

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Polytechnique



المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات  
Ecole Nationale Polytechnique

LAVALEF

Département : Génie chimique

Laboratoire : valorisation des énergies fossiles

## Thèse de doctorat

# Etude comparative d'adsorption des métaux lourds sur les biomasses *Streptomyces rimosus* et *Pleurotus mutilus*

Noureddine DAOUD

Sous la direction de M. Ammar SELATNIA, Professeur

Présentée et soutenue publiquement le (jj/mm/aaaa)

### Composition du Jury :

Président :	M.AHMED-ZAID Toudert	Professeur	ENP Alger
Rapporteur/promoteur :	M.SELATNIA Ammar	Professeur	ENP Alger
Examineurs :	M.CHERGUI Abdelmalek	Professeur	ENP Alger
	M.BENRACHEDI Khaled	Professeur	UMBB Boumerdes
	M.YEDDOU Ahmed Reda	Professeur	ENS Kouba
Invité :	M.BENYOUSSEF El Hadi	Professeur	ENP Alger

ENP 2019



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Polytechnique



LAVALEF

Département : Génie chimique  
Laboratoire : valorisation des énergies fossiles

## Thèse de doctorat

# Etude comparative d'adsorption des métaux lourds sur les biomasses *Streptomyces rimosus* et *Pleurotus mutilus*

Noureddine DAOUD

Sous la direction de M. Ammar SELATNIA, Professeur

Présentée et soutenue publiquement le (jj/mm/aaaa)

### Composition du Jury :

Président :	M.AHMED-ZAID Toudert	Professeur	ENP Alger
Rapporteur/promoteur :	M.SELATNIA Ammar	Professeur	ENP Alger
Examineurs :	M.CHERGUI Abdelmalek	Professeur	ENP Alger
	M.BENRACHEDI Khaled	Professeur	UMBB Boumerdes
	M.YEDDOU Ahmed Reda	Professeur	ENS Kouba
Invité :	M.BENYOUSSEF El Hadi	Professeur	ENP Alger

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

## REMERCIEMENTS

Je souhaite d'abord exprimer ma gratitude et ma reconnaissance au Professeur Ammar SELATNIA qui a bien voulu me proposer ce sujet de recherche et me faire bénéficier de sa grande compétence dans ce domaine complexe mais passionnant. Sa confiance permanente a été pour moi une source d'encouragement et de persévérance.

J'exprime mes vifs remerciements et ma reconnaissance au professeur AHMED-ZAID Toudert pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider le jury de soutenance.

Je remercie le professeur CHERGUI Abdelmalek, le professeur BENRACHEDI Khaled, le professeur YEDDOU Ahmed Reda, le professeur BENHOUSSEF El Hadi qui ont bien voulu accepter d'évaluer ma thèse et de siéger dans le jury.

Je saisis cette opportunité pour exprimer mes remerciements et mon respect à mes enseignants du département de Génie chimique dont j'ai appris à apprécier les compétences scientifiques et les qualités humaines.

Bien qu'à la fin elle s'approprie, une thèse n'est jamais réellement une œuvre personnelle ! J'exprime donc ma reconnaissance et mes remerciements à tous ceux qui m'ont apporté une aide lors de la réalisation de ma thèse.

### دراسة مقارنة امتصاص المعادن الثقيلة على الكتلة الحيوية للبكتريا *ستربتومييساس ريموزيس* و *بلوروتوس ميتيلوس*

ملخص: يعد إزالة التلوث وإعادة تدوير المياه الملوثة بديلاً للتغلب على نقص الموارد المائية في المناطق الجافة. لقد أثبتت العديد من الدراسات إمكانية تطوير المنتجات الصيدلانية الميكروبية لمعالجة مياه الصرف الصحي. يُقِيم العمل الحالي قدرة منتج ثانوي للصناعة الدوائية يتكون من الكتلة الحيوية الميتة للبكتريا *ستربتومييساس ريموزيس* لإزالة النيكل من المحاليل المائية. الإجراء المعتمد هو من النوع الدفعي. أظهرت النتائج الرئيسية التي تم الحصول عليها أن استجابة الكتلة الحيوية ملموسة وتختلف باختلاف تركيز محلول النيكل؛ الاستجابة القصوى عند تركيز النيكل 330 ملغ ل<sup>-1</sup>. وقت الاتصال الأمثل بين الكتلة الحيوية والحل هو 93.44 دقيقة. pH الأمثل في حدود 7، فوق هذه القيمة ترسب النيكل هو الذي يزيده من المحلول المائي. حجم الجسيمات لا يؤثر على الاستجابة. تتميز هذه الكتلة الحيوية بوجود شحن مختلفة. ظاهرة الاستيعاب الحيوي يبدو عكسها. تظهر هذه النتائج أن هذه الكتلة الحيوية الميتة يمكن تثبيتها في معالجة مياه الصرف التي تحتوي على تركيزات عالية من النيكل. الكلمات المفتاحية: Taguchi, Protofit, الامتصاص الحيوي, *بلوروتوس ميتيلوس* الفطرية, *ستربتومييساس ريموزيس*, النيكل

### Comparative study of heavy metal adsorption on *Streptomyces rimosus* and *Pleurotus mutilus* biomasses

#### Abstract:

The ability of bacterial biomass *Streptomyces rimosus* and fungal biomass *Pleurotus mutilus* to remove Ni(II) from aqueous solutions has been tested. The speciation of Ni(II) was modeled using visual MINTEQ. The surfaces of the biomass were characterized by pH<sub>ZPC</sub> determination, and Boehm and potentiometric titrations. The maximum adsorption capacities by *Streptomyces rimosus* and *Pleurotus mutilus* calculated from Langmuir adsorption isotherm were 51.02 and 47.17 mg/g, respectively. The adsorption isotherms fitted the data in the order: Dubinin-Radushkevich>Temkin. The biosorption kinetic data were fitted well with the pseudo-second-order kinetic model. The negative values of Gibbs free energy ( $\Delta G^0$ ) indicate the feasible and spontaneous adsorption of nickel. The optimum conditions determined by the method of Taguchi improves the biosorption capacity of *Pleurotus mutilus* and *Streptomyces rimosus* by 36.23% and 31.81% respectively. The use of Protofit, which simulates surface complexation models, demonstrates that Donnan-Shell model(DSM) correctly predicts the adsorption of nickel by the two biomasses.

**Keywords :** *Streptomyces rimosus*, *Pleurotus mutilus*, biosorption, Taguchi, Protofit, nickel

### Etude comparative d'adsorption des métaux lourds sur les biomasses *Streptomyces rimosus* et *Pleurotus mutilus*

#### Résumé :

L'aptitude de la biomasse bactérienne *Streptomyces rimosus* et de la biomasse fongique *Pleurotus mutilus* à éliminer le nickel des solutions aqueuses a été examinée. La spéciation de Ni(II) a été modélisée à l'aide du logiciel visual MINTEQ. Les surfaces des biomasses ont été caractérisées par détermination du pH<sub>ZPC</sub> et par le titrage de Bohem et le titrage potentiométrique. Les capacités maximales d'adsorption de *Streptomyces rimosus* et de *Pleurotus mutilus* calculées à partir de l'isotherme d'adsorption de Langmuir sont de 51 et de 47,2 mg/g, respectivement. L'applicabilité des isothermes d'adsorption aux données expérimentales est classée dans l'ordre suivant: Dubinin-Radushkevich> Temkin. Les données cinétiques expérimentales de biosorption sont bien corrélées avec le modèle cinétique de pseudo-second ordre. Les valeurs négatives de l'énergie libre de Gibbs ( $\Delta G^0$ ) indiquent que l'adsorption du nickel est possible et spontanée. Les conditions optimales déterminées par la méthode de Taguchi permettent d'améliorer la capacité de biosorption de *Pleurotus mutilus* et de *Streptomyces rimosus* de 36.2% et 31.8% respectivement. L'utilisation de Protofit, qui simule les modèles de complexation de surface a permis de mettre en évidence que le model de Donnan-Shell (DSM) prédit correctement l'adsorption du nickel par ces deux biomasses.

**Mots clés :** *Streptomyces rimosus*, *Pleurotus mutilus*, biosorption, Taguchi, Protofit, nickel

## TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION .....	12
CHAPITRE I. ETAT DES CONNAISSANCES SUR LA BIOSORPTION.....	16
I.1. Définition de la biosorption .....	18
I.2. Les principes de la biosorption .....	20
I.2.1. Les biosorbats .....	20
I.2.2. Les biosorbants .....	21
I.3. Les mécanismes de la biosorption .....	24
I.4. Les facteurs affectant la biosorption .....	25
I.5. Traitement des biosorbants .....	27
I.5.1. Amélioration de la capacité de biosorption .....	27
I.5.2. Régénération du biosorbant .....	28
I.6. Les méthodes d'étude de la biosorption .....	29
I.6.1. Les procédés expérimentaux .....	29
I.6.2. Les dispositifs expérimentaux .....	29
I.6.3. Les techniques d'analyse .....	30
I.6.4. Les outils de la modélisation et de la simulation .....	31
I.6.4.1. Les modèles d'équilibre .....	31
I.6.4.2. Les modèles cinétiques .....	32
I.6.4.3. Les modèles de complexation de surface .....	32
I.6.4.4. L'optimisation de la biosorption .....	33
I.7. Etat des connaissances sur les biomasses de <i>Streptomyces rimosus</i> et <i>Pleurotus mutilus</i> .....	34
I.7.1. <i>Streptomyces rimosus</i> .....	34
I.7.2. <i>Pleurotus mutilus</i> .....	36
CHAPITRE II. MATERIELS ET METHODES .....	43
II.1. La préparation des biosorbants .....	43
II.2. La préparation de la solution de nickel .....	43
II.3. Les expériences de biosorption en mode batch .....	43

II.4. Les modèles appliqués aux résultats expérimentaux .....	45
II.4.1. Les isothermes de biosorption .....	45
II.4.2. Les modèles cinétiques de biosorption .....	48
II.4.3. L'approche thermodynamique de la biosorption .....	51
II.5. Le titrage potentiométrique .....	51
II.6. Calcul de la capacité d'échange cationique .....	52
II.7. L'identification des groupes fonctionnels à partir du titrage potentiométrique .....	52
II.8. L'utilisation de la méthode de Gran .....	52
II.9. Le titrage par la méthode Boehm .....	53
II.10. Détermination du pH au point de charge zéro .....	55
II.11. L'analyse par spectroscopie d'absorption infrarouge.....	56
II.12. Microscopie électronique à balayage (MEB).....	56
II.11. spéciation du nickel .....	56
II.12. Optimisation par la méthode de Taguchi .....	56
II.13. spéciation du nickel.....	56
II.14. Optimisation par la méthode de Taguchi .....	58
II.15. L'utilisation du logiciel ProtoFit 2.1. rev 1.....	62
II.16. Les analyses statistiques .....	65
CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSION .....	67
III.1. Les caractéristiques des biomasses et de la solution de nickel .....	67
III.1.1. Le calcul de la capacité d'échange cationique .....	67
III.1.2. Le point de charge zéro .....	67
III.1.3. Les groupes fonctionnels des deux biomasses .....	69
III.1.3.1. L'identification par la spectroscopie infrarouge .....	69
III.1.3.2. L'identification par les dérivées des courbes de titrage .....	72
III.1.4. La quantification des groupes fonctionnels par la méthode de Boehm .....	74
III.1.5. Microscopie Electronique à Balayage .....	75
III.1.6. La spéciation du nickel .....	76
III.2. Etude comparative des processus de la biosorption du nickel par les biomasses mortes de <i>Streptomyces rimosus</i> et de <i>Pleurotus mutilus</i> .....	78
III.2.1. Influence du pH sur la biosorption .....	78
III.2.2. Influence de la concentration .....	79
III.2.3. Influence du temps .....	79



III.2.4. Influence de la taille des particules .....	80
III.2.5. Modélisation de la biosorption .....	81
III.2.5.1. Les modèles d'équilibre .....	81
III.2.5.2. Les modèles cinétiques .....	85
III.2.6. Approche thermodynamique de la biosorption .....	92
III.3. Optimisation de la biosorption du nickel par les biomasses mortes de <i>Pleurotus mutilus</i> et de <i>Streptomyces rimosus</i> .....	94
III.3.1. Rappel des valeurs optimales des facteurs de variation des deux biomasses .....	95
III.3.2. Optimisation par la méthode de Taguchi .....	96
III. 3. 2.1. Analyse des données expérimentales .....	96
III.3.2.2. Les conditions optimales .....	97
III.3.2.3. Effet de chaque facteur contrôlable .....	99
III.3.2.4. Le modèle de régression multiple .....	101
III.3.2.5. Comparaison des valeurs optimales des variables étudiées .....	102
III. 4. Application de la fonction de Gran (1952) et de modèles de complexation de surface aux données du titrage potentiométrique .....	106
III.4.1. Les courbes de titrage potentiométrique .....	107
III.4.2. Les fonctions de GRAN (1952) .....	110
III.4.3. La concentration totale des protons consommés en fonction du pH .....	115
III.4.4. Utilisation du logiciel ProtoFit 2.1. rev 1 .....	118
III.4.4.1. Les paramètres utilisés .....	118
III.4.4.2. Les représentations obtenues par les modèles .....	118
III. 4.4. 3. Les constantes de protonation de surface .....	123
III.4.4.4. La charge totale .....	124
III.4.4.5. L'évaluation des erreurs .....	125
CONCLUSION .....	128
Références bibliographiques.....	131
Annexes.....	162

## LISTE DES FIGURES

Figure II.1. Interface d'entrée des données sur Visual Minteq.....	57
Figure III.1. Evolution de la capacité d'échange cationique des deux biomasses en fonction du pH pour la force ionique 0.1M (a) et pour la force ionique 0.01 M (b).....	67
Figure III.2. Détermination du point de charge nulle pour <i>Streptomyces rimosus</i> et pour <i>Pleurotus mutilus</i> .....	68
Figure III. 3. Spectre infrarouge de <i>Pleurotus mutilus</i> avant biosorption (PM avant Bio) et après biosorption (PM après Bio).....	70
Figure III. 4. Spectre infrarouge de <i>Streptomyces rimosus</i> avant biosorption (SR avant Bio) et après biosorption (SR après Bio).....	70
Figure III.5. Courbes de titrage potentiométrique et courbes de dérivée 2 de <i>Streptomyces rimosus</i> (a) et <i>Pleurotus mutilus</i> (b) pour les forces ioniques $I = 0.01 \text{ M}$ et $I = 0.1 \text{ M}$ .....	72
Figure III. 6. Microscopie électronique à balayage de <i>Pleurotus mutilus</i> avant biosorption (A) et après biosorption (B).....	74
Figure III.7. Microscopie électronique à balayage de <i>Streptomyces rimosus</i> avant biosorption(A) et après biosorption(B).....	74
Figure III.8. Evolution de la concentration des ions Ni(II) libres en fonction du pH pour une concentration $C_0 = 300 \text{ mg/L}$ .....	75
Figure III.9. Effet du pH sur la biosorption du nickel.....	77
Figure III.10. Effet de la concentration en nickel sur sa biosorption.....	78
Figure III.11. Effet du temps sur la biosorption du nickel.....	79
Figure III.12. Effet de la taille des particules sur la biosorption du nickel.....	80
Figure III.13. La forme linéaire des isothermes de Langmuir modélisant l'adsorption du Ni(II) par <i>Streptomyces rimosus</i> et <i>Pleurotus mutilus</i> .....	82
Figure III.14. La forme linéaire des isothermes de Freundlich modélisant l'adsorption du Ni(II) par <i>Streptomyces rimosus</i> et <i>Pleurotus mutilus</i> .....	83
Figure III.15. Les isothermes de Temkin représentant l'adsorption du Ni(II) par <i>Streptomyces rimosus</i> et <i>Pleurotus mutilus</i> .....	83
Figure III.16. Isothermes de Dubinin-Radushkevich illustrant l'adsorption du Ni(II) par <i>Streptomyces rimosus</i> et <i>Pleurotus mutilus</i> .....	84
Figure III.17. Cinétique pseudo-premier-ordre du Ni(II) par <i>Streptomyces rimosus</i> et <i>Pleurotus mutilus</i> .....	85

Figure III.18. Cinétique pseudo-second-ordre de l'adsorption du Ni(II) par <i>Streptomyces rimosus</i> et <i>Pleurotus mutilus</i> .....	87
Figure III.19. Cinétique d'Elovich pour l'adsorption du Ni(II) sur <i>Streptomyces rimosus</i> et <i>Pleurotus mutilus</i> .....	88
Figure III.20. Adsorption de Ni(II) sur <i>Streptomyces rimosus</i> et <i>Pleurotus mutilus</i> par diffusion intraparticulaire.....	89
Figure III.21. Diagramme de Boyd pour la biosorption du Ni(II) sur <i>Streptomyces rimosus</i> et <i>Pleurotus mutilus</i> .....	90
Figure III.22. Modèle de la fonction de puissance de l'adsorption du Ni(II) sur <i>Streptomyces rimosus</i> et <i>Pleurotus mutilus</i> .....	91
Figure III.23. Le signal obtenu calculé à partir de la quantité de Ni(II) biosorbée (q, mg/g) en fonction de chaque facteur de variation par les biomasses de <i>Pleurotus mutilus</i> et de <i>Streptomyces rimosus</i> .....	97
Figure III.24. Comparaison entre les valeurs mesurées et les valeurs prédites (q, mg Ni(II).g <sup>-1</sup> ) .....	101
Figure III. 25. Courbes de titrage potentiométrique de la biomasse de <i>Pleurotus mutilus</i> pour les deux fonds électrolytiques.....	107
Figure III.26. Courbes de titrage potentiométrique de la biomasse de <i>Streptomyces rimosus</i> pour les deux fonds électrolytiques.....	108
Figure III.27. Courbes de titrage potentiométrique des deux biomasses de <i>Pleurotus mutilus</i> et de <i>Streptomyces rimosus</i> pour le fond électrolytique 0.01 M.....	108
Figure III.28. Courbes de titrage potentiométrique des deux biomasses de <i>Pleurotus mutilus</i> et de <i>Streptomyces rimosus</i> pour le fond électrolytique 0.1 M.....	109
Figure III.29. Les fonctions de GRAN pour le fond électrolytique (NaNO <sub>3</sub> 0.01 M).....	110
Figure III.30. Les fonctions de GRAN pour le fond électrolytique (NaNO <sub>3</sub> 0.1 M).....	110
Figure III.31. Les fonctions de GRAN pour la biomasse de <i>Pleurotus mutilus</i> en présence du fond électrolytique 0.01 .....	111
Figure III.32. Les fonctions de GRAN pour la biomasse de <i>Pleurotus mutilus</i> en présence du fond électrolytique 0.1 M.....	112
Figure III.33. Les fonctions de GRAN pour la biomasse de <i>Streptomyces rimosus</i> en présence du fond électrolytique 0.01 M.....	113
Figure III.34. Les fonctions de GRAN pour la biomasse de <i>Streptomyces rimosus</i> en présence du fond électrolytique 0.1 M.....	113
Figure III. 35. Variation de la concentration totale des protons consommés en fonction du pH par la biomasse de <i>Pleurotus mutilus</i> en présence du fond électrolytique 0.01 M.....	114

Figure III.36. Variation de la concentration totale des protons consommés en fonction du pH par la biomasse de <i>Pleurotus mutilus</i> en présence du fond électrolytique 0.1 M .....	114
Figure III.37. Variation de la concentration totale des protons consommés en fonction du pH par la biomasse de <i>Streptomyces rimosus</i> en présence du fond électrolytique 0.01 M .....	115
Figure III.38. Variation de la concentration totale des protons consommés en fonction du pH par la biomasse de <i>Streptomyces rimosus</i> en présence du fond électrolytique 0.1 M.....	115
Figure III.39. Concentration totale des sites de surface des deux biomasses en fonction de la force ionique du fond électrolytique .....	116
Figure III. 40. Courbes du titrage expérimental (bleu) et simulé par le modèle DSM et le modèle NEM pour la biomasse de <i>Streptomyces rimosus</i> pour les deux forces ioniques du fond électrolytique ((a) : modèle NEM, force ionique = 0.01 mol. L <sup>-1</sup> ; (b) : modèle DSM, force ionique : 0.01 mol. L <sup>-1</sup> ; (c) : modèle NEM, force ionique = 0.1 mol. L <sup>-1</sup> ; (d) : modèle DSM, force ionique : 0.1 mol. L <sup>-1</sup> ) .....	118
Figure III. 41. Courbes du titrage expérimental (bleu) et simulé par le modèle DSM et le modèle NEM pour la biomasse de <i>Pleurotus mutilus</i> pour les deux forces ioniques du fond électrolytique ((a) : modèle NEM, force ionique = 0.01 mol. L <sup>-1</sup> ; (b) : modèle DSM, force ionique : 0.01 mol. L <sup>-1</sup> ; (c) : modèle NEM, force ionique = 0.1 mol. L <sup>-1</sup> ; (d) : modèle DSM, force ionique : 0.1 mol. L <sup>-1</sup> ) .....	119
Figure III.42. La fonction Q*ads comparée avec les résultats des deux modèles de simulation (F*ads) pour la biomasse de <i>Streptomyces rimosus</i> pour les deux forces ioniques du fond électrolytique ((a) : modèle NEM, force ionique = 0.01 mol. L <sup>-1</sup> ; (b) : modèle DSM, force ionique : 0.01 mol. L <sup>-1</sup> ; (c) : modèle NEM, force ionique = 0.1 mol. L <sup>-1</sup> ; (d) : modèle DSM, force ionique : 0.1 mol. L <sup>-1</sup> ) .....	120
Figure III. 43. La fonction Q*ads comparée avec les résultats des deux modèles de simulation (F*ads) pour la biomasse de <i>Pleurotus mutilus</i> pour les deux forces ioniques du fond électrolytique ((a) : modèle NEM, force ionique = 0.01 mol. L <sup>-1</sup> ; (b) : modèle DSM, force ionique : 0.01 mol. L <sup>-1</sup> ; (c) : modèle NEM, force ionique = 0.1 mol. L <sup>-1</sup> ; (d) : modèle DSM, force ionique : 0.1 mol. L <sup>-1</sup> ).....	121
Figure III. 44. Les valeurs des pK obtenues en fonction de la biomasse, du fond électrolytique et du modèle utilisé.....	122
Figure III. 45. La charge totale obtenue en fonction de la biomasse, de la force ionique et du modèle utilisé.....	124
Figure III. 46. Variations des valeurs de SS* en fonction de la biomasse, du fond électrolytique et du modèle utilisé.....	125

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. I. Les conditions optimales de la biosorption des ions métalliques par la biomasse morte de <i>Streptomyces rimosus</i> (Mode Batch).....	37
Tableau I.II. Les conditions optimales de la biosorption des ions métalliques par la biomasse morte de <i>Pleurotus mutilus</i> (Mode Batch).....	38
Tableau II. I. Les facteurs et les niveaux étudiés.....	57
Tableau II. II. Les essais exécutés codés.....	58
Tableau II. III. Les essais exécutés.....	58
Tableau III. I. Les groupes fonctionnels et leur pKa sur <i>Streptomyces rimosus</i> et sur <i>Pleurotus mutilus</i> en fonction de la force ionique à 0,01 et 0.1 M.....	73
Tableau III. II. Les groupes fonctionnels selon le titrage de Boehm et leur capacité de biosorption (meq/g) .....	73
Tableau III. III. Les paramètres des isothermes d'adsorption.....	81
Tableau III. IV. Comparaison des paramètres cinétiques d'adsorption du Ni <sup>2+</sup> Par <i>Streptomyces rimosus</i> et <i>Pleurotus mutilus</i> .....	86
Tableau III. V. Les valeurs de l'énergie libre d'adsorption $\Delta G^0$ .....	92
Tableau III. VI. Les valeurs optimales obtenues pour chaque facteur de variation.....	95
Tableau III. VII. Résultats obtenus à partir de la quantité de Ni <sup>2+</sup> biosorbée q <sub>e</sub> (mg/g) par la biomasse morte de <i>Pleurotus mutilus</i> .....	95
Tableau III. VIII. Résultats obtenus à partir de la quantité de Ni <sup>2+</sup> biosorbée q <sub>e</sub> (mg/g) par la biomasse morte de <i>Streptomyces rimosus</i> .....	96
Tableau III. IX. Quantité de nickel éliminée et valeurs du rapport S/N correspondantes.....	97
Tableau III. X. Valeurs du signal S/N obtenues sur les réponses absolues.....	98
Tableau III. XI. Réponse du signal S/N et contribution de chaque facteur contrôlé (P.M. : <i>Pleurotus mutilus</i> , S.R. : <i>Streptomyces rimosus</i> ).....	99
Tableau III. XII. Valeurs de la somme des carrés de chaque facteur (scF) et contribution en % de chaque facteur (cpF) (P.M. : <i>Pleurotus mutilus</i> , S.R. : <i>Streptomyces rimosus</i> ).....	100
Tableau III. XIII. Les facteurs optimisés et la capacité de biosorption obtenue (mg/g) (PM = <i>Pleurotus mutilus</i> , SR = <i>Streptomyces rimosus</i> ).....	103
Tableau III.XIV. Les résultats de l'application des fonctions de GRAN (1952).....	116
Tableau III. XV. Les paramètres utilisés pour l'optimisation et la simulation par ProtoFit.....	117
Tableau III. XVI. Valeurs optimisées du pK et C (mol. Kg <sup>-1</sup> ) pour chaque site des deux biomasses pour deux forces ioniques du fond électrolytiques.....	125

## INTRODUCTION

Les métaux lourds sont des composants naturels de la croûte terrestre, ils peuvent s'accumuler dans le milieu naturel à la suite des rejets des déchets industriels et domestiques (Malkoc et Nuhoglu, 2005). Les métaux lourds ne peuvent pas être dégradés ou détruits, ils ont tendance à s'accumuler provoquant ainsi une augmentation dans le temps de leur concentration dans les organismes vivants. Certains métaux lourds sont essentiels pour maintenir le métabolisme du corps humain, mais à des concentrations dépassant un certain seuil, ils peuvent conduire à une intoxication (Rashid et al., 2016).

La large utilisation des produits contenant du nickel conduit parfois à la pollution de l'environnement par le nickel et ses sous-produits (Denkhauss et Salnikow, 2002). L'exposition à des environnements pollués par le nickel engendre une diversité d'effets pathologiques chez l'homme allant de la dermatite de contact à la fibrose du poumon, les maladies cardiovasculaires et rénales, et même le cancer (Denkhauss et Salnikow, 2002).

Diverses méthodes ont été utilisées pour éliminer les métaux lourds des eaux usées telles que la précipitation chimique, l'électroflotation, l'échange d'ions et l'osmose inverse (El-Toni et al., 2014). La majorité de ces méthodes présentent plusieurs inconvénients telle que la production de boues toxiques, elles nécessitent des additifs chimiques, elles ont des besoins élevés en énergie, et elles engendrent des polluants secondaires (Ukpaka, 2016). Par contre, l'adsorption est une méthode efficace et non destructive pour l'élimination des métaux lourds (Iqbal et al., 2015).

Certains travaux ont exploré la possibilité d'utiliser des déchets de biomasses mortes de plusieurs industries avec un bon succès dans la biosorption des métaux lourds. Ce type de biomasse comprend *Saccharomyces cerevisiae* (Kapoor et Viraraghavan, 1995), *Corynebacterium glutamicum* (Vijayaraghavan et Yun, 2008 ; Song et al., 2013), et *Streptomyces rimosus* (Selatnia et al., 2004 a, b).

Dans certains cas, l'adsorption de métaux toxiques par la biomasse peut atteindre 50% de leur poidssec (Park et al., 2010). La capacité de biosorption peut varier considérablement selon la même espèce de biomasse. Par exemple, la capacité de biosorption du plomb varie de 2 à 93 mg/g de poids sec pour le champignon filamenteux *Aspergillus Niger*, et de 79 à 270 mg/g de poids sec pour la levure *Saccharomyces cerevisiae* (Dhankhar et Hooda, 2011). Toutefois, la

capacité biosorptive d'un biosorbant dépend largement des conditions expérimentales et des prétraitements.

Les champignons peuvent retenir les métaux par plusieurs mécanismes tels que les processus d'accumulation passifs dont l'échange d'ions, la complexation, l'adsorption, la précipitation extra et intracellulaire, et la transformation de la valence (Volesky, 2007). La paroi cellulaire des champignons se compose typiquement de la chitine, du glucane, du mannane, des protéines et d'autres polymères qui possèdent des groupes carboxyle, phosphoryle, hydroxyle, amine et des groupes fonctionnels de l'imidazole sur la surface. Ces groupes constituent des adsorbants efficaces pour les métaux (Ramrakhiani et al., 2011).

Pour les biomasses bactériennes, des groupes carboxyles du peptidoglycane sont le principal site de fixation de cations métalliques sur les parois des cellules bactériennes Gram-positives (Gadd, 2009). Les autres composants liant les métaux aux bactéries sont les polymères tels que les protéines et les polysaccharides.

La diversité des composants structuraux des bactéries et des champignons qui contiennent de nombreux groupes fonctionnels différents leur permet de retenir des ions métalliques à des degrés divers (Bailey et al., 1999). Cependant, la matière biologique est complexe et la variété de composants structuraux présents dans la biomasse signifie que de nombreux groupes fonctionnels sont capables d'interagir avec les espèces métalliques à des degrés divers selon les facteurs physico-chimiques.

La biomasse morte *Pleurotus mutilus* a été utilisée avec succès pour éliminer des polluants en solution. Les travaux réalisés ont porté sur la biosorption d'un pesticide de type Metribuzin (Behloul et al., 2016), sur le cadmium (Moussous et al., 2012), sur le cuivre (Henini et al., 2011), sur un colorant (Yeddou-mezener, 2010), sur l'hexacyanoferrate (Chergui et al., 2009), sur le nickel et le cadmium (Boulaiche, 2008), et sur le cuivre (Bal et al., 2006).

La biomasse morte de *Streptomyces rimosus* a été utilisée pour éliminer des polluants en solution. Les résultats obtenus semblent prometteurs. Les travaux réalisés ont porté sur la biosorption de l'aluminium (Tassit et al., 2010), sur le cuivre, le zinc et le chrome (Chergui et al., 2007), sur le bleu de méthylène (Yeddou et Bensmailia, 2006), sur le nickel (Selatnia et al., 2004a), sur le cadmium (Selatnia et al., 2004b), sur le fer (Selatnia et al., 2004c), sur le plomb (Selatnia et al., 2004d), et sur le zinc (Mameri et al., 1999).

Tous les travaux réalisés sur les biomasses mortes de *Pleurotus mutilus* et de *Streptomyces rimosus* ont tenté d'optimiser la biosorption pour chacun des principaux facteurs qui la conditionnent (la nature et la concentration de la biomasse, la taille des particules de la biomasse, la nature et la concentration du polluant, le pH de la solution, la température, le

temps de contact entre la biomasse et le polluant, la vitesse d'agitation de la suspension). Cette méthode d'optimisation classique de la biosorption des métaux lourds qui consiste en la variation d'un paramètre tout en maintenant constants les autres paramètres est souvent considérée comme une méthode longue et coûteuse. Il existe des méthodes expérimentales et statistiques qui fournissent une approche plus facile et tout aussi efficace pour optimiser plusieurs variables simultanément. Les méthodes expérimentales fréquemment utilisées comprennent la méthode des réseaux de neurones artificiels, la méthode des surfaces de réponse (Gönen et Aksu, 2008 ; Sharma et al., 2009) et la méthode de Taguchi (1990). La méthode d'optimisation de Taguchi permet une optimisation avec un plus faible nombre d'essais expérimentaux pour déterminer les conditions optimales que la méthode des surfaces de réponses (Yen et Li, 2015 ; Pundir et al., 2016).

De nombreux travaux ont porté sur le développement de modèles mécanistes appropriés pour décrire les réactions de surface et expliquer la biosorption des métaux lourds (Turner et Fein, 2006 ; Burnett et al., 2006 ; Amirnia et al., 2012 ; Liu et al., 2013 ; Zhu et al., 2016). Les approches empiriques basées sur les coefficients de distribution ou sur les isothermes semi-empiriques de Langmuir ou de Freundlich ont été souvent utilisées pour décrire la biosorption des métaux par les substrats solides. Bien que ceux-ci fournissent une mesure directe de la capacité de sorption, les résultats de l'approche empirique ou semi-empirique dépendent de la composition de la solution et du substrat, ils ne peuvent donc pas être extrapolés. En outre, les isothermes de Langmuir et de Freundlich ne tiennent pas compte de la charge électrique sur des surfaces solides et de la structure des espèces adsorbées (Liu et al, 2013). En revanche, les modèles de complexation de surface à caractère thermodynamique fournissent une description moléculaire de la sorption du métal en utilisant une approche d'équilibre qui définit les espèces de surface, les réactions chimiques, les bilans de masse et les soldes de charge (Turner et Fein, 2006 ; Hea et al., 2013 ; Zhu et al., 2016).

Les modèles de complexation de surface ont été mis en œuvre avec succès pour décrire la sorption des ions métalliques sur la surface des biomasses bactériennes (Fein et al., 1997 ; Daughney et Fein, 1998 ; Burnett et al., 2006 ; Mishra et al., 2010 ; Hea et al., 2013) ou fongiques (Zhu et al., 2016).

