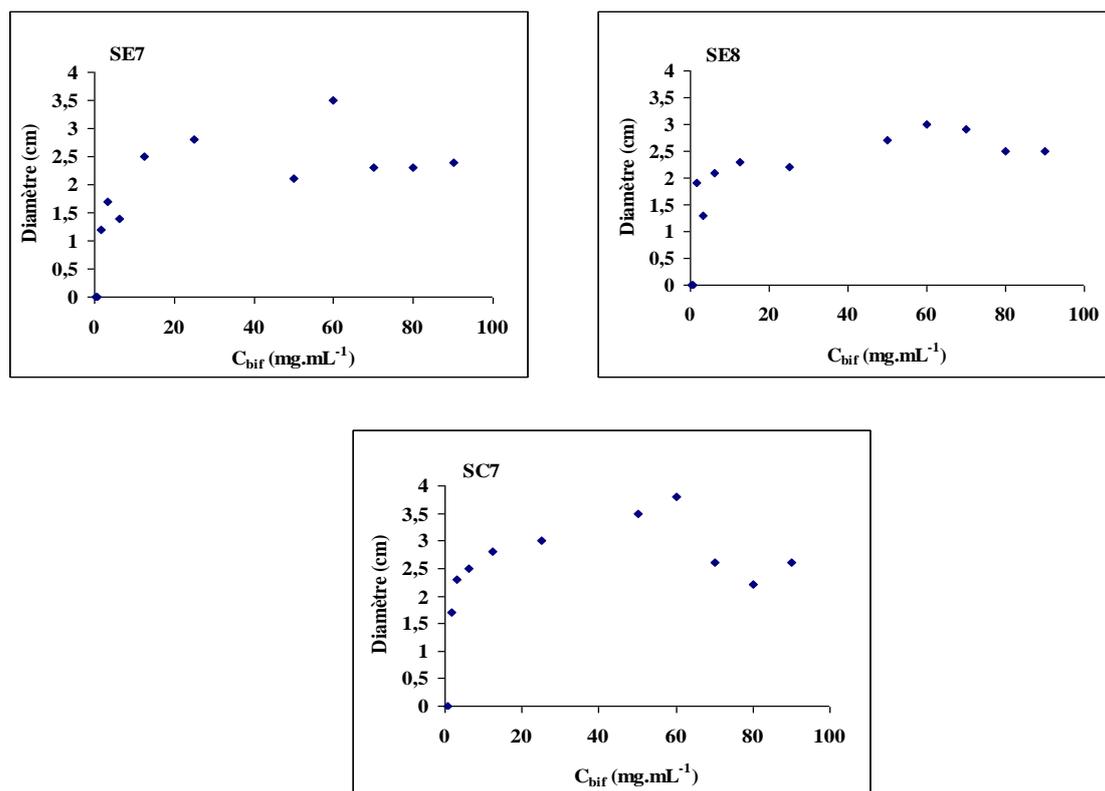


Fig. III.3. Diamètre d'inhibition en fonction de la concentration de bifenthrine.

Le tableau III.3 récapitule les valeurs des paramètres antibactériens de la bifenthrine sur l'ensemble de souches

Tab. III.3. CMI et CMB des différentes souches.

<i>Souche</i>	<i>SB5</i>	<i>SB6</i>	<i>SD7</i>	<i>SE8</i>	<i>SE7</i>	<i>SE6</i>	<i>SC7</i>
<i>CMI (mg.mL⁻¹)</i>	>70	80	>60	>60	>60	>70	>60
<i>CMB (mg.mL⁻¹)</i>	80	80	>90	>90	>90	>90	>90

Comme nous pouvons le constater sur le tableau III.3, presque toutes les souches sont sensibles au pesticide avec une CMI supérieure à 60 mg.mL⁻¹; et de là on remarque que SB6 est la plus résistante avec une CMI égale à 80 mg.mL⁻¹, suivie de SB5 et SE6 avec une CMI de 70 mg.mL⁻¹ contrairement aux autres souches qui sont plus sensibles.

Pour la CMB, on peut dire que SB5 et SB6 sont les plus sensibles au pesticide, et les autres souches sont toutes résistantes à des concentrations dépassant 90 mg.mL⁻¹.

Le rapport d'activité CMB/CMI pour toutes les souches étudiées varie entre un (1) et un et demi (1,5). Selon MARMONIER (1990), lorsque le rapport d'activité CMB/CMI d'une substance antimicrobienne est inférieur ou égal à quatre (≤ 4), cette dernière est qualifiée de substance bactéricide et si le rapport CMB/CMI est supérieur à quatre (> 4), alors elle est dite bactériostatique. La bifenthrine dont le rapport d'activité CMB/ CMI varie de un (1) à un et demi (1,5) peut être qualifiée de substance bactéricide. Ce polluant a donc une activité bactéricide contre toutes les souches étudiées [66, 67].

Apparemment, les valeurs de CMI et CMB ne semblent pas montrer une corrélation directe. Ces deux paramètres auraient un rapport direct avec la structure cellulaire et la physiologie des bactéries (le mécanisme de résistance est différent).

Pour qu'un pesticide soit actif sur une bactérie, un certain nombre de conditions est à considérer: il doit en premier lieu, pénétrer dans la cellule, ensuite rencontrer le récepteur ou la cible à modifier ou à perturber.

Les photos représentées par les figures III.4 et III.5 représentent le résultat de la CMI (zones d'inhibition) et CMB pour les souches autochtones respectivement.



Fig. III.4. Zones d'inhibition de la croissance de SB5 à différentes concentrations de bifenthrine

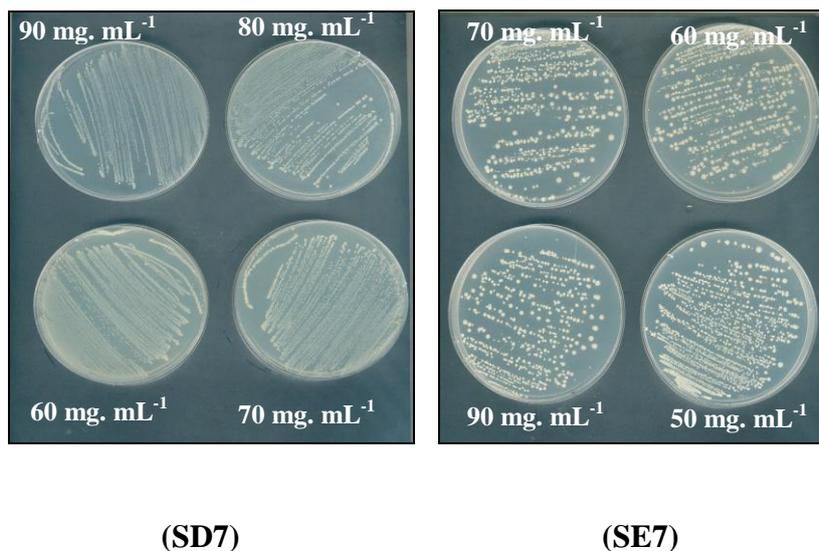


Fig. III.5. Culture des souches SD7 et CM à différentes concentration de bifenthrine

L'analyse des données expérimentales montre que comparativement aux témoins de contrôle de croissance, il y a une diminution du nombre de colonies de ces germes dans les tubes expérimentaux au fur et à mesure que la concentration du polluant augmente. Ainsi, nos résultats montrent que la bifenthrine est active à divers degrés et manifeste une activité antibactérienne en inhibant la croissance in-vitro des germes bactériens selon une relation dose-réponse.

Cela nous a permis de déterminer les différents paramètres antibactériens à savoir la concentration minimale inhibitrice (CMI), la concentration minimale bactéricide (CMB) et le rapport CMB/CMI.

III.4. CROISSANCE PAR DENOMBREMENT EN MILIEU MINERAL

D'après les résultats de la CMI, on va suivre la croissance microbienne à trois concentrations de pesticide: 10, 20 et 50 mg.mL⁻¹ pour les souches jugées résistantes, et qui sont SE6, SE7, SE8, SC7 et SD7.

Ensemencer le milieu de culture contenu dans des boîtes Pétri par 1 mL de préculture en surface et en stries et incuber pendant quelques jours.

On remarque qu'il y'a croissance dans les boîtes suivantes contenant les souches SE6, SE7, SC7 et SD7 telles que les concentrations en pesticides sont : 10 et 20 mg.mL⁻¹ ; ainsi que SD7 à 50 mg. mL⁻¹.

Pour la croissance par dénombrement sur milieu liquide, on va travailler avec 4 souches seulement, et qui sont SE6, SE7, SC7 et SD7 avec une concentration de 5 mg.mL^{-1} de pesticide.

Les résultats obtenus sont illustrés par la figure III.6.

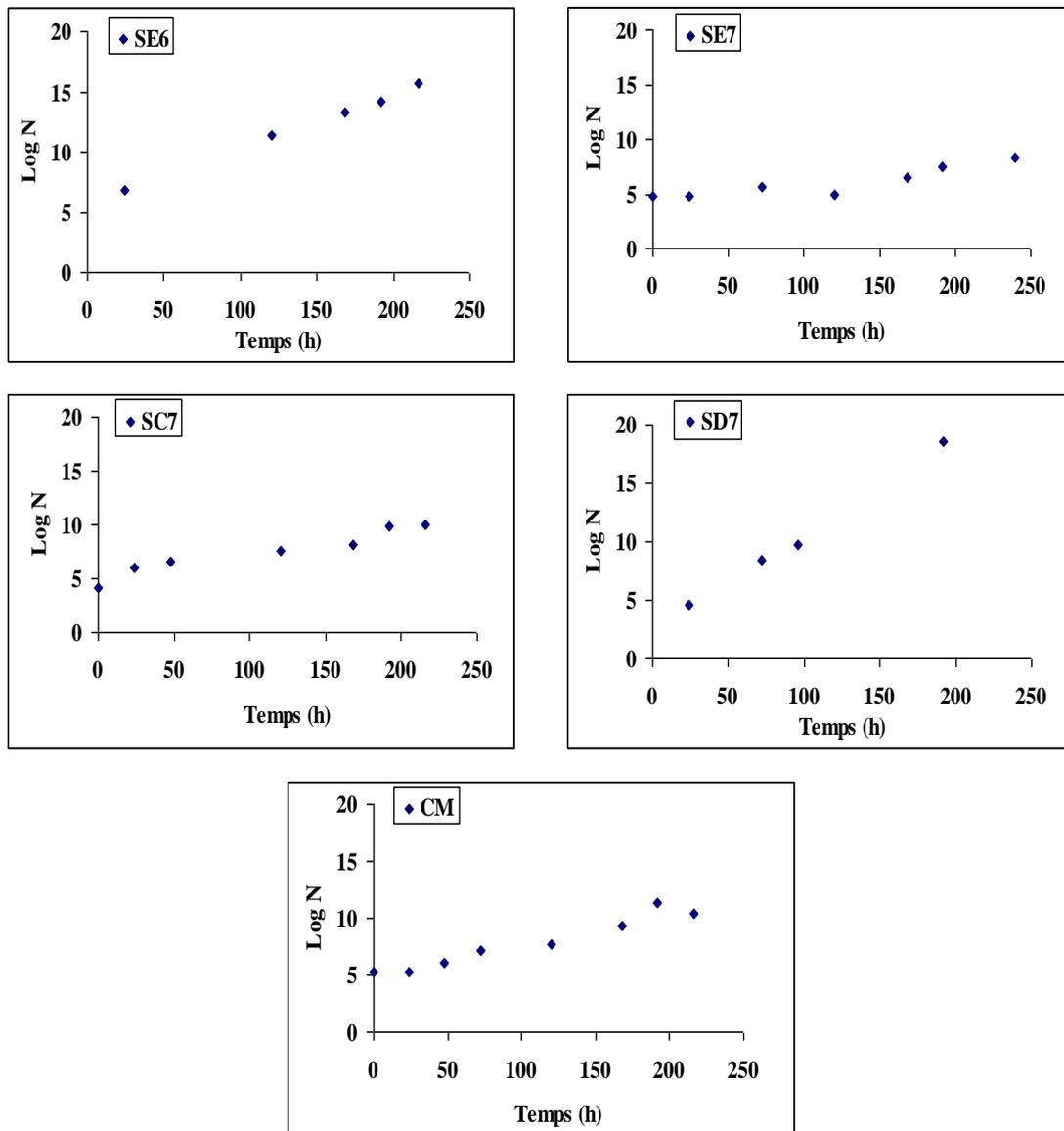


Fig. III.6. Courbes de croissance des souches sélectionnées.

Le taux de croissance μ_{\max} des différentes cultures est représenté par le tableau III.4.

Tab. III.4 : Taux de croissance maximal pour l'ensemble des cultures

<i>Bactérie</i>	<i>SC7</i>	<i>SE7</i>	<i>SE6</i>	<i>SD7</i>	<i>CM</i>
$\mu_{\max} (h^{-1})$	0,09	0,049	0,15	0,27	0,10

D'après ces résultats on peut conclure que la souche SD7 est la plus résistante vu son taux de croissance le plus élevé $0,27 h^{-1}$, et la souche SE7 est considérée comme la plus sensible à la bifenthrine.

D'après ces résultats et pour le reste du travail, on va étudier la biodégradation de SD7 et de la culture mixte en déterminant trois paramètres importants de la biodégradation qui sont la DCO, la DBO et le COT

III.5. CARBONE ORGANIQUE TOTAL (COT)

La détermination du carbone organique total (COT) contenu dans l'eau est utile comme mesure de la pollution. Il s'agit d'un processus analytique qui est validé et démontre qu'il est approprié à sa destination.

Le Carbone organique total (COT) est la somme du carbone organique présent dans l'eau, lié à la dissolution ou à la suspension, y compris cyanate, thiocyanate et le carbone élémentaire.

Pour réaliser cette expérience, nous avons conçu quatre réacteurs, les deux premiers contiennent les biomasses des souches SD7 et une culture mixte CM (composée de SE6, SE7, SC7 et SD7), le pesticide dilué dans l'éthanol à une concentration de $5 g.L^{-1}$ est ajouté au milieu minéral à 10% ce qui donne une concentration finale de $50 mg.L^{-1}$. Les deux autres réacteurs témoins contiennent uniquement l'inoculum dans le milieu minéral.

Le dosage du COT au début et à la fin de la manipulation a donné les résultats illustrés dans le tableau III.5.

Tab. III.5. Valeurs du carbone organique total (mg.L⁻¹).

Culture Temps (j)	SD7	SD7 _T	CM	CM _T
0	1277.57	56.79	1188.78	30.98
24	1053.81	52.78	702.11	21.30
COT%	18%		41%	

En calculant le pourcentage d'abattement du COT par la formule :

$$\% \text{COT} = \frac{\text{COT}_0 - \text{COT}_f}{\text{COT}_0}$$

Où : $\text{COT}_0 = \text{COT}_0 (\text{SD7 ou CM}) - \text{COT}_0 (\text{SD7}_T \text{ ou CM})$,

$\text{COT}_f = \text{COT}_f (\text{SD7 ou CM}) - \text{COT}_f (\text{SD7}_T \text{ ou CM})$.

Une réduction du carbone organique total du milieu de 18% et 41% est provoquée respectivement par la souche SD7 et par la culture mixte CM, ce qui explique l'effet positif de la culture mixte sur la dégradation du pesticide. La réduction du COT dans le milieu de culture relativement plus importante pour la culture mixte s'explique par l'effet synergique des souches. En effet, l'affinité de chaque bactérie pour un groupement de la molécule du pesticide serait à l'origine de sa dégradation par les diverses enzymes bactériennes [31, 32].

III.6. DEMANDE CHIMIQUE EN OXYGENE (DCO)

Pour mieux évaluer la dégradation de bifenthrine, un suivi de la DCO a été réalisé pendant 28 jours.

a- la concentration du pesticide est de 50 mg.L⁻¹ préalablement solubilisé dans l'éthanol, et le blanc ou le témoin est composé uniquement de l'inoculum et le milieu minéral.

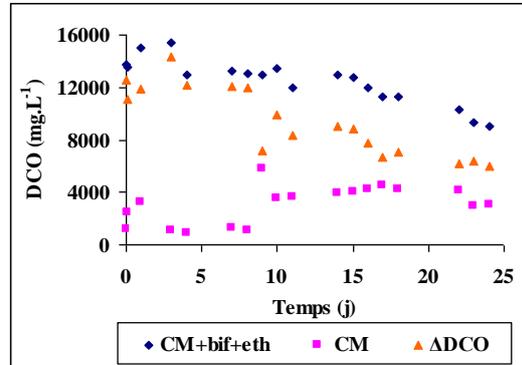
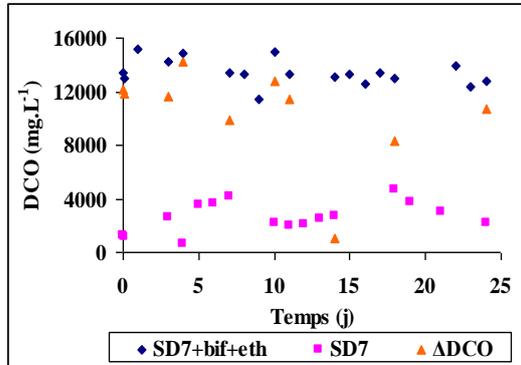
b- la concentration du pesticide est de 25 mg.L⁻¹ préalablement solubilisé dans l'éthanol, et le blanc contient la même quantité en éthanol en plus de l'inoculum.

c- le pesticide est incorporé directement dans le milieu de culture à une concentration de 25 mg.L⁻¹, le blanc est constitué de l'inoculum et le milieu nutritif minéral.