Le but de ce travail est d'évaluer les capacités et de cerner les processus de biosorption du nickel par deux biomasses mortes, l'une bactérienne la *Streptomyces rimosus* et l'autre fongique la *Pleurotus mutilus* qui constituent des sous-produits de l'industrie algérienne des antibiotiques. Il s'agit plus spécialement de :



- caractériser les processus de la biosorption par des essais expérimentaux et la mise en œuvre de modèles d'équilibre et de modèles cinétiques,
- déterminer les facteurs d'optimisation de la biosorption par une expérimentation utilisant une approche multifactorielle selon la méthode de Taguchi (1990),
- utiliser les modèles de complexation de surface pour prédire la nature des groupes fonctionnels et leur capacité de biosorption en mettant en œuvre le logiciel Protofit 2.1. rev1.

# CHAPITRE I



## CHAPITRE I. ETAT DES CONNAISSANCES SUR LA BIOSORPTION

### Introduction

L'activité anthropique et l'industrialisation ont exercé une pression croissante sur l'environnement en générant de grandes quantités d'effluents aqueux toxiques contenant des métaux toxiques, des métalloïdes, des radionucléides ainsi que divers polluants organiques (Kim et al., 2012). Les effets néfastes sur les écosystèmes et les dangers pour la santé provoqués par les polluants organiques et minéraux ont été établis de façon certaine, ce qui rend absolument nécessaire l'application des normes sans cesse croissantes de détection et de traitement des polluants (Fu and Wang, 2011). Les méthodes de traitements industriels visant à prévenir ou à limiter les rejets toxiques nécessitent des dépenses croissantes (Gupta and Rastogi, 2009).

Les métaux jouent un rôle important dans les processus de la vie des organismes vivants. Plusieurs métaux et métalloïdes, qui sont essentiels pour les processus biochimiques et cellulaires (tels que le zinc, le cuivre, le fer et le manganèse) sont assimilés par les organismes vivants à des degrés divers. Ils peuvent être nécessaires pour une fonction normale, mais des doses excessives peuvent devenir toxiques. D'autres éléments métalliques sans rôle biologique reconnu (tels que l'arsenic, le chrome, le sélénium, le cadmium, le plomb, et le mercure) peuvent entrer dans le système et endommager la performance des processus normaux (Maestri et al., 2010). La toxicité se produit essentiellement en raison du déplacement des ions métalliques vitaux de leurs sites de liaison autochtones, ou en raison des interactions avec des ligands (Bruins et al., 2000).

Les métaux peuvent affecter l'environnement par différentes voies anthropiques qui provoquent une augmentation excessive de la concentration des métaux (Bhattacharya et al., 2015). En particulier, les industries modernes sont, dans une large mesure, responsables de la pollution de l'environnement. Les eaux usées issues de diverses industries contiennent des concentrations élevées en métaux, et ceux-ci sont souvent rejetés dans la nature directement sans aucun traitement préalable de dépollution. Ces rejets constituent un grand risque pour les

sources d'eau potable. Dans la plupart des pays en développement, les usines de traitement et de décontamination en métaux ne sont généralement pas disponibles (Malik, 2004).

Plusieurs techniques d'élimination des ions métalliques à partir de solutions aqueuses sont disponibles. Elles portent aussi bien sur les méthodes traditionnelles physico-chimiques que sur les nouvelles méthodes de biorestauration (Gadd, 2009). Les procédés physico-chimiques les plus couramment utilisés comprennent la précipitation chimique, l'osmose inverse, l'oxydo-réduction, le traitement électrochimique et la filtration (Fu et Wang, 2011). Les méthodes de bioremédiation incluent la bioaccumulation, la biosorption et la phytoremédiation. Ces méthodes sont respectueuses de l'environnement, elles n'engendrent pas de pollution secondaire, elles sont de faibles coûts (Gadd, 2010). En particulier, la biosorption a été identifiée comme un puissant procédé de bioremédiation qui est comparable à l'échange d'ions qui est un procédé bien établi pour l'élimination des ions métalliques par les résines (Volesky, 2007).

La biosorption est l'une des propriétés importantes des microorganismes vivants et morts et de leurs composants pour le traitement des polluants (Gadd, 1993 ; Texier et al., 1999). Toutefois, la majorité des matériaux biologiques, y compris les algues ainsi que la biomasse végétale et animale et leurs produits dérivés, possède la propriété de biosorption.

Actuellement, la biosorption est considérée comme une biotechnologie prometteuse pour l'élimination des polluants en raison de sa simplicité car il s'agit d'une opération analogue à la technologie classique d'échange d'ions, de son efficacité apparente, et de la disponibilité de la biomasse (Volesky, 2007 ; Gadd, 2009).

### **I.1. Définition de la biosorption**

Le concept de biosorption présente des difficultés pour le définir en raison de l'existence de nombreux mécanismes qui rentrent en jeu dans sa mise en œuvre, de la diversité des biosorbants utilisés, des nombreux facteurs environnementaux qui rentrent en jeu, et de la présence ou l'absence de processus métaboliques dans le cas de l'utilisation des organismes vivants (Michalak et al., 2013). Le terme de biosorption a été utilisé par différents auteurs pour décrire un large éventail de processus, y compris la bioadsorption, la bioabsorption, la biosorption par la biomasse morte ou vivante, et la bioaccumulation (Gadd, 2009).

La sorption est un procédé physico-chimique par lequel une substance se fixe à l'autre. Malgré le préfixe «bio» qui désigne la participation d'une entité biologique, la biosorption est un procédé physico-chimique qui peut être simplement défini comme l'élimination des

substances de la solution par du matériel biologique (Gadd, 2009). La sorption est un terme qui a été utilisé à la fois pour l'absorption et l'adsorption (Gadd, 2009). L'absorption est l'incorporation d'une substance dans un état à un autre état différent (par exemple, les liquides absorbés par un solide ou un gaz est absorbé par l'eau), soit dans une matrice tridimensionnelle. L'adsorption est l'adhérence physique ou la liaison des ions et des molécules sur la surface d'une autre molécule, à savoir sur une surface à deux dimensions. De nombreux auteurs considèrent la biosorption comme une sous-catégorie de l'adsorption, où l'adsorbant est une matrice biologique (Michalak et al., 2013). L'adsorption est la forme la plus commune de la sorption impliquée dans les technologies de la dépollution traditionnelle. La sorption est le terme utilisé, de préférence, pour décrire tout système où un sorbat (un atome ou une molécule) interagit avec un sorbant (soit une surface solide), dont le résultat est une accumulation à l'interface sorbat-sorbant (Borda et Sparks, 2007). Si l'adsorption se produit et se poursuit par la formation d'une nouvelle espèce de surface en trois dimensions, cette nouvelle espèce peut être définie comme un précipité de surface (Gadd, 2009).

Traditionnellement, le terme de biosorption fait référence spécifiquement à des métaux comme biosorbats et, souvent à des matériaux microbiens comme biosorbants (Gadd, 2009). Cependant, la recherche et les applications sur la biosorption ont été étendues à l'élimination des matières organiques (par exemple les colorants), à la récupération des protéines de haute valeur, des stéroïdes, des produits pharmaceutiques et de médicaments, et de l'enrichissement en microéléments des compléments alimentaires biologiques et des engrais (Volesky, 2007 ; Michalak et al., 2013).

Ainsi, le terme de biosorption peut apparemment décrire tout système dans lequel une surface solide d'une matrice biologique coopère avec un sorbat aboutissant à la réduction de la concentration de la solution en sorbats (Gadd, 2009).

Une autre dimension du terme de biosorption concerne les processus passifs par rapport aux processus actifs. Trois niveaux de définitions dans cette dimension peuvent être reconnus (Formina et Gadd, 2014) :

- une définition étroite : la biosorption est définie comme un processus passif, métaboliquement indépendant,
- une définition plus large : elle intègre les deux processus passifs et actifs dans le cas de la biomasse vivante, cette biosorption est souvent désignée comme une bioaccumulation,
- la biosorption est considérée comme une généralisation fondamentale couvrant tous les aspects des interactions de tout sorbat avec une matrice biologique.

La biosorption a été définie par la plupart des auteurs comme un processus passif et métaboliquement indépendant, par exemple l'absorption passive des métaux par la biomasse microbienne (Volesky, 1990 ; Gadd, 2009).

La biosorption est une partie importante de nombreux processus se produisant dans la nature, y compris la sorption dans le sol, les réactions immunitaires antigène-anticorps et l'adsorption aux cellules hôtes comme une première étape dans la multiplication des virus. De nombreuses approches méthodologiques utilisées dans les sciences de la vie, de la biotechnologie et de la médecine sont, en fait, basées sur les processus de la biosorption (par exemple la coloration des cellules microbiennes pour la microscopie électronique, les thérapies ciblées dans le traitement du cancer) (Formina et Gadd, 2014).

En résumé, tous les phénomènes de la vie sont en quelque sorte liés à des interactions entre les surfaces biologiques et un sorbat.

## **I.2. Les principes de la biosorption**

La biosorption est un processus physico-chimique indépendant du métabolisme et dont le résultat est l'élimination des substances de la solution par du matériel biologique (Gadd, 2009). Les processus de la biosorption impliquent donc une phase solide (*le biosorbant*) et une phase liquide (solvant : normalement de l'eau) contenant les espèces dissoutes ou en suspension destinées à être sorbées (*les sorbats*) (Formina et Gadd, 2014).

### **I.2.1. Les sorbats**

Une large gamme de sorbats peut être éliminée de la solution en utilisant les biosorbants. Les sorbats les plus étudiés sont les métaux, les particules et les colloïdes, les organométalliques, les composés inorganiques et organiques y compris les colorants, les fluorures, les phtalates et les produits pharmaceutiques (Volesky, 2007 ; Gadd, 2009 ; Michalak et al, 2013). De nombreux mécanismes sont impliqués dans l'élimination de ces diverses substances des solutions. Cependant, la plupart des travaux sur la biosorption ont été réalisés sur les métaux (Dhankhar et Hooda, 2011). Il faut souligner que 75% des éléments du tableau périodique sont classés comme des métaux et la majorité d'entre eux ont fait l'objet de travaux sur la biosorption.

La toxicité des métaux détermine leur importance comme un polluant et leur intérêt dans des travaux de recherche sur leur biosorption. Les principales applications des travaux sur la biosorption concernent l'assainissement de l'environnement, la protection de la santé, le recyclage et / ou la récupération de certains éléments (Formina et Gadd, 2014).

Les métaux les plus répandues qui sont étudiés et qui sont considérés comme des polluants environnementaux clés, sont le plomb, le cuivre, le mercure, le cadmium, le chrome, le nickel et l'arsenic ainsi que des radionucléides tels que le cobalt, le strontium, l'uranium, et le thorium (Gadd, 2010 ; Gadd et Formina, 2011). Dans cette liste d'éléments, il existe une large gamme de propriétés chimiques. Parmi ces éléments, les espèces chimiques prédominantes qui peuvent être cationiques ou anioniques, elles peuvent exister en tant que complexes, et elles présentent une large gamme d'états d'oxydation. Dans de nombreux systèmes, les métaux peuvent être hydroxylés ou complexés en fonction du pH et de la composition du milieu (Stumm et Morgan, 1996). Cependant, la spéciation des métaux est ignorée dans de nombreux travaux et il est souvent supposé que les métaux sont entièrement présents à l'état de cations bivalents, ce qui ne sera pas le cas dans de nombreuses situations (Stumm et Morgan, 1996).

Alors qu'une grande partie de la recherche actuelle a été réalisée sur l'élimination de cations métalliques, l'élimination des anions par la biosorption est une préoccupation croissante dans les domaines de l'exploitation minière et la métallurgie, car un certain nombre de métaux toxiques se présentent sous des formes anioniques tels que l'arsenic, le sélénium, le chrome, le molybdène, et le vanadium (Michalak et al., 2013). Classiquement, la plupart de ces espèces anioniques sont éliminées en utilisant du charbon actif, l'échange d'ions, l'extraction par un solvant, ou par précipitation. Cependant, la biosorption a été proposée comme une alternative de traitement efficace pour les polluants anioniques (Michalak et al., 2013).

Contrairement aux métaux, de nombreux composés organiques rejetés dans l'environnement sont dégradés par les populations microbiennes naturelles, et un tel potentiel de biodégradation est à la base de nombreux procédés de dépollution. Néanmoins, dans de nombreux cas, les produits de biodégradation peuvent être dangereux, tandis que certains composés organiques sont extrêmement résistants à la biodégradation (Formina et Gadd, 2014). La biosorption a été promue comme une biotechnologie potentielle pour l'élimination de ces substances organiques à partir des effluents résiduaux. Les substances qui ont fait l'objet d'une attention particulière sont les colorants, les composés phénoliques et les pesticides (Aksu, 2005 ; Crini et Badot, 2008).

### **I.2.2. Les biosorbants**

Tous les types de matériau biologique ont une affinité pour les polluants minéraux et organiques, cela signifie qu'il existe un énorme potentiel de biosorption dans les nombreux types de biomatériaux (Gadd, 2009 ; Dhankhar et Hooda, 2011). Dans la recherche de biosorbants hautement efficaces et à faible coût et de nouvelles opportunités pour le contrôle

de la pollution, tous les types de microorganismes ainsi que la biomasse végétale et animale et ses produits dérivés, ont fait l'objet d'évaluation pour la récupération et le recyclage des éléments polluants (Volesky, 2003).

Les types de substrats d'origine biologique qui ont été étudiés pour la préparation des biosorbants comprennent la biomasse microbienne (les bactéries, les cyanobactéries, les champignons filamenteux et les levures), les algues marines (les microalgues et les macroalgues), les déchets industriels (les déchets alimentaires fermentés, les boues activées), les déchets agricoles (déchets de fruits et légumes, la paille des céréales, le son de blé, la pulpe de betterave à sucre, les coques de soja), les résidus naturels (résidus végétaux, sciure, écorces d'arbres, les mauvaises herbes, la mousse de sphaigne) et d'autres matériaux (chitosane, cellulose) (Dhankhar et Hooda, 2011). Les capacités biosorptives de différents types de biomasse ont été rapportées par de nombreux travaux (Vijayaraghavan et Yun, 2008 ; Park et al., 2010). Dans certains cas, l'adsorption de métaux toxiques par la biomasse peut atteindre 50% de leur poids sec (Park et al., 2010). La capacité de biosorption peut varier considérablement à l'intérieur de la biomasse de la même espèce microbienne. Toutefois, la capacité biosorptive d'un biosorbant dépend largement des conditions expérimentales et des prétraitements (Selatnia et al., 2004a ; Chergui et al., 2007 ; Formina et Gadd, 2014 ; Madani, 2015).

Une question majeure se pose pour sélectionner les types de biomasse les plus prometteurs à partir d'une diversité de biomatériaux facilement disponibles et peu coûteux.

Fondamentalement, un biosorbant de faible coût exige peu de transformation, il est abondant dans la nature, ou il s'agit d'un sous-produit ou d'un déchet d'une industrie.

Même s'il n'y a pratiquement pas de limites à l'exploration de nouveaux types de biomasse, l'un des problèmes est que la composition de la biomasse d'origine peut ne pas varier considérablement entre les différentes espèces du même genre ou du même ordre. Par exemple, la structure de la paroi cellulaire, qui est le principal site de la biosorption des métaux, est similaire dans les bactéries Gram-positives (Kim et Gadd, 2008). De même, toutes les bactéries gram-négatives ont la même structure cellulaire de base (Kim et Gadd, 2008). Les principales espèces fongiques ont la même structure uniforme et la même composition de la paroi avec quelques variations en raison de la teneur de la chitine et des glucanes (Gow et Gadd, 1995). Le matériel végétal et les algues montrent une grande uniformité, mais avec quelques différences entre les genres majeurs (Davis et al., 2003).

Les groupes carboxyles du peptidoglycane sont le principal site de liaison des cations métalliques dans les parois des cellules bactériennes Gram-positives, les autres composants



liant les métaux aux bactéries sont les polymères tels que les protéines et les polysaccharides (Gadd, 2009).

Les parois cellulaires fongiques sont des structures macromoléculaires complexes constituées de chitines, de glucanes, de mannanes et de protéines ; elles contiennent également, des polysaccharides, des lipides et des pigments telle que la mélanine (Gadd, 1993). Cette variété de composants structuraux contient de nombreux groupes fonctionnels différents qui sont capables de retenir des ions métalliques à des degrés divers (Selatnia et al., 2004a). La chitine est un élément de constitution très important de la paroi cellulaire fongique, c'est un biosorbant efficace pour les métaux et les radionucléides. Les polymères et les mélanines phénoliques fongiques possèdent de nombreux sites potentiels d'adsorption des métaux avec des groupes contenant de l'oxygène dont les carboxyles, les phénoliques, les hydroxyles alcooliques, les carbonyles et les groupes méthoxyles qui sont particulièrement importants (Gadd, 2009).

Le chitosane est de faible coût par rapport au charbon actif commercial (le chitosane est obtenu par désacétylation de la chitine, l'amino-polysaccharide le plus abondant dans la nature). Il est très utilisé pour éliminer les polluants complexes, en particulier les métaux (Crini et Badot, 2008).

Un autre aspect de la nature des biosorbants qui devrait être mis en évidence est que la biomasse utilisée pour la biosorption peut être vivante ou morte. L'utilisation de la biomasse morte semble être une alternative pratique pour l'élimination des métaux, ses avantages sont les suivants (Dhankhar et Hooda, 2011) :

- l'absence de contrainte de toxicité,
- l'absence d'exigences en matière de composition du milieu de croissance dans la solution d'alimentation,
- l'absorbance et la récupération des métaux biosorbés sont faciles,
- la régénération et la réutilisation de la biomasse est facile,
- la possibilité d'immobilisation des cellules mortes est facile,
- la facilité de modélisation mathématique de l'adsorption des métaux.

Malgré les avantages évidents de l'utilisation de la biomasse morte par rapport aux micro-organismes vivants, de nombreux attributs des micro-organismes vivants demeurent inexploités dans un contexte industriel (Gadd et Blanc, 1993 ; Malik, 2004). Les micro-organismes vivants dégradent les polluants organiques et peuvent adsorber et transformer les métaux, les métalloïdes et les radionucléides selon de nombreux processus différents qui peuvent contribuer à l'ensemble du processus de dépollution. Ils peuvent être utilisés pour des

applications spécifiques avec des avantages supplémentaires qui résultent de l'activité métabolique (par exemple, la biodégradation des substances organiques) (Malik, 2004 ; Gadd, 2009).

### **I.3. Les mécanismes de la biosorption**

Pour une définition étroite de la biosorption considérée comme un processus physico-chimique passif, les mécanismes qui sont mis en œuvre comprennent : l'adsorption, l'échange d'ions et la complexation (Gadd, 2009). Cependant, la matière biologique est complexe et la variété de composants structuraux présents dans la biomasse signifie que de nombreux groupes fonctionnels sont capables d'interagir avec les espèces métalliques (groupe carboxyle, phosphate, hydroxyle, amino, thiol) à des degrés divers selon les facteurs physico-chimiques (Kotrba, 2011). En effet, d'autres mécanismes possibles telles que la précipitation chimique et la cristallisation peuvent survenir et compliquer la sorption et / ou la désorption. Certains travaux réalisés sur la biosorption de la biomasse vivante signalent une complication supplémentaire des mécanismes en raison des activités métaboliques (respiration, absorption des éléments nutritifs, oxydo-réduction) qui vont modifier le microenvironnement autour des cellules qui, à son tour, peut affecter l'adsorption, l'échange d'ions, la complexation et la précipitation, et modifier ainsi la spéciation des métaux et des radionucléides (Gadd et Formina, 2011).

L'analyse et la modélisation de ces mécanismes multiples peuvent être difficiles. Cependant, si l'objectif premier est d'identifier un système de biosorbant efficace, d'un point de vue pragmatique, il ne sera pas nécessaire d'avoir une compréhension complète de ces mécanismes.

La formation des complexes organo-métalliques mettant en œuvre des cations tels que  $\text{Ni}^{2+}$  peut impliquer la coordination des ions métalliques avec des atomes d'oxygène avec la libération de protons et la formation de complexes de surface (Gadd, 2009). Les mécanismes de la biosorption des anions ont été peu étudiés. Ils seraient affectés par les conditions chimiques telles que le pH. Par exemple, les espèces anioniques comme  $\text{CrO}_4^{2-}$  et  $\text{SeO}_4^{2-}$  présentent une biosorption relativement élevée à faible pH (Garnham, 1997 ; Gadd, 2009).

La structure chimique des polluants organiques est très diverse, ce qui signifie que la biosorption sera affectée par la taille moléculaire, la charge, la solubilité, l'hydrophobicité, et la réactivité, ainsi que la composition du biosorbant. La sorption hydrophobe se produit lorsque des composés hydrophobes rencontrent la biomasse dans les systèmes de biosorption

(Stumm et Morgan, 1996). La nature lipophile des composés hydrophobes leur permet de passer à travers les membranes et être absorbés dans la matrice organique.

Pour la biosorption des colorants sur le chitosane, les divers mécanismes qui rentrent en jeu incluent l'adsorption de surface, la chimisorption, la diffusion et l'adsorption-complexation, avec des étapes dont les plus importantes sont la diffusion et les réactions chimiques comme l'échange d'ions et la complexation (Crini et Badot, 2008).

#### **I.4. Les facteurs affectant la biosorption**

La performance d'un biosorbant dépend non seulement de la composition chimique du biosorbant et la nature des solutés, mais elle est également fortement influencée par les paramètres de fonctionnement tels que le pH, la température, la force ionique, la concentration des autres ions, la taille des particules du biosorbant, le temps de réaction, la quantité du biosorbant, la concentration initiale du soluté et la vitesse d'agitation pour le mode stationnaire (Selatnia et al., 2004a ; Gadd, 2009 ; Park et al, 2010). Les facteurs physico-chimiques les plus importants comprennent :

(a) Le pH de la solution qui est le facteur le plus important dans la régulation de la biosorption, il affecte la chimie de la solution des polluants, l'activité des groupes fonctionnels présents dans les biosorbants, et la compétition entre les ions contenus dans la solution (Vijayaraghavan et Yun, 2008). L'augmentation du pH améliore l'élimination des métaux cationiques ou des colorants basiques, mais elle réduit celle des métaux anioniques ou des colorants acides. Le site de liaison et le groupe fonctionnel d'un biosorbant, qui joue un rôle vital dans la biosorption, dépend fortement du pH de la solution. La plupart des biosorbants, indépendamment de leur nature, sont influencés par le pH de la solution. Ce résultat serait lié à la nature de la charge négative des groupes carboxyles ( $pK_a$  de 3.5 à 5.5) qui sont responsables de la liaison des cations métalliques par l'intermédiaire du mécanisme d'échange d'ions. Pour les anions métalliques, le pH acide est souvent nécessaire pour protoner les groupes fonctionnels et augmenter la capacité de liaison. Le pH de la solution affecte également la composition chimique de la solution de métaux. A des pH élevés de la solution, la solubilité des complexes métalliques diminue suffisamment pour engendrer la précipitation et compliquer le processus de sorption. A un pH faible de la solution, la plupart des métaux cationiques existent dans un état stable et sont faciles à biosorber. Dans l'ensemble, pour améliorer la capacité de biosorption d'un biosorbant particulier, il est préférable d'effectuer des expériences à un pH optimal.

(b) La force ionique de la solution qui, lorsqu'elle augmente, réduit l'élimination des polluants par la compétition avec les adsorbats pour les sites du biosorbant.

(c) La concentration du polluants initial qui, lorsqu'elle est élevée, augmente la quantité de polluant biosorbée par unité de poids du biosorbant, mais elle diminue l'efficacité de l'élimination.

(d) La présence d'autres éléments chimiques provoque une concurrence pour les sites de liaison ou engendre d'autres interférences. En général, l'augmentation de la concentration des polluants concurrents réduit la biosorption du polluant ciblé. Toutefois, la fixation de la biomasse d'un cation peut améliorer la biosorption d'un autre cation en raison des effets tampon du pH. Dans certains cas, les cations peuvent augmenter la biosorption des espèces anioniques en améliorant la liaison des anions négativement chargés (Gadd, 2009). Les effets anioniques sur la capacité de biosorption des métaux dépendent de la spéciation des ions métalliques qui co-existent en solution et de la nature du biosorbant. Par exemple, les capacités d'élimination par la biosorption de Cr(VI) diminuent selon la nature de l'anion accompagnateur dans le sens :  $\text{NO}_3^- > \text{Cl}^- > \text{SO}_4^{2-}$ , et pour les ions Cr (III) :  $\text{SO}_4^{2-} > \text{Cl}^- > \text{NO}_3^-$  (Michalak et al., 2013). Les anions tels que  $\text{CO}_3^{2-}$  et  $\text{PO}_4^{3-}$  peuvent affecter la biosorption par la formation de précipités de métaux sous forme insoluble, tandis que le chlorure peut influencer la biosorption par la formation de complexes (par exemple,  $\text{CdCl}_3$ ) (Gadd, 2009). Les raisons de la concurrence entre les espèces sont relatives à la nature et au nombre de liaisons des composants de la biomasse ainsi qu'à la nature et à la concentration des ions métalliques. Chaque groupe fonctionnel a une préférence particulière envers certains ions métalliques qui dépend des rayons ioniques, de l'électronégativité, et de la masse atomique des métaux (Vijayaraghavan et al., 2010).

(e) La nature du biosorbant et la disponibilité des sites de liaison, les traitements et les modifications physiques ou chimiques, la taille du biosorbant sont d'une importance majeure pour l'efficacité de la biosorption (Park et al, 2010).

(f) La température qui améliore généralement l'élimination par adsorption des polluants en augmentant l'activité de surface et l'énergie cinétique de l'adsorbat, mais elle peut également dégrader la structure physique du biosorbant (Park et al., 2010).

(g) L'augmentation de la vitesse d'agitation dans les systèmes aqueux améliore le taux d'élimination des polluants par adsorption en favorisant le transfert de masse, mais elle peut endommager la structure physique du biosorbant (Park et al., 2010).

(h) Le temps de contact entre le biosorbant et la solution contenant le métal à éliminer nécessaire pour atteindre une capacité de biosorption optimale varie entre quelques minutes et quelques heures pour le mode batch (Selatnia et al., 2004a).

## **I.5. Traitement des biosorbants**

Deux types de traitements peuvent être pratiqués. Le premier est relatif à l'amélioration de la capacité de biosorption du biosorbant, le second porte sur sa régénération.

### **I.5.1. Amélioration de la capacité de biosorption**

Pour la plupart des biomasses, il faut une certaine forme de traitement chimique pour améliorer la performance de la biosorption (Vijayaraghavan et Yun, 2008). La réutilisation du potentiel de la biomasse est un critère important pour la sélection de tout biosorbant. La possibilité de régénération de la biomasse diminue le coût d'un processus global et la dépendance du procédé relatif à la fourniture en continu de la biomasse.

Le traitement peut varier avec la biomasse, mais il porte généralement sur la modification chimique et l'immobilisation. La modification chimique de la biomasse est généralement destinée à améliorer la capacité de biosorption et l'affinité pour un métal.

En général, les procédures de modification chimique comprennent le prétraitement, l'amélioration des sites de liaison, la modification des sites de liaison et la polymérisation. Le prétraitement de la biomasse vise essentiellement à nettoyer la biomasse pour améliorer la capacité de biosorption. En particulier, le prétraitement acide est l'une des méthodes les plus fréquentes pour nettoyer la biomasse, c'est-à-dire lessiver les métaux légers, les substances qui provoquent des odeurs et d'autres impuretés. Les autres prétraitements chimiques communs incluent une méthode alcaline, l'éthanol et l'acétone (Rehman et al., 2013). Un moyen plus efficace pour améliorer la capacité de biosorption est l'introduction de groupes fonctionnels sur la surface de la biomasse par greffage de longues chaînes de polymères sur la surface de la biomasse par greffage direct ou par polymérisation d'un monomère. Le Polyéthylène-imine, qui est composé d'un grand nombre de groupes amines primaires et secondaires dans une molécule, améliore la capacité de biosorption quand il est greffé sur le sorbant (Won et al., 2014).

Toutes les biomasses microbiennes exigent l'immobilisation avant d'être utilisées dans la biosorption dans les systèmes dynamiques continus. Les biomasses microbiennes sont essentiellement de petites particules, à faible densité, et une faible rigidité. Même si ces biosorbants possèdent une capacité de biosorption élevée, un niveau d'équilibre rapide et un

bon transfert de la masse des particules, ils souffrent souvent de divers inconvénients tels que le gonflement de la biomasse, les problèmes de séparation solide-liquide, les difficultés pour les régénérer et les réutiliser, et le développement de forte chute de pression lorsqu'elles sont utilisées dans le mode dynamique en colonne (Vijayaraghavan et Yun, 2008). L'immobilisation résout la plupart de ces problèmes et aide à développer l'utilisation de la biomasse microbienne pour les applications de la biosorption (Kapoor et Viraraghavan, 1995 ; Volesky, 2001). Les produits d'immobilisation utilisés pour la biomasse comprennent l'alginate de sodium, le polysulfone, le polyacrylamide et le polyuréthane.

Les manipulations biologiques telle que l'optimisation des conditions de croissance de la culture ou l'aide de techniques de génie génétique pourrait également améliorer la capacité biosorptive de la biomasse (Li et Tao, 2013).

Malgré un grand potentiel apparent des techniques de manipulation et de modification de surface pour la biosorption, celles-ci augmentent le coût commercial des biosorbants qui se rapproche de celui des résines échangeuses d'ions synthétiques. Ceci compromet l'avantage économique du faible coût des biosorbants. En outre, la plupart des manipulations soulèvent un certain nombre de questions de santé et de sécurité de l'environnement comme l'utilisation des produits chimiques agressifs et dangereux dans les manipulations pour la modification des propriétés physiques et chimiques, le rayonnement électromagnétique utilisé pour la polymérisation, la modification génétique des micro-organismes qui est potentiellement nocive.

### **I.5.2. Régénération du biosorbant**

Le succès d'un procédé de désorption dépend des mécanismes d'élimination des métaux et de la stabilité mécanique de la biomasse. Étant donné que la plupart des biosorbants présentent un mécanisme d'échange cationique des métaux lourds, une solution d'acide fort est suffisante pour la désorption et la régénération du biosorbant (Henini et al., 2011). L'utilisation des acides pour la désorption est également bénéfique dans la mesure où des solutions acides constituent souvent des déchets dans de nombreuses industries, mais il faut veiller à ce que l'intégrité de la biomasse ne devrait pas être affectée par l'environnement acide.

Des solvants organiques tels que le méthanol, l'éthanol, les tensioactifs et le NaOH peuvent être utilisés pour l'élution et la régénération de la biomasse chargée de colorants (Aksu, 2005). Pour la désorption des composés phénoliques et des pesticides, l'eau distillée, le  $\text{CaCl}_2$  et le NaOH ont été utilisés (Aksu, 2005).

Les récupérations destructives qui comprennent la combustion et la récupération ultérieure des métaux et des radionucléides provenant de cendres peuvent également être une possibilité.

## **I.6. Les méthodes d'étude de la biosorption**

### **I.6.1. Les procédés expérimentaux**

Les études expérimentales au laboratoire de la biosorption sont généralement réalisées soit en mode stationnaire (appelé le mode batch), soit en mode dynamique (mode en colonne) (Wilson et al., 2013) :

*-Mode stationnaire ou mode batch* : L'expérimentation en batch consiste en une mise en contact d'une faible quantité de biosorbant et d'une solution de sorbats. Au terme d'une agitation de l'ensemble pendant une durée déterminée à une certaine vitesse et à une température donnée, on procède à une centrifugation de la suspension et à un dosage du surnageant de centrifugation.

*-Mode dynamique* : Les expériences sont réalisées dans un lit fixe d'un certain diamètre et d'une certaine hauteur. La solution est injectée par la partie supérieure de la colonne et le débit est contrôlé. La solution, qui circule en circuit fermé, est stockée dans une cuve d'un certain volume et sa température est régulée à l'aide d'une résistance chauffante et d'un serpentin fonctionnant à l'eau de ville.

### **I.6.2. Les dispositifs expérimentaux**

Il existe plusieurs dispositifs expérimentaux utilisables pour l'étude de la biosorption :

- *Le plan factoriel complet (FFD)* : Le plan factoriel complet comprend toutes les combinaisons possibles des variables avec plusieurs niveaux. Il permet de déterminer les principaux effets simples des interactions avec une grande flexibilité et efficacité.

- *Le plan composite central (CCD)* : Le plan composite central produit autant d'informations que le plan factoriel complet, cependant cette méthode nécessite un plus petit nombre d'expérimentations que le plan factoriel complet FFD. Le CCD contient la conception factorielle pleine ou fractionnée à deux niveaux ( $2n$ ), les points centraux (CP), qui correspondent au milieu du niveau des facteurs et des points axiaux ( $2n$ ), lequel à son tour dépend des propriétés spécifiques souhaitées pour la conception et le nombre de paramètres liés. Selon l'endroit où se trouvent des points axiaux, le CCD peut être divisé en trois types:

CCC (circonscrit centrale composite), CCI (central composite inscrit) et CCF (face centered composite).

- *La conception de Box-Behnken (BB)* : ce plan factoriel incomplet à trois niveaux constitue une alternative au plan factoriel complet. Pour décrire l'effet linéaire, quadratique et les interactions, les équations polynomiales de second ordre peuvent être utilisées dans la modélisation. Box et Behnken ont créé cette conception pour réduire au minimum le nombre d'expériences, en particulier dans l'ajustement du modèle quadratique. Le BB est légèrement plus efficace que la CCD et beaucoup plus efficace que le FFD. Le BB a seulement deux restrictions importantes : le nombre de facteurs expérimentaux doit être égal ou supérieur à trois et le BB ne devrait pas être utilisé pour d'autres équations autre que l'équation polynomiale de second ordre.