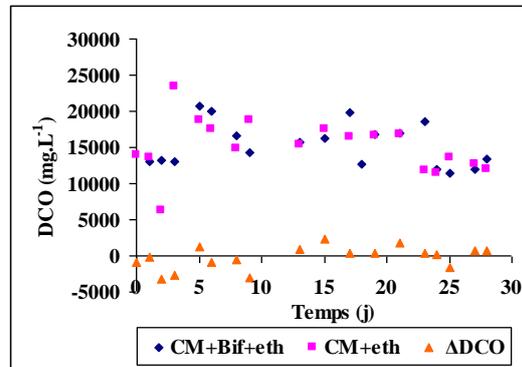
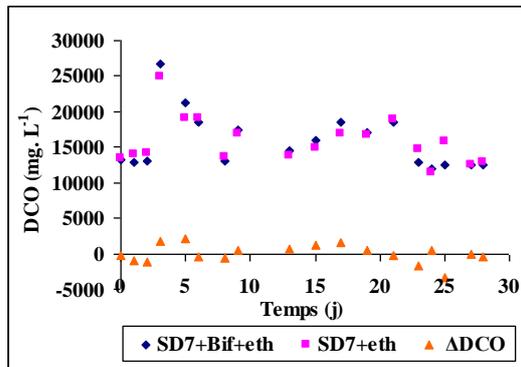
d- la concentration du pesticide est de 5 et 0.1 mg.L⁻¹ successivement, dans ce cas le pesticide n'est pas solubilisé dans l'éthanol, et le blanc est constitué de l'inoculum SD7 et le milieu nutritif minéral.

Dans les quatre cas, la température est maintenue à 37°C, une aération de 0.2 l.h⁻¹ et une agitation de 150 tr.min⁻¹ sont appliquées au dispositif.

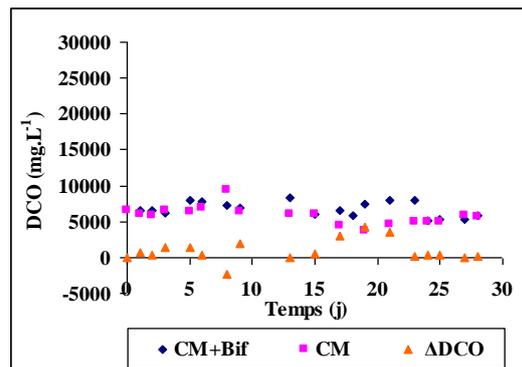
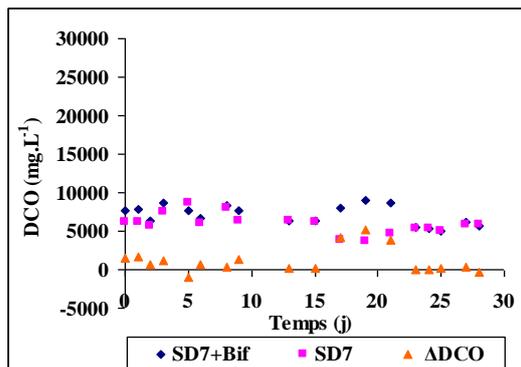
Les résultats obtenus sont représentés par la figure III.7.



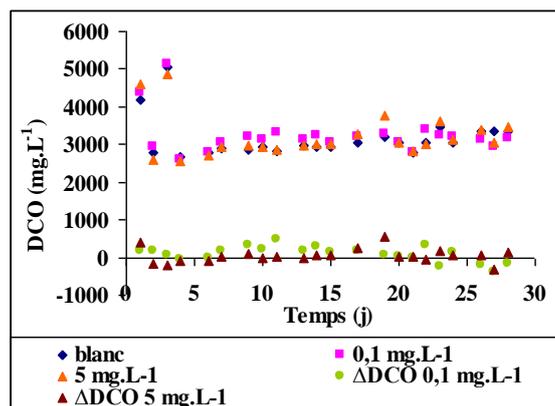
(a)



(b)



(c)



(d)

Fig. III.7. Evolution de la DCO au cours du temps.

Pour le cas (a), les résultats montrent que pour la souche SD7 il n'y a pratiquement pas de dégradation du bifenthrine, contrairement à la culture mixte qui présente une diminution de la DCO avec un rendement d'abattement d'environ 52 %, ce résultat est tout à fait en accord avec les études de Koel *et al.* (2007) et de Mathave *et al.* (2006) qui sont arrivés à minéraliser l'endosulfane en utilisant des cultures mixtes de bactéries isolées des eaux de surface, et d'autres des sols contaminés par l'endosulfane. D'après Koel *et al.* (2007), après quinze jours d'incubation, la culture mixte était capable de dégrader 73 % et 81 % de α et β endosulfane respectivement [68, 69, 70].

Dans le cas (b), on constate qu'il n'y a pas de dégradation du bifenthrine pour SD7 et CM, l'activité observée est attribuée à l'éthanol puisque les courbes semblent similaires en présence d'éthanol avec ou sans pesticide.

Le cas (c) a pour objectif d'éliminer l'effet de l'éthanol. Dans ce cas on constate une diminution de la DCO d'un facteur de 4 et toujours avec des courbes presque identiques avec ou sans pesticide. Cette faible activité serait due à la respiration endogène des bactéries.

Dans le dernier essai on a diminué la concentration du pesticide, jusqu'à solubilité totale dans l'eau (0.1 mg.L⁻¹). De même, les courbes de la figure III.7 (d), montrent une très faible dégradation de la molécule de bifenthrine par ces bactéries autochtones.

III.7. DEMANDE BIOCHIMIQUE EN OXYGENE (DBO)

La DBO - demande biochimique en oxygène - est une expression de la quantité d'oxygène nécessaire pour dégrader biologiquement la matière organique dans un échantillon d'eau usée. La mesure de DBO est ainsi utilisée comme base de la détection de matière organique biodégradable dans l'eau.

La différence entre la DBO et la demande chimique en oxygène (DCO) réside dans le fait que la DCO enregistre également la matière organique non biodégradable. Les mesures de DBO représentent ainsi une mesure importante des effets des eaux usées domestiques et industrielles sur les stations d'épuration. Cependant, l'oxydation biologique des nitrates (nitrification) entraîne également une consommation d'oxygène. La nitrification est donc réalisée en même temps que l'élimination de la DBO_5 et de la DCO, d'où l'intérêt d'évaluer cette contribution par simple inhibition de la réaction de nitrification.

III.7.1. Effet de l'inhibition de nitrification sur la respiration endogène

Cet essai a pour but de voir l'effet de l'inhibiteur de nitrification Allyl Thio Urée (ATU) sur la respiration endogène de SD7. Le résultat de respirométrie est représenté par les courbes de la figure III.8.

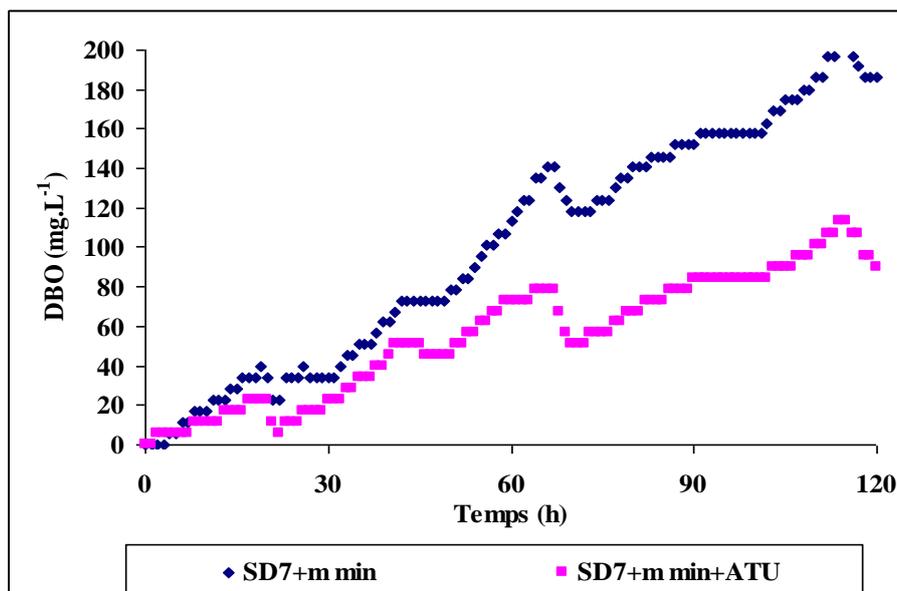


Fig. III.8. Effet de l'inhibiteur de nitrification sur la respiration endogène.

Comme on peut le constater sur la figure III.8, l'addition de l'inhibiteur de la nitrification induit une diminution de la DBO_5 de l'ordre de 50% par rapport au même essai effectué sans inhibiteur, cette même constatation a été relevée par Labelle et Peter *et al.* (2003) [62, 64].

III.7.2. Activité respiratoire en présence du pesticide à 50 mg.L^{-1}

Des essais de respirométrie à une concentration de 50 mg.L^{-1} de bifenthrine ont été effectués en présence d'inhibiteur de nitrification, et ont donné les résultats graphiques présentés sur la figure III.9.

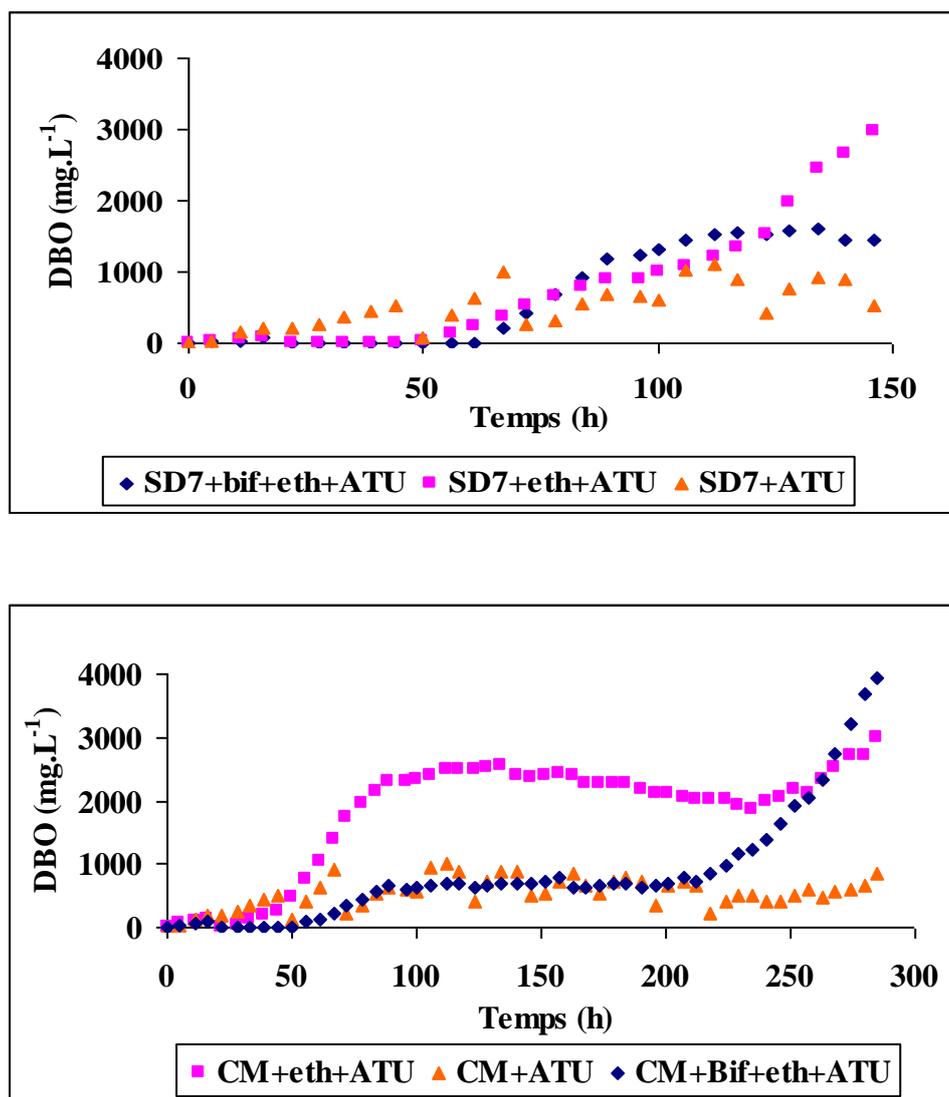


Fig. III.9. Evolution de la DBO pour les souches SD7 et CM à 50 mg.L^{-1} de bifenthrine.

En se basant sur la figure III.9, on peut constater que l'activité respiratoire de SD7 en présence de l'éthanol est plus importante que celle en présence du pesticide, en passant dans les deux cas par une phase de latence ou d'acclimatation qui avoisine les 50 heures.

Pour la culture mixte, on observe le même phénomène que pour SD7, ce qui confirme les résultats de la DCO qui ont montré une dégradation préférentielle de l'éthanol par rapport au pesticide. Il semblerait que le pesticide soit très faiblement dégradé et en plus il jouerait le rôle d'inhibiteur de l'autre source carbonée qui est l'éthanol.

III.7.3. Evolution de la DBO sans dissolution du pesticide dans l'éthanol

Dans cet essai, nous avons éliminé l'éthanol et suivi l'évolution de la DBO.

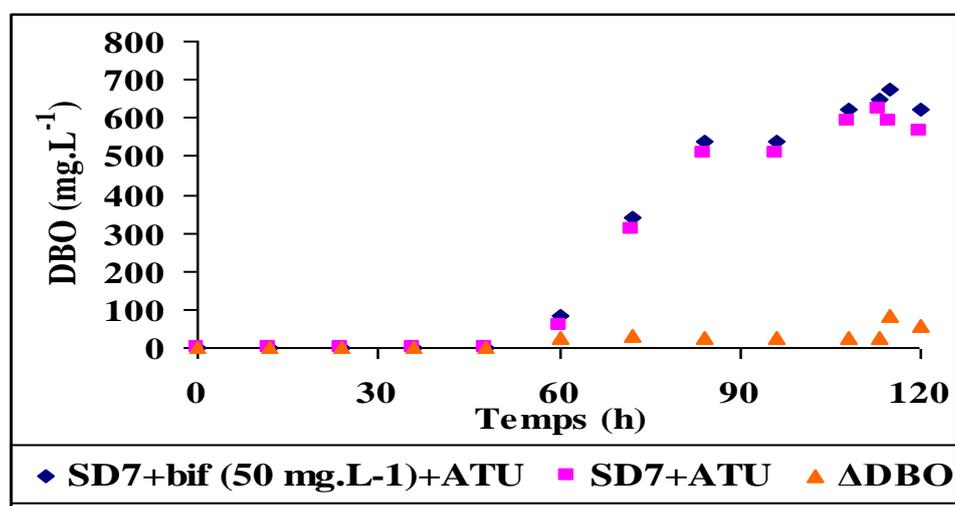


Fig. III.10. Activité respiratoire de la souche SD7 en absence de l'éthanol dans le pesticide

A 50 mg.L⁻¹ de bifenthrine, la DBO est légèrement élevée par rapport au blanc, en plus la Δ DBO est de l'ordre de (84 mg.L⁻¹) soit environ 80% de la DT_{th}O (Demande théorique en oxygène).

La présente étude confirme les travaux de Baskaran et *al.* (1999) qui ont étudié la dégradation du bifenthrine dans le sol dans des conditions de laboratoires contrôlées, les auteurs ont noté au bout de 24 mois une stabilité du composé et une très faible dégradation [61].

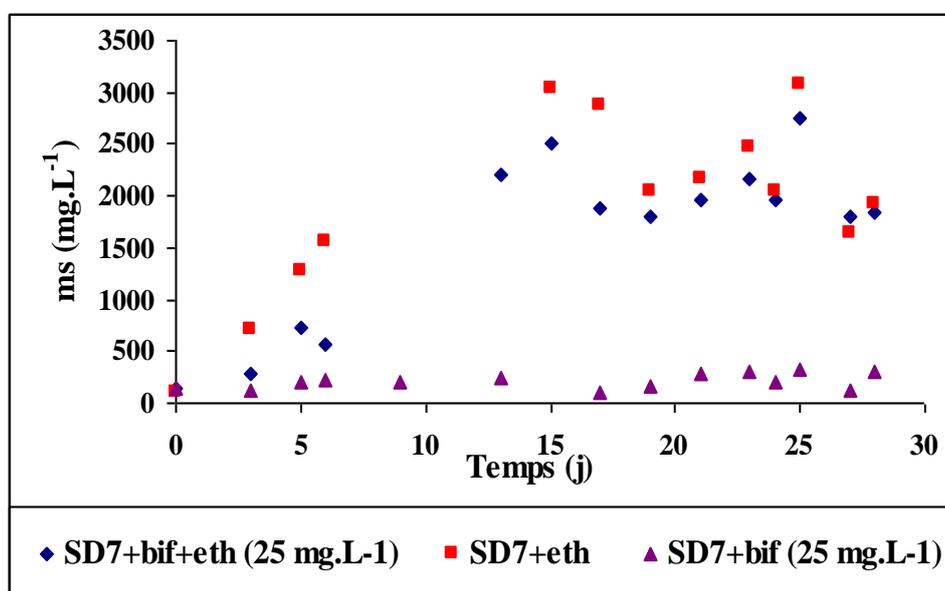
La très faible biodégradabilité du bifenthrine observée s'expliquerait d'une part, par sa composition chimique ; il s'agit d'un produit contenant des composés résistants ou réfractaires à l'activité microbienne de biodégradation : noyaux aromatiques, chlore.

D'autre part, la biodisponibilité du pesticide pour être biodégradable est un paramètre à considérer, étant donné qu'il s'agit d'un produit ayant une hydrosolubilité limitée ($0,1 \text{ mg.L}^{-1}$). Or, il est bien établi que toute activité microbienne se déroule en milieu aqueux à cause du métabolisme enzymatique qui s'y effectue. Cela indique que la biodégradation dans le milieu naturel sera très faible et que les techniques classiques de biorestauration seraient inutiles [62].