- *La conception de Doehlert (D)* : La conception de Doehlert est une méthode expérimentale de conception créée sur la base d'un simplexe. Dans la première étape, un simplexe régulier à  $k$ -dimension est créé, qui a un sommet dans le point central. Dans l'étape suivante, les points simplexe sont soustraits les uns des autres pour donner la matrice de Doehlert. Le meilleur avantage de ce type de conception est sa flexibilité.

- *La conception de Plackett-Burman (PB)* : La conception de Plackett-Burman a été développée comme une méthode de raccourci pour déterminer un effet principal pour les systèmes à facteurs multiples. Cette conception ne nécessite que  $N = k + 1$  expériences. Ce type de conception est appelée " la conception saturée " parce que le nombre d'expériences est égal au nombre de paramètres dans le modèle de la méthode des surfaces de réponse du premier ordre, et le degré de liberté d'une telle conception est égal à zéro. Un degré élevé de la réduction du nombre d'expérience impose certaines contraintes de modélisation.

### **I.6.3. Les techniques d'analyse**

De nombreuses techniques d'analyse ont été utilisées pour étudier le processus de biosorption. Elles portent sur l'utilisation de la spectrophotométrie d'absorption atomique, les électrodes ioniques sélectives, la spectrophotométrie UV-Visible, la titration potentiométrique, la microscopie électronique à transmission couplée à la spectroscopie des rayons X à dispersion d'énergie, la spectroscopie infrarouge ou la spectroscopie à transformée de Fourier à infrarouge, la spectroscopie d'absorption des rayons X, la diffraction des rayons X, la spectroscopie de résonance de spin électronique, la résonance magnétique nucléaire, la spectroscopie des photoélectrons X, l'analyse thermogravimétrique, et la calorimétrie



différentielle à balayage (Park et al., 2010 ; Michalak et al., 2013). Ces techniques peuvent se compléter mutuellement pour décrire les mécanismes de la biosorption.

#### **I.6.4. Les outils de la modélisation et de la simulation**

La modélisation et la simulation de la biosorption visent à analyser les données expérimentales, à comprendre les mécanismes du phénomène, à prédire les réponses aux changements des conditions du fonctionnement du système, et à optimiser les processus.

Les approches communément utilisées pour décrire le processus de la biosorption sont de plusieurs catégories (Chojnacka, 2010) :

- les modèles d'équilibre : les modèles les plus utilisés sont celui de Langmuir, celui de Freundlich, celui de Temkin, et celui de Brunauer-Emmett-Teller,
- les modèles cinétiques : les modèles les plus utilisés sont le modèle de diffusion et le modèle du premier et du second ordre,
- les modèles de complexation de surface,
- les méthodes d'optimisation : les méthodes les plus utilisés sont la méthode des surfaces de réponse, la méthode du réseau des neurones artificiels, et la méthode de Taguchi.

##### **I.6.4.1. Les modèles d'équilibre**

Généralement, les expériences sont réalisées de telle manière qu'un facteur varie alors que les autres facteurs restent inchangés. Cette procédure est appelée une variable à temps (OVAT). Cette méthode nécessite du temps (le travail doit dépister toutes les variables de façon indépendante) et nécessite un grand nombre d'expériences, ce qui conduit à des coûts élevés. En outre, cette méthode ne comprend pas les interactions entre les facteurs étudiés. Pour être en mesure de comparer les capacités d'absorption de polluants de différents types de biosorbants et les affinités des différentes substances pour les mêmes biosorbants, le processus d'adsorption peut être représenté par une isotherme d'équilibre. La biosorption peut être modélisée soit par des approches mécanistes qui peuvent représenter et prédire le comportement expérimental du système, soit par des approches empiriques qui peuvent refléter les courbes expérimentales, mais ne reflètent pas le mécanisme mis en oeuvre (Vijayaraghavan et Yun, 2008). Dans les modèles d'équilibre de la sorption, le sorbant accumule le sorbat à l'équilibre : la valeur de l'adsorption à l'équilibre du sorbat ( $q_e$ ) par le biosorbant est tracée en fonction de la concentration finale du sorbant à l'équilibre ( $C$ ) (Gadd, 2009 ). Il existe des modèles simples, dont les versions de Langmuir et de Freundlich sont probablement les plus largement utilisées avec un taux de réussite élevé. Ces modèles étaient

à l'origine dérivés de l'adsorption des gaz et ils sont basés sur des hypothèses qui sont trop simples pour des systèmes biologiques. Ce type d'isotherme ne fournit aucune information sur les mécanismes, et ils doivent être considérés comme de simples relations numériques utilisées pour ajuster les données expérimentales.

#### **I.6.4.2. Les modèles cinétiques**

Généralement, les expériences sont réalisées de telle manière qu'un facteur varie alors que les autres facteurs restent inchangés.

La description de la cinétique de biosorption reliant le taux de liaison du soluté à la surface du biosorbant est complexe en raison des nombreux mécanismes du phénomène (Park et al., 2010). Les modèles les plus communément utilisés mettent en œuvre soit les équations du premier ou du second ordre, soit le modèle de diffusion qui calcule le film de diffusion et la diffusion intraparticulaire.

La diffusion intraparticulaire a été souvent considérée comme un facteur important dans la détermination de l'équilibre dans le biosorbant (Selatnia et al., 2004a ; Vijayaraghavan et Yun, 2008). Le modèle de diffusion intraparticulaire largement utilisé est celui de Weber-Morris qui décrit bien la cinétique de la biosorption pour les 10 premières minutes du processus (Michalak et al., 2013).

L'expression mathématique de la biosorption a besoin de modèles avec des exigences théoriques approfondies en raison de la complexité du processus de la biosorption et des incertitudes sur les mécanismes.

#### **I.6.4.3. Les modèles de complexation de surface**

Les modèles de complexation de surface ont un avantage en abordant la prédiction des processus, ils permettent de mieux comprendre les mécanismes de la biosorption en fournissant des informations sur la stoechiométrie et la réactivité des espèces adsorbées, en définissant les espèces de surface, en décrivant les réactions chimiques, et en présentant le bilan des charges électriques. Ces modèles ont un avantage par rapport aux modèles empiriques ou semi-empiriques car ils fournissent, une fois calibrés, une prédiction exacte de la spéciation des métaux pour diverses compositions de solutions (force ionique, fond électrolytique, les ions concurrents) (Liu et al., 2013).

Les modèles de spéciation de surface les plus utilisés comprennent le modèle de la double couche (DLM), le modèle de la capacité constante (CCM), le modèle de Donnan Shell (DSM), et le modèle d'adsorption non-électrostatique (NEM).

#### **I.6.4.4. L'optimisation de la biosorption**

Il existe plusieurs méthodes d'approches pour l'optimisation de la biosorption en tenant compte simultanément de plusieurs facteurs :

*-La méthodologie des surfaces de réponse :* il s'agit d'un ensemble de techniques mathématiques qui décrivent la relation entre plusieurs variables indépendantes et une ou plusieurs réponses. Cette méthode a été largement utilisée comme une technique de conception d'expériences. La méthode est basée sur l'ajustement des modèles mathématiques (linéaires, polynomiales, et autres) à des résultats expérimentaux obtenus et la vérification des modèles obtenus au moyen de techniques statistiques.

*-La méthodologie du réseau des neurones artificiels :* la modélisation linéaire a été, au fil des années, la technique communément utilisée pour décrire une variété de processus et d'objets mathématiques. Cependant, dans certains cas, où il n'y a pas de base pour l'approximation linéaire des processus, les modèles linéaires ne sont pas suffisants et leur application peut conduire à un avis erroné sur l'absence totale de possibilités mathématiques pour décrire ces systèmes. Dans de tels cas, pour résoudre ces questions difficiles, la référence aux modèles formés par les réseaux de neurones peut être la solution la plus commode à ce problème. Une fois que les réseaux de neurones ont été choisis pour résoudre un problème particulier, les données nécessaires pour décrire le problème en termes d'intrants et de sorties devraient être collectées. L'algorithme donnant le meilleur ajustement est celui Levenberg-Marquardt avec une erreur quadratique moyenne minimale (MSE).

*-La méthode de Taguchi :* il s'agit d'une méthode statistique utilisée pour réaliser des plans d'expérience. Cette méthode vise à minimiser les variations autour de l'objectif recherché, c'est à dire à obtenir des produits ou des processus robustes et insensibles aux perturbations externes. Un plan de Taguchi est un plan d'expériences qui permet de choisir un procédé qui fonctionne de manière plus cohérente dans son environnement d'exploitation. Les plans de Taguchi partent du principe que les facteurs à l'origine de la variabilité ne peuvent pas tous être contrôlés. Ces facteurs incontrôlables sont appelés facteurs de bruit. Les plans de Taguchi essaient d'identifier les facteurs contrôlables (facteurs de contrôle) qui minimisent l'effet des facteurs de bruit. Pendant l'expérimentation, les facteurs de bruit sont manipulés de manière à imposer une variabilité, ensuite il faut déterminer les facteurs de contrôle optimaux qui rendent le procédé plus robuste ou plus résistant face à la variation provoquée par les facteurs de bruit.

Les plans de Taguchi utilisent des répertoires orthogonaux, qui évaluent les effets des facteurs sur la moyenne et sur la variation de la réponse. Avec un répertoire orthogonal, le plan est équilibré de telle sorte que les niveaux de facteurs sont également pondérés. Ainsi, chaque facteur peut être évalué indépendamment de tous les autres et l'effet d'un facteur n'influence pas l'estimation d'un autre facteur. Par exemple, pour un plan de Taguchi L8(2<sup>7</sup>) (répertoire orthogonal), L8 signifie 8 essais. 2<sup>7</sup> signifie 7 facteurs ayant chacun 2 niveaux. Si le plan factoriel complet était utilisé, il aurait fallu 2<sup>7</sup> = 128 essais. Le répertoire L8 (2<sup>7</sup>) requiert uniquement 8 essais, soit uniquement une fraction du plan factoriel complet. Ce répertoire est orthogonal ; les niveaux des facteurs sont également pondérés dans la totalité du plan.

### **I.7. Etat des connaissances sur les biomasses de *Streptomyces rimosus* et *Pleurotus mutilus***

Ces biomasses mortes peuvent être facilement obtenues à partir de l'industrie pharmaceutique (SAIDAL). Elles présentent l'avantage d'être insensibles à la toxicité des éléments polluants et ne sont soumises à aucune limite toxicologique. Dans ce cas, la fixation est totalement passive. Les microorganismes peuvent fixer les ions métalliques à l'état sec et peuvent être recyclés plusieurs fois sans être dégradés. Ces biomasses peuvent être traitées afin d'augmenter leurs capacité de biosorption.

#### **I.7.1. *Streptomyces rimosus***

Le processus de fermentation pour la production des antibiotiques génère de grandes quantités de déchets semi-solides qui sont normalement destinés à l'incinération. Ces déchets semi-solides sont utilisés après granulation et traitement thermique pour l'élimination et la récupération des métaux lourds contenus dans les eaux usées (Selatnia et al., 2004a).

La *Streptomyces rimosus* est une bactérie mycélienne gram<sup>+</sup> du groupe des actinomycètes, de l'ordre des actinomycétales de la famille des *Streptomycetaceae*, du genre *Streptomyces*.

Le procédé d'extraction de l'oxytétracycline à partir d'un bouillon fermenté s'accompagne de plusieurs phases de traitement et par la formation d'un bon nombre de sous-produits. Le mycélium, biomasse de *Streptomyces rimosus* issue de la fermentation, en constitue la majeure partie.

Cette biomasse présente les caractéristiques suivantes :

- elle provient du complexe d'antibiotique de Médéa qui rejette 4 à 5 tonnes par processus de fermentations,

- elle a une morphologie filamenteuse, ce qui facilite la formation de floque ainsi que la séparation de la phase aqueuse,
- elle peut être régénérée, ce qui permet sa réutilisation,
- la paroi cellulaire rigide de ces bactéries gram<sup>+</sup> contient de nombreux radicaux négatifs qui servent de sites actifs,
- les sites actifs présentent une affinité pour les cations métalliques divalents.

La biomasse mycélienne morte de *Streptomyces rimosus* fait l'objet de plusieurs travaux portant sur la biosorption des métaux lourds (Mameri et al., 1999 ; Selatnia et al., 2004 ; Chergui et al., 2007 ; Sahmoune et al., 2008). Cette biomasse morte a aussi été utilisée pour l'élimination du colorant basique, le bleu de méthylène (Yeddou et Bensmaili, 2006) (tableau I. I).

Mameri et al. (1999) ont comparé la capacité de biosorption des ions de zinc par la biomasse *Streptomyces rimosus* brute et prétraitée avec NaOH à 0.1M dans un réacteur fermé à température ambiante. La capacité d'adsorption obtenue avec la biomasse brute est de 30 mg Zn<sup>2+</sup>/g, tandis qu'elle est égale à 80 mg Zn<sup>2+</sup>/g avec la biomasse prétraitée après 4 heures de temps de contact moyen. Les conditions optimales qui ont permis d'atteindre cette performance sont : une taille des particules comprise entre 140 et 250 µm, une concentration de la biomasse égale à 3 g/l, et une vitesse d'agitation égale à 250 tr/min. Les résultats obtenus avec la biomasse prétraitée présentent une meilleure efficacité de biosorption par rapport à la biomasse brute en raison de la différence de leurs groupes fonctionnels présents en surface. En effet, la biomasse brute présente des spectres infrarouges à transformée de Fourier comportant des bandes de vibrations caractéristiques des groupes carboxyle et amine, alors que dans le cas de la biomasse prétraitée ces deux vibrations n'ont pas eu lieu. L'effet de la base a une conséquence directe sur la taille des grains qui sont devenus plus volumineux, ceci se traduit par une diminution de la résistance à la diffusion intraparticulaire.

Selatnia et al. (2004) ont étudié la biosorption de quatre métaux lourds différents, à savoir le Ni<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Cd<sup>2+</sup> et Pb<sup>2+</sup> sur une biomasse morte de type *Streptomyces rimosus* prétraitée avec NaOH à 0.1 M. Dans des conditions optimales, l'ion métallique présentant la quantité maximale adsorbée est le plomb avec 135 mg Pb<sup>2+</sup>/g de biomasse après un temps de contact de 3 heures ; ensuite les ions Fe<sup>3+</sup> avec 122 mg Fe<sup>3+</sup>/g de biomasse après 4 heures de temps de contact. Une quantité de 63.3 mg/g de biomasse est obtenue avec l'ion métallique Cd<sup>2+</sup> après une heure de temps de contact ; en dernier lieu, l'ion nickel avec une quantité adsorbée égale à 32.6 mg/g de biomasse après 2 heures de temps de contact.

Addour et al. (2003) sont parvenus à une quantité de zinc adsorbée égale à 14 mg Zn<sup>2+</sup>/g de biomasse dans un réacteur fermé. La taille des particules étudiée est comprise entre 560 et 710 µm.

Chergui et al. (2007) ont étudié la biosorption simultanée de trois ions métalliques Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> et Cr<sup>6+</sup> sur la biomasse *Streptomyces rimosus* prétraitée avec NaOH à 0.1M. Les capacités d'adsorption obtenues sont de 30 mg Cu<sup>2+</sup>/g de biomasse, 27.4 mg Zn<sup>2+</sup> /g de biomasse, et 26.7 mg Cr<sup>6+</sup> /gde biomasse.

La capacité d'adsorption du chrome (III) par la biomasse morte de *Streptomyces rimosus* a été évaluée à 83 mg/g (Sahmoune et al., 2009).

La biosorption de l'aluminium a atteint une valeur égale à 11.76 mg/g (Tassist et al., 2010).

Tous les travaux menés sur la biomasse de *Streptomyces rimosus* prétraitée avec NaOH à 0.1 ont eu lieu dans un réacteur fonctionnant en mode Batch à température ambiante et à une concentration initiale en ions métalliques égale à 100 mg/l.

Les conditions optimales d'adsorption des différents ions métalliques sur la biomasse prétraitée sont comparables. Elles sont les suivantes :

- taille des particules comprise entre 50 et 160 µm. Elle est de l'ordre de 140 à 250 µm dans le cas de la biosorption du zinc (Mameri et al., 1999) et de 250 à 560 µm dans le cas de la biosorption de l'aluminium (Tassist et al., 2010),
- concentration de la biomasse de 3 g/l, elle varie légèrement entre 2.5 et 3 g/l dans le cas des ions métalliques Cd<sup>2+</sup>. Elle est égale à 25 g/l dans le cas de la biosorption de l'aluminium (Tassist et al., 2010).
- vitesse d'agitation égale à 250 tr/min.

### **I.7.2. *Pleurotus mutilus***

La biomasse *Pleurotus mutilus* est un champignon provenant du complexe d'antibiotiques SAIDAL de Médéa. Cette biomasse est utilisée pour la fabrication en bouillon fermenté d'un antibiotique à usage vétérinaire nommé «Pleuromutiline».

Cette biomasse se présente sous forme de petits blocs stratifiés, tendres, très humides, de couleur beige et d'odeur caractéristique de la fermentation (odeur qui se rapproche de celle de la levure de bière).

La biomasse mycélienne morte de *Pleurotus mutilus* a fait l'objet de plusieurs travaux portant sur la biosorption des métaux lourds (Madani et al., 2015 ; Moussous et al., 2012 ; Bal et al., 2006 ; Mezaguer et al., 2013 ; Chergui et al., 2009) (tableau I. II).

Bal et al., (2006) ont estimé la capacité d'adsorption du cuivre à 42.2 mg/g par la biomasse de *Pleurotus mutilus* prétraitée avec du glutaraldéhyde 0.2%.

Chergui et al., (2009) ont étudié la biosorption de l'anion hexacyanoferrate(III) sur la biomasse de *Pleurotus mutilus*. Une comparaison entre la biomasse brute et prétraitée avec l'acide chlorhydrique, la soude et l'acide acétique a été réalisée. Le prétraitement avec l'acide acétique s'avère le plus performant présentant une légère amélioration de la capacité d'adsorption des anions hexacyanoferrate(III) atteignant 620 mg/g.

Une étude d'estimation de la capacité d'élimination du cuivre contenue dans les eaux usées par la biomasse morte de *Pleurotus mutilus* a abouti à des résultats satisfaisants (Henini et al., 2011). De plus, des essais de désorption ont permis de conclure que cette biomasse possède une bonne capacité d'adsorption après régénération.

La biomasse morte de *Pleurotus mutilus* a une capacité appréciable de biosorption du cuivre contenu dans les eaux usées, sa capacité maximale d'adsorption a atteint 200 mg/g (Moussous et al., 2012). Khitous et al. (2015) ont montré que la biosorption en continu du cadmium par la biomasse de *Pleurotus mutilus* est favorisée par de faibles vitesses de circulation, de grandes hauteurs du lit et de faibles concentrations de l'adsorbat.

Les capacités d'adsorption maximales de la biomasse de *Pleurotus mutilus* en mode batch des ions  $Fe^{+3}$  et  $Mn^{2+}$  sous conditions optimales sont 26.7 mg  $Fe^{+3}$ /g de biomasse et 18.5 mg  $Mn^{+2}$ /g de biomasse (Madani et al., 2015).

Une étude portée sur la biosorption de l'uranium réalisée par Mezaguer et al., (2013) à partir d'une solution aqueuse diluée a montré que la biomasse de *Pleurotus mutilus* possède une capacité de biosorption appréciable des ions uranium (636.9 mg/g de biomasse).

Outre l'élimination des métaux lourds par la biomasse de *Pleurotus mutilus*, d'autres travaux ont aussi montré une grande capacité d'élimination du phénol (Cherifi et al., 2015), d'un colorant cationique (Basic Blue 41) (Yeddou-Mezenner, 2010) et de la pénicilline (Cherifi et al., 2015) par ce type biomasse.

Le tableau I.II montre qu'en dépit du fort potentiel de la biomasse *Pleurotus mutilus* à retenir les métaux lourds contenus dans les eaux usées, le nombre de travaux réalisé sur cette biomasse reste modeste.

Tableau I. I. Les conditions optimales de la biosorption des ions métalliques par la biomasse morte de *Streptomyces risomus* (Mode Batch)

<i>Ions métalliques</i>	<i>Biosorption (mg/g)</i>	<i>pH</i>	<i>Concentration de l'ion (mg/l)</i>	<i>quantité de la biomasse (g/l)</i>	<i>Taille des particules (µm)</i>	<i>vitesse d'agitation (t/mn)</i>	<i>temps de contact (mn)</i>	<i>T° C</i>	<i>Références</i>
Cd <sup>2+</sup>	63.3	8	200	2.5 - 3	50-160	200-250	60	Ambiante	Selatnia et al. (2004b)
Cd <sup>2+</sup>	86	6				250	5		Chergui et al. (2007)
Cu <sup>2+</sup>	30	6	100	3		250	90	25	Chergui et al. (2007)
Cr <sup>6+</sup>	26.7	6	100	3		250	150	25	Chergui et al. (2007)
Cr <sup>3+</sup>	83	4.8		3			300	20	Sahmoune et al. (2008)
Zn <sup>2+</sup>	24.7	6	100	3		250	120	25	Chergui et al. (2007)
Zn <sup>2+</sup>	80	3.2		3	140-250	250	240		Mameri et al. (1999)
Zn <sup>2+</sup>	15		60				15	120	Bal et al. (2003)
Fe <sup>3+</sup>	122	10	500	3	50-160	250	240	Ambiante	Selatnia et al. (2004c)
Pb <sup>2+</sup>	135		100	3	50-160	250	180	Ambiante	Selatnia et al. (2004d)
Pb <sup>2+</sup>	108	6				250	5		Chergui et al. (2007)
Ni <sup>2+</sup>	32.6	8	300	3	50-160	250	120	Ambiante	Selatnia et al. (2004a)
Al <sup>3+</sup>	11.76	4		25	250-560	250		25	Tassist et al. (2010)
Bi <sup>3+</sup>	7		80				15	120	Bal et al. (2003)



Tableau I.II. Les conditions optimales de la biosorption des ions métalliques par la biomasse morte de *Pleurotus mutilus* (Mode Batch)

<i>Ions métalliques</i>	<i>Biosorption (mg/g)</i>	<i>pH</i>	<i>Concentration de l'ion (mg/l)</i>	<i>quantité de la biomasse (g/l)</i>	<i>Taille des particules (µm)</i>	<i>vitesse d'agitation (t/mn)</i>	<i>temps de contact (mn)</i>	<i>T° C</i>	<i>Références</i>
Mn <sup>2+</sup>	18.5	2.6						20	Madani et al. (2015)
Fe <sup>3+</sup>	26.7	8						20	Madani et al (2015)
Pb <sup>2+</sup>	25	5		3		250	15	20	Moussous et al. (2012)
Cu <sup>2+</sup>	42	6				125		23	Bal et al. (2006)
Cd <sup>2+</sup>	200	5			315–400		20		Moussous et al. (2012)
U <sup>4+</sup>	636.9								Mezaguer et al. (2013)

Cette évaluation bibliographique montre que les deux biomasses de *Streptomyces rimosus* et de *Pleurotus mutilus* possèdent une affinité vis-à-vis des métaux lourds testés. Les capacités ultimes d'adsorption sont importantes. Elle confirme l'intérêt technique et économique de la biosorption par rapport aux procédés classiques d'élimination des métaux lourds. En effet, ces deux biosorbants présentent l'avantage d'être disponibles en grande quantité et à faible coût.

## **Conclusion**

La biosorption est considérée comme une branche interdisciplinaire de la technologie. Elle a émergé comme un procédé de traitement à faible coût des problèmes de pollution de l'environnement. En raison du potentiel prometteur de la biosorption et de ses faibles coûts d'exploitation, de son efficacité élevée et de la minimisation du volume de matières manipulées, un certain nombre de procédés ont été brevetés et proposés pour une application commerciale. Cependant, malgré les progrès incontestables réalisés au cours de décennies de recherche, la plupart des procédés de biosorption sont encore à l'échelle du laboratoire. Les biosorbants qui ont été utilisés en tant que produits commerciaux pour éliminer des métaux des solutions aqueuses comprennent : le biosorbant AlgaSORB™ fabriqué à partir d'une microalgue d'eau douce, *Chlorella vulgaris*, immobilisée sur silice ; le biosorbant BV Sorbex fabriqué à partir des macroalgues ; le biosorbant AMT-Bioclain™ fabriqué à partir d'une souche de *Bacillus* sp. immobilisée avec de la polyéthylèneimine et le glutaraldéhyde ; le biosorbant Bio-Fix fabriqué à partir des algues immobilisées dans des perles de polypropylène poreux ; le biosorbant RAHCO Bio-Beads préparé à partir de la mousse de tourbe immobilisée dans un polymère organique. Cependant, ces produits ne sont pas un succès commercial dans le contexte d'un développement durable (Vijayaraghavan et Yun, 2008 ; Park et al., 2010).

La principale raison du faible niveau de maturité technologique est une compréhension insuffisante des mécanismes cinétiques et thermodynamiques des processus. Une autre raison est liée à l'existence de technologies concurrentes établies et performantes de traitements physiques et chimiques des polluants métalliques tels que l'échange d'ions, le charbon actif, le phosphonate de métal hybride, la précipitation chimique, les méthodes d'oxydation / réduction, l'électrocoagulation, l'électrodialyse, l'ultrafiltration, l'osmose et l'extraction par solvant inverse (Gadd, 2009).

Les caractères les plus importants à considérer pour les biosorbants commerciaux sont la capacité de biosorption, la sélectivité, la régénération, la cinétique de transfert de masse, et le coût. La capacité de sorption de la quantité de sorbat par unité de masse ou de volume du biosorbant est primordiale pour les coûts d'investissement.

Deux arguments principaux ont été mis en évidence récemment pour soutenir la commercialisation de la biosorption comme une technologie de dépollution qui sont le faible coût du biosorbant et les réglementations environnementales de plus en plus strictes (Volesky, 2007).

Cependant, le paradoxe est que toute tentative visant à surmonter les divers problèmes liés à l'utilisation des biosorbants contredit ces arguments. En effet, la manipulation des biosorbants pour améliorer leur capacité de sorption et la durabilité de leur utilisation augmente de manière significative le prix mais aussi soulève des questions environnementales sérieuses concernant la production de déchets toxiques et les risques biologiques. Il faut rappeler l'existence de questions concernant l'élimination sûre des biosorbants chargés, la récupération de sorbats, la récupération et la régénération ou le remplacement du biosorbant.

Toutes ces questions créent un besoin pour d'autres recherches sur la technologie du processus de biosorption. Elle sont donné lieu à des suggestions pour l'utilisation de la biosorption pour la récupération des métaux précieux et des produits pharmaceutiques (des protéines, des anticorps, des peptides) (Volesky, 2007 ; Park et al., 2010). Une autre nouvelle application du processus de biosorption passive est son utilisation pour l'enrichissement en oligo-éléments des suppléments alimentaires qui semble simple, les suppléments obtenus de cette façon ont déjà démontré de bons résultats sur les animaux (Michalak et al., 2013).

Les orientations futures peuvent également inclure les problèmes des effluents industriels réels contenant plusieurs polluants et les applications des technologies hybrides. La biosorption peut contribuer au traitement biologique primaire ou secondaire pour les eaux aqueuses des déchets domestiques, municipales et industrielles, et dans certaines circonstances pour les déchets solides (Gadd, 1993).

La biosorption en tant que technologie est encore en développement et son succès commercial dépendra d'une meilleure compréhension des processus qui nécessite d'approfondir la recherche sur le sujet.

# CHAPITRE II



## CHAPITRE II. MATERIELS ET METHODES

### II.1. La préparation des biosorbants

Une biomasse résiduelle morte du champignon *Pleurotus mutilus*, issue de la production de la pleuromutiline qui est un antibiotique vétérinaire, a été obtenue à partir du complexe de production d'antibiotiques de la société SAIDAL (Médéa, Algérie). Une biomasse résiduelle morte de la bactérie Gram positif *Streptomyces rimosus* issue de la production de l'antibiotique oxytétracycline a été également obtenue à partir de ce même complexe de production d'antibiotiques.

Ces biomasses ont été lavées avec de l'eau distillée et séchées à 60° C pendant 24 h. Elles sont ensuite broyées et tamisées de manière à sélectionner des particules de diamètres préalablement déterminés.

### II.2. La préparation de la solution de nickel

Une solution mère de 1000 mg/L de Ni<sup>2+</sup> a été préparée à partir d'une solution standard de nickel (NiCl<sub>2</sub>, titrisol Merck, Darmstadt, Allemagne) dans de l'eau distillée. D'autres concentrations variant entre 50 et 500 mg/L ont été préparées à partir de la solution mère par dilution par de l'eau distillée.

### II.3. Les expériences de biosorption en mode batch

Les tests de biosorption ont été réalisés en mode batch dans un système. Les expériences ont été réalisées dans des flacons de 250 ml contenant une solution de 100 ml de concentration fixée de l'ion métallique (Kirova et al., 2015). Chaque expérience a été répétée trois fois pour confirmer les résultats obtenus. Le pH initial des solutions a été ajusté avec des solutions de HCl (0.1 M) ou NaOH (0.1 M) sans effet significatif de dilution.

Des tests de biosorption ont été effectués en faisant varier les principaux facteurs qui conditionnent la biosorption des biomasses (Selatnia et al., 2004a ; Kirova et al., 2015). Les facteurs étudiés sont la concentration en Ni<sup>2+</sup> (50 – 500 mg/L), le temps de contact (2-120 min), le pH (3-10), et la taille des particules (50-100 µm, 100-200 µm, 200-300 µm). Pour les

tests réalisés sur l'effet du temps de contact, du pH et de la taille des particules, la concentration en nickel utilisée est de 300 mg/L. Pour toutes les expériences, la dose de la biomasse est de 3 g/L, la vitesse d'agitation de 250 tours par minute, et la température ambiante est de  $24 \pm 2$  ° C.

Les concentrations résiduelles  $\text{Ni}^{2+}$  en solution ont été déterminées par un spectrophotomètre d'absorption atomique avec une longueur d'onde de 232 nm.

La quantité de l'ion métallique retenue à l'équilibre par la biomasse  $q_e$  (mg/g) est calculée à partir de la différence entre la concentration initiale  $C_i$ (mg/L) et la concentration à l'équilibre  $C_e$ (mg/L) du métal dans la solution selon l'équation suivante :

$$q_e \text{ (mg/g)} = V (C_i - C_e) / m \quad (\text{II.1})$$

La quantité de l'ion métallique retenue à l'instant « t » par la biomasse  $q_t$  (mg/g) est calculée à partir de la différence entre la concentration initiale  $C_i$  (mg/L) et la concentration à l'instant « t »  $C_t$ (mg/L) du métal dans la solution selon l'équation suivante :

$$q_t \text{ (mg/g)} = V (C_i - C_t) / m \quad (\text{II.2})$$

Avec V le volume de l'échantillon (L) et m la masse de la biomasse (g)

Le présent travail comporte quatre séries expérimentales :

*-Effet du pH:* Dans la première série, les tests de biosorption ont été réalisés dans les conditions suivantes : une concentration initiale de l'ion métallique de 300 mg/L, un volume de solution de 100 ml, une taille des particules comprise entre 100 et 200  $\mu\text{m}$ , une vitesse d'agitation de 250 rpm pendant 3 h, une température ambiante de  $24 \pm 2$ °C, une teneur en biosorbant de 3 g/L. Le facteur de variation est le pH dont les valeurs étudiées sont comprises entre 3 et 10 avec une progression arithmétique de +1 (pH=3, pH=4, pH=5, pH=6, pH=7, pH=8, pH=9, pH=10).

*-Effet de la concentration du métal:* Dans la deuxième série expérimentale, les tests de biosorption ont été réalisés selon les conditions suivantes : un volume de solution de 100 ml, un pH initial égal à 8 (correspondant aux fortes capacités de biosorption et à la limite supérieure du maintien de l'ion métallique totalement sous sa forme libre), la taille des particules comprise entre 100 et 200  $\mu\text{m}$ , une vitesse d'agitation de 250 rpm pendant 3 h, une

température ambiante de  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ , une teneur en biosorbant de 3 g/L, avec dix concentrations initiales croissantes du métal : 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500 mg/L

*-Effet du temps de contact* : les tests de biosorption ont été réalisés selon les conditions suivantes : une concentration initiale de l'ion métallique de 300 mg/L, un volume de solution de 500 ml, un pH initial égal à 8, une taille des particules comprise entre 100 et 200  $\mu\text{m}$ , une vitesse d'agitation de 250 rpm, une température ambiante de  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ , une teneur en biosorbant de 3 g/L. Des essais ont été réalisés à différents temps d'agitation: 2, 4, 6, 8, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120 min.

*-Effet de la taille des particules* : les tests de biosorption ont été réalisés dans les conditions suivantes : une concentration initiale en ion métallique de 300 mg/L, un volume de solution de 100 ml, un pH initial égal à 8, une vitesse d'agitation de 250 rpm pendant 3 h, une température ambiante de  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ , une teneur en biosorbant de 3 g/L pour différentes tailles de particules : 50-100  $\mu\text{m}$ , 100-200  $\mu\text{m}$ , 200-300  $\mu\text{m}$ .