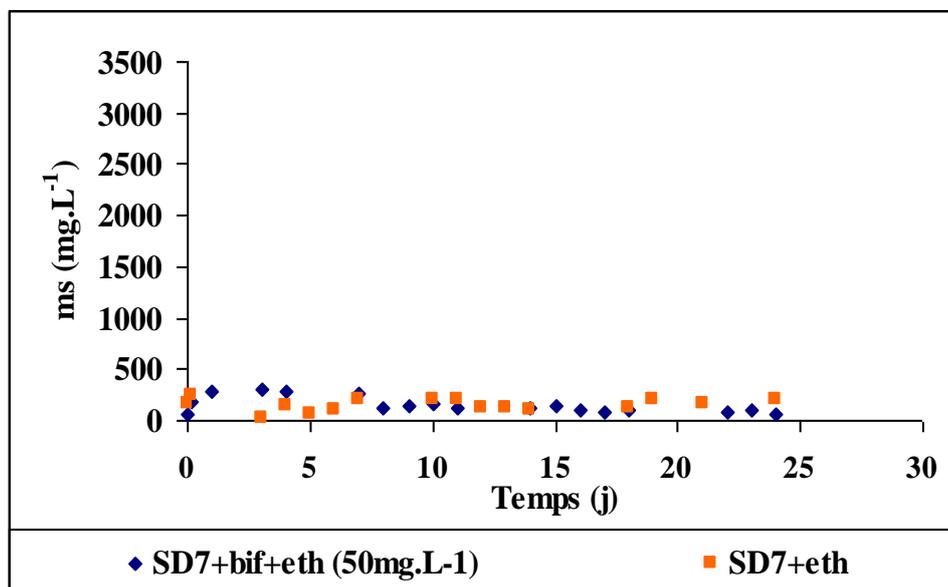
III.8. SUIVI DE L'EVOLUTION DE LA MATIERE SECHE

Dans cette partie nous avons suivi l'évolution de la biomasse de SD7 et de CM à différentes conditions opératoires par analyse spectrophotométrique dans le but de suivre la croissance bactérienne et la dégradation du polluant simultanément. Les résultats sont exprimés en matière sèche par rapport aux courbes d'étalonnage réalisées pour l'ensemble des souches (annexe 5).

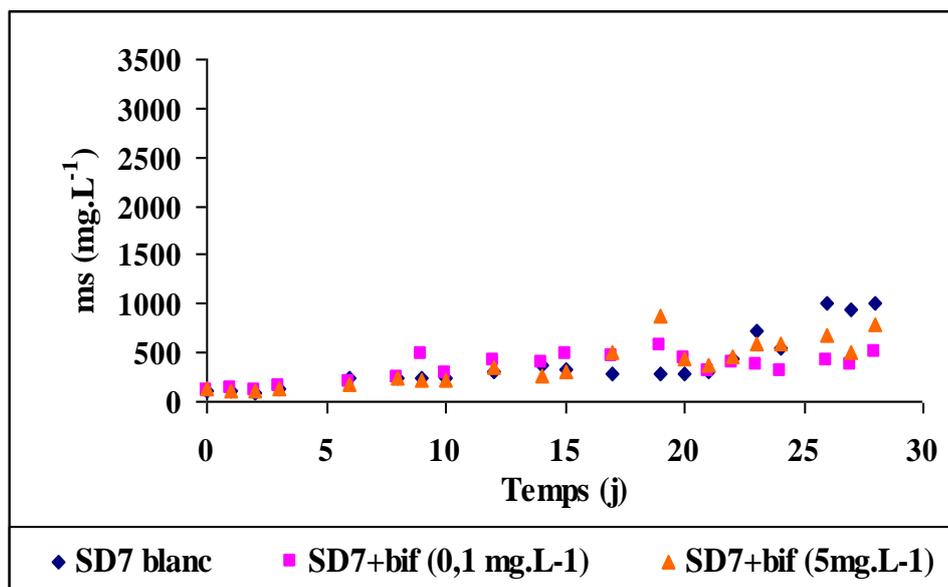
Les figures III.11 et III.12 représentent la concentration de la matière sèche pour SD7 et CM respectivement.



(a)

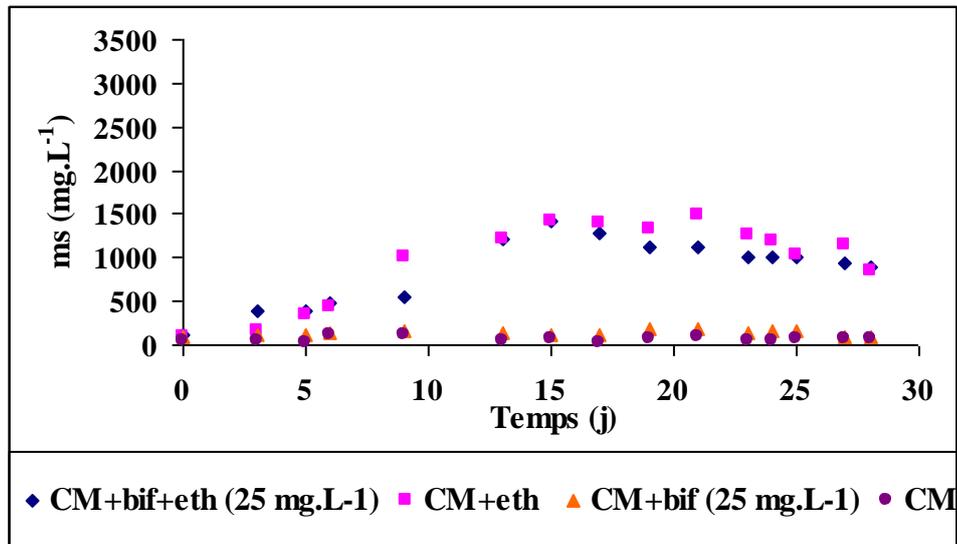


(b)

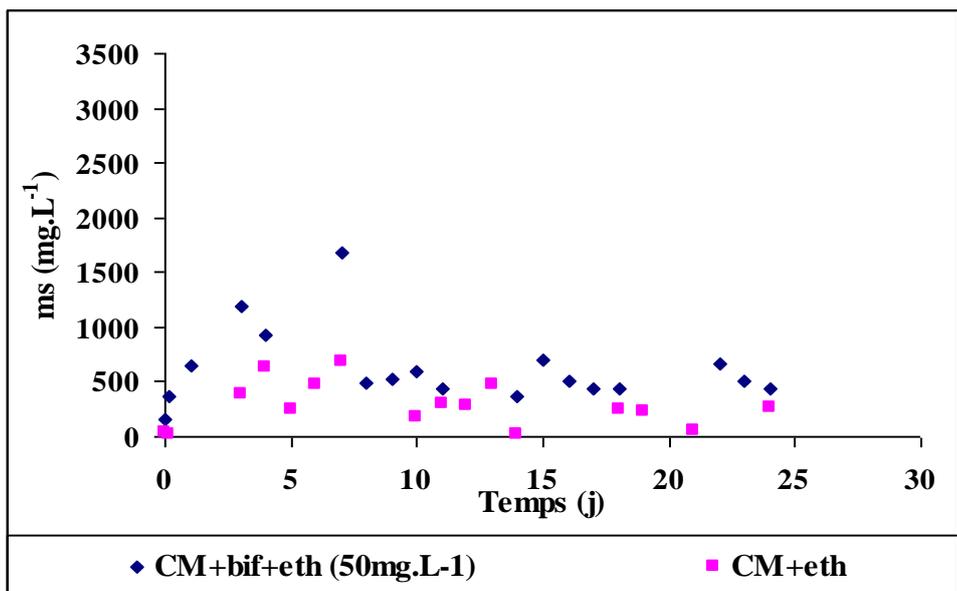


(c)

Fig. III.11. Evolution de la biomasse bactérienne de SD7 à : (a) 25mg.L⁻¹ (b) 50 mg.L⁻¹ (c) 0,1 et 5 mg.L⁻¹ de bifenthrine



(a)



(b)

Fig. III.12. Evolution de la biomasse bactérienne de la CM à : (a) 25mg.L⁻¹
(b) 50 mg.L⁻¹ de bifenthrine

Si on prend le cas de SD7 avec une concentration de 25 mg.L^{-1} , on peut constater une phase de latence plus importante par rapport au cas où on a de la bifenthrine dissoute dans l'éthanol qui est égale à six jours, contrairement à l'éthanol tout seul qui présente une phase de latence moins longue, et une matière sèche qui atteint 3000 mg.L^{-1} alors qu'elle arrive à 2700 mg.L^{-1} avec pesticide solubilisé dans l'éthanol, et ne dépassant pas les 320 mg.L^{-1} pour le polluant tout seul.

Ces constatations nous permettent de conclure que la bifenthrine est très faiblement dégradée par la souche sélectionnée.

A 50 mg.L^{-1} de bifenthrine, on observe des courbes presque identiques en présence ou en absence de l'éthanol, plus un temps de latence plus important.

A faibles concentrations de bifenthrine ($0,1$ et 5 mg.L^{-1}), une croissance moins importante est observée, où on a atteint 880 et 570 mg.L^{-1} pour les cas de 5 et $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ respectivement.

D'après ces observations, l'augmentation de la concentration initiale en bifenthrine provoque l'augmentation de la phase de latence entre 5 et 10 jours. Car l'élévation de la concentration du substrat, oblige les cellules à s'adapter à des concentrations supérieures de ce dernier, ce qui provoque l'allongement du temps de la phase de latence. C'est ce qui a été observé en 2008 par Saravanan et al [71] pour la biodégradation du phénol en culture mixte.

Pour le cas de la culture mixte, un temps de latence moins important est obtenu pour une concentration de 50 mg.L^{-1} en bifenthrine, que pour le cas de 25 mg.L^{-1} , qui arrive jusqu'à 7 jours, devant quelques heures pour 50 mg.L^{-1} .

On remarque qu'il y a une augmentation de la matière sèche tout au long de la durée de l'expérience ; due à la consommation du seul substrat organique présent (bifenthrine). Toutefois, les cinétiques de croissance diffèrent d'une souche à une autre et aussi aux dépens de la concentration du substrat ainsi que la présence ou absence de l'éthanol dans le milieu.

En général on peut dire qu'en présence de l'éthanol, la croissance est meilleure, ce qui explique la meilleure affinité des bactéries pour l'éthanol, qui est considérée comme une source de carbone facile.

CONCLUSION

CONCLUSION GENERALE

La biodégradation est devenue le procédé principal d'abattement contre la pollution dans l'environnement, elle est le paramètre le plus important qui influence la toxicité, la persistance et la dissipation ultime des composés organiques dans les écosystèmes aquatiques et terrestres.

Notre travail s'inscrit dans ce contexte, son objectif principal est l'étude de la biodégradabilité d'un insecticide de la famille des pyréthrinoides 'la bifenthrine', largement utilisé en Algérie à des fins agricoles.

Parmi les facteurs affectant la biodégradabilité d'un pesticide, sa composition chimique initiale est un paramètre majeur.

La première partie est réservée à la détermination des paramètres d'évaluation de la toxicité du pesticide vis-à-vis des bactéries : la CMI et la CMB. Les résultats obtenus classent les souches comme sensibles ou résistantes au pesticide, ces dernières propriétés sont liées à la toxicité du pesticide sur les cellules bactériennes qui diffère selon la structure cellulaire et l'état physiologique des bactéries.

La deuxième partie, consacrée à l'étude de la biodégradabilité du pesticide, en mesurant trois paramètres traduisant cette dégradation (COT, DCO et DBO) ; a permis de conclure que la bifenthrine est très peu biodégradable par les bactéries. Il s'agit d'une molécule de formule chimique très complexe, comportant deux noyaux aromatiques et plusieurs ramifications, en plus du nombre important d'atomes de carbone (23 atomes). De plus, sa faible solubilité dans l'eau limite sa biodisponibilité pour les microorganismes.

Cette étude souligne les risques que peut engendrer l'utilisation de ce pesticide en agriculture, du fait de son accumulation dans le sol sans qu'il y ait une activité de dégradation par la flore bactérienne indigène. Cela indique que la biodégradation dans le milieu naturel serait très faible. De plus, son passage dans les eaux souterraines par infiltration engendrerait un sérieux problème de santé publique.

Conclusion générale

Les résultats obtenus dans cette étude nous apportent de très importantes informations qui mériteraient d'être prises en considération dans les perspectives à venir. Le couplage d'un procédé physique tel que la photocatalyse, à un procédé biologique pour la dégradation du bifenthrine améliorerait les performances.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] S.Guimont. **Devenir des pesticides dans les sols en fonction de l'état d'humidité et du mode de circulation de l'eau dans le sol.** Thèse de doctorat; Institut National Polytechnique de Lorraine, 2005
- [2] S.G.Derveau. **Etude d'un traitement combiné bio-physico-chimique pour la décontamination des eaux polluées en atrazine.** Thèse de doctorat; Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, 2004
- [3] **Bifenthrine (178)** http://www.fao.org/ag/AGP/AGPP/Pesticid/JMPR/Download/96_eva/bifen.pdf, pp 59-65 consulté en Janvier 2008
- [4] **Index phytosanitaire;** Association de coordination, technique agricole, ACTA, Paris, 1989, pp 55
- [5] N. Domange. **Etude des transferts de produits phytosanitaires à l'échelle de la parcelle et du bassin versant viticole (Rouffach, Haut-Rhin).** Thèse de doctorat de l'université Louis Pasteur Strasbourg I, 2005
- [6] R.Claveti ; E.Barriuso ; P.Bedos ; P.benoit ; M.P.charnay ; Y.Coquet. **Les pesticides dans le sol, conséquences agronomiques et environnementales.** Ed. France Agricole, 2005, pp 32-47
- [7] C. Bouchon ; S. Lemoine. **Niveau de contamination par les pesticides dans les chaînes trophiques des milieux marins côtiers de la Guadeloupe ; recherche et biomarqueurs de génotoxicité.** Rapport final ; Direction régionale de l'environnement. Guadeloupe, 2003
- [8] C. Margoum. **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
- [9] M.T. Scholtus. **Construction d'un indicateur de qualité des eaux de surface vis-à-vis des produits phytosanitaires à l'échelle du bassin versant viticole.** Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine, 2004
- [10] OMS. **Substances chimiques dangereuses : les principaux risques pour les enfants.** Aide-mémoire EURO/02/04 Copenhague, Rome, La Valette, 2004, pp 1-5
- [11] Univers-Nature, ROC, LFDA. **Homme, nature et pesticides.** Conférence de presse du 20 septembre 2002. pp 4-17

- [12] M. Bouziani. **L'usage immodéré des pesticides : De graves conséquences sanitaires**, Faculté De Médecine d'Oran (2007)
<http://www.santetropicale.com/SANTEMAG/algerie/poivue51.htm> consulté en Avril 2008
- [13] INPV. **Instrument de développement de la protection phytosanitaire**, 1999
- [14] A.L. **Danger sur la santé : Des pesticides dans vos assiettes**. Continental news, 2009
<http://www.continentalnews.fr/actualite/sante,7/danger-sur-la-sante-des-pesticides-dans-vos-assiettes,6421.html> consulté en Mai 2009
- [15] Eau et Rivières de Bretagne. **Pesticide : la bombe**. 2001
<http://www.wanado.fr/erb/pesticides.htm> consulté en Mars 2008
- [16] I.M.Monarrez. **Rétention des pesticides dans les sols des dispositifs tampon, enherbés et boisés: rôle des matières organiques**. Thèse de doctorat; Institut Agronomique Paris-Grignon, 2004
- [17] INRA. **La lutte contre la pollution des eaux par les pesticides Limiter les apports, réduire les fuites**. 2000, pp 1-3
<http://www.inra.fr/internet/Directions/DIC/ACTUALITES/Aquaexpo/PDF/pesticid.pdf>
consulté en Fevrier 2008
- [18] A. Brun ; J. Picarel ; M. Plouzane. **Les sous produits de dégradation des produits phytosanitaires**. ISIM, Université Montpellier II, 2003, pp 1-17
- [19] LNE. **Les pesticides**.2008, pp7-8
<http://www.metrologiefrancaise.fr/fr/dossiers/pesticides-tracabilite-mesure.pdf> consulté en Mars 2008
- [20] **Les pesticides en milieu atmosphérique : Étude en région Centre**. Réseau de surveillance de la qualité de l'Air en région Centre, 2000-2001, pp 4-6
- [21] OMS. **L'utilisation des pesticides en Agriculture et conséquences pour la santé publique**. Genève, 1991.
- [22] G. Balloy; S. Herault; R. Israel; A. Robin; C. Saout ; R.Tracol. **Les pesticides dans l'eau potable**. Rapport du ministère de la santé et des solidarités. 2001-2003, pp 5-9
- [23] Mémotec n° 8. **L'élimination des pesticides pour la production d'eau potable**. 2006, pp 1-2
- [24] E. Brillas; M.Oturan. **Procédé électro-Fenton : développements récents et applications à l'élimination des pesticides en milieu aqueux**. Laboratoire des Géomatériaux et Géologie de l'Ingénieur – CNRS FRE 2455, Université de Marne la Vallée, France, pp 1-2