#### **II.4. Les modèles appliqués aux résultats expérimentaux**

Les données expérimentales ont fait l'objet d'une application de modèles pour tenter de cerner les mécanismes qui rentrent en jeu dans la biosorption du  $\text{Ni}^{2+}$  par les biomasses.

##### **II.4.1. Les isothermes de biosorption**

Parmi plusieurs modèles d'isothermes, les isothermes de Langmuir, de Freundlich, de Temkin et de Dubinin-Radushkevich (D-R) sont généralement les plus utilisés et ils ont fait l'objet de ce travail pour décrire l'équilibre qui s'établit entre l'ion métallique en solution et celui retenu par les biomasses bactériennes et fongiques.

*- Le modèle de Langmuir* : L'isotherme de Langmuir est approprié pour la sorption de type monocouche où tous les sites à la surface du sorbant ont la même affinité et ne supposent aucune migration d'ions métalliques dans les sites de surface. Ce modèle a été choisi pour estimer la capacité d'adsorption maximale correspondant à une couverture monocouche complète à la surface de la biomasse (Satapathy et Natarajan, 2006 ; Lu et al., 2008). La formule mathématique de la forme linéaire de l'équation de Langmuir peut être exprimée comme suit :

$$q_e = q_{\max} * \frac{K_L * C_e}{1 + K_L * C_e} \quad (\text{II.3})$$

L'équation peut être linéarisée de plusieurs façons dont la plus commune est la suivante :

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{C_e}{q_{\max}} + \frac{1}{K_L * q_{\max}} \quad (\text{II.4})$$

$q_e$  (mg/g) : la quantité d'ions nickel adsorbés par unité de masse de biomasse,

$C_e$  (mg/L) : la concentration en ions nickel non adsorbés en solution à l'équilibre.

$q_{\max}$  : est la quantité maximale d'ions nickel par unité de poids de biomasse nécessaire pour former une monocouche complète sur la surface liée à un taux élevé de  $C_e$  (mg/g)

$K_L$  (L/mg) : une constante liée à l'affinité des sites de liaison.

Une autre caractéristique essentielle de l'isotherme de Langmuir peut être décrite par le facteur de séparation  $R_L$  qui reflète le processus de biosorption qui est classé en défavorable ( $R_L > 1$ ), linéaire ( $R_L = 1$ ), favorable ( $0 < R_L < 1$ ), ou irréversible ( $R_L = 0$ ) (Satapathy et Natarajan, 2006) :

$$R_L = \frac{1}{1 + K_L C_0} \quad (\text{II.5})$$

Avec  $C_0$  la concentration initiale de la solution en ions nickel

- *Le modèle de Freundlich* : Le modèle de Freundlich décrit l'adsorption sur des surfaces hétérogènes. Il a été choisi pour estimer l'intensité d'adsorption du biosorbat par la biomasse (Satapathy et Natarajan, 2006 ; Lu et Gibbs, 2008) :

$$q_e = K_F * C_e^{1/n} \quad (\text{II.6})$$

La forme linéaire de ce modèle est donnée par l'équation suivante :

$$\log q_e = \log K_F + \frac{1}{n} * \log C_e \quad (\text{II.7})$$

$q_e$  (mg/g) : la quantité adsorbée à l'équilibre et  $C_e$  est la concentration à l'équilibre de l'adsorbat.

$K_F$ : la capacité d'adsorption



$n$  : l'intensité d'adsorption. Ce paramètre " $n$ " est connu sous le nom de facteur d'hétérogénéité et il a été utilisé pour évaluer quand le processus d'adsorption est physique ( $n > 1$ ), chimique ( $n < 1$ ), ou linéaire ( $n = 1$ ) (Luo et al., 2006).

- *Le modèle de Temkin* : Ce modèle considère que la diminution de la chaleur de sorption est linéaire plutôt que logarithmique, comme l'implique l'équation de Freundlich. La chaleur de sorption de toutes les molécules de la couche diminuerait linéairement avec la couverture à cause des interactions sorbat/sorbant (Malhoc et Nuhoglu, 2005). L'isotherme de Temkin est utilisée sous la forme linéaire suivante :

$$q_e = \frac{RT}{b_T} \ln a_T + \frac{RT}{b_T} \ln C_e \quad (\text{II.8})$$

$R$  (J/mol K) : la constante des gaz parfaits,

$T$ (K) est la température absolue.

$b_T$  (J/mol) : la constante de Temkin liée à la chaleur de sorption,

$a_T$  (L/mg) : la constante de liaison à l'équilibre (Malhoc et Nuhoglu, 2005).

-*Le modèle de Dubinin-Radushkevich (D-R)* :

Le modèle Dubinin-Radushkevich (D-R) ne suppose pas une surface homogène ou un potentiel de biosorption constant comme le modèle de Langmuir. La formule mathématique du modèle Dubinin-Radushkevich (D-R) s'écrit comme suit :

$$\ln q_e = \ln q_D - \beta_D \varepsilon^2 \quad (\text{II.9})$$

$q_D$  (mg/g) : la capacité de saturation théorique de l'adsorbat retenu,

$\beta_D$  est le coefficient d'activité lié à l'énergie moyenne de sorption,

$\varepsilon$  : le potentiel Polanyi, qui est égal à :

$$\varepsilon = RT \ln \left( 1 + \frac{1}{C_e} \right) \quad (\text{II.10})$$

L'énergie moyenne de sorption,  $E$ , peut être calculée comme suit :

$$E = \frac{1}{\sqrt{2\beta_D}} \quad (\text{II.11})$$

Si  $E < 8000$  J/mol, l'adsorption est dominée par le processus de physisorption, si  $E$  est compris entre 8000 et 16000 J/mol, le processus d'adsorption est dominé par le mécanisme de chimisorption (Rajappa et al., 2014)

#### II.4.2. Les modèles cinétiques de biosorption

De nombreux modèles cinétiques ont été proposés pour élucider le mécanisme d'adsorption et ses étapes potentielles de contrôle du débit qui incluent le transport de masse et les processus de réaction chimique. Les modèles cinétiques tels que le pseudo-premier ordre, le pseudo-deuxième ordre, le modèle d'Elovich, la fonction de puissance, la diffusion intraparticulaire, et le modèle de Boyd sont généralement utilisés pour tester les données expérimentales.

- *Le modèle cinétique pseudo-premier-ordre* : Le modèle cinétique pseudo-premier-ordre a été proposé par Lagergren (Pino et al., 2006). La forme intégrale du modèle a été généralement exprimée comme suit :

$$\log(q_e - q_t) = \log q_e - \frac{K_1}{2.303} t \quad (\text{II.12})$$

$q_e$  (mg/g) et  $q_t$  (mg/g) sont les quantités de  $\text{Ni}^{2+}$  adsorbé sur l'adsorbant à l'équilibre et au temps  $t$  respectivement,

$K_1$  ( $\text{min}^{-1}$ ) est la constante de débit du premier ordre.

$t$  (min) est le temps

-*Le modèle cinétique du pseudo-second-ordre* : Le modèle du pseudo-second-ordre est proposé par Ho et McKay (Popuri et al., 2007) et il repose sur l'hypothèse que l'adsorption suit la chimisorption du deuxième ordre. Le modèle se présente sous la forme de l'équation suivante :

$$\frac{dq}{dt} = k_2(q_e - q_t)^2 \quad (\text{II.13})$$

L'intégration de cette équation avec les conditions limites suivantes :  $t=0, q=0$  et à  $t=t, q=q$  donne :

$$\frac{1}{q_e - q_t} = \frac{1}{q_e} + k_2 t \quad (\text{II.14})$$

La forme linéarisée peut être exprimée sous la forme :

$$\frac{t}{q} = \frac{t}{q_e} + 1/(k_2 q_e^2) \quad (\text{II.15})$$

$k_2$  (g/mg min) est la constante de débit d'adsorption du second ordre,

$q_e$  (mg/g) : la capacité d'adsorption calculée par le modèle cinétique du pseudo-second ordre.

La constante  $k_2$  est utilisée pour calculer le taux de sorption initial  $h$  (mg/g.min<sup>-1</sup>) quand  $t \rightarrow 0$  comme suit (Swalha et al., 2007) :

$$h = k_2 * q_e^2 \quad (\text{II.16})$$

Sur la base du modèle cinétique du pseudo-second-ordre, le temps de demi-adsorption,  $t_{1/2}$ , c'est-à-dire le temps nécessaire à la biomasse pour adsorber la moitié de la quantité adsorbée à l'équilibre dépend directement de la capacité de biosorption du biosorbant et se rapporte inversement au débit initial de biosorption (Wang et Chen., 2006) :

$$t_{1/2} = \frac{1}{k_2 * q_e} = \frac{q_e}{h} \quad (\text{II.17})$$

-*Le modèle d'Elovich* : Ce modèle est considéré valable pour des surfaces hétérogènes et s'applique principalement au processus de chimisorption. Le modèle d'Elovich peut s'écrire comme suit (Bayramoglu et al., 2016) :

$$q_t = \frac{1}{\beta} \ln(\alpha\beta) + \frac{1}{\beta} \ln t \quad (\text{II.18})$$

$\alpha$  (mg/g min) : le débit d'adsorption initial,

$\beta$  (mg/g min) : la constante d'Elovich liée à l'étendue de la couverture de surface et aussi à l'énergie d'activation impliquée dans la chimisorption.

-*Le modèle de diffusion intraparticulaire* : Au cours du processus de biosorption, le transfert de l'adsorbat se caractérise par une diffusion au niveau limite et/ou une diffusion intraparticulaire. Le modèle de diffusion intraparticulaire suppose que la diffusion du film est négligeable et que la diffusion intraparticulaire est la seule étape de contrôle du débit, surtout

dans un réacteur discontinu à agitation rapide (Yuncu et al., 2006). Afin d'étudier l'adsorption par diffusion intraparticulaire ou la diffusion du film, Weber et Morris ont proposé le modèle cinétique suivant :

$$q_t = K_p t^{1/2} + C \quad (\text{II.19})$$

$k_p$  (mg/g min<sup>1/2</sup>) : la constante de vitesse de diffusion intraparticulaire,

$q_t$  (mg/g) : la quantité de l'ion métallique adsorbée au temps  $t$ ,

$C$  (mg/g) : la proportion constante à l'épaisseur de la couche limite.

Si le processus d'adsorption suit le modèle de diffusion intraparticulaire, alors  $q_t$  par rapport à  $t^{1/2}$  sera linéaire et si la courbe passe par l'origine, le processus de limitation du débit est uniquement dû à la diffusion intraparticulaire.

*-Le modèle de Boyd :* Entre la diffusion du film et la diffusion intraparticulaire, le modèle de Boyd est utilisé pour déterminer l'étape réelle de contrôle du débit impliqué dans le processus de biosorption de l'ion métallique. Les données cinétiques expérimentales obtenues sont analysées à l'aide du modèle fourni par Boyd (Mack et al., 2007) :

$$B_t = -0.4977 - \ln(1 - F) \quad (\text{II.20})$$

$$F = \frac{q_t}{q_e} \quad (\text{II.21})$$

$F$  : est la quantité d'ions métalliques adsorbés à l'équilibre,

$q_t$  (mg/g) représente la quantité d'ions adsorbés à tout moment  $t$  (min).

La linéarité des tracés peut être utilisée pour déterminer si c'est la diffusion du film ou la diffusion intraparticulaire qui contrôle le taux de sorption de l'ion métallique.

Une ligne droite passant par l'origine indique des processus de biosorption régis par des mécanismes de diffusion de particules ; sinon, ils sont régis par la diffusion du film (Romera et al., 2006).

*-Le modèle de la fonction de puissance :* L'équation de la fonction de puissance est un modèle empirique qui décrit la relation entre la masse du sorbat par unité de masse de l'adsorbant et le temps  $t$ . L'équation peut être écrite sous sa forme linéaire suivante (Guibal, 2004):

$$\ln q_t = \ln k + v * \ln t \quad (\text{II.22})$$

$q_t$  (mg/g) : la quantité de l'ion métallique sorbée au temps  $t$ ,  
 $v$  ( $\text{min}^{-1}$ ) : la constante de vitesse de la fonction de puissance,  
 $k$  (mg/g) : la constante du modèle de fonction de puissance.

### II.4. 3. L'approche thermodynamique de la biosorption

La thermodynamique de la sorption d'un métal lourd par une biomasse est évaluée en utilisant les équations suivantes :

$$K_c = \frac{C_{Ae}}{C_{Se}} \quad (\text{II.23})$$

$$\Delta G^0 = -RT \ln K_c \quad (\text{II.24})$$

$K_c$  : la constante d'équilibre (c'est le rapport de la concentration à l'équilibre des ions sur l'adsorbant ( $C_{Ae}$ ) à la concentration à l'équilibre des ions en solution ( $C_{Se}$ )),

$R$  (8,314 J/mol.k.) est la constante universelle des gaz,

$T$  (k) est la température absolue.

La biosorption est spontanée si  $\Delta G^0 < 0$ .

### II.5. Le titrage potentiométrique

Le titrage potentiométrique a été effectué en milieu de force ionique constante, ajustée à 0.1 mol/L et 0.01 mol/L afin de déterminer les propriétés acido-basiques des surfaces des biomasses. Ce titrage permet de qualifier et de quantifier les sites réactifs impliqués dans les réactions d'adsorption.

Le titrage potentiométrique a été réalisé en utilisant une microburette automatique (Witeg, Allemagne de l'Ouest) et un module de chauffage et d'agitation (Stuart, heat-stir, SB 162). L'électrode de pH en verre (pH-mètre Jenway 3310) a été étalonnée avec des solutions tampons d'un pH de 4.0, 7.0 et 9.0. La température est constante au cours de l'expérience (25 ° C). La suspension contient 50 ml de solution de  $\text{NaNO}_3$  0.1 mol/L ou 0.01 mol/L (soient des forces ioniques de 0.1 et de 0.01 mol/L respectivement), et 0.15 g de la biomasse (soit 3 g/L). La suspension est acidifiée à pH 3 à l'aide d'une solution de  $\text{HNO}_3$  0.1 mol/L, elle est

maintenue à température constante (25°C) et homogénéisée en permanence par agitation magnétique (250 rpm). La suspension est purgée pendant 30 minutes avec N<sub>2</sub> gazeux pour éliminer le CO<sub>2</sub>. Le titrage a été effectué par addition par étapes de 0.1 ml de la solution de NaOH 0,01 mol/L (C<sub>b</sub>) à la suspension qui est agitée sous atmosphère d'azote. Après addition de NaOH, les lectures sont effectuées lorsque le potentiel se stabilise avec une dérive inférieure à 2 mV.min<sup>-1</sup> (Hackbarth et al., 2014 ; Kapetas et al., 2011). Le titrage porte sur une gamme de pH comprise entre 3 et 11 (Turner et Fein, 2006), et il est réalisé en 3 répétitions. Les données du titrage potentiométrique sont utilisées pour le calcul de la capacité d'échange cationique, l'identification des groupes fonctionnels, l'utilisation des fonctions de Gran (1952), ainsi que la modélisation par l'utilisation des modèles de complexation de surface par l'utilisation du logiciel Prototit 2.1.

## II.6. Calcul de la capacité d'échange cationique

Le titrage potentiométrique de la biomasse peut être utilisé pour évaluer la capacité d'échange cationique (CEC) du biosorbant, c'est-à-dire le nombre de sites chargés négativement par unité de masse de biomasse (Kapetas et al., 2011). Le calcul de la capacité d'échange cationique a été effectué en utilisant l'équation suivante :

$$CEC (meq/g) = C * (V - v) / m \quad (II.25)$$

CEC en mmole/g, soit en meq/g pour des ions monovalents comme l'ion H<sup>+</sup>

C (mmol/L) est la concentration de la solution de NaOH ajoutée,

V (L) est le volume de solution de NaOH ajouté à la suspension de biosorbant à chaque valeur du pH,

v (L) est le volume de solution de NaOH nécessaire pour atteindre le même pH dans des expériences à blanc (sans biosorbant),

m (g) est la masse du biosorbant.

## II.7. L'identification des groupes fonctionnels à partir du titrage potentiométrique

L'exploitation des données du titrage potentiométrique par la méthode par dérivation permet une identification approximative des groupes fonctionnels des deux biomasses.

Les courbes de titrage présentent des points d'inflexion correspondant aux points équivalents. Ces points sont localisés sur la courbe de la dérivée seconde ( $\Delta^2\text{pH}/\Delta V^2$ ) en fonction du volume de la soude ajouté  $V$ , qui s'annule au point où la dérivée première ( $\Delta\text{pH}/\Delta V$ ) en fonction de  $V$  atteint son maximum (Naja et al., 2005 ; Chergui et al., 2009).

## II.8. L'utilisation de la méthode de Gran

Dans ce travail, les fonctions de Gran (1952) sont utilisées pour déterminer le volume spécifique du titrant ajouté au point d'équivalence ( $V_e$ ), et calculer la concentration totale des sites de surface. Pour le titrage en retour avec NaOH ( $C_b = 0.01$  M), les courbes de Gran sont obtenues en traçant la fonction de Gran ( $G$ ) en fonction du volume de solution d'hydroxyde de sodium ajouté ( $V_b$ ). Les fonctions de Gran (Gran, 1952) sont exprimées ainsi :

$$\text{Côté acide : } G = (V_0 + V_{at} + V_b) \times 10^{E/59.157} \quad (\text{II.26})$$

$$\text{Côté alcalin: } G = (V_0 + V_{at} + V_b) \times 10^{-E/59.157} \quad (\text{II.27})$$

où  $V_0$  est le volume initial de la suspension ( $50 + V_{at}(\text{ml})$ ),

$V_{at}$  est le volume total de  $\text{HNO}_3$  ajouté pour l'acidification de la suspension de la biomasse (ml)

et  $E$  est le potentiel de l'électrode de verre (mV).

Sur la base des diagrammes de Gran, dans la procédure de titrage de la suspension avec NaOH, l' $\text{OH}^-$  ajouté participe successivement aux processus suivants : neutralisation acide-base de l'excès de  $\text{H}^+$  en solution (avant  $V_{e1}$ ), liaison aux différents sites actifs sur la biomasse (entre  $V_{e1}$  et  $V_{e2}$ ), et ajustement du pH du système de la suspension (excès de  $\text{OH}^-$ ) (après  $V_{e2}$ ). Les volumes spécifiques,  $V_{e1}$  et  $V_{e2}$ , obtenus à partir des résultats de l'analyse de régression linéaire des fonctions de Gran, correspondent aux points équivalents. En outre,  $V_{e1}$  a été considéré comme le point de titrage zéro (ZTP) de la suspension de la biomasse en raison de la seule neutralisation du surplus d'ions  $\text{H}^+$  induit par le dosage acide pour tous les volumes du titrage inférieurs à  $V_{e1}$ .

Pour chaque point du titrage, la concentration totale des protons consommés (TOTH, mol/L) a été calculée par l'équation suivante :

$$\text{TOTH (mol/L)} = - (V_b - V_{e1}) \times C_b / (V_0 + V_{at} + V_b) \quad (\text{II.28})$$

où  $C_b$  est la concentration de NaOH (mol/L)

Selon le diagramme de Gran, la concentration totale des sites de surface ( $H_s$ , mol/L) pourrait être calculée à partir des deux points d'équivalence  $V_{e1}$  et  $V_{e2}$  en utilisant l'équation suivante :

$$H_s \text{ (mol/L)} = (C_b \times (V_{e2}-V_{e1}) \text{ biomasse} - (C_b \times (V_{e2}-V_{e1}) \text{ témoin})) / V_0 \quad (\text{II.29})$$

## II.9. Le titrage par la méthode Boehm

Les groupes fonctionnels des biosorbants ont été déterminées par la méthode de titrage acide-base proposée par Boehm (1994). Les sites acides totaux ont été neutralisés avec du NaOH (0.1 mol/L), tandis que les sites basiques ont été neutralisés avec HCl (0.1 M).

Des prises d'essai en 3 répétitions de 0.50 g des échantillons de biomasse ont été agitées avec une solution de 50 ml de  $\text{NaHCO}_3$  (0.1 M) (8.4 g/L),  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (0,05 M) (5.30 g/L) et de NaOH (0.1 M) (4 g/L) pour déterminer les groupes acides, et HCl 0.1 M pour les groupes basiques, respectivement, à la température ambiante ( $24 \pm 2^\circ \text{C}$ ) pendant 72 h dans des tubes de centrifugation fermés. Les solutions sont préparées à partir de produits de qualité analytique (Merck, Darmstadt, Allemagne) dans de l'eau déminéralisée. Les suspensions sont ensuite filtrées à l'aide de papier filtre de nitrocellulose de 0.45  $\mu\text{m}$ . Pour la détermination des groupes fonctionnels c-à-d la quantité des réactifs de Boehm qui ont été neutralisés lors de l'équilibrage initial avec le solide, un volume de 10 ml de chaque solution est bouillie pendant 10 min pour éliminer le  $\text{CO}_2$  et ensuite titré en retour à l'aide d'une solution de NaOH 0.01 mol/L en présence de phénolphthaléine à 1% dans l'éthanol.

Les nombres de divers types de sites acides ont été calculés en supposant que :

- Le NaOH neutralise les groupes carboxyliques (-COOH), lactoniques (-COO) et phénoliques (-OH).
- Le  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  neutralise les groupes carboxylique, et lactonique
- Le  $\text{NaHCO}_3$  neutralise uniquement les groupes carboxyliques.

La différence entre les groupes titrés avec  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  et ceux titrés avec du  $\text{NaHCO}_3$  est supposée correspondre aux groupes fonctionnels lactoniques, et la différence entre les groupes titrés avec du NaOH et ceux titrés avec  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  est supposée correspondre aux groupes fonctionnels phénoliques. Le nombre de sites basiques de surface a été calculé à partir de la quantité d'acide chlorhydrique qui réagit avec la biomasse.

Tous les traitements ont été effectués avec des témoins sans biomasse et les volumes de titrage obtenus ont été soustraits de ceux des échantillons.



Le calcul est réalisé selon la procédure suivante qui correspond à un titrage acide-base en retour :

-pour les groupes fonctionnels acides :

$V$  = volume de la solution alcaline utilisée (50 ml)

$V_t$  = volume du filtrat titré (10 ml)

$V_{HCl}$  = volume d'HCl utilisé pour acidifier le filtrat titré (20 ml)

$N_{HCl}$  = normalité de HCl utilisé pour acidifier le filtrat titré (0.05 M)

$V_{NaOH}$  = volume de NaOH utilisé pour le titrage jusqu'au virage (ml)

$N_{NaOH}$  = normalité de la solution de NaOH utilisée pour le titrage (0.01 M)

$m$  = quantité de biomasse utilisée (0.50 g)

$$\begin{aligned} \text{Groupes fonctionnels acides (meq/g)} &= [(V_{HCl} \times N_{HCl}) - (V_{NaOH} \times N_{NaOH})] \times (V / V_t) \times (1/m) \\ &= [(20 \times 0.05) - V_{NaOH} \times 0.01] \times 50/10 \times 1/0.5 = 10 - 0.1 V_{NaOH} \end{aligned} \quad (II.30)$$

-pour les groupes fonctionnels basiques, il s'agit d'un titrage direct acide-base :

$V_{HCl}$  = volume d'HCl utilisé pour neutraliser les groupes fonctionnels basiques de la biomasse (50 ml)

$N_{HCl}$  = normalité d'HCl utilisé pour neutraliser les groupes fonctionnels basiques de la biomasse (0.1 M)

$V_{NaOH}$  = volume de NaOH utilisé pour le titrage jusqu'au virage (ml)

$N_{NaOH}$  = normalité de la solution de NaOH utilisée pour le titrage (0.01 M)

$V_t$  = volume du filtrat titré (10 ml)

$m$  = quantité de biomasse utilisée (0.50 g)

$$\begin{aligned} \text{Groupes fonctionnels basiques (meq/g)} &= [(50 \times 0.1) - (V_{NaOH} \times 0.01) \times 50/10] \times (1/0.5) \\ &= 10 - 0.1V_{NaOH} \end{aligned} \quad (II.31)$$

## II.10. Détermination du pH au point de charge zéro

Le pH au point de charge zéro correspond à la valeur du pH pour laquelle la charge de surface extérieure est nulle. Pour la détermination de la valeur du pH au point de charge zéro ( $pH_{ZPC}$ ) de la biomasse, le pH d'une série de solutions de  $KNO_3$  0.01 M est ajusté entre  $pH=2$  et  $pH=11$  (il s'agira du pH initial) à l'aide d'une solution de HCl 0.1 M ou de NaOH 0.1 M. Par la suite, 0.1 g de biomasse est ajouté à chaque solution. Les récipients sont fermés et placés sur

un agitateur pendant 48 h, ensuite le pH est mesuré (il s'agira du pH final). Le  $pH_{ZPC}$  de la biomasse se produit quand il n'y avait pas de changement dans le pH après le contact avec l'adsorbant. Le  $pH_{ZPC}$  est le point où la courbe  $pH_{final}$  en fonction du  $pH_{initial}$  croise la droite représentant la ligne  $pH_{final} = pH_{initial}$ , ou lorsque  $\Delta pH = pH_{initial} - pH_{final} = 0$  (Ghasemi et al., 2014 ; Fiol et Villaescusa, 2009 ; Naja et al., 2005).

### **II.11. L'analyse par spectroscopie d'absorption infrarouge**

La technique de spectroscopie Infra-Rouge est utilisée pour la détermination des groupements fonctionnels. Chaque liaison présente des vibrations caractéristiques de fréquences bien déterminées.

Les analyses ont été réalisées au nombre d'onde variant entre 600 et 6000  $cm^{-1}$  avec une résolution de 4  $cm^{-1}$  à l'aide d'une spectroscopie Infra-Rouge de type *SAFAS Monacosurdes* pastilles de bromure de potassium KBr contenant les deux biomasses.

Ces analyses ont été effectuées sur les deux biomasses avant et après les essais de biosorption pour identifier les groupements fonctionnels qui participent au processus de biosorption.

Lorsque l'adsorption se produit, les mouvements rotationnels et vibrationnel des molécules de surface sont modifiés, de nouvelles bandes d'adsorption peuvent apparaître (Shinde et al., 2012).

### **II.12. Microscopie électronique à balayage (MEB)**

Les observations MEB ont été réalisées avec un microscope de type Quanta 650 (FEI) qui produit des images sous différents grossissements atteignant des 1.000.000 x, créant des images de haute résolution dans un format numérique. Cette technique a été appliquée aux deux biomasses avant et après biosorption afin d'étudier l'état de surface et déduire son degré de rugosité (Ahmadi et al., 2016).

### **II.13. spéciation du nickel**

La spéciation du nickel en solution aqueuse est réalisée en utilisant le logiciel libre Visual MINTEQ. Le but du programme de calcul est de simuler les équilibres et la spéciation des solutés inorganiques dans les eaux naturelles. Le développement de Visual MINTEQ 3.1 a été soutenu par le Conseil suédois de la recherche (VR) et par la Fondation pour la recherche stratégique environnementale (MISTRA) (Felmy et al., 1984).

La mise en œuvre du programme se produit selon les étapes suivantes :

- Si la valeur du pH est connue, il est «fixe» dans le problème, il faut introduire sa valeur. Si la valeur du pH doit être calculée, il faut choisir l'option « calculé à partir de l'équilibre de masse et de charge », ou l'option «Calculé à partir de l'équilibre de masse » (figure II.1).
- La force ionique est fixée ou calculée, il est préférable de choisir l'option « être calculée ».
- Choisissez les unités de concentration pour les données d'entrée. Indépendamment de l'unité de concentration choisie, les résultats de la sortie seront affichés en mol.L<sup>-1</sup>.
- Les réactions chimiques dépendent de la température. MINTEQ visuel corrige les constantes d'équilibre de la température en utilisant l'équation de Van't Hoff.
- Ajoutez les composants du problème, ainsi que leurs concentrations. Cela se fait sous la rubrique «Ajout de composants", où un seul composant est ajouté à la fois, ainsi que sa concentration totale.

Les résultats sont affichés dans des pages successives. La première page affichée est la principale page de sortie. Dans la partie supérieure de la page, le pH d'équilibre et la force ionique seront affichés. Le nombre d'itérations requises pour parvenir à une solution, et les concentrations équivalentes calculées d'anions et de cations seront indiquées. Vous pouvez également exporter les résultats vers Excel.

La partie inférieure de la page de sortie présente une liste de résultats montrant la concentration, l'activité et le logarithme de l'activité pour toutes les espèces (ions, ions complexes, etc.). À partir des options dans le menu déroulant, les résultats peuvent être exportés vers Excel.

Lorsqu'on clique sur le bouton « Afficher la distribution d'espèces », une page est affichée indiquant le pourcentage (sur une base molaire) de la concentration totale de chaque espèce en solution. Toutefois, pour figurer dans la liste, l'espèce devrait contribuer à au moins 0,01% de la concentration totale du composant.

Lorsqu'on choisit « Afficher les Indices de saturation », une liste est affichée indiquant l'état de saturation de la solution par rapport à différentes phases solides. Les constantes pour les phases solides sont recalculées si la température est différente de 25 ° C.

Figure II.1. Interface d'entrée des données sur Visual Minteq

#### II.14. Optimisation par la méthode de Taguchi

Dans le présent travail, la biosorption du nickel par les biomasses mortes de *Pleurotus mutilus* et de *Streptomyces rimosus* a été étudiée dans un mode batch en utilisant la méthode de Taguchi (1990) avec la conception expérimentale orthogonale L9.

Cette conception porte sur l'étude de 4 facteurs (pH, concentration en nickel, temps de contact, diamètre des particules) et 3 niveaux.

Avec un plan factoriel complet, il aurait été nécessaire de réaliser  $4^3 = 64$  essais pour répondre aux objectifs de l'optimisation. Avec le plan orthogonal L<sub>9</sub> de Taguchi, 9 essais suffisent pour répondre aux objectifs de l'optimisation (tableau I).

Le plan orthogonal L<sub>9</sub> permet de pondérer les niveaux des facteurs dans la totalité du plan. Les colonnes des tableaux représentent les facteurs de contrôle (4 facteurs dans ce travail) et les lignes représentent les essais (soit la combinaison des niveaux de facteurs). Chaque cellule du tableau représente le niveau du facteur pour cet essai (tableau II. II et tableau II. III).

Tableau II.I. Les facteurs et les niveaux étudiés.

Facteurs	Description	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3
A	pH	6	7	8
B	[Ni(II) mg/L]	150	300	450
C	Temps (min)	30	60	90
D	Taille des particules (µm)	50-100	100-200	200-300

Tableau II. II. Les essais exécutés codés.

Essais	pH (A)	[Ni(II)] (B) (mg/L)	Temps (C) (min)	Taille des particules (D) ( $\mu\text{m}$ )
1	1	1	1	1
2	1	2	2	2
3	1	3	3	3
4	2	1	2	3
5	2	2	3	1
6	2	3	1	2
7	3	1	3	2
8	3	2	1	3
9	3	3	2	1

Tableau II. III. Les essais exécutés.

Essais	pH	[Ni(II)] (B)	Temps (C)	Taille des particules (D)
1	6	150	30	50-100
2	6	300	60	100-200
3	6	450	90	200-300
4	7	150	60	200-300
5	7	300	90	50-100
6	7	450	30	100-200
7	8	150	90	100-200
8	8	300	30	200-300
9	8	450	60	50-100

Les tests de biosorption ont été réalisés en mode batch dans un système fermé. Les expériences ont été réalisées dans des flacons de 250 ml contenant une solution de 100 ml de concentration fixée de l'ion métallique (Mishra et al, 2014 ; Kirova et al 2015). La suspension contenant l'ion métallique et la biomasse microbienne est agitée à l'aide d'un agitateur magnétique pour homogénéiser le mélange, la vitesse d'agitation de 250 tours par minute a été utilisée dans toutes nos expériences (Selatnia et al., 2004a). Chaque expérience a été répétée trois fois pour confirmer les résultats. Le pH initial des solutions a été ajusté avec des

solutions de HCl (0.1 Mol.L<sup>-1</sup>) ou NaOH (0.1 Mol.L<sup>-1</sup>) (pH-mètre Jenway 3310), sans effet significative de dilution. Les concentrations résiduelles Ni<sup>+2</sup> en solution ont été déterminées par Spectrophotomètre d'absorption atomique avec une longueur d'onde de 232 nm.

Des tests de biosorption ont été effectués en faisant varier les principaux facteurs qui conditionnent la biosorption. Pour toutes les expériences, la dose du biosorbant est de 3 g/L (Selatnia et al., 2004a,b,c,d), la vitesse d'agitation de 250 tours par minute (Selatnia et al., 2004a,b,c,d), et à la température ambiante (24 ± 2 ° C).

Des tests de confirmation sont réalisés avec les valeurs optimales des facteurs étudiés pour chaque biomasse morte étudiée.

La quantité de l'ion métallique retenue par la biomasse  $q_e$ (mg/g) est calculée à partir de l'équation (II.1)

Le rapport Signal/Bruit (S/N) est utilisé pour maximiser la réponse est calculé ainsi (the larger-the-better quality) (Yen et Li, 2015 ; Pundir et al., 2016) :

$$\frac{S}{N} = -\log 1/n \sum_{i=1}^n \left(\frac{1}{q_i^2}\right) \quad (\text{II.32})$$

$n$  = nombre de répétitions (  $n = 3$  )

$q_e$  =valeur de la quantité de l'ion métallique retenue par la biomasse relative à l'essai (mg/g).