- [25] B. Yu; J. Zeng; L. Gong; M. Zhang; L. Zhang; X. Chen. **Investigation of the photocatalytic degradation of organochlorine pesticides on a nano-TiO₂ coated film.** 2007, pp 1667-1674
- [26] F. Marliere. **Mesure des pesticides dans l'atmosphère.** Laboratoire central de surveillance de la qualité de l'air ; Direction des risques chroniques, Loi sur l'air, Paris, 2002
- [27] T. Aungpradit; P. Sutthivaiyakit; D. Martens; S. Sutthivaiyakit ; A.A.F. Kettrup **Photocatalytic degradation of triazophos in aqueous titanium dioxide suspension: Identification of intermediates and degradation pathways.** Journal of Hazardous Materials 146, 2007, pp 204–213
- [28] E. Ayranci; N. Hoda. **Adsorption kinetics and isotherms of pesticides onto activated carbon-cloth.** Journal of chemosphere 60, 2005, pp 1600-1607
- [29] B. Sarkara; N. Venkateswralub; R. N. Raob; C. Bhattacharjee; V.Kalea. **Treatment of pesticide contaminated surface water for production of potable water by a coagulation–adsorption–nanofiltration approach.** Elsevier, Desalination 212, 2007, pp 129-140
- [30] S. McN; Sieburth; S. F. Ali; C. M. Langevine; R. H. Tullman. **Stereoselective synthesis of hydroxylated bifenthrin isomers.** Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. Vol2, No.12. 1992, pp 1555-1588
- [31] **The Pesticide Manual.** Bifenthrin. New 14th edition. Edited by Clive Tomlin. BCPC 2006, pp 118-119
- [32] Beyondpesticides. **Synthetic pyrethroids, chemical watch factsheet.** pp 1-2
<http://www.beyondpesticides.org/pesticides/factsheet/synthetic%20pyrethroids.pdf>
consulté en Janvier 2008
- [33] Tech Corporation. **White paper on pyrethroids.** Bifenthrin.
<http://www.techcorporation.com> consulté en Janvier 2008
- [34] A. Fecko. **Environmental fate of bifenthrin.** Environmental Monitoring Branch, Department of Pesticide Regulation. 830 K St Sacramento, CA 95814, 1999
- [35] A.M.Boyd; B. Noller; P. White. **Environmental effects of currently used termiticides under Australian conditions.** National Research Center for Environmental toxicology, 2002
- [36] A.Langley; M. Gilbey; B. Kennedy. **Health Based Investigation Level for Bifenthrin in Soil; proceeding of the fifth National Workshop on the Assessment of site Contamination,** 2003
- [37] Alanwood. **Bifenthrin data sheet.** <http://www.alanwood.net/pesticide/bifenthrin.html>
consulté en Janvier 2008

- [38] H.Roques. **Fondements théoriques du traitement biologique des eaux**. TEC et DOC, Vol.1, 1979.
- [39] W.W.Eckenfelder. **Gestion des eaux usées urbaines et industrielles**. TEC et DOC Lavoisier, 1982.
- [40] M.A.Labbelle. **GCH 3220 -Partie 3 Rejets liquides**. p16
http://www.cours.polymtl.ca/4516/Fichiers_liquides/GCH%203220_1.pdf consulté en Juin 2008
- [41] Memotec n° 19. **La biodégradabilité des effluents urbains**. 2006, pp1-2.
- [42] C. Batiot; C. Emblanch; B. Blavoux. **.Carbone organique total (COT) et magnésium (Mg²⁺) : deux traceurs complémentaires du temps de séjour dans l'aquifère karstique**
C. R. Geoscience 335, 2003, pp 205–214
- [43] R.J. Huston. **Total Organic Carbon (TOC) Guidance Manual**. Water Supply Division, 2002, p 3
- [44] Ecole des Mines d'Albi Carmaux. **Livraison, Installation et Mise En Service D'un Analyseur Carbone Organique Total Couplé à Un Module Solide**. 2008, pp 2-3
- [45] P. Singleton. **Bactériologie**. 4^e édition, Dunod, 1999, pp 41-45
- [46] A. Tarek; T. Aboul-kassim; R. T. Simoneit. **Polluant-solid phase interaction: mechanisms chemistry and modelling**. Edition Springer, Germany, 2001
- [47] D. Hank. **Etude de la biosorption du phénol dans un lit de charbon actifensemencé par *Pseudomonas aeruginosa* en système continu**. Mémoire de magister, Ecole Nationale Supérieure Polytechnique, 2005, p 42
- [48] A. Meyer; J. Deina; H. Leclerc. **Cours de microbiologie générale**. Ed Doin, Paris, 1984
- [49] H. Leclerc; D. Ohusson; P. Watre; E. Jakubzack. **Microbiologie générale**. Ed Doin, 2^e édition- 2^e tirage ; Paris 1983
- [50] M. Archambaud. **Méthodes d'évaluation de l'activité des antibiotiques**. Laboratoire Bactériologie-Hygiène CHU Rangueil Toulouse, 2009, pp 4-5
http://www.medecine.ups-tlse.fr/pcem2/bacteriologie/Evaluation_activite_antibiotiques.pdf consulté en Mai 2009
- [51] J.P. Euzeby. **L'évaluation in vitro de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques**. Dictionnaire de bactériologie vétérinaire.
<http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/atbq/sensibilite.html> consulté en Mai 2009
- [52] B. Berçot. **Méthodes d'étude de la résistance des bactéries au laboratoire**. Faculté de Médecine Université de Paris 7, pp 2-27

- [53] J. Dunand ; A. Paugam. **Étude in vitro de la sensibilité au posaconazole de souches de *Scytalidium spp.* isolées de lésions superficielles.** ELSEVIER MASSON. Pathologie Biologie, 2008, pp 3-4
- [54] **Les antibiotiques.** p 53. <http://www.biologie.univ-mrs.fr/upload/p62/TD2.pdf> consulté en Avril 2009
- [55] H. Hamdi. **La biodégradation des hydrocarbures: activité de la microflore des eaux.** Mémoire de magister, Ecole Nationale Supérieure Polytechnique, 2007, pp 40-42
- [56] R.Y.Sheeja, T.Murugesan. **Mass transfer studies on the biodegradation of phenols in up-flow packed bed reactors.** Journal of hazardous materials B89, 2002, p 289
- [57] R. Scriban. **Biotechnologie.** Ed Tec & Doc, Paris, 1999, pp 197-206
- [58] M.L. Delignette-Muller. **Méthodes de prédiction des aptitudes de croissance des populations de micro-organismes.** Thèse de doctorat de l'Université Claude Bernard- Lyon 1. 1995, pp 21-29
- [59] M.L. Joly-Guillou. **Intérêt du E-test dans le suivi de l'antibiothérapie.** Journal de Réanimation 15, 2006, pp 237-240
- [60] Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, **Détermination de la demande chimique en oxygène dans les effluents : méthode de reflux en système fermé suivi d'un dosage par colorimétrie avec le bichromate de potassium.** MA. 315 – DCO 1.0, Ministère de l'Environnement du Québec, 2003, p 7
- [61] Ms. Barbara; A. Tardy. **Determination of Total Organic Carbon in Estuarine Leachate Samples. 1995, pp 2-7**
- [62] M. kumar, L. Philip. **Bioremediation of endosulfan contaminated soil and Water-Optimization of operating conditions in laboratory scale reactors.** Journal of Hazardous Materials B136, 2006, pp 354-364
- [63] G.A. Herron; J. Rophail; L.J. Wilson. **The development of bifenthrin resistance in two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae) from Australian cotton.** Experimental and Applied Acarology 25, 2001, pp301–310
- [64] M. Domange. **Method for determining bacteriostatic or bactericidal activity of antibiotic agents by quantitative PCR.** 2003
- [65] S. M.Cristante ; C. Loiez, B. Adriensen ; M.O. Husson. **Mise au point d'une méthode de mesure d'associations d'antibiotiques bactéricides par superposition de bandelettes E-test® appliquée aux souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées au cours de la mucoviscidose.** Elsevier,Pathologie Biologie 51,2003, pp 135-142

- [66] J.Moroh ; C. Bahi ; K. DJE ; G.Y. Loukou ; F. Guede-Guina. **Etude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de *Morinda morindoides* (Baker) milne-redheat (rubiaceae) sur la croissance *in-vitro* des souches d'*Escherichia coli*.** Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Vol. 77, 2008, pp 44-61
- [67] A. A. Marmonier. **Introduction aux techniques d'étude des antibiotiques.** Bactériologie Médicale, technique usuelles, 1990, pp 227-236
- [68] K.Kumar; S.Saravana Devi; K.Krishnamurthi; G.S. Kanade ; T. Chakrabarti. **Enrichment and isolation of endosulfan degrading and detoxifying bacteria.** Journal of Chemosphere, 2007, pp 317-322
- [69] M. Mathave; P. Reuschenbach, U. Pagga, U. Strotmann. **A critical comparison of respirometric biodegradation tests based on OECD 301 and related tests methods.** Journal of water research 37, 2006, pp 1571-1582
- [70] S. Baskaran, R. S Kookana, R. Naidu. **Degradation of bifenthrin, chlorpyrifos and imidacloprid in soil and bedding materials at termiticidal application rates.** Pesticide sciences, 1999, pp 1222-1228
- [71] P. Saravanan; K. Pakshirajan; P. Saha. **Growth kinetics of an indigenous mixed microbial consortium during phenol degradation in a batch reactor.** Bioresource Technology. 2008, pp 205-209

ANNEXES

φ Annexe 1 : Composition des milieux de conservation des souches

❖ Gélose nutritive

Pour 1l d'eau distillée, on introduit les éléments suivants :

- Poudre de gélose nutritive : 25 g

❖ PCA (Plate Count Agar)

Pour 1l d'eau distillée, on introduit les éléments suivants :

- Hydrolysate tryptique de caséine : 5 g ;
- Extrait de levure : 2,5 g ;
- Glucose : 1 g ;
- Agar-agar : 9 g ;

φ Annexe 2 : Composition du milieu de préculture (Bouillon Nutritif)

Pour 1l d'eau distillée, on introduit les éléments suivants :

- Peptone de caséine : 8,6 g ;
- NaCl : 6,4 g ;

φ Annexe 3 : Composition du milieu minéral de culture

Pour 1l d'eau distillée, on introduit les éléments suivants :

- KH_2PO_4 : 1.5g;
- K_2HPO_4 : 0.5g
- NaCl : 0.5g ;
- $\text{MgSO}_4,7\text{H}_2\text{O}$: 0.5g ;
- NH_4NO_3 : 3g ;

Les sels suivants sont ajoutés par filtration stérilisante après autoclavage du milieu minéral, et ce par un microfiltre de diamètre 0.2 μm

- $\text{FeSO}_4,7\text{H}_2\text{O}$: 0.02g ;
- $\text{CaCl}_2,2\text{H}_2\text{O}$: 0.02g;

NB :

Le pH est ajusté à 7 avec une solution de NaOH à 0.1N, et les milieux de cultures sont stérilisés à l'autoclave pendant 20 min à 120 °C.

φ Annexe 4 : Mesure de la DCO

❖ Solution de digestion :

Pour la préparation d'un litre de la solution de digestion, on procède comme suite :

Dissoudre 10.2 g de $K_2Cr_2O_7$, préalablement séché à 105 °C pendant 2h, dans environ 500 ml d'eau. Ajouter doucement 167 ml de H_2SO_4 et 33.3 g $HgSO_4$. Agiter jusqu'à dissolution complète, laisser refroidir et compléter à 1 litre avec de l'eau distillée.

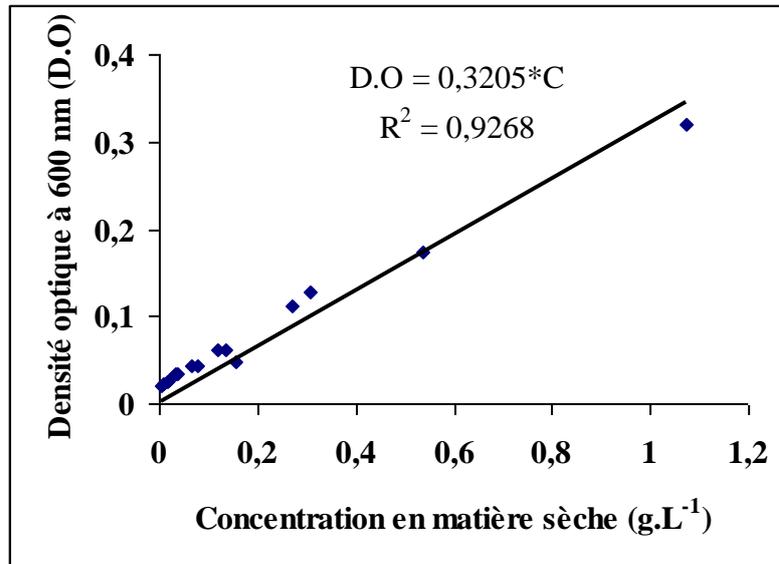
❖ Réactif acide :

Dans une bouteille contenant 1 Kg de H_2SO_4 , ajouter 5.5 g de Ag_2SO_4 . Laisser reposer 1 à 2 jours afin que le Ag_2SO_4 soit complètement dissous. La solution doit être conservée à l'obscurité.

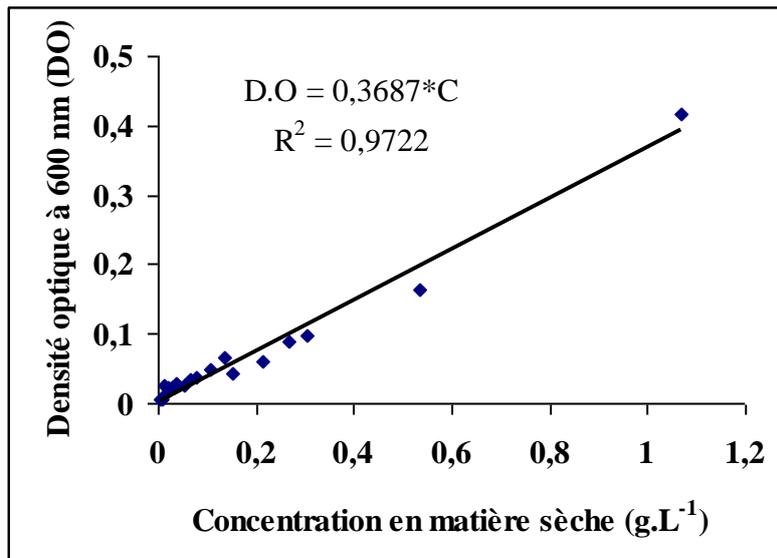
φ Annexe 5 : Courbes d'étalonnage

- *Courbe d'étalonnage de la croissance bactérienne*

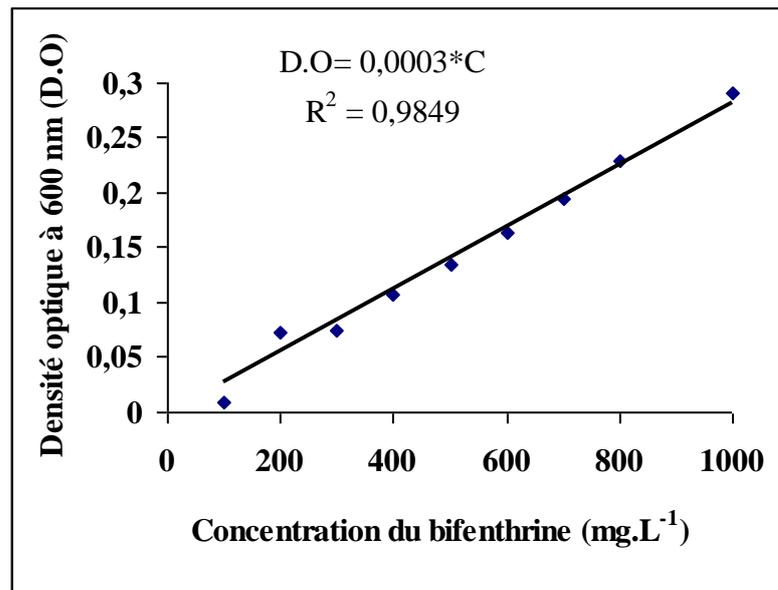
1) SD7



2) Culture mixte CM



- *Courbe d'étalonnage de la DCO*



ملخص:

تطرقنا في عملنا هذا إلى استخدام سبعة أنواع من البكتيريا المعزولة و المعرفة على مستوى مخبر العلوم و التجارب البيئية، و هذا من أجل تقييم القدرة على التخلص البيولوجي لمبيد الحشرات : بيفنترين الكثير الاستعمال في الجزائر.

أخذنا بعين الاعتبار عنصران: التركيز الأصغر الموقوف (ت أم)، التركيز الأصغر القاتل (ت أ ق).

علاقة متبادلة بين "ت أم" و "ت أ ق" غير محققة.

ثلاثة عناصر هامة لتقييم التحلل البيولوجي تمت دراستها : الكربون العضوي الاجمالي ، الطلب الكيميائي و البيوكيميائي للاوكسجين

مفاتيح : مبيد حشرات، بيفنترين، بكتيريا، ت أم، ت أ ق، الكربون العضوي الاجمالي ، الطلب الكيميائي و البيوكيميائي للاوكسجين

Résumé :

L'étude a porté sur sept souches bactériennes isolées et identifiées au niveau du Laboratoire des Sciences et Techniques Environnementales (LSTE) pour l'évaluation de la capacité de biodégradation d'un pesticide largement utilisé en Algérie : la bifenthrine.

Deux paramètres évaluant la toxicité du pesticide ont été considérés : la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) pour déterminer la sensibilité ou la résistance des souches bactériennes.

Une corrélation entre la CMI et la CMB ne semble pas être vérifiée.

Trois paramètres évaluant la dégradation de la matière organique ont été évalués; le carbone organique total, la demande chimique et biochimique en oxygène

Mots clés : Pesticide, Bifenthrine, Bactéries, CMI, CMB, DBO, DCO, COT

Abstract:

The study was on seven bacteria stocks isolated and identified at the Sciences and Techniques Environmental Laboratory (STEL) to evaluate the capacity of pesticide bifenthrin degradation using techniques based on two parameters: Minimal inhibitor concentration (MIC) and minimal bactericide concentration (MBC) to determine the sensitivity and the resistance of the studied bacteria.

Three parameters evaluating the degradation of the organic matter were evaluated; total organic carbon, the chemical and biochemical oxygen demand.

Key words: Pesticide, Bifenthrin, Bacteria, MIC, MBC, BOD, COD, TOC