#### *-Evaluation de l'optimisation par l'analyse de la moyenne*

Cette approche statistique commence par le calcul de la moyenne du rapport S/N du facteur  $F$  au niveau  $i$ , notée  $M_i^F$  (Kumar et al., 2011 ; Zolfaghari et al., 2011 ; Yen et Li, 2015 ; Pundir et al., 2016) :

$$M_i^F = \sum_{j=1}^{n_i^F} \left[ \left(\frac{S}{N}\right)_i^F \right]_j / n_i^F \quad (\text{II.33})$$

$\left(\frac{S}{N}\right)_i^F$  = représente le rapport S/N du test pour le facteur F au niveau  $i$

L'indice  $j$  indique l'ordre d'apparition du niveau  $i$  ( $j$  est respectivement égal à = 1, 2, 3).

$n_i^F$  = nombre de répétitions (  $n = 3$  )

Dans ce travail, chaque facteur a 3 niveaux. Pour 9 tests, chaque niveau pour chaque facteur apparaît 3 fois comme le montre le tableau II. II

Les conditions optimales du processus de biosorption correspondent aux valeurs maximales du rapport S/N pour chaque facteur F.

*-Contribution en pourcentage de chaque facteur par l'analyse de la variance*

La contribution en pourcentage de chaque facteur contrôlé (cpF) au processus de biosorption du nickel par la biomasse est calculée comme suit (Engin et al., 2008 ; Zolfaghari et al., 2011, Yen et Li, 2015 ; Pundir et al., 2016)) :

$$cpF (\%) = [(SC_F - DL_F \times V_{er})/SC_t].100 \quad (II.34)$$

$SC_F$  = somme des carrés du facteur  $F$

$SC_t$  = somme totale des carrés

$DL_F$  = degré de liberté du facteur  $F$  ( $3-1 = 2$ )

$V_{er}$  = la variance de l'erreur

$$SC_F = tr/n \sum_{i=1}^l (q_i^F - q_t)^2 \quad (II.35)$$

$t$  = nombre total des essais (9)

$r$  = nombre de répétitions (3)

$n$  = nombre de niveau de chaque facteur (3)

$q_t$  = valeur des résultats obtenus sur tous les essais :

$$q_t = \sum_{j=1}^t (\sum_{i=1}^r qi)_j / t.r \quad (II.36)$$

$q_i$  = est la quantité de nickel retenue dans la répétition  $i$  de chaque essai

$q_i^F$  = la valeur moyenne de nickel retenue durant les essais du facteur  $F$  dans le niveau  $i$  :

$$q_i^F = 1/n_{Fi} \sum_{j=1}^{n_{Fi}} [(q_A)_i^F]_j \quad (II.37)$$

$(q_A)_i^F$  = représente la valeur moyenne de l'essai du facteur  $F$  dans le niveau  $i$  et correspondant à l'apparition  $j$  qui est représentée par  $[(q_A)_i^F]_j$

La somme totale des carrés est calculée comme suit :

$$SC_t = \sum_{j=1}^t (\sum_{i=1}^r q_i^2)_j - tr (q_t)^2 \quad (II.38)$$

La variance de l'erreur est calculée comme suit :

$$V_{er} = (SC_t - \sum_{F=A}^D SC_F) / [t(r - 1)] \quad (\text{II.39})$$

## **II. 15. L'utilisation du logiciel ProtoFit 2.1. rev 1**

ProtoFit 2.1. rev 1 est un logiciel libre distribué sous les termes de la Gnu General Public License (<http://www.gnu.org/copyleft/gpl.html>).

ProtoFit est utilisé pour le calcul des constantes de protonation de surface à partir des données de titrage. Les modèles de spéciation de surface utilisés par ProtoFit comprennent le modèle de la double couche (DLM), le modèle de la capacité constante (CCM), le modèle de Donnan Shell (DSM), et le modèle d'adsorption non-électrostatique (NEM). ProtoFit peut optimiser des constantes selon l'un des modèles de complexation de surface pour un à quatre sites de surface. ProtoFit a un certain nombre de capacités générales utiles pour la modélisation et l'analyse des données du titrage potentiométrique. En effet, il peut optimiser les constantes d'un modèle à un ou plusieurs ensembles de données simultanément, simuler le titrage en utilisant des modèles de complexation de surface, comparer les prédictions du modèle aux données observées (données expérimentales), suivre le comportement de la charge de surface prédite par le modèle, calculer le  $\text{pH}_{\text{ZPC}}$  d'une surface ou d'un adsorbant, ou utiliser la valeur mesurée du  $\text{pH}_{\text{ZPC}}$  comme une contrainte dans la processus d'optimisation.

### **II. 15. 1. Définition des modèles utilisés**

Dans le modèle non-électrostatique (NEM), les interactions électrostatiques sont supposées négligeables, en d'autres termes aucun effet électrostatique n'affecte l'adsorption, alors que le modèle de la capacité constante (CCM) suppose que la distribution de la charge sur la surface est homogène. Le modèle de la double couche diffuse (DLM) suppose que les ions soient localisés dans un plan infini parallèle à la surface et appelé couche de Stern. En revanche, ce modèle suppose l'existence d'une couche diffuse de contre ions permettant de compenser la charge de surface. Le modèle Donnan Shell (DSM) suppose que la charge est distribuée tout au long d'un volume tandis que la capacité constante et les modèles à couche diffuse supposent que la charge de surface existe dans un espace bidimensionnel.



## II. 15. 2. Concepts et approche

Pour chaque concept lié au comportement observé (résultats expérimentaux), il y a un concept correspondant lié au comportement modélisé pour deux fonds ioniques (0.01M et 0.1 M).

Le concept le plus fondamental porte sur les données brutes du titrage lui-même. Ces données se composent d'un ensemble de points de données individuelles (le volume de titrant ajouté à chaque valeur du pH), plus d'autres informations telles que le volume de la solution initiale. Un autre concept utilisé en mode simulation, est le pouvoir tampon total du système en fonction du pH (pouvoir tampon de l'adsorbant et de l'eau) qui représente la résistance au changement de pH lors de l'addition du titrant.

Dans le mode d'optimisation, ProtoFit optimise les paramètres du modèle en minimisant la somme des carrés entre une fonction dérivée des données expérimentales ( $Q_{ads}^*$ ) et une fonction dérivée simulée du modèle ( $F_{ads}^*$ ). Les données de titrage mesurées (le pH et le volume de la base ajoutée) sont réduites à la quantité nette de protons ajoutés ou supprimés à partir d'une surface ( $Q_{ads}$ ) pour chaque étape de titrage. La dérivée de cette fonction par rapport au pH est le taux d'échange de protons par unité de pH. Elle est appelée ici la fonction dérivée des données (expérimentales),  $Q_{ads}^*$ . Cette fonction représente la capacité proton-tampon de la surface en fonction du pH, et elle est donc utile pour l'interprétation et l'analyse des données ainsi que l'optimisation du modèle.

Un échange net de protons simulé entre une surface et des solutions ( $F_{ads}$ ) est calculé en utilisant un modèle de spéciation de surface pour les mêmes étapes du titrage. La dérivée de cette fonction, appelée la fonction  $F_{ads}^*$ , est comparée à  $Q_{ads}^*$ .

La dérivée de  $Q_{ads}$  représente le pouvoir tampon du pH de l'adsorbant qui est recherché par le titrage. L'examen de la dérivée de  $Q_{ads}$  par rapport au pH ou  $\log a_H^+$  a un certain nombre d'avantages relatifs à l'examen de  $Q_{ads}$  lui-même:

-la dépendance de la protonation de surface du pH devient plus fortement apparente. Le signal du titrage destiné à mesurer cette relation est amplifié, bien que la valeur de  $Q_{ads}$  est fortement dépendante du pH initial du titrage, la dérivée est totalement indépendante du pH de départ, toutes les valeurs de la dérivée seront sans signe, tandis que le signe de  $Q_{ads}$  sera positif ou négatif selon que le titrage effectué avec un acide ou une base.

L'optimum est obtenu en trouvant un ensemble de constantes de spéciation de surface fournissant une somme des carrés minimale entre les deux fonctions dérivées.

La somme des carrés  $SS^*$  est alors calculée comme suit :

$$SS^* = \frac{\sum i(F_{ads}^* - Q_{ads}^*)^2}{\sum iV(Q_{ads}^*)^{0.5*w}} \quad (II.40)$$

où V est la variance, w est un paramètre de pondération d'erreur (w = 1 est la valeur recommandée dans la version 2.0).

ProtoFit ajuste les valeurs des paramètres du modèle jusqu'à ce que SS\* atteigne un minimum.

Les calculs sont réalisés sur la base des paramètres qui suivent :

- Les points du titrage retenus pour les calculs doivent présenter des différences  $\geq 0.05$  unités pH pour minimiser les risques d'erreur (Turner et Fein, 2006). Le nombre de points utilisés pour la biomasse de *Pleurotus mutilus* est de 37 et 39 respectivement pour les fonds électrolytiques 0.01 et 0.1 mol/L ; pour la biomasse de *Streptomyces rimosus* il est de 54 et 49 respectivement pour les fonds électrolytiques 0.01 et 0.1 mol.L<sup>-1</sup>.

- La surface spécifique des biomasses = 0.14 m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup> (une variation de la surface comprise entre 50 et 300 m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup>, provoque moins de 5% de variation des constantes de déprotonation et des concentrations des sites de surface (Fein et al. 1997 ; Daughney et Fein 1998))

- 4 sites acides sont utilisés comme cela est recommandé pour les biomasses microbiennes (Fein et al., 1997 et 2005 ; Bunett et al., 2008)

- Les valeurs des pH<sub>ZPC</sub> sont introduites dans le logiciel (pH<sub>ZPC</sub> = 6.30 pour la biomasse de *Streptomyces rimosus*, pH<sub>ZPC</sub> = 7.94 pour la biomasse de *Pleurotus mutilus*).

- Les coefficients d'activité sont calculés selon la formule de Debye-Huckel étendue

- Les valeurs initiales de log K sont les suivantes : -3, -6, -9, -12. Autour de chaque valeur initiale, le logiciel utilise 6 valeurs de log K déduites en utilisant un pas de  $\pm 0.5$ .

Ces valeurs sont des valeurs de départ des constantes de dissociation des 4 groupes acides ciblés dans la simulation, à savoir, les groupes carboxyliques, phosphates, amines et hydroxyles.

- La valeur initiale de log C = 2, avec 3 variations de -0.5 pour chaque log C

C : concentration des sites actifs (mol.Kg<sup>-1</sup>)

- Les valeurs de la force ionique sont calculées

- Le paramètre de pondération du poids d'erreur = 1

- La précision du résultat (log unité) = 0.01

- La valeur du volume de Donnan utilisée est de 10<sup>-6</sup> m<sup>3</sup>.g<sup>-1</sup> (proposé par le logiciel)

- Les modèles de spéciation de surface utilisés par ProtoFit comprennent le modèle de la double couche (DLM), le modèle de la capacité constante (CCM), le modèle de Donnan Shell (DSM), et le modèle d'adsorption non-électrostatique (NEM). Les deux seuls modèles utilisés

dans ce travail sont le modèle de Donnan Shell (DSM), et le modèle d'adsorption non-électrostatique (NEM). Les deux autres modèles ont posé des problèmes signifiés par des messages d'erreur :

- un problème de non convergence de la spéciation pour le modèle de la double couche (DLM),
- un problème de dépassement de la capacité lors de l'exécution du fichier pour le modèle de la capacité constante (CCM).

Ces deux modèles (DLM) et (CCM) ont une hypothèse commune qui considère que la charge de surface est répartie dans un plan à double couche pour le DLM et dans un plan à une couche (modèle de Stern) pour le CCM.

## **II. 16. Les analyses statistiques**

Toutes les expériences ont été réalisées en 3 répétitions et les données représentent la moyenne des valeurs obtenues. Toutes les analyses de données ont été effectuées à l'aide du logiciel XLStat 7.5.2. Les données ont été évaluées par ANOVA avec une signification fixée à  $P < 0.05$

# CHAPITRE III



## CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats obtenus sont présentés selon les étapes suivantes :

- la première étape porte sur une étude comparative des processus de la biosorption du nickel par les biomasses mortes de *Streptomyces rimosus* et de *Pleurotus mutilus*,
- la seconde étape porte sur l'application d'un modèle expérimental d'optimisation de la biosorption du nickel par les biomasses mortes de *Pleurotus mutilus* et de *Streptomyces rimosus*,
- la troisième étape traite de l'application de la fonction de Gran et de modèles de complexation de surface aux données du titrage potentiométrique

### III.1. Les caractéristiques des biomasses et de la solution de nickel

#### III.1.1. Le calcul de la capacité d'échange cationique

Le titrage potentiométrique de la biomasse peut être utilisé pour évaluer la capacité d'échange cationique (CEC) du biosorbant, c'est-à-dire le nombre de sites chargés négativement par unité de masse de biomasse (Kapetas et al., 2011).

La capacité d'échange cationique (CEC) des deux biomasses augmente avec l'augmentation du pH mais varie faiblement avec la force ionique (figure III.1). La biomasse de *Streptomyces rimosus* présente une capacité d'échange cationique maximale de l'ordre de 0.13 meq/g, elle est largement supérieure à celle de *Pleurotus mutilus* dont la valeur maximale est de l'ordre de 0.08 meq/g pour les deux forces ioniques considérées.

#### III.1.2. Le point de charge zéro

Dans le cas de *Streptomyces rimosus*, le point de charge nulle s'est révélé à un pH de 6.30 alors qu'il est égal à 7.94 pour *Pleurotus mutilus* comme le montre la figure III.2. *Streptomyces rimosus*, avec un  $pH_{ZPC}$  plus faible, possède une plus grande quantité de groupes de surface chargés négativement par rapport à *Pleurotus mutilus*, ces groupes favoriseront l'interaction avec les ions  $Ni^{2+}$ .

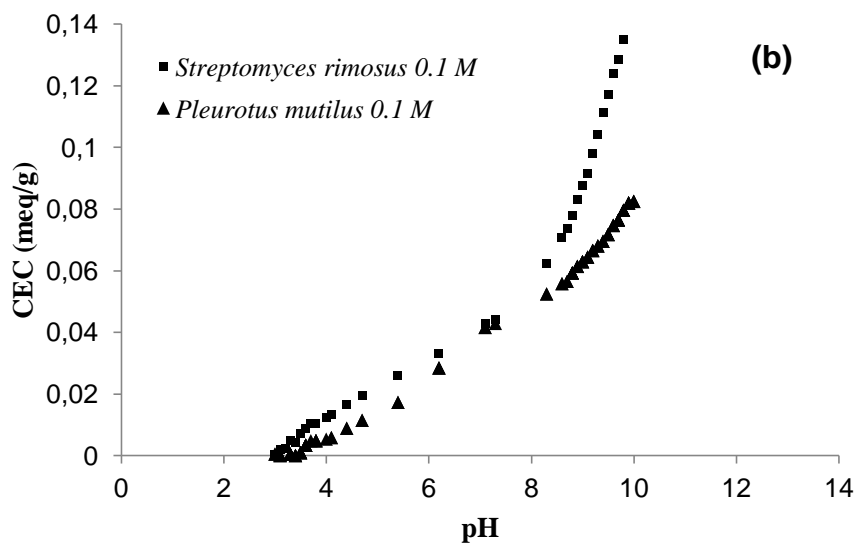
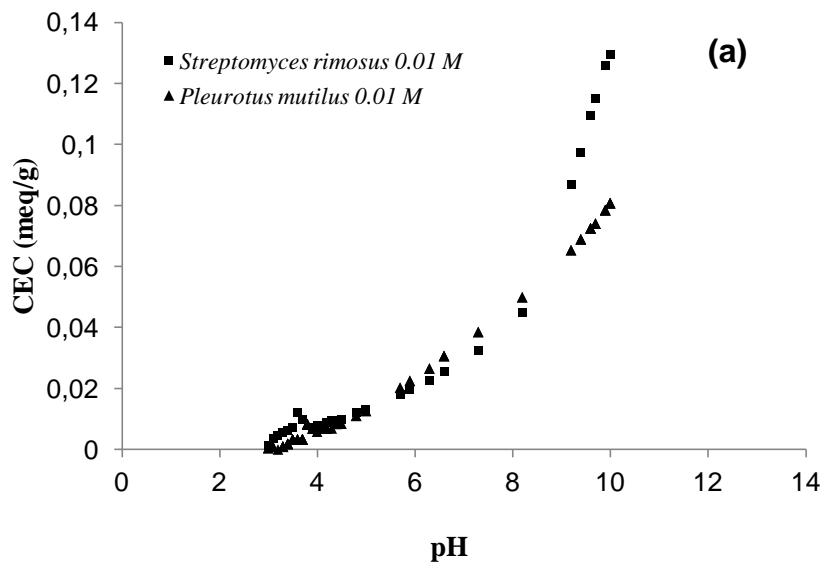


Figure III. 1. Evolution de la capacité d'échange cationique des deux biomasses en fonction du pH pour la force ionique 0.01M (a) et pour la force ionique 0.1 M (b).

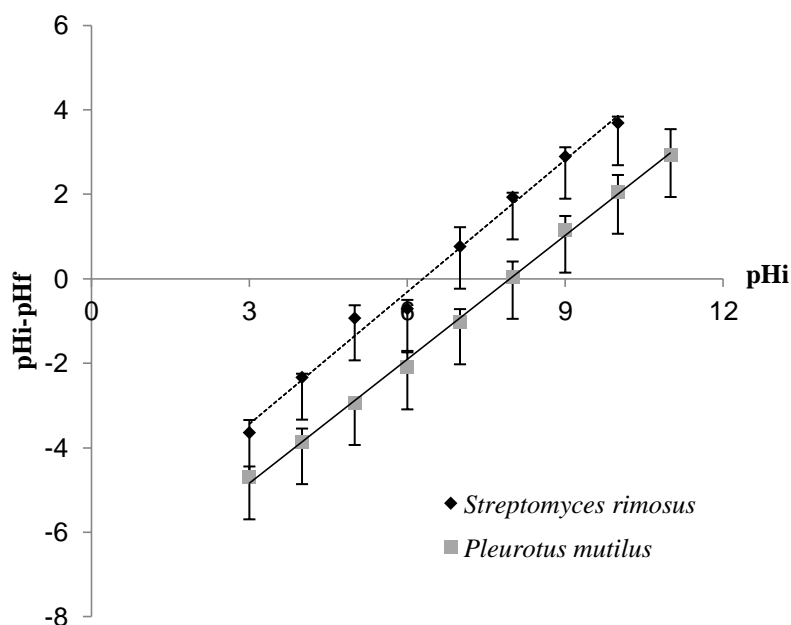


Figure III. 2. Détermination du point de charge nulle pour *Streptomyces rimosus* et pour *Pleurotus mutilus*

### III.1.3. Les groupes fonctionnels des deux biomasses

#### III.1.3.1. L'identification par la spectroscopie infrarouge

Pour la biomasse de *Streptomyces rimosus*, qui est une bactérie Gram-positive, la paroi est constituée essentiellement de 90% de peptidoglycane et de 10 % d'acide téichoïque (Doyle et al., 1980 ; Van der et al., 1997 ; Sahmoune, 2018). Pour la biomasse fongique de *Pleurotus mutilus*, la chitine, le chitosane, les glucanes, les glycoprotéines sont les principaux constituants de la paroi cellulaire fongique (Kuhn et al., 1990 ; Grün, 2003).

La comparaison des spectres infrarouges des biomasses *Streptomyces rimosus* et *Pleurotus mutilus* avant et après adsorption montrent une distribution de pics similaire et sont représentés dans les figures III. 3 et figures III. 4.

Le spectre infrarouge de *Pleurotus mutilus* avant biosorption présente une large bande autour de  $3443\text{ cm}^{-1}$  qui s'est décalée vers  $3438\text{ cm}^{-1}$ . Ceci confirme l'interaction entre le nickel et les groupements hydroxyl ( $-\text{OH}$ ) ou amine ( $-\text{NH}$ ). La diminution de l'intensité de la bande  $1089\text{ cm}^{-1}$  et son déplacement à  $1087\text{ cm}^{-1}$  indique l'implication des groupements C-O ou P-O dans le processus de biosorption. La bande d'adsorption à  $1645\text{ cm}^{-1}$  dans la biomasse *pleurotus*

*mutilus* avant biosorption s'est déplacée à  $1642\text{ cm}^{-1}$  après biosorption. Cette bande serait attribuée à la bande des amides du polymère N-acetyl glucosamineou de la liaison protéine-peptide (Javaid et al., 2011 ; Bai et Abraham, 2003). Cette bande peut aussi être attribué à la liaison C=O des groupes carboxyliques (Mishra et Doble, 2008). La diminution de l'intensité du pic autour de  $1321\text{ cm}^{-1}$  suggère l'interaction du groupement C-H avec le nickel (Akar et al., 2013).

Pour *Streptomyces rimosus* la bande décelée à  $3411\text{ cm}^{-1}$  correspond au chevauchement des vibrations d'élongation du O-H présents dans le glucose et N-H des polysaccharides et protéines (Bai et al., 2014). Les groupements O-H peuvent aussi parvenir des acides carboxyliques possédant une bande large qui interfèrent souvent avec les groupements C-H (Veneu et al., 2012). Cette bande s'est décalée vers  $3421\text{ cm}^{-1}$  indiquant la contribution de des groupements O-H et N-H dans la liaison avec le nickel. La diminution et le décalage de la bande  $1398\text{ cm}^{-1}$  vers  $1402\text{ cm}^{-1}$  indiquent l'existence de liaison des groupements carboxyliques avec le nickel (Bai et al., 2014).

Le fort déplacement du pic situé à  $1112\text{ cm}^{-1}$  dus aux élongations des groupements P-O-C vers  $1050\text{ cm}^{-1}$  reflète la forte interaction de ces groupements avec le nickel (Shroff et Vaidya, 2012 ; Bai et al., 2014). La bande repérée à  $2927\text{ cm}^{-1}$  sur la biomasse *Streptomyces rimosus* avant biosorption s'est décalée vers  $2929\text{ cm}^{-1}$  après biosorption. Cette bande résulte de la vibration d'élongation asymétrique des liaisons C-H des groupements alkyl présents dans les protéines et les carbohydrates constituant les parois cellulaires de *Streptomyces rimosus* (Bai et al., 2014).

Les bandes  $791\text{ cm}^{-1}$  pour *pleurotus mutilus* et  $667\text{ cm}^{-1}$  pour *Streptomyces rimosus* ont changé après biosorption. Ce résultat montre que les groupes phosphatés et sulfurés participent également au processus de biosorption du nickel par les deux biomasses (Khadinia et al., 2014).

Les groupes fonctionnels identifiés sont comparables à ceux mis en évidence pour des biomasses fongiques par Kiran et al. (2005) et Khambhaty et al. (2008), ils sont également comparables à ceux observés sur des biomasses bactériennes par Kang et al. (2007) et Pan et al. (2007).

Les groupes fonctionnels présents sur les deux biomasses sont O-H, N-H, C-H, C-O, C=O, P, S, mais ils sont liés à des molécules organiques différentes. L'importance des groupes fonctionnels dans les propriétés de biosorption des deux biomasses sera mise en évidence par la méthode de Boehm (1994).



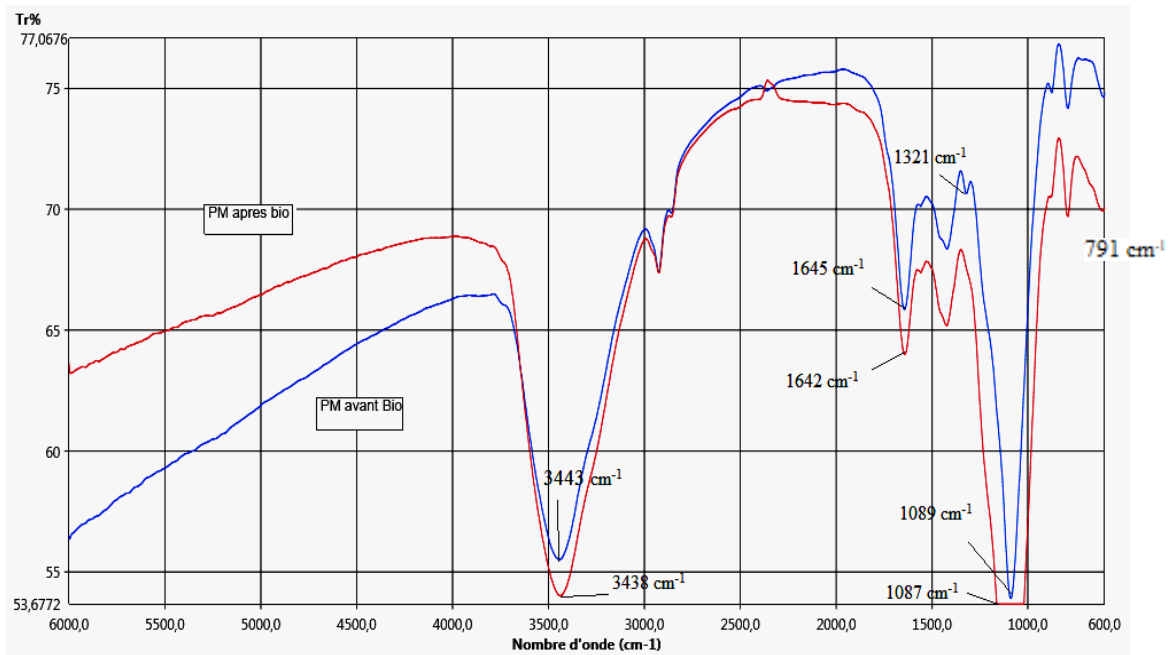


Figure III. 3. Spectre infrarouge de *Pleurotus mutilus* avant biosorption (PM avant Bio) et après biosorption (PM apres Bio)

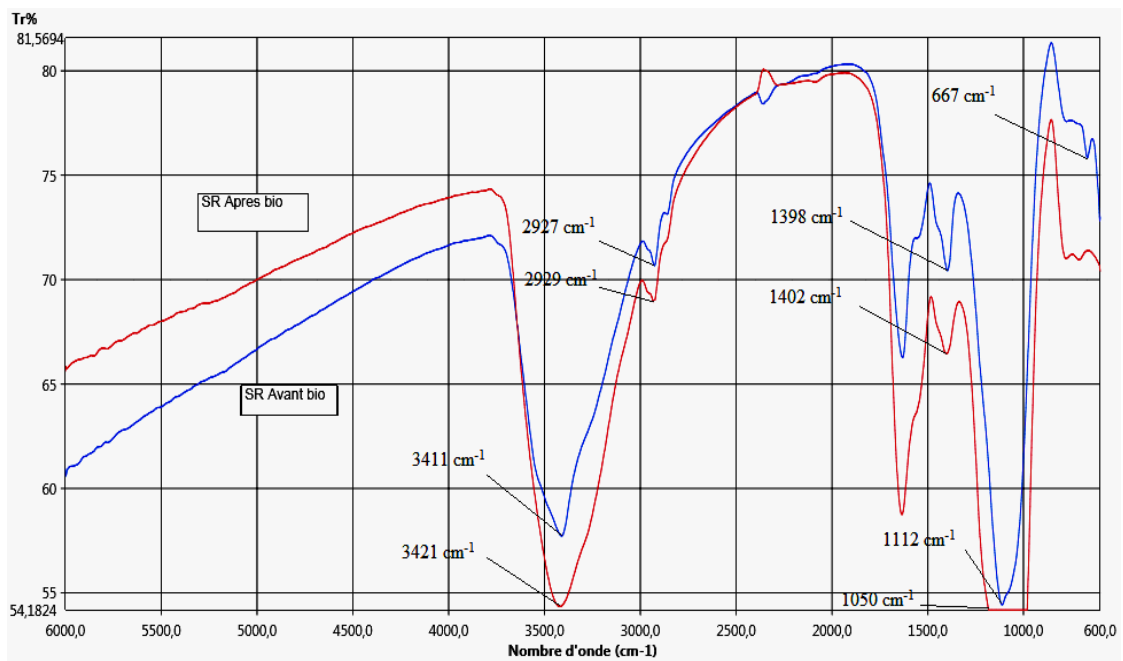


Figure III. 4. Spectre infrarouge de *Streptomyces rimosus* avant biosorption (SR avant Bio) et après biosorption (SR apres Bio)

### III.1.3.2. L'identification par les dérivées des courbes de titrage

L'utilisation des données du titrage potentiométrique permet une identification approximative des groupes fonctionnels des deux biomasses. Les courbes de titrage affichaient des points d'inflexion correspondant aux valeurs pKa des groupes fonctionnels de liaison (figures III. 5). En fait, le pKa détermine le pH, au-dessus duquel les groupes fonctionnels sont majoritairement sous la forme ionisée et donc davantage capables d'échanger H<sup>+</sup> avec des cations métalliques de la solution (Mishra et al., 2014).

Une évaluation du point d'inflexion est effectuée en recherchant les valeurs nulles de la deuxième dérivée du pH par rapport au volume du titrant, ces valeurs correspondent aux valeurs maximum et minimum de la première dérivée.

La courbe de titrage de *Streptomyces rimosus* (figure III. 5 (a)) a montré deux points d'inflexion à environ pH 3.19 et 4.01 pour une force ionique de 0.01 M et pH 3.17 et 4.14 pour une force ionique de 0.1 M correspondant aux valeurs pKa des groupes acides carboxyliques (pKa 1.7-4.7). Cette courbe montrait également un point de flexion à un pH d'environ 8.58 pour une force ionique de 0.01 M et 8.56 pour une force ionique de 0.1 M correspondant à des groupes fonctionnels alcalins d'amines (pKa 8.0-11.0) et de sulfhydryle (thiol) (pKa 8.3-10.3) (Volesky, 2007) (tableau III. I).

La courbe de titrage de *Pleurotus mutilus* (figure III.5 (b)) a montré des points d'inflexion à pH 3.4 et 3.88 pour une force ionique de 0.01M, et pH 3.62 pour une force ionique de 0.1 M correspondant aux groupes carboxyliques (pKa 1,7-4,7). La courbe montre également un point d'inflexion à pH 5.55 et 5.64 correspondant aux groupes imidazol (5,5-6). La courbe montrait également un point d'inflexion à pH 6.8 pour une force ionique de 0.01 M et 6.88 pour une force ionique de 0.1 M correspondant au groupe fonctionnel alcalin du phosphate (pKa 6,1-6,8) comme résumé dans le tableau III. I (Ramrakhiani et al., 2011).

Les valeurs de pKa obtenues pour la force ionique de 0.01 M sont supérieures aux valeurs obtenues pour la force ionique de 0.1 M. Ces résultats confirment le fait qu'une augmentation de la force ionique de la solution d'équilibre provoque une diminution de la majorité des valeurs de pKa (Young et al., 1981).

Les groupes sulfurés identifiés par spectroscopie infrarouge sur la biomasse *Streptomyces rimosus* concernent les Sulfhydryl mis en évidence par le titrage potentiométrique.

Les groupements sulfurés n'ont pas été identifiés par le titrage potentiométrique sur la biomasse *Pleurotus mutilus* tandis que ce sont les groupements phosphatés qui n'ont pas été

identifiés sur la biomasse *Streptomyces rimosus* ; l'absence de l'expression de ces groupements serait liée aux conditions expérimentales.

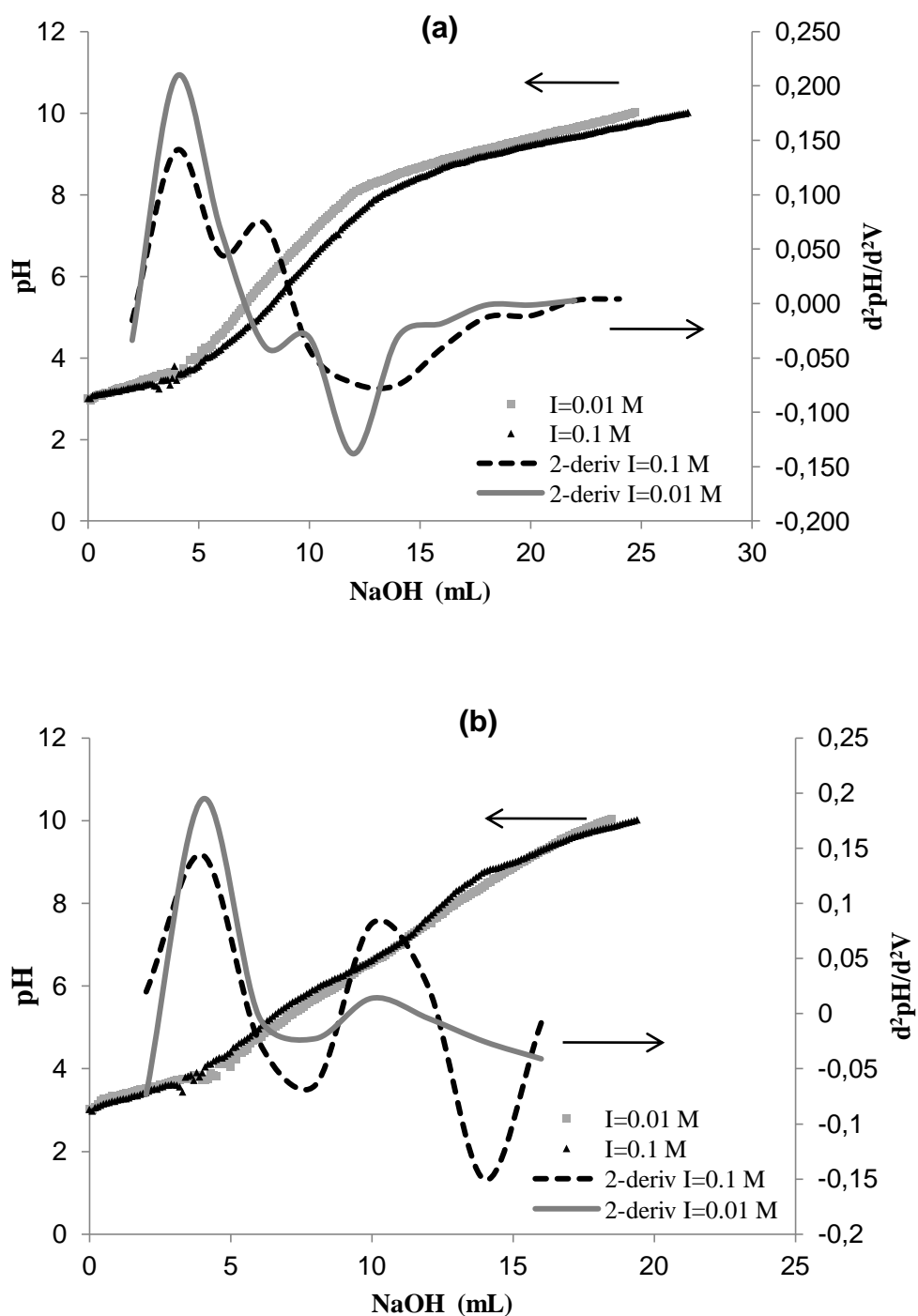


Figure III. 5. Courbes de titrage potentiométrique et courbes de la seconde dérivée (2-deriv) de *Streptomyces rimosus* (a) et *Pleurotus mutilus* (b) pour les forces ioniques I = 0.01 M et I = 0.1 M.

Tableau III. I. Les groupes fonctionnels et leur pKa sur *Streptomyces rimosus* et de *Pleurotus mutilus* dépendent de la force ionique à 0,01 et 0.1 M.

Biomasses	<i>Streptomyces rimosus</i>		<i>Pleurotus mutilus</i>	
	I = 0.01 M	I = 0.1 M	I = 0.01 M	I = 0.1 M
Groupes fonctionnels				
Carboxyl	3.19, 4.01	3.17, 4.14	3.4, 3.88	3.62
Imidazole	-	-	5.55	5.64
Phosphate	-	-	6.8	6.88
Amine et Sulphydryl (thiol)	8.58	8.56	-	-

#### III.1.4. La quantification des groupes fonctionnels par la méthode de Boehm

Les caractéristiques des deux biomasses déterminées dans ce travail portent sur l'évaluation de leurs groupes fonctionnels selon la méthode de Boehm (1994) (tableau III.II). Les deux biomasses présentent des capacités de biosorption différentes. La biomasse morte fongique possède une capacité de biosorption plus élevée ( $4.33 \pm 0.15$  meq/g) que celle de la biomasse morte bactérienne ( $3.38 \pm 0.1$  meq/g). Pour les deux biomasses, le groupe fonctionnel carboxylique semble jouer un rôle essentiel dans leur capacité de biosorption.

Tableau III. II. Les groupes fonctionnels selon le titrage de Boehm et leur capacité de biosorption (meq/g)

Groupes fonctionnels	<i>Streptomyces rimosus</i>	<i>Pleurotus mutilus</i>
Carboxylique (meq/g)	2.13	3.35
Phénolique (meq/g)	1.03	0.46
Lactonique (meq/g)	0.15	0.52
sites acides Total (meq/g)	3.31	4.33
sites basiques (meq/g)	0.58	2.32

### III.1.5. Microscopie Electronique à Balayage

La caractérisation microstructurale de *Pleurotus mutilus* et *Streptomyces rimosus* examinée sous microscopie électronique à balayage (MEB) a permis l'étude de la morphologie des biomasses. L'observation des clichés des deux biomasses avant biosorption met en évidence une nette rugosité des surfaces avec une structure très hétérogène (Figure III. 6 et Figure III. 7). Cette observation révèle l'existence de pores de différentes tailles et un certain nombre de fissures qui facilite la diffusion des solutés vers les sites actifs des deux biomasses. Après biosorption, Le nickel biosorbé sur les biomasses provoque la formation des agrégats. Une diminution du nombre de pores est également observée.

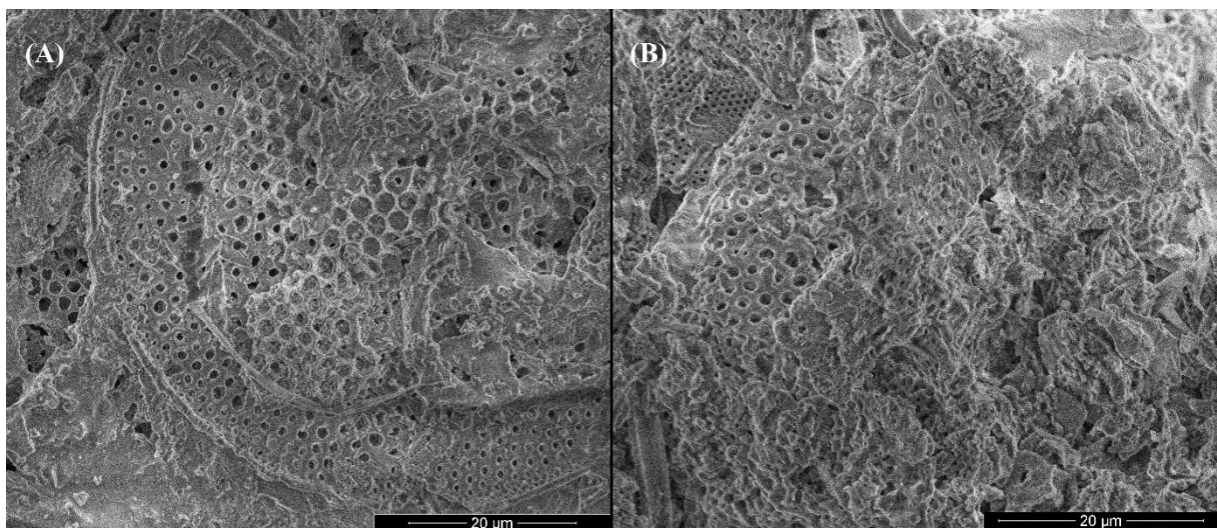


Figure III. 6. Microscopie électronique à balayage de *Pleurotus mutilus* avant biosorption (A) et après biosorption (B).

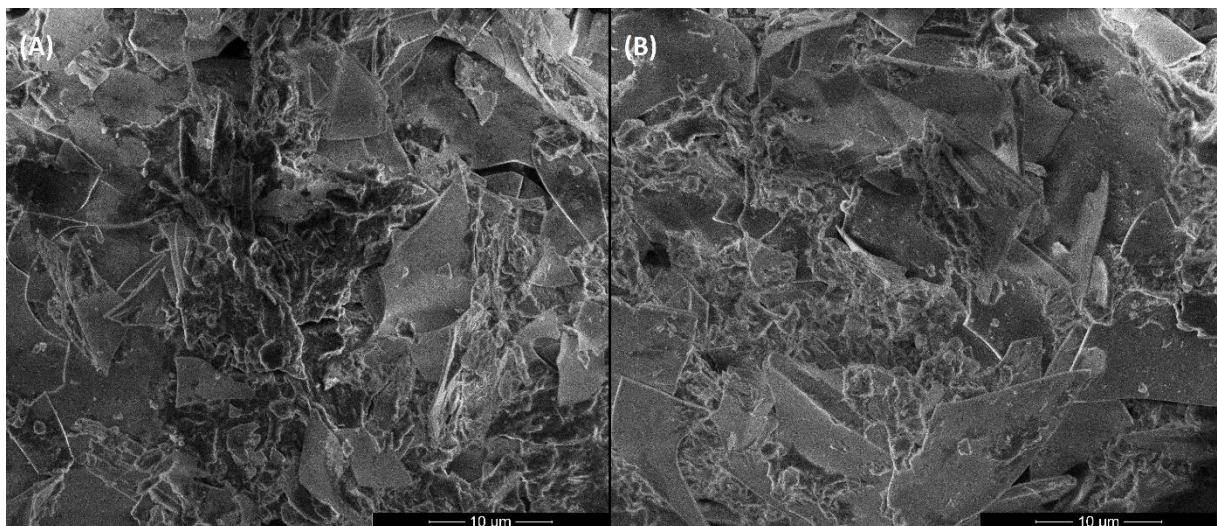


Figure III.7. Microscopie électronique à balayage de *Streptomyces rimosus* avant biosorption(A) et après biosorption(B)

### III.1.6. La spéciation du nickel

La concentration en ions  $\text{Ni}^{2+}$  dans la solution ne varie pas de manière significative à des pH variant de 3.0 à 8.0 car les ions métalliques libres dominent principalement dans la solution à une concentration totale de 300 mg/l. Ensuite, la concentration en  $\text{Ni}^{2+}$  diminue jusqu'à pH=10 car le  $\text{Ni}^{2+}$  précipite principalement sous forme de  $\text{Ni}(\text{OH})_2$  (figure III. 8). Le calcul de l'indice de saturation montre que la précipitation du nickel devient importante pour des valeurs de pH supérieure à 8.

En considérant le  $\text{pH}_{\text{ZPC}}$  de la biomasse et la précipitation du nickel sous forme de  $\text{Ni}(\text{OH})_2$ , le pH 8 peut être considéré comme le pH optimal pour l'adsorption de  $\text{Ni}^{2+}$ .

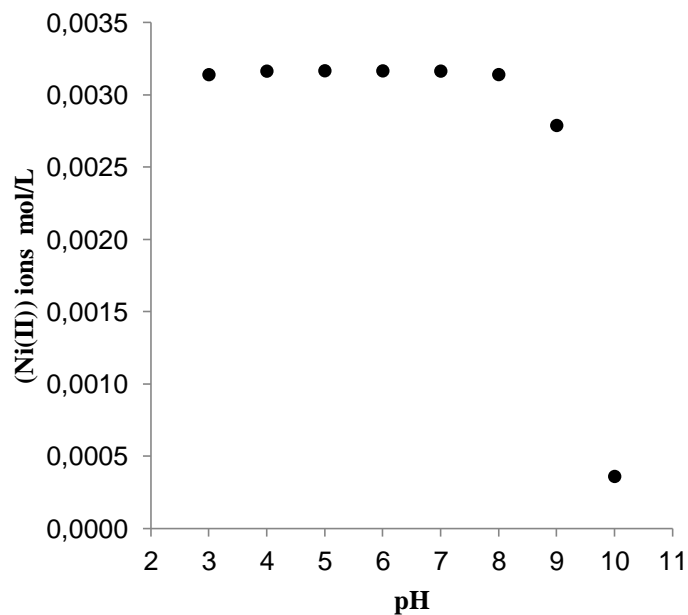


Figure III.8. Evolution de la concentration des ions  $\text{Ni}^{2+}$  libres en fonction du pH pour une concentration  $C_0 = 300$  mg/L.

### Conclusion

Selon les valeurs du  $\text{pH}_{\text{ZPC}}$ , la biomasse de *Streptomyces rimosus* présente une plus large gamme de pH pour la déprotonation.

Les deux biomasses, l'une bactérienne et l'autre fongique, présentent des valeurs différentes de la CEC calculée à partir de la courbe de titrage potentiométrique, la biomasse de

*Streptomyces rimosus* présente la valeur la plus élevée. Tandis que la méthode de Boehm révèle une plus grande valeur de la capacité d'échange pour la biomasse de *Pleurotus mutilus*. Les groupes fonctionnels présentent une plus grande diversité chez la biomasse de *Streptomyces rimosus*. Le groupe fonctionnel carboxyl est prédominant chez la biomasse de *Pleurotus mutilus*, il est également important chez la biomasse de *Streptomyces rimosus* mais il est secondé par le groupe fonctionnel phénol.

### **III. 2. Etude comparative des processus de la biosorption du nickel par les biomasses mortes de *Streptomyces rimosus* et de *Pleurotus mutilus*.**

De nombreux travaux ont été entrepris pour évaluer les capacités de biosorption des bactéries, des champignons et des algues comme adsorbants (Sethurajan et al., 2018). Certaines études ont exploré avec succès la possibilité d'utiliser des déchets microbiens de certaines industries dans la biosorption des métaux (Selatnia et al., 2004 ; Carmona et al., 2012). La biomasse microbienne utilisée pour la biosorption peut être vivante ou morte. L'utilisation de la biomasse morte semble être une alternative pratique pour l'élimination des métaux car elle se caractérise par l'absence d'exigences en matière de composition du milieu de croissance dans la solution d'alimentation, la régénération et la réutilisation de la biomasse est facile (Dhankhar et Hooda, 2011).

Les biomasses mortes de *Streptomyces rimosus* et de *Pleurotus mutilus*, qui sont des sous-produits de l'industrie pharmaceutique nationale, ont été utilisées avec succès pour éliminer certains polluants contenus dans les eaux polluées (Selatnia et al., 2004 ; Sahmoune, 2018). La comparaison de leur capacité de biosorption n'a pas encore été étudiée.

Le but de ce travail est de comparer les capacités et les processus de la biosorption du nickel par les biomasses mortes de *Streptomyces rimosus* et de *Pleurotus mutilus* en fonction de la concentration de la solution en nickel, du temps de contact, du pH, et de la taille des particules des biomasses. Par la suite, des modèles d'équilibre, des modèles cinétiques, et l'approche thermodynamique sont mis en œuvre pour élucider les processus de la biosorption du nickel par ces deux biomasses, l'une bactérienne et l'autre fongique.

### III.2.1. Influence du pH sur la biosorption

Le pH de la solution influence grandement la sorption des métaux en raison de son influence sur la déprotonation des groupes fonctionnels. La masse de  $\text{Ni}^{2+}$  retenues sur les biomasses bactérienne et fongique augmente avec le pH entre 2.0 et 8.0 (figure III. 9). Pour des valeurs de pH supérieures à 8.0, le nickel précipite principalement sous forme de  $\text{Ni}(\text{OH})_2$  selon Visual MINTEQ. Par conséquent, l'élimination observée est attribuée à la précipitation et non à l'adsorption. À des pH faibles, les ligands de la paroi cellulaire sont étroitement associés aux ions hydronium et limitent la biosorption de  $\text{Ni}^{2+}$ . Au fur et à mesure que le pH augmente, les ions hydronium se dissocient progressivement et un plus grand nombre de sites actifs à charges négatives seraient disponibles pour se lier avec le  $\text{Ni}^{2+}$ , comme cela a été confirmé par les mesures du  $\text{pH}_{\text{ZPC}}$ . L'adsorption maximale à  $\text{pH}=8.0$  est probablement due à la combinaison optimale entre les groupes fonctionnels à la surface de la biomasse et les espèces ioniques libres de  $\text{Ni}^{2+}$ . Les expériences suivantes ont été effectuées à cette valeur de pH. L'élimination du nickel par *Pleurotus mutilus* s'avère supérieure à celle obtenue avec *Streptomyces rimosus* dans la plage de pH de 4.0 à 8.0 et une concentration initiale en métal de 300 mg/L.

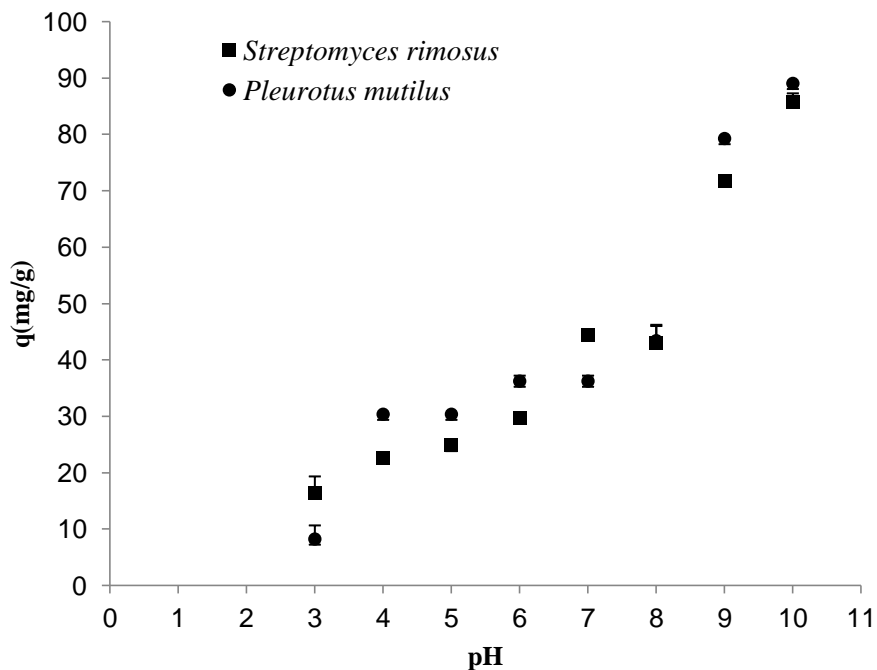


Figure III. 9. Effet du pH sur la biosorption du nickel



### III.2.2. Influence de la concentration initiale en nickel

L'effet de la concentration initiale en nickel sur la capacité des biomasses bactérienne et fongique à pH = 8.0 est illustré sur la figure III. 10. La quantité d'adsorption du nickel par les deux types de biomasse augmente rapidement lorsque la concentration initiale en métal augmente de 50 à 500 mg/L. Les capacités maximales de biosorption de *Streptomyces rimosus* et de *Pleurotus mutilus* sont atteintes à des concentrations initiales en Ni<sup>2+</sup> de 428 et 479 mg/L sont de 51 et 47 mg/g respectivement. Après l'équilibre, l'élimination des ions nickel n'est pas significative sur les deux biosorbants en raison des sites d'adsorption limités et de la répulsion électrostatique sur les surfaces.

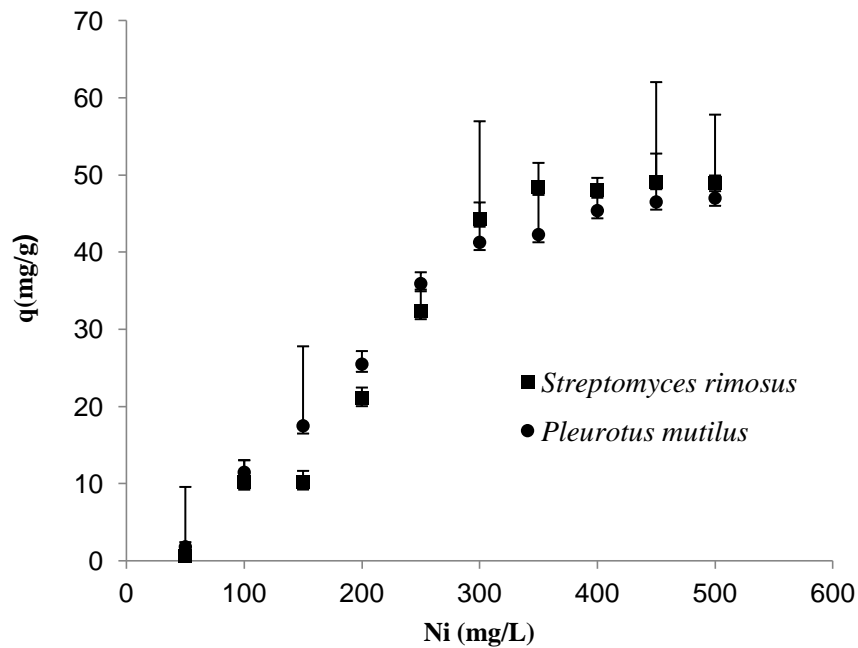


Figure III. 10. Effet de la concentration initiale en nickel sur sa biosorption.

### III.2.3. Influence du temps

L'effet du temps de contact sur la biosorption du Ni<sup>2+</sup> est représenté sur la figure III. 11. L'adsorption initiale rapide est probablement due à la concentration initiale élevée en Ni<sup>2+</sup> et aux sites libres des groupes fonctionnels des deux biomasses. Ensuite, le taux de biosorption

se stabilise en raison de la saturation de ces sites. L'équilibre a été atteint après 92 min pour *Streptomyces rimosus* et 79 min pour *Pleurotus mutilus*.

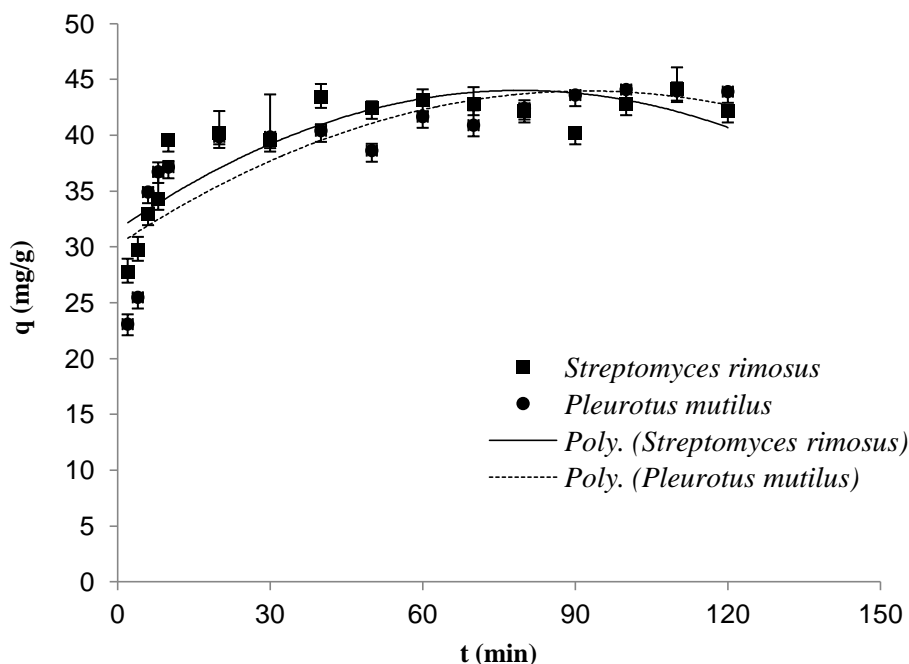


Figure III. 11. Effet du temps sur la biosorption du nickel

#### III.2.4. Influence de la taille des particules

L'influence de la taille des particules de *Streptomyces rimosus* et de *Pleurotus mutilus* sur la biosorption du nickel est présentée dans la figure III.12. *Pleurotus mutilus* a éliminé plus d'ions nickel (49 mg/g) que *Streptomyces rimosus* (43 mg/g) pour les tailles de particules étudiées de 50-100  $\mu\text{m}$ , 100-200  $\mu\text{m}$  et 200-300  $\mu\text{m}$ . L'effet de la taille des particules de *Pleurotus mutilus* n'est pas significatif (valeur  $p = 0.364 > 0.05$ ), alors que l'effet de la taille des particules de *Streptomyces rimosus* est significatif (valeur  $p = 0.046 < 0.05$ ). L'effet des biosorbants ayant une taille de particule comprise entre 50 et 100  $\mu\text{m}$  et entre 200 et 300  $\mu\text{m}$  sur l'élimination des ions de nickel est significativement différent ( $P < 0.05$ ) ; tandis que la différence entre la quantité de nickel adsorbée par les biomasses bactérienne et fongique ayant une taille de particule de 100-200  $\mu\text{m}$  n'est pas significative ( $P > 0.05$ ).

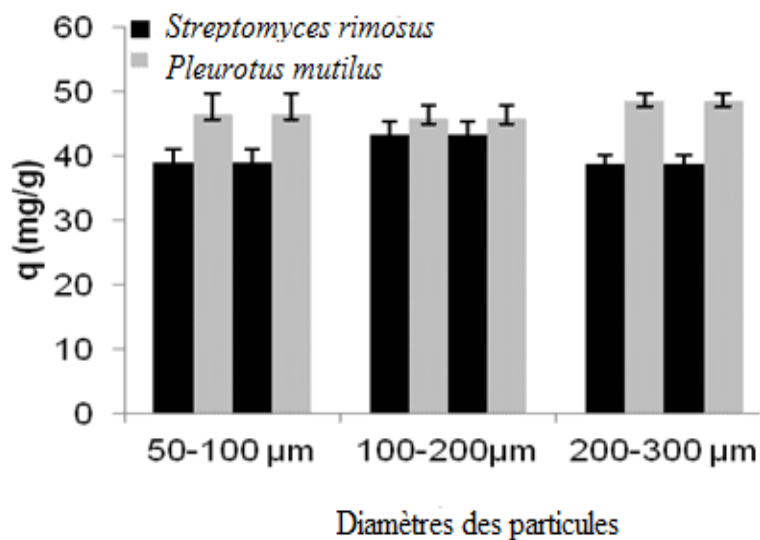


Figure III. 12. Effet de la taille des particules sur la biosorption du nickel

### III.2.5. Modélisation de la biosorption

La modélisation de la biosorption du nickel par des biomasses mortes utilisera des modèles d'équilibre et des modèles cinétiques.

#### III.2.5.1. Les modèles d'équilibre

Les modèles d'équilibre utilisés sont ceux de Freundlich, Langmuir, Temkin et Dubinin-Radushkevich (D-R). Pour ces modèles,  $q_e$  est la réponse à l'équilibre et  $C_e$  est la concentration à l'équilibre (Figures III.7, III.8, III.9, III.10). Le tableau III.III regroupe les facteurs et les constantes de chaque modèle.

Tableau III. III. Les paramètres des isothermes d'adsorption

Modèles	<i>Streptomyces rimosus</i>	<i>Pleurotus mutilus</i>
<u>Langmuir</u>		
$q_{max}$ (mg/g)	51.02	47.169
$K_L$ (L/mg)	0.0044	0.0042
$R_L$	0.590	0.606
$R^2$	0.558	0.688
<u>Freundlich</u>		
$K_f$ (L/mg)	0.001	0.029
$n$	0.5086	0.7452
$R^2$	0.765	0.792
<u>Temkin</u>		
$a_T$ (L/mg)	0.020	0.026
$b_T$ (J/mol)	86.949	104.849
$R^2$	0.851	0.950
<u>Dubinin-Radushkevich</u>		
$q_D$ (mg/g)	50.134	47.153
$B$ (mol <sup>2</sup> /J <sup>2</sup> )	-2.0x10 <sup>-9</sup>	-1.3x10 <sup>-9</sup>
$E$ (J/mol)	15873.015	19611.614
$R^2$	0.9257	0.9836

Selon la valeur du coefficient de détermination du modèle de Langmuir, l'interaction entre les ions nickel et la biomasse fongique est plus forte que celle entre les ions nickel et la biomasse bactérienne (Habish et al., 2015) (figure III.13).

Le facteur de séparation  $R_L$  de *Streptomyces rimosus* est inférieur à celui de *Pleurotus mutilus*, ce qui indique que la biosorption de Ni<sup>2+</sup> par le biosorbant bactérien est plus favorable que celle du champignon.

Dans le modèle de Freundlich, les valeurs du facteur d'hétérogénéité «n» sont supérieures à l'unité, ce qui indique que les ions Ni<sup>2+</sup> sont adsorbés de manière favorable par les deux biosorbants.

Les faibles valeurs de  $b_T$  (104.849 et 86.949 J/mol (<-40 KJ/mol)) obtenues dans la présente étude indiquent que le processus d'adsorption sur les deux biomasses implique à la fois une chimisorption et une physisorption (Hu et al., 2011 ; Wang et al., 2012).

Les valeurs de l'énergie de biosorption moyenne "E" déterminée par le modèle de Dubinin Radushkevich suggèrent que le processus de biosorption des ions nickel sur les deux biomasses s'effectue par chimisorption (Rajappa et al., 2014).

Une comparaison des valeurs  $R^2$  suggère que le modèle Dubinin-Radushkevich permet un meilleur ajustement des données, suivi de l'isotherme de Temkin (figure III. 15 & III. 16). L'ajustement linéaire montre que le modèle de Freundlich donne le meilleur ajustement par rapport au modèle de Langmuir pour les deux biomasses. Ce résultat suggère que les biomasses sont caractérisées par la présence de charges hétérogènes (Delle Site, 2001 ; Padmavathy, 2008).

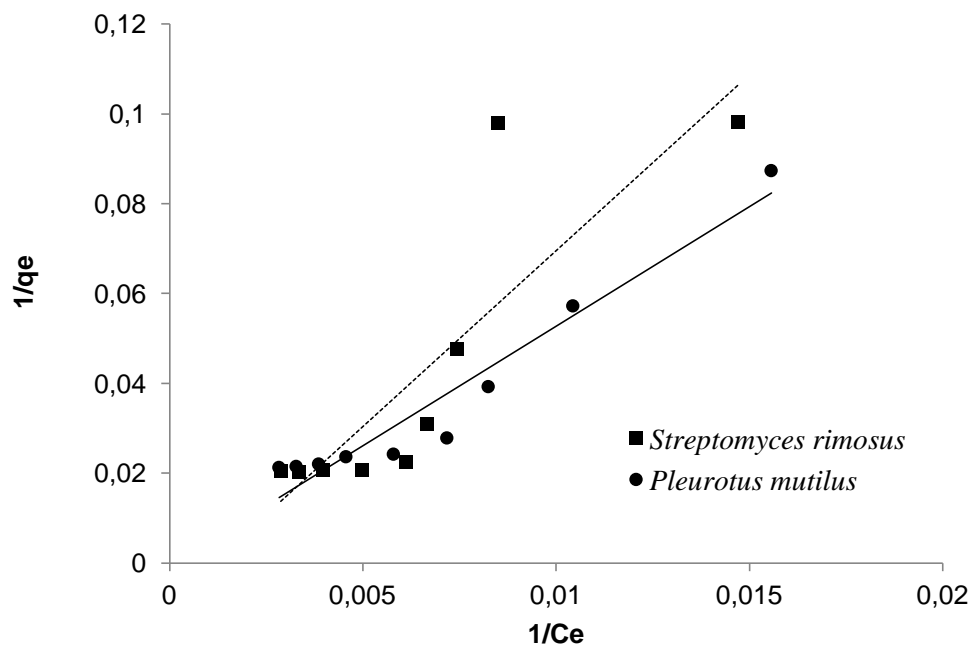


Figure III. 13. La forme linéaire des isothermes de Langmuir modélisant l'adsorption du  $Ni^{2+}$  par *Streptomyces rimosus* et *Pleurotus mutilus*.

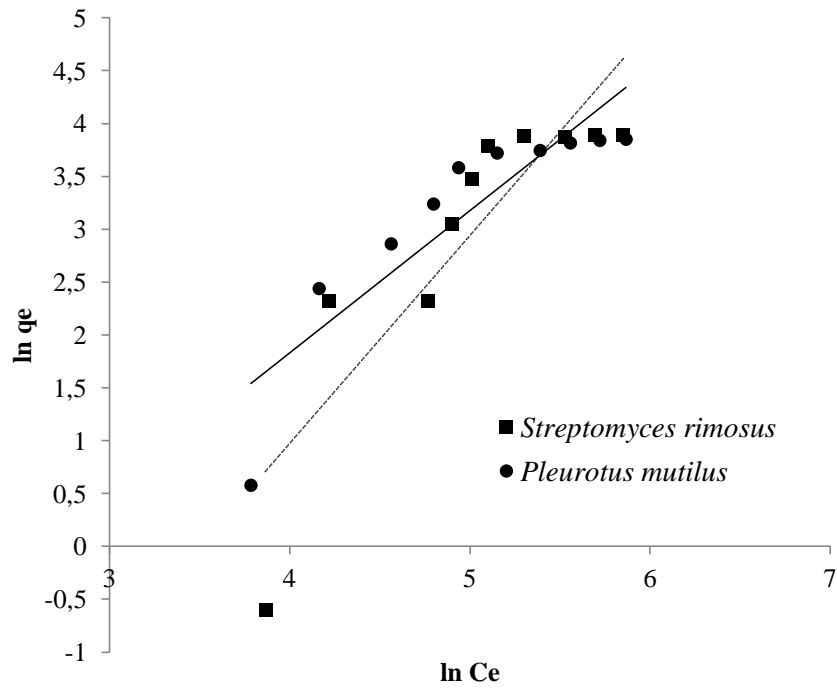


Figure III. 14. La forme linéaire des isothermes de Freundlich modélisant l'adsorption du  $\text{Ni}^{2+}$  par *Streptomyces rimosus* et *Pleurotus mutilus*.

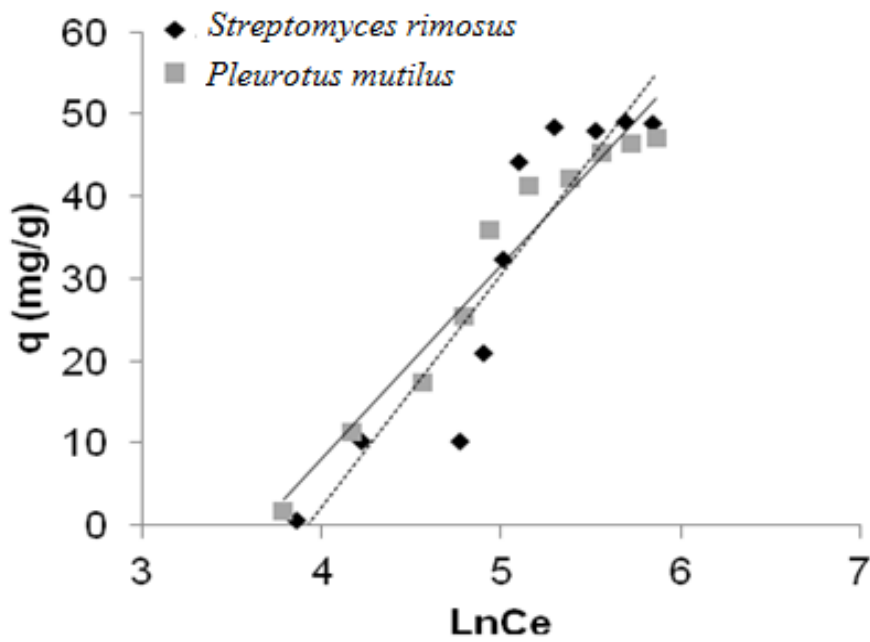


Figure III. 15. Les isothermes de Temkin représentant l'adsorption du  $\text{Ni}^{2+}$  par *Streptomyces rimosus* et *Pleurotus mutilus*

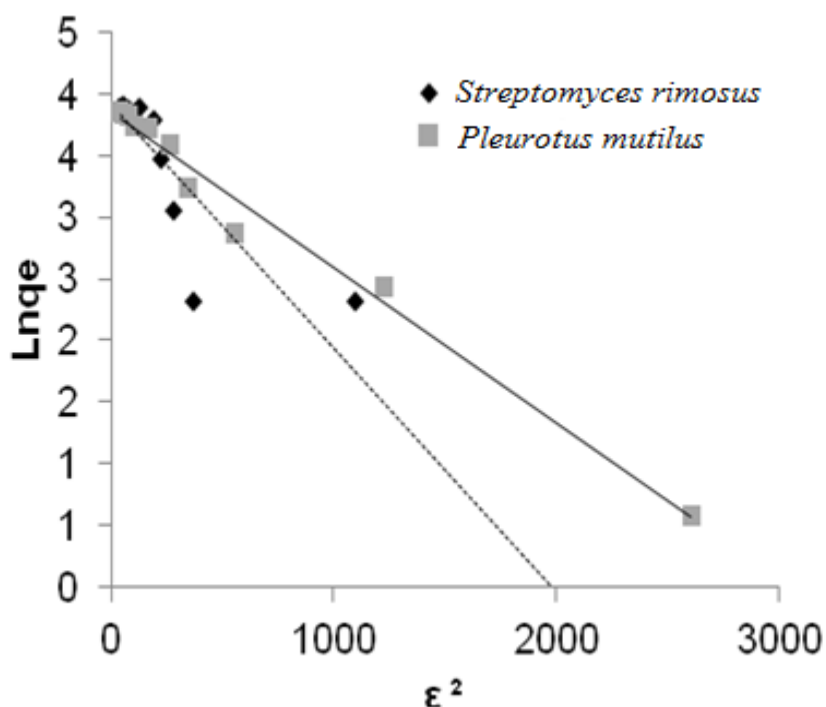


Figure III. 16. Isothermes de Dubinin-Radushkevich illustrant l'adsorption du  $\text{Ni}^{2+}$  par *Streptomyces rimosus* et *Pleurotus mutilus*.

### III.2.5.2. Les modèles cinétiques

Les données cinétiques ont été analysées à l'aide de divers modèles cinétiques : le modèle du pseudo-premier ordre, le modèle du pseudo-deuxième ordre, le modèle d'Elovich, le modèle de diffusion intraparticulaire, le modèle de Boyd, et le modèle de la fonction de puissance.

Les paramètres cinétiques sont présentés au tableau III. V. Les valeurs plus élevées de  $R^2$  et la précision de prédiction de  $q_e$  ont été utilisées comme critères pour définir le modèle le plus approprié pour décrire la cinétique de sorption de  $\text{Ni}^{2+}$ .

- *Modèle cinétique de pseudo- premier- ordre* : La courbe linéaire de  $\log(q_e - q_t)$  par rapport à  $t$  a été utilisée pour déterminer la constante de vitesse  $k_1$  et les coefficients de corrélation  $R^2$  (figure III. 17). L'interception du tracé doit être égale à  $\log q_e$ . Cependant, si le  $q_e$  calculé n'est pas égal à l'absorption de métal à l'équilibre, la réaction ne sera probablement pas du premier ordre, même si cette équation a une forte corrélation avec les données expérimentales (Cazon et al., 2013). Le  $q_e$  calculé est inférieur à  $q_e$  expérimental pour les deux biomasses (tableau

III.IV), ce qui suggère l'insuffisance du modèle du pseudo-premier ordre pour l'ajustement des données cinétiques.

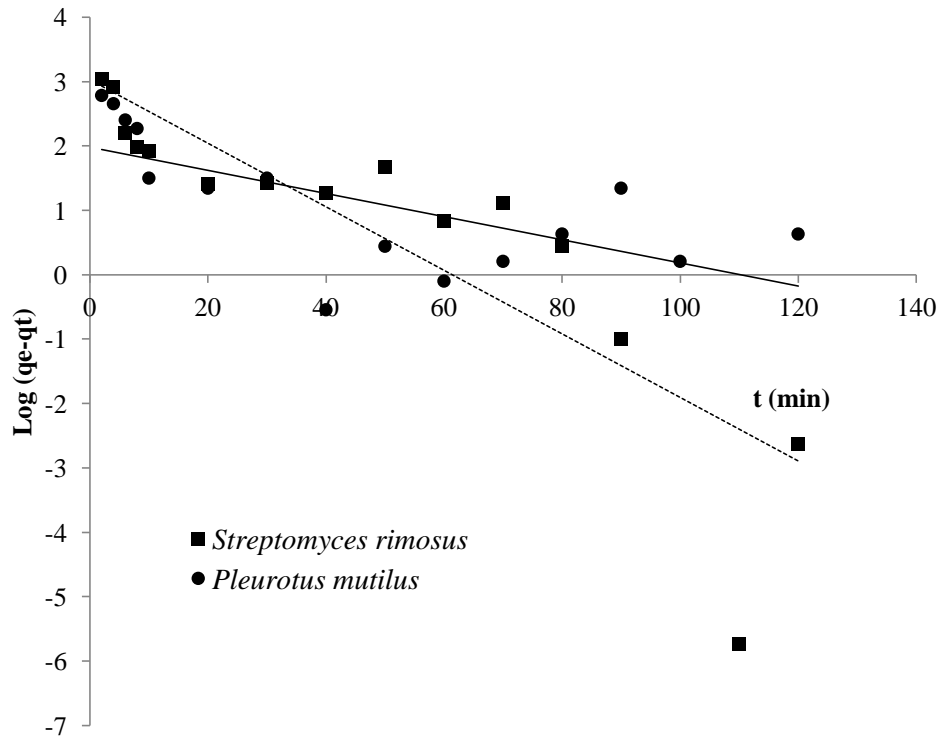


Figure III. 17. Cinétique pseudo-premier-ordre du  $Ni^{2+}$  par *Streptomyces rimosus* et *Pleurotus mutilus*

- *Modèle du pseudo-deuxième ordre* : Le modèle de pseudo-second-ordre (figure III. 18) produit des coefficients de détermination élevés pour les deux biomasses ( $R^2 > 0.99$ ). En outre, les capacités d'adsorption calculées par le modèle du pseudo-deuxième-ordre sont également proches de celles déterminées par les expériences. Par conséquent, il semble que le modèle d'adsorption de pseudo-deuxième ordre est approprié pour décrire la cinétique d'adsorption du  $Ni^{2+}$  par les deux biomasses. La valeur de  $t_{1/2}$  pour *Streptomyces rimosus* est supérieure à celle de *Pleurotus mutilus* (tableau III.IV), ce qui indique que la biomasse fongique a une cinétique d'adsorption du  $Ni^{2+}$  plus rapide que celle de la biomasse bactérienne. Ces résultats suggèrent également que la biosorption du  $Ni^{2+}$  sur *Streptomyces*



*rimosus* et *Pleurotus mutilus* est susceptible d'être un processus de chimisorption impliquant un échange ou un partage d'électrons principalement entre ions métalliques et groupes fonctionnels des biosorbants (Barka et al., 2010).

Tableau III. IV. Comparaison des paramètres cinétiques d'adsorption du Ni<sup>2+</sup> par *Streptomyces rimosus* et *Pleurotus mutilus*.

Modèles cinétiques	<i>Streptomyces rimosus</i>	<i>Pleurotus mutilus</i>
<u><i>Pseudo-premier-ordre</i></u>		
q <sub>e</sub> exp (mg/g)	43.970	44.022
q <sub>e</sub> calc (mg/g)	20.677	7.243
k <sub>1</sub> (1/min)	0.113	0.041
R <sup>2</sup>	0.742	0.448
<u><i>Pseudo-second-ordre</i></u>		
q <sub>e,exp</sub> (mg/g)	43.970	44.022
q <sub>e</sub> calc (mg/g)	45.455	43.478
k <sub>2</sub> (g/mg min)	0.007	0.016
h (mg/g min))	14.706	30.303
t <sup>1/2</sup> (min)	3.091	1.435
R <sup>2</sup>	0.998	0.998
<u><i>Elovich</i></u>		
α (mg/g min)	1050.114	6711.670
β (g/mg)	0.229	0.278
R <sup>2</sup>	0.848	0.848
<u><i>Diffusion intraparticule</i></u>		
K <sub>p</sub> (mg/g min <sup>1/2</sup> )	0.815	0.322
C (mg/g)	35.129	30.966
R <sup>2</sup>	0.711	0.686
<u><i>Modèle de Boyd</i></u>		
K <sub>fd</sub> (min <sup>-1</sup> )	0.049	24.927
R <sup>2</sup>	0.742	0.448
<u><i>Fonction de puissance</i></u>		
k (mg g <sup>-1</sup> )	24.656	27.800
v (min <sup>-1</sup> )	0.128	0.100
kv (mg g <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	3.156	2.780
R <sup>2</sup>	0.799	0.839

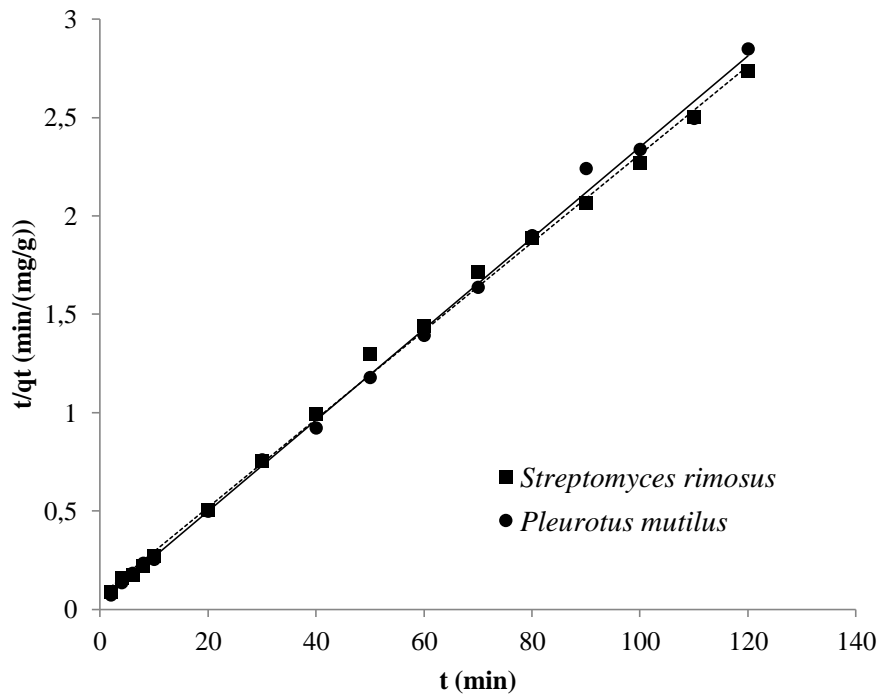


Figure III. 18. Cinétique pseudo-second-ordre de l'adsorption du  $\text{Ni}^{2+}$  par *Streptomyces rimosus* et *Pleurotus mutilus*.

- *Modèle d'Elovich* : Le tracé de  $q_t$  par rapport à  $\ln t$  pour l'équation d'Elovich est illustré à la figure III. 19. Le modèle cinétique d'Elovich décrit de la même manière la biosorption du  $\text{Ni}^{2+}$  sur *Streptomyces rimosus* et *Pleurotus mutilus* (tableau III. IV). L'équation d'Elovich aboutit à un des valeurs de  $R^2 > 0.84$ , cette corrélation suggère que l'adsorption du nickel par les deux types de biomasse est contrôlée par un procédé de chimisorption. La constante  $\beta$  est une indication du nombre de sites disponibles pour l'adsorption par la chimisorption (Ahmadi et al., 2016). La valeur de cette constante pour *Pleurotus mutilus* est supérieure à celle de *Streptomyces rimosus*. A cet égard, *Pleurotus mutilus* devrait contenir plus d'ions nickel par chimisorption que *Streptomyces rimosus*.

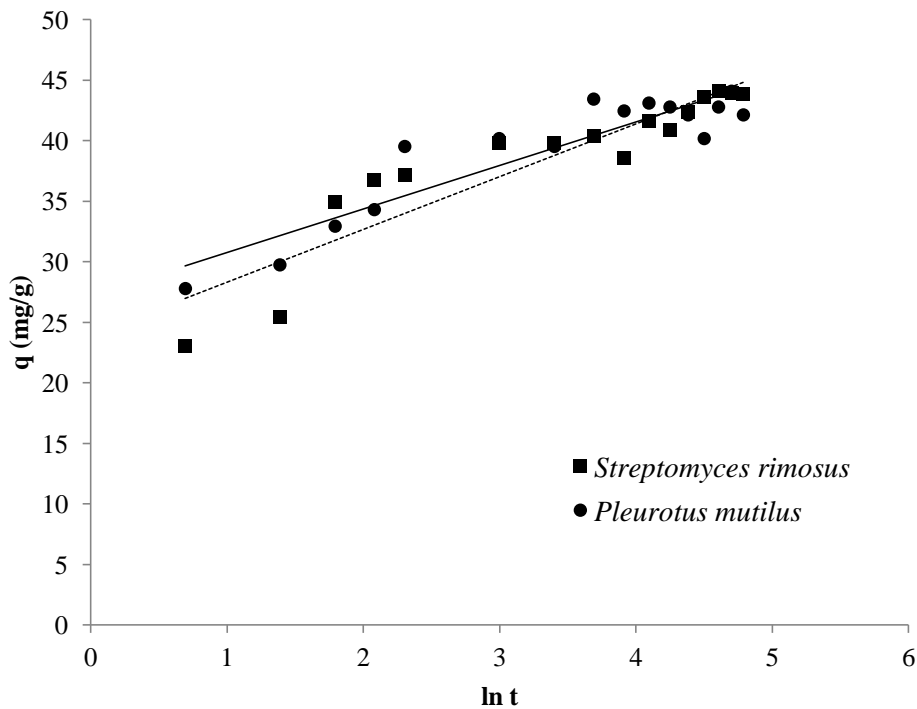


Figure III. 19. Cinétique d'Elovich pour l'adsorption du  $\text{Ni}^{2+}$  sur *Streptomyces rimosus* et *Pleurotus mutilus*.

- *Modèle de diffusion Intraparticulaire* : Les données expérimentales ont été ajustées au modèle de Weber et Morris pour évaluer si la diffusion intraparticulaire contrôlait le taux d'adsorption du  $\text{Ni}^{2+}$  (tableau III. IV). Les tracés de  $q_t$  par rapport à  $t_{1/2}$  pour les deux biomasses ont montré que les droites ne passaient pas par l'origine (figure III. 20), ce résultat donne à penser que l'effet de la diffusion intraparticulaire n'est pas le principal mécanisme de contrôle de la vitesse du processus de biosorption. Sur la base de ce graphique, il s'avère que le processus de biosorption du  $\text{Ni}^{2+}$  comprend deux phases, la partie initiale du graphique indiquant un transfert de masse externe à travers le film liquide tandis que la deuxième partie linéaire est due à la diffusion intraparticulaire ou poreuse qui n'est donc pas l'étape limitant le débit. Des résultats similaires ont été rapportés par Sahmoun et al. (2009) pour l'adsorption de Cr(III) par *Streptomyces rimosus* et par Chergui et al. (2009) pour l'adsorption d'hexacyanoferrate(III) par *Pleurotus mutilus*. La pente de la deuxième partie linéaire de la courbe a été identifiée comme étant la constante de vitesse de diffusion intraparticulaire ( $K_p$ ) (Sahmoune et al., 2009). Les valeurs de C et  $K_p$  sont données dans le tableau III. IV. La valeur du coefficient de diffusion intraparticulaire déterminée pour *Streptomyces rimosus* est supérieure à celle obtenue pour

*Pleurotus mutilus*. Ceci indique que  $\text{Ni}^{2+}$  se diffuse plus facilement dans les pores de *Streptomyces rimosus* que dans les pores de *Pleurotus mutilus*.

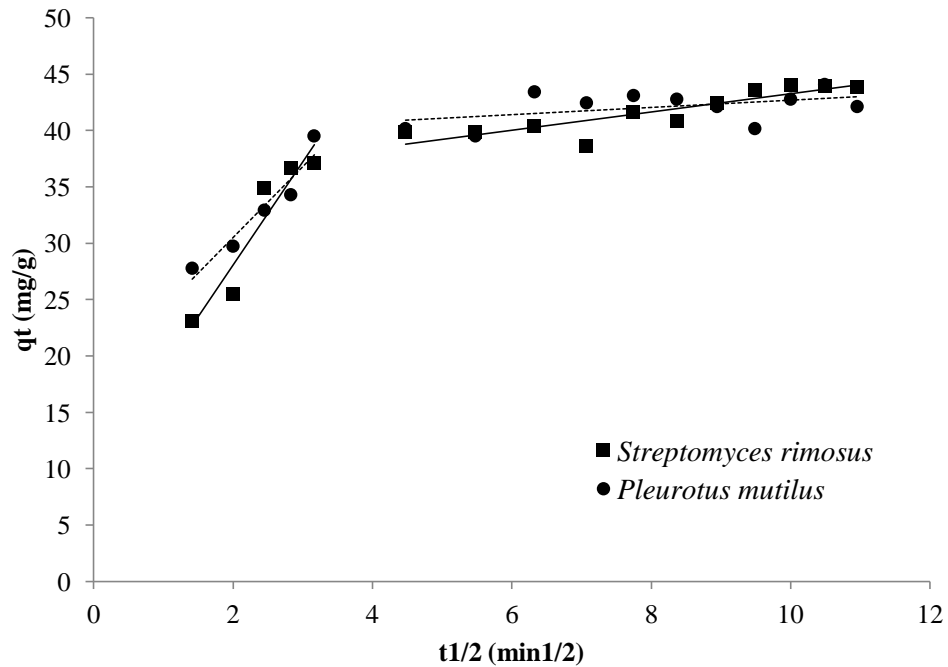


Figure III. 20. Adsorption de  $\text{Ni}^{2+}$  sur *Streptomyces rimosus* et *Pleurotus mutilus* par diffusion intraparticulaire.

- *Modèle de Boyd* : Les tracés de Boyd ont été obtenus en traçant le  $B_t$  en fonction du temps (figure III. 21). Les ajustements linéaires ne passent pas par l'origine, les coefficients de détermination sont assez faibles ( $R^2 = 0.74$  pour *Streptomyces rimosus*,  $R^2 = 0.45$  pour *Pleurotus mutilus*) (tableau III. IV). Ce résultat suggère que la diffusion du film est le mécanisme de limitation du débit dans la biosorption du  $\text{Ni}^{2+}$  par la biomasse bactérienne et la biomasse fongique.

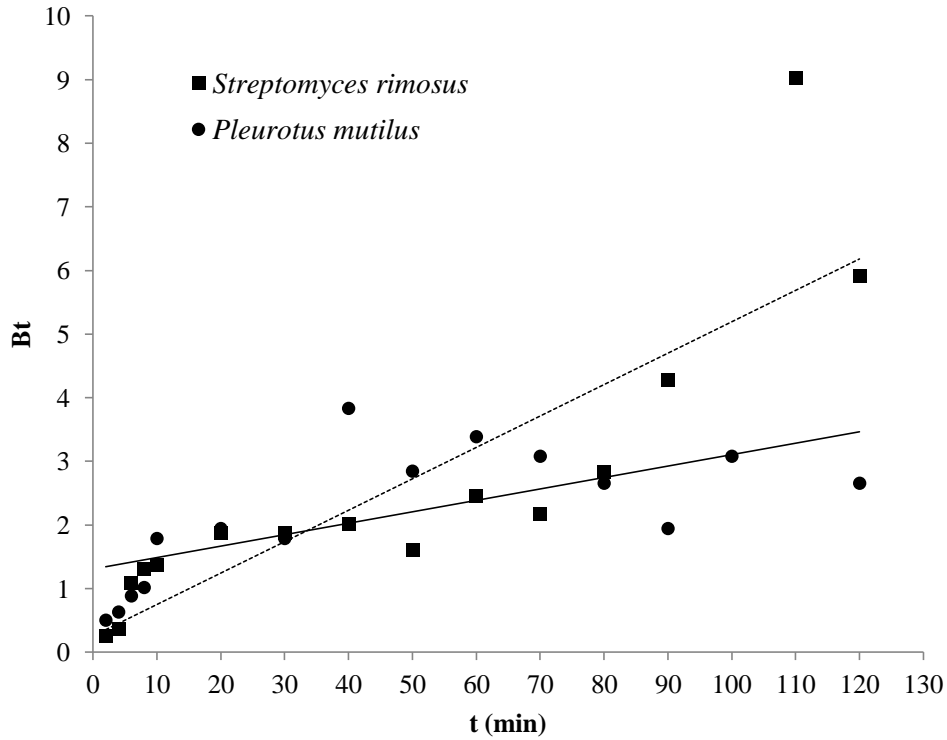


Figure III. 21. Diagramme de Boyd pour la biosorption du  $\text{Ni}^{2+}$  sur *Streptomyces rimosus* et *Pleurotus mutilus*.

- *Modèle de la fonction de puissance* : Le modèle de la fonction de puissance décrit correctement la sorption du  $\text{Ni}^{2+}$  en fonction du temps sur les deux biomasses (figure III. 22), les valeurs de la constante  $\nu$  sont inférieures à 1 (Ayanda et al., 2013). Comme  $k$  représente le taux initial de sorption, *Pleurotus mutilus* présente un taux initial d'absorption beaucoup plus élevé que *Streptomyces rimosus*.

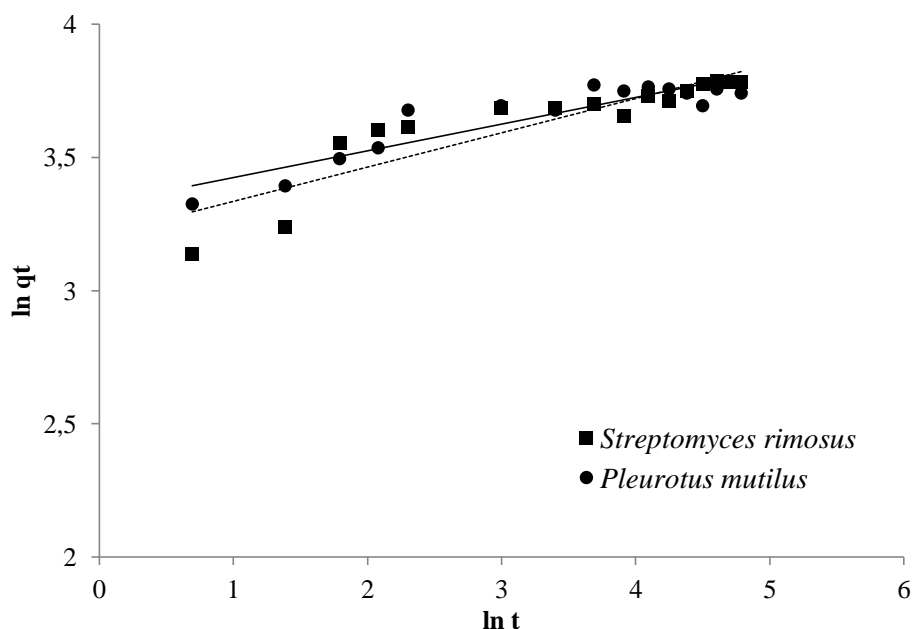


Figure III. 22. Modèle de la fonction de puissance de l'adsorption du  $\text{Ni}^{2+}$  sur *Streptomyces rimosus* et *Pleurotus mutilus*

En résumé, il s'avère que le modèle cinétique de pseudo-second-ordre est celui qui s'ajuste le mieux aux données expérimentales avec un coefficient de détermination  $R^2$  de 0.998. Cette cinétique d'adsorption est typique de l'adsorption des métaux divalents sur les biosorbants (Salvadori et al., 2014). La chimisorption semble le processus de biosorption dominant dans les deux biomasses. La diffusion intraparticulaire ne semble pas constituer une contrainte dans la diffusion des ions dans les structures des deux biomasses.

### III.2.6. Approche thermodynamique de la biosorption

Les valeurs de  $\Delta G^0$  calculées sont négatives pour les deux biomasses et pour l'ensemble de la plage de concentration (tableau III. V). Ces résultats indiquent que l'adsorption du  $\text{Ni}^{2+}$  par les deux biomasses est spontanée et thermodynamiquement favorable.

Tableau III. V. Les valeurs de l'énergie libre d'adsorption  $\Delta G^0$ .

Ni (mg/l)	$\Delta G^0$ (kJ/mol)	
	<i>Streptomyces rimosus</i>	<i>Pleurotus mutilus</i>
50	-8.38	-7.92
100	-1.86	-1.44
150	-3.17	-1.42
200	-1.77	-1.06
250	-1.00	-0.57
300	-0.45	-0.75
350	-0.73	-1.27
400	-1.29	-1.50
450	-1.63	-1.84
500	-2.02	-2.16

### Conclusion

Le présent travail montre que le modèle de spéciation a prédit la formation de précipités de nickel à un pH supérieur à 8.0. Les performances de biosorption ont été fortement affectées par le pH de la solution et le temps de contact à température ambiante. Le pH optimal pour la biosorption du  $\text{Ni}^{2+}$  par les espèces bactériennes et fongiques a été atteint à pH 8,0. Les bactéries Gram-positives présentent une capacité d'adsorption plus élevée que les champignons filamenteux, ce qui est dû à la capacité d'échange cationique plus élevée des bactéries Gram-positives, à la diffusion facile des ions  $\text{Ni}^{2+}$  dans les pores de *Streptomyces rimosus* et peut-être aussi à la structure différente de la paroi cellulaire. La biosorption du nickel par *Streptomyces rimosus* et *Pleurotus mutilus* est bien illustrée avec les équations de Dubinin-Radushkevich et Temkin pour les isothermes dans la plage de concentration du métal étudié. Les capacités d'adsorption maximales ( $q_{\text{max}}$ ) calculées à partir de l'isotherme d'adsorption de Langmuir étaient de 51 mg/g pour *Streptomyces rimosus* et 47 mg/g pour *Pleurotus mutilus*, respectivement. La cinétique de la biosorption du  $\text{Ni}^{2+}$  a été mieux décrite avec une cinétique de pseudo-second-ordre. Les valeurs négatives de  $\Delta G^0$  indiquent une adsorption spontanée de nickel sur *Streptomyces rimosus* et sur *Pleurotus mutilus*. Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude confirment que les bactéries à Gram positif et les champignons filamenteux sont des biosorbants efficaces et peu coûteux pour éliminer le  $\text{Ni}^{2+}$  des solutions aqueuses.

### **III.3. Optimisation de la biosorption du nickel par les biomasses mortes de *Pleurotus mutilus* et de *Streptomyces rimosus***

Tous les travaux réalisés sur les biomasses mortes de *Pleurotus mutilus* et de *Streptomyces rimosus* ont tenté d'optimiser la biosorption pour chacun des principaux facteurs qui la conditionnent (la nature et la concentration de la biomasse, la taille des particules de la biomasse, la nature et la concentration du polluant, le pH de la solution, la température, le temps de contact entre la biomasse et le polluant, la vitesse d'agitation de la suspension). Cette méthode d'optimisation classique de la biosorption des métaux lourds qui consiste en la variation d'un paramètre tout en maintenant constants les autres paramètres est souvent considérée comme une méthode longue et coûteuse. Il existe des méthodes expérimentales et statistiques qui fournissent une approche plus facile et tout aussi efficace pour optimiser plusieurs variables simultanément. Les méthodes expérimentales fréquemment utilisées comprennent la méthode des réseaux de neurones artificiels, la méthode des surfaces de réponse (Gönen et Aksu, 2008 ; Sharma et al., 2009) et la méthode de Taguchi (1990). La méthode d'optimisation de Taguchi permet une optimisation avec un plus faible nombre d'essais expérimentaux pour déterminer les conditions optimales que la méthode des surfaces de réponse (Das et al., 2014 ; Yen et Li, 2015 ; Pundir et al., 2016).

La conception expérimentale de Taguchi réduit les coûts, améliore la qualité et fournit des solutions robustes (Daneshvar et al., 2007 ; Mousav et al., 2007). Les avantages de la méthode Taguchi par rapport aux autres méthodes portent sur le fait que de nombreux facteurs peuvent être optimisés simultanément et que des informations quantitatives peuvent être obtenues avec moins d'essais expérimentaux (Kumar et al., 2011 ; Zolfaghari et al., 2011). La méthode de Taguchi a été utilisée pour l'optimisation dans divers domaines du traitement des eaux usées (Barrado et al., 1996). L'optimisation des paramètres du procédé de l'élimination des colorants des effluents de textiles a été étudiée par Engin et al. (2008). L'optimisation des conditions expérimentales pour la récupération des fines particules de charbon à partir des eaux usées générées dans l'opération de nettoyage du charbon a été rapportée par Chary et Dastidar (2010) en utilisant la méthode Taguchi. Cette méthode peut également être appliquée à la conception d'expériences factorielles et l'analyse de leurs résultats (Dönmez et Aksu, 1999).



Ce travail porte sur l'étude de l'évaluation de la biosorption du nickel par deux biomasses mortes microbiennes, une biomasse fongique de *Pleurotus mutilus* et une biomasse bactérienne de *Streptomyces rimosus*. Cette optimisation mettra en œuvre la méthode Taguchi (1990) selon un plan orthogonal L<sub>9</sub> appliqué aux biomasses mortes de *Pleurotus mutilus* et de *Streptomyces rimosus* qui sont des sous-produits de l'industrie algérienne de production des antibiotiques. La contribution en pourcentage de chaque paramètre sur le pourcentage d'élimination du nickel par la biosorption est analysée en adoptant une analyse de variance. Une expérience de confirmation a été également effectuée dans les conditions optimales. Une comparaison entre l'approche monofactorielle et la méthode de Taguchi est réalisée.

### **III.3.1. Rappel des valeurs optimales des facteurs de variation des deux biomasses**

Pour le pH, la biosorption maximale obtenue est comparable pour les deux biomasses (49 et 54 mg/g), et elle est obtenue à pH 8 ; ce résultat est comparable à celui obtenu par Selatnia et al. (2004) sur la biomasse morte de *Streptomyces rimosus* pour une biosorption sensiblement plus faible et qui est de 33.3 mg/g (tableau III.VI).

Concernant la concentration de la solution en Ni<sup>2+</sup> nécessaire pour l'obtention de la valeur maximale de la biosorption, elle est relativement plus élevée pour la biomasse bactérienne morte de *Streptomyces rimosus* (428 mg/L) par rapport à celle de la biomasse fongique morte de *Pleurotus mutilus* (479 mg/L) ; la biosorption obtenue est statistiquement plus faible chez la biomasse bactérienne pour les concentrations en Ni<sup>2+</sup> de 150 et 200 mg/L, elle est statistiquement plus élevée chez la biomasse bactérienne pour une concentration en Ni<sup>2+</sup> de 350 mg/L.

Le temps de contact nécessaire serait relativement plus court pour la biomasse morte fongique (79 min) par rapport à la biomasse morte bactérienne (93.44 min).

La taille des particules n'affecte pas la biosorption qui est de 47 mg/g, dans la gamme des valeurs étudiées, chez la biomasse morte fongique ; par contre la biosorption maximale est obtenue avec les particules de diamètre compris entre 100 et 200 µm pour la biomasse morte bactérienne pour une biosorption de 43.20 mg/g (tableau III. VI).

Tableau III. VI. Les valeurs optimales obtenues pour chaque facteur de variation

Facteurs	pH	Concentration Ni <sup>2+</sup> (mg/L)	temps de (min)	Taille des particules (µm)
<i>Pleurotus mutilus</i>				
Valeurs du facteur	8	428	79	sans effet
Biosorption (mg. g-1)	44.57	48.94	45.22	43
<i>Streptomyces rimosus</i>				
Valeurs du facteur	8	479	93.44	100 - 200
Biosorption (mg. g-1)	44.25	53.69	45.35	49

### III.3.2. Optimisation par la méthode de Taguchi

#### III.3.2.1. Analyse des données expérimentales

Les résultats obtenus par les deux biomasses mortes de *Pleurotus mutilus* et de *Streptomyces rimosus* sont exprimés par rapport à la capacité de biosorption ( $q$ , mg/g) (Tableaux III. VII et III. VIII). La capacité de biosorption de la biomasse ( $q$  mg/g) de *Pleurotus mutilus* varie entre 24,41 et 63,27 mg/g ; celle de *Streptomyces rimosus* varie entre 8,92 et 53,88 mg/g.

Tableau III. VII. Résultats obtenus à partir de la quantité de Ni<sup>2+</sup> biosorbée  $q_e$  (mg/g) par la biomasse morte de *Pleurotus mutilus*

pH	(Ni) mg/l	Temps (min)	diamètre (µm)	$q_e$ (mg/g)	Ecart types	S/N(db)
6	150	30	50-100	24.41	2.71	27.63
6	300	60	100-200	41.99	0.93	32.46
6	450	90	200-300	48.99	1.73	33.73
7	150	60	200-300	32.88	0.28	30.34
7	300	90	50-100	45.16	1.46	33.03
7	450	30	100-200	47.46	0.62	33.52
8	150	90	100-200	34.17	0.74	30.67
8	300	30	200-300	53.41	0.86	34.55
8	450	60	50-100	63.27	0.83	36.02

Tableau III. VIII. Résultats obtenus à partir de la quantité de Ni<sup>2+</sup>biosorbée q<sub>e</sub> (mg/g) par la biomasse morte de *Streptomyces rimosus*

pH	(Ni) mg/L <sup>1</sup>	Temps (min)	diamètre (µm)	q <sub>e</sub> (mg/g)	Ecart types	S/N (db)
6	150	30	50-100	8.92	0.57	18.90
6	300	60	100-200	33.16	1.47	30.39
6	450	90	200-300	45.01	0.50	33.07
7	150	60	200-300	18.60	0.34	25.39
7	300	90	50-100	47.83	1.05	33.59
7	450	30	100-200	45.99	0.82	33.24
8	150	90	100-200	22.94	0.68	27.18
8	300	30	200-300	42.16	0.49	32.50
8	450	60	50-100	53.88	1.52	34.62

### III.3.2.2. Les conditions optimales

Elles sont obtenues en regroupant les valeurs moyennes du S/N pour chaque facteur (tableaux III. VII et III. VIII) et en choisissant la valeur maximale (the larger-the-better). Ces conditions optimales sont visualisées sur le tableau III. IX et III.X et sur la figure III.23 pour les deux biomasses.

Le signal calculé pour la biomasse de *Pleurotus mutilus* à partir de la capacité de biosorption q<sub>e</sub> (mg/g) augmente avec le pH et la concentration initiale en Ni<sup>2+</sup>, il varie faiblement en fonction du temps et de la taille des particules.

Le signal calculé pour la biomasse de *Streptomyces rimosus* à partir de la capacité de biosorption q<sub>e</sub>, (mg/g) augmente fortement avec la concentration Ni<sup>2+</sup>, il augmente faiblement en fonction du pH, du temps, et de la taille des particules. Figure III. 23 montre que les valeurs optimales des facteurs étudiés sont les suivantes :

*Pleurotus mutilus* : pH = 8, (Ni) = 450 mg/L, t =60 mn, d= 200- 300 µm (A3B3T2D3)

*Streptomyces rimosus* : pH = 8, (Ni) = 450 mg/L, t =90 mn, d= 200- 300 µm (A3B3C3D3)

Ces valeurs optimales sont comparables pour les deux biomasses, à l'exception du facteur temps.

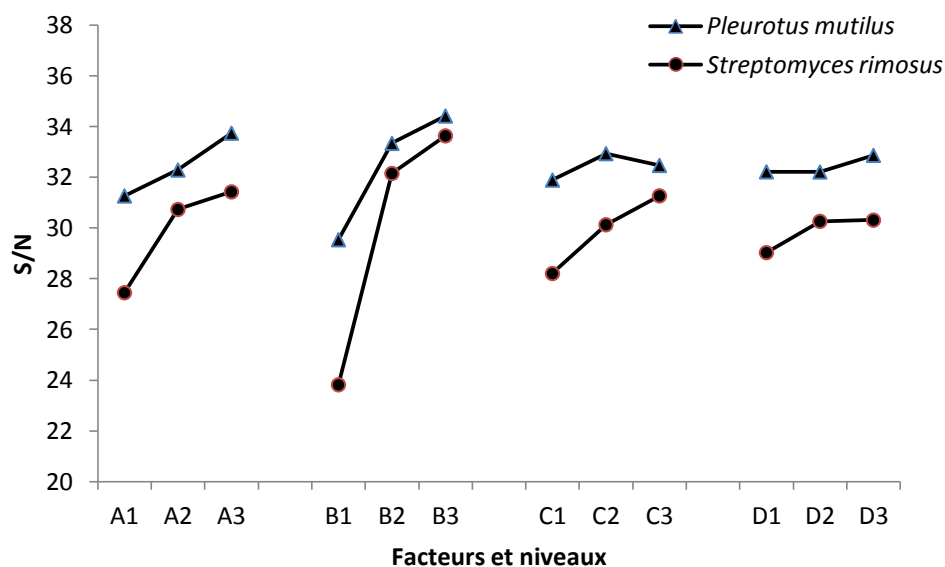


Figure III. 23. Le signal obtenu calculé à partir de la quantité de  $\text{Ni}^{2+}$  biosorbée  $q_e$  (mg/g) en fonction de chaque facteur de variation par les biomasses de *Pleurotus mutilus* et de *Streptomyces rimosus*.

Tableau III. IX. Quantité de nickel éliminée et valeurs du rapport S/N correspondantes.  
(PM = *Pleurotus mutilus*, SR = *Streptomyces rimosus*)

Essais	Ni éliminé ( $q_e$ , mg/g)								S/N	
	Répétition ( $q_1$ )		Répétition ( $q_2$ )		Répétition ( $q_3$ )		Moyennes ( $q$ )		PM	SR
	PM	SR	PM	SR	PM	SR	PM	SR		
1	25.546	9.895	21.144	8.917	26.524	7.939	24.405	8.917	27.619	18.899
2	42.288	33.485	42.777	34.463	40.919	31.528	41.995	33.159	32.459	30.394
3	54.14	45.336	47.293	44.358	45.532	45.336	48.988	45.01	33.731	33.065
4	33.371	18.699	32.882	18.21	32.393	18.894	32.882	18.601	30.337	25.388
5	49.918	49.135	43.266	48.157	42.288	46.201	45.157	47.831	33.026	33.586
6	48.76	48.271	47.293	45.336	46.314	44.358	47.456	45.988	33.52	33.236
7	34.349	24.568	34.838	21.633	33.371	22.611	34.186	22.937	30.673	27.175
8	54.222	42.288	53.831	42.582	52.168	41.603	53.407	42.158	34.548	32.496
9	63.237	53.455	62.454	55.607	64.117	52.575	63.269	53.879	36.022	34.621

Tableau III. X. Valeurs du signal S/N obtenues sur les réponses absolues.

(M = moyenne des 3 répétitions ; PM = *Pleurotus mutilus*, SR = *Streptomyces rimosus*)

Facteur	[(S/N) <sup>facteur</sup> <sub>niveau</sub> ] <sub>j</sub>						[(M)] <sup>facteur</sup> <sub>niveau</sub>	
	J=1		J=2		J=3		PM	SR
	PM	SR	PM	SR	PM	SR		
A1	27.63	18.90	32.46	30.39	33.73	33.06	31.27	27.45
A2	30.34	25.39	33.02	33.58	33.52	33.24	32.29	30.74
A3	30.67	27.17	34.55	32.50	36.02	34.62	<b>33.75</b>	<b>31.43</b>
B1	27.63	18.90	30.34	25.39	30.67	27.17	29.54	23.82
B2	32.46	30.39	33.02	33.58	34.55	32.50	33.34	32.16
B3	33.73	33.06	33.52	33.23	36.02	34.62	<b>34.42</b>	<b>33.64</b>
C1	27.63	18.90	33.52	33.23	34.55	32.50	31.90	28.21
C2	32.46	30.39	30.34	25.39	36.02	34.62	<b>32.94</b>	30.13
C3	33.73	33.06	33.02	33.58	30.67	27.17	32.48	<b>31.27</b>
D1	27.63	18.90	33.02	33.58	36.02	34.62	32.22	29.04
D2	32.46	30.39	33.52	33.24	30.67	27.17	32.22	30.27
D3	33.73	33.06	30.34	25.39	34.59	32.50	<b>32.87</b>	<b>30.32</b>

\*Les valeurs indiquées en gras correspondent au niveau optimum

### III.3.2.3. Effet de chaque facteur contrôlable

L'importance de l'effet de chaque facteur est quantifiée par la différence entre la valeur maximale et la valeur minimale du rapport S/N, cette différence permet de déterminer le rang du facteur (tableau III. XI). Pour les deux biomasses, le classement des facteurs par ordre décroissant est le suivant :

*Concentration Ni<sup>2+</sup> (mg/L) > pH > Temps > taille des particules.*

Il est important de souligner ici que ce classement est identique pour les deux biomasses.

Tableau III. XI. Réponse du signal S/N et contribution de chaque facteur contrôlé  
(P.M. : *Pleurotus mutilus*, S.R. : *Streptomyces rimosus*)

	pH		Ni (mg/L)		temps (min)		tailles (µm)	
	P.M	S.R	P.M	S.R	P.M	S.R	P.M	S.R
Niveau 1	31.27	27.45	29.54	23.82	31.90	28.21	32.22	29.04
Niveau 2	32.29	30.74	33.34	31.16	32.94	30.13	32.22	30.27
Niveau 3	33.75	31.43	34.42	33.64	32.48	31.27	32.87	30.32
Max-min	2.48	3.98	5.88	9.82	1.04	3.06	0.65	1.28
Rang	2	2	1	1	3	3	4	4
SC <sub>F</sub>	9.30	27.19	39.44	168.41	1.641	14.46	0.851	3.19
cpF (%)	18.16	12.75	76.977	78.97	3.204	6.78	1.661	1.50
Rang	2	2	1	1	3	3	4	4
P	0.057	0.139	0.0061	0.010	0.562	0.229	0.502	0.602

L'analyse de la variance permet d'évaluer la contribution, en pourcentage cpF (%), de chaque facteur (tableau III. XII). Les valeurs obtenues confirment le classement réalisé sur la base de l'amplitude de variation du rapport S/N qui donnait :

*Concentration Ni<sup>2+</sup> (mg/L) > pH > Temps > taille des particules.*

Ce classement qualitatif identique pour les deux biomasses est nuancé sur la base de la contribution de chaque facteur dans la biosorption. En effet, la concentration en nickel constitue le principal facteur déterminant la biosorption avec une contribution de 76.98 % pour la biomasse de *Pleurotus mutilus* et de 78.97 % pour la biomasse de *Streptomyces rimosus*. Le pH constitue le second facteur de variation avec une contribution plus importante pour la biomasse de *Pleurotus mutilus* (18.16 %) par rapport à la biomasse de *Streptomyces rimosus* (12.75 %). L'effet du temps est plus marqué chez la biomasse de *Streptomyces rimosus* (6.78 %) que chez la biomasse de *Pleurotus mutilus* (3.20 %). Enfin, la taille des particules semble avoir un effet secondaire sur la biosorption des deux biomasses avec une contribution de 1.50 % pour la biomasse de *Streptomyces rimosus* et de 1.66 % pour la biomasse de *Pleurotus mutilus* (tableau III. XII).

Tableau III. XII. Valeurs de la somme des carrés de chaque facteur (scF) et contribution en % de chaque facteur (cpF)  
(P.M. : *Pleurotus mutilus*, S.R. : *Streptomyces rimosus*)

Facteurs	Somme des carrés du facteur (SC <sub>F</sub> )		Contribution en pourcent (cpF)	
	PM	SR	PM	SR
A (pH)	9.3	27.19	18.16	12.75
B (Ni(II), mg/L)	39.44	168.41	77	79
C (temps, mn)	1.64	14.46	3.2	6.78
D (taille, µm)	0.85	3.19	1.66	1.5

### III.3.2.4. Le modèle de régression multiple

Les régressions multiples permettent d'établir la relation entre la quantité de Ni<sup>2+</sup> biosorbée q<sub>e</sub> (mg/g) et les facteurs de variation étudiés (d = taille des particules représentée par le diamètre médian, soit 75 µm, 150 µm et 250 µm respectivement pour les classes 50-100 µm, 100-200 µm, 200-300 µm ; Ni<sup>2+</sup> = concentration initiale en nickel en mg/L ; t = temps en minutes). Les équations obtenues sont les suivantes :

$$\text{Pleurotus mutilus : } q_e \text{ (mg/g)} = 1,239 \cdot \text{pH} + 0,016 \cdot \text{Ni}^{2+} + 0,0097 \cdot t + 0,0039 \cdot d + 17,69$$

$$R^2 = 0,90 \quad \text{et } P = 0,028$$

$$\text{Streptomyces rimosus : } q_e \text{ (mg/g)} = 1,99 \cdot \text{pH} + 0,033 \cdot \text{Ni}^{2+} + 0,051 \cdot t + 0,0069 \cdot d + 1,92$$

$$R^2 = 0,87 \quad P = 0,048$$

Le modèle polynomial de second degré semble sous-estimer la capacité de biosorption des deux biomasses (figure III. 24).

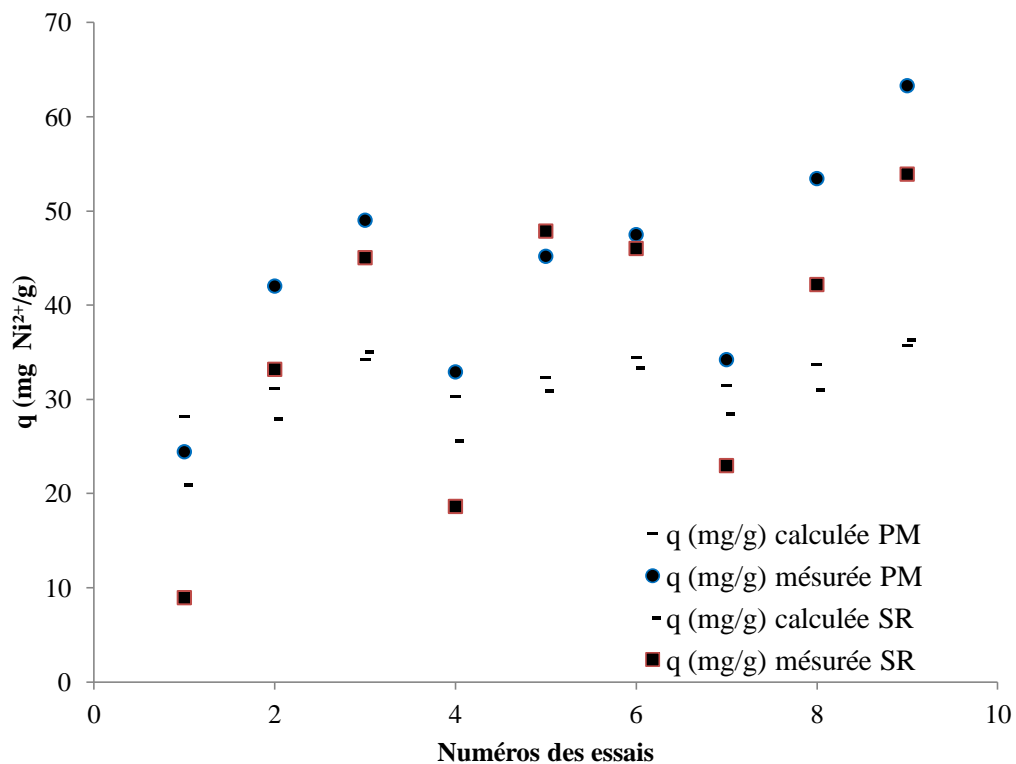


Figure III. 24. Comparaison entre les valeurs mesurées de  $q$  (mg  $\text{Ni}^{2+}$ /g) et les valeurs prédites (calculées) (PM = *Pleurotus mutilus*, SR = *Streptomyces rimosus*)

### III.3.2.5. Comparaison des valeurs optimales des variables étudiées

Il s'agit ici de comparer les valeurs optimales des facteurs étudiés entre la méthode des facteurs simples (Approche monofactorielle) et la méthode de Taguchi (tableau III. XIII).

Pour le pH, pour les deux biomasses et pour les deux méthodes la valeur optimale semble indépendante de la nature de la biomasse et de la méthode expérimentale, elle correspond à pH 8. Cette valeur correspond à la limite de la prépondérance de la précipitation chimique de  $\text{Ni}(\text{OH})_2$  contrairement au résultat de Yen et Li (2015) qui considère cette prépondérance à partir d'un  $\text{pH} > 7$ .



Les concentrations optimales en nickel ( $\text{Ni}^{2+}$  mg/L) sont respectivement de 479 mg/L pour *Pleurotus mutilus* et de 428 mg/L pour *Streptomyces rimosus* pour la méthode simple, la concentration optimale est de 450 mg/L pour les deux biomasses pour la méthode de Taguchi. La concentration optimale diffère selon la méthode, elle est plus faible pour la méthode d'optimisation de Taguchi, et l'écart entre les deux méthodes est relativement plus important pour la biomasse morte de *Streptomyces rimosus*.

Le temps nécessaire à l'équilibre est de 79 min pour la biomasse de *Pleurotus mutilus* et de 93 min pour *Streptomyces rimosus* pour la méthode simple, il est de 60 min pour la biomasse de *Pleurotus mutilus* et de 90 min pour *Streptomyces rimosus* pour la méthode de Taguchi. Le temps nécessaire à l'équilibre est plus faible pour la biomasse morte de *Pleurotus mutilus* avec la méthode de Taguchi. Le temps nécessaire à l'équilibre est du même ordre de grandeur pour la biomasse morte de *Streptomyces rimosus* pour les deux méthodes. Le phénomène de biosorption est relativement rapide, le temps nécessaire à l'équilibre serait compris entre 60 et 90 min.

Pour la taille des particules, le comportement de la biomasse de *Pleurotus mutilus* semble indépendant de la taille des particules ; l'optimum est obtenu avec les particules de la classe 100-200  $\mu\text{m}$  pour la biomasse de *Streptomyces rimosus* pour la méthode simple. L'optimum est obtenu avec les particules de la classe 200-300  $\mu\text{m}$  pour les deux biomasses pour la méthode de Taguchi. La différence entre les deux méthodes est importante pour ce facteur relatif à la taille des particules.

Par ailleurs, La combinaison des 4 facteurs à leur niveau optimum permet d'obtenir une biosorption nettement plus élevée que celle obtenue pour chacun des facteurs simples. En effet, pour l'approche monofactorielle et pour la biomasse fongique, la valeur maximale de la biosorption obtenue est de 49 mg/g pour une concentration optimale en nickel de 479 mg/L, la combinaison des facteurs à leur optimum obtenu selon la méthode de Taguchi permet d'obtenir une biosorption de 66.67 mg/g, soit une augmentation de 36.23 % par rapport à la valeur maximale de la méthode monofactorielle. Pour la biomasse bactérienne, la valeur maximale de la biosorption obtenue par l'approche monofactorielle est de 54 mg/g pour une concentration optimale en nickel de 428 mg/L, la combinaison des facteurs à leur optimum obtenu selon la méthode de Taguchi permet d'obtenir une biosorption de 70.77 mg/g, soit une augmentation de 31.81 % par rapport à la valeur maximale de la méthode monofactorielle.

Tableau III. XIII. Les facteurs optimisés et la capacité de biosorption obtenue (mg/g)

(PM = *Pleurotus mutilus*, SR = *Streptomyces rimosus*)

	Approche monofactorielle		Méthode Taguchi	
	PM	SR	PM	SR
pH	8	8	8	8
Concentration Ni(II) (mg/L)	479	428	450	450
Temps (min)	79	93.44	60	90
Taille des particules (µm)	Pas d'effet	100-200µm	250	250
Capacité de biosorption	48.94	53.69	66.67	70.77

## Conclusion

Le présent travail a pour but de mettre en œuvre une méthode d'optimisation des capacités de biosorption du nickel par deux biomasses mortes, l'une fongique (*Pleurotus mutilus*), et l'autre bactérienne (*Streptomyces rimosus*).

L'approche monofactorielle montre que la biosorption maximale est obtenue à pH = 8 pour les deux biomasses microbiennes, la concentration optimale est sensiblement plus faible pour la biomasse fongique, le phénomène est relativement plus rapide au niveau de la biomasse fongique, la taille des particules n'affecte pas la biosorption de cette biomasse.

La méthode de Taguchi réalisée sur la base d'un plan orthogonal L9 montre que l'influence des facteurs contrôlés diminue dans le sens concentration en Ni<sup>2+</sup> > pH > Temps > taille des particules. Les valeurs optimales des facteurs étudiés sont pH=8, [Ni<sup>2+</sup>] = 450, t=60, d=200-300 µm (A3B3C2D3) pour la biomasse de *Pleurotus mutilus*, et pH=8, [Ni<sup>2+</sup>] = 450, t=90, d=200-300 µm (A3B3C3D3) pour la biomasse de *Streptomyces rimosus*. Ces valeurs optimales sont comparables pour les deux biomasses, à l'exception du facteur temps.

Ce classement qualitatif identique pour les deux biomasses est nuancé sur la base de la contribution de chaque facteur dans la biosorption. En effet, la concentration en nickel constitue le principal facteur déterminant la biosorption avec une contribution de 76.98 % pour la biomasse de *Pleurotus mutilus* et de 78.97 % pour la biomasse de *Streptomyces rimosus*. Le pH constitue le second facteur de variation avec une contribution plus importante pour la biomasse de *Pleurotus mutilus* (18.16 %) par rapport à la biomasse de *Streptomyces rimosus* (12.75 %). L'effet du temps est plus marqué chez la biomasse bactérienne (6.78 %)

que chez la biomasse fongique (3.20 %). Enfin, la taille des particules semble avoir un effet secondaire sur la biosorption des deux biomasses.

Les équations de régression multiple calculées permettent de prédire raisonnablement les valeurs de la biosorption de  $\text{Ni}^{2+}$  par les deux biomasses.

La comparaison des valeurs optimales des facteurs étudiés entre la méthode des facteurs simples et la méthode de Taguchi montre pour le pH, pour les deux biomasses et pour les deux méthodes que la valeur optimale semble indépendante de la nature de la biomasse et de la méthode expérimentale, elle correspond à pH 8. Cette valeur correspond à la limite de la prépondérance de la précipitation chimique de  $\text{Ni}(\text{OH})_2$  sur la biosorption.

Les concentrations optimales en nickel sont sensiblement plus élevées pour la méthode monofactorielle (488 mg/L et 533,19 mg/L) par rapport à la concentration optimale qui est de 450 mg/L pour les deux biomasses pour la méthode de Taguchi.

Le temps nécessaire à l'équilibre (79 min et 93 min) obtenu pour la méthode monofactorielle est comparable à celui de la méthode Taguchi (60 min et 90 min)

Pour la taille des particules, le comportement de la biomasse de *Pleurotus mutilus* semble indépendant de la taille des particules ; l'optimum est obtenu avec les particules de la classe 100-200  $\mu\text{m}$  pour la biomasse de *Streptomyces rimosus* pour la méthode monofactorielle. L'optimum est obtenu avec les particules de la classe 200-300  $\mu\text{m}$  pour les deux biomasses pour la méthode de Taguchi. La différence entre les deux méthodes est importante pour ce facteur relatif à la taille des particules.

Par ailleurs, La combinaison des 4 facteurs à leur niveau optimum permet d'obtenir une biosorption nettement plus élevée que celle obtenue par l'approche monofactorielle. En effet, la combinaison des facteurs à leur optimum obtenu selon la méthode de Taguchi permet une augmentation de la biosorption par rapport à la valeur maximale obtenue par l'approche monofactorielle, cette augmentation est de 36.23 % pour la biomasse fongique et elle est de 31.81 % pour la biomasse bactérienne.

Enfin, les deux biomasses microbiennes présentent des capacités de biosorption appréciables pour le nickel. La combinaison des facteurs de variation permet de mieux cerner les capacités de biosorption de ces biomasses.

### **III.4. Application de la fonction de Gran (1952) et de modèles de complexation de surface aux données du titrage potentiométrique**

La contamination de l'environnement par les métaux lourds engendre des problèmes de santé publique en raison de leurs effets toxiques et de l'absence de leur dégradation (Voleky, 1990 ; Naja et Volesky, 2009 ; Formina et Gadd, 2014). La spéciation des métaux est essentielle pour prédire leur mobilité et leur impact sur les systèmes écologiques.

Les biomasses microbiennes mortes présentent une forte affinité pour les métaux en raison de la présence d'une diversité de groupes fonctionnels de surface sur leurs parois cellulaires (Pan et al., 2006 ; Volesky, 2007 ; Kenney et Fein 2011 ; Amirnia et al., 2012 ; Liu et al., 2013 ; Sahmoune, 2018).

De nombreux travaux ont porté sur le développement de modèles mécanistes appropriés pour décrire les réactions de surface et expliquer la biosorption des métaux lourds (Turner et Fein, 2006 ; Burnett et al., 2006 ; Amirnia et al., 2012 ; Liu et al., 2013 ; Zhu et al., 2016). Les approches empiriques basées sur les coefficients de distribution ou sur les isothermes semi-empiriques de Langmuir ou de Freundlich ont été souvent utilisées pour décrire la biosorption des métaux par les substrats solides. Bien que ceux-ci fournissent une mesure directe de la capacité de sorption, les résultats de l'approche empirique ou semi-empirique dépendent de la composition de la solution et du substrat, ils ne peuvent donc pas être extrapolés. En outre, les isothermes de Langmuir et de Freundlich ne tiennent pas compte de la charge électrique sur des surfaces solides et de la structure des espèces adsorbées (Sposito, 1984 ; Liu et al, 2013). En revanche, les modèles de complexation de surface à caractère thermodynamique fournissent une description moléculaire de la sorption du métal en utilisant une approche d'équilibre qui définit les espèces de surface, les réactions chimiques, les bilans de masse et les soldes de charge (Turner et Fein, 2006 ; Hea et al., 2013 ; Zhu et al., 2016). Ces modèles ont un avantage par rapport aux modèles empiriques ou semi-empiriques car ils fournissent, une fois calibrés, une prédiction exacte de la spéciation des métaux pour diverses compositions de solutions (force ionique, fond électrolytique, les ions concurrents) (Liu et al., 2013). Les modèles de complexation de surface ont été mis en œuvre pour décrire la sorption des ions métalliques sur la surface des biomasses bactériennes (Fein et al., 1997 ; Daughney et Fein, 1998 ; Burnett et al., 2006 ; Mishra et al., 2010 ; Hea et al., 2013) ou fongiques (Zhu et al., 2016).

Les travaux réalisés sur des biomasses microbiennes et ayant mis en œuvre le logiciel Protofit (Turner et Fein, 2006) sont ceux de :

-Burnett et al. (2006) traitant de l'effet du pH et de la force ionique sur l'adsorption de protons par une bactérie thermophile Gram-positif *Anoxybacillus flavithermus*. Les résultats montrent que la modélisation à trois sites (carboxyle, phosphoryle et amino) donne de meilleurs résultats.

-Turner et Fein (2006) ont présenté un ensemble de données de titrage bactérien pour *Bacillus subtilis*. Ils utilisent le modèle non-électrostatique à 4 sites et le modèle à capacité constante à 3 sites. Ils montrent que le modèle non-électrostatique décrit raisonnablement les données, mais que le modèle à capacité constante fournit un ajustement meilleur au comportement de protonation de la surface. Cependant, bien que cette utilisation du modèle à capacité constante offre un bon ajustement empirique aux données, les effets électrostatiques impliqués dans le modèle ne sont probablement pas mécaniquement ou quantitativement réalistes pour une surface bactérienne.

-He et al. (2013) ont montré pour *Acidianus manzaesis* l'existence de 3 sites fonctionnels sur la base de la valeur de la variance  $V(Y)$ .

-Zhu et al. (2016) ont étudié la biosorption du cadmiun et du nickel par une biomasse fongique de *Mucoromycote sp.* XLC en mettant en œuvre un modèle non-électrostatique. Ils ont mis en évidence l'existence de 4 sites fonctionnels.

Ces travaux montrent que le modèle non-électrostatique serait mieux adapté pour décrire la biosorption des métaux lourds par des surfaces biologiques hétérogènes.

L'objectif de ce travail est d'utiliser une approche mécaniste moléculaire pour obtenir les paramètres du modèle thermodynamique par le biais du titrage acide-base afin de décrire les capacités de biosorption de deux biomasses microbiennes mortes, l'une bactérienne (*Streptomycesrimosus*) et l'autre fongique (*Pleurotus mutilus*). A cet effet, le logiciel libre ProtoFit (Turner et Fein, 2006) sera utilisé.

#### **III.4.1. Les courbes de titrage potentiométrique**

Les courbes de titrage potentiométrique des deux biomasses pour les deux fonds électrolytiques montrent certaines différences selon la nature de la biomasse et selon la concentration du fond électrolytique constitué de  $\text{NaNO}_3$ .

En effet, pour la biomasse de *Pleurotus mutilus*, l'écart entre les deux courbes de titrage se manifeste dans des conditions alcalines, la courbe obtenue avec le fond électrolytique 0.01M dépasse celle obtenue avec le fond électrolytique 0.1 M (figure III. 25). Pour la biomasse de

*Streptomyces rimosus*, l'écart entre les deux courbes du titrage se manifeste dans des conditions neutres à acides et dans la zone alcaline ; la courbe obtenue avec le fond électrolytique 0.01 M dépasse celle obtenue avec le fond électrolytique 0.1 M (figure III. 26). Selon la concentration du fond électrolytique, la courbe du titrage de *Pleurotus mutilus* dépasse celle de *Streptomyces rimosus* lorsque les conditions deviennent alcalines (pH >8) pour le fond électrolytique 0.01 M (figure III. 27). Pour le fond électrolytique 0.1 M, la courbe du titrage de *Pleurotus mutilus* est supérieure à celle de *Streptomyces rimosus* à l'exception de la condition neutre (pH = 7) où les deux courbes se superposent (figure III. 28).

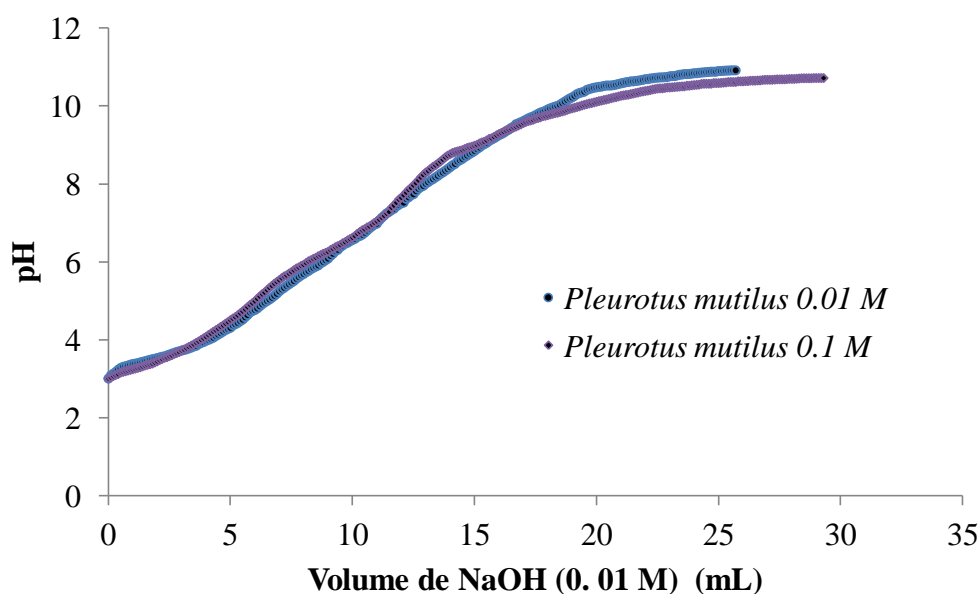


Figure III. 25. Courbes de titrage potentiométrique de la biomasse de *Pleurotus mutilus* pour les deux fonds électrolytiques.

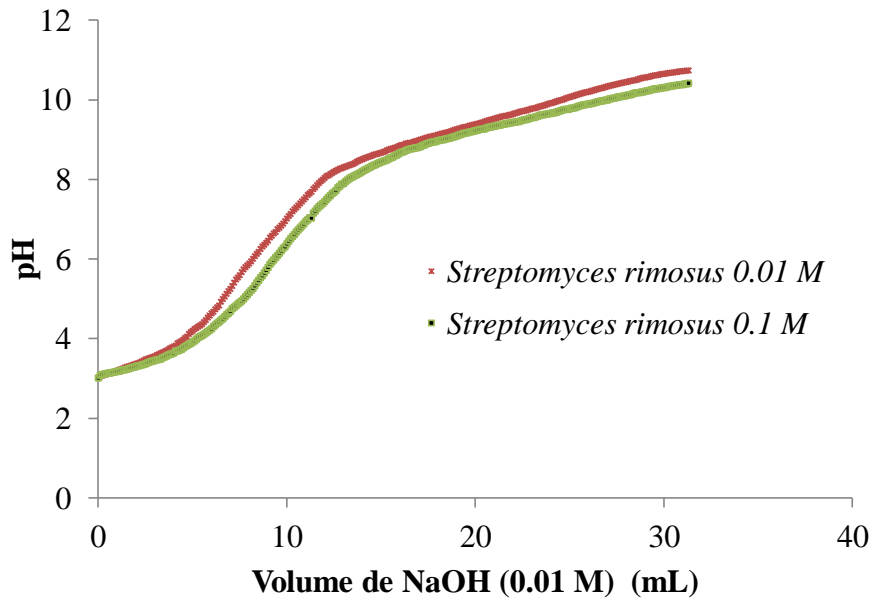


Figure III. 26. Courbes de titrage potentiométrique de la biomasse de *Streptomyces rimosus* pour les deux fonds électrolytiques.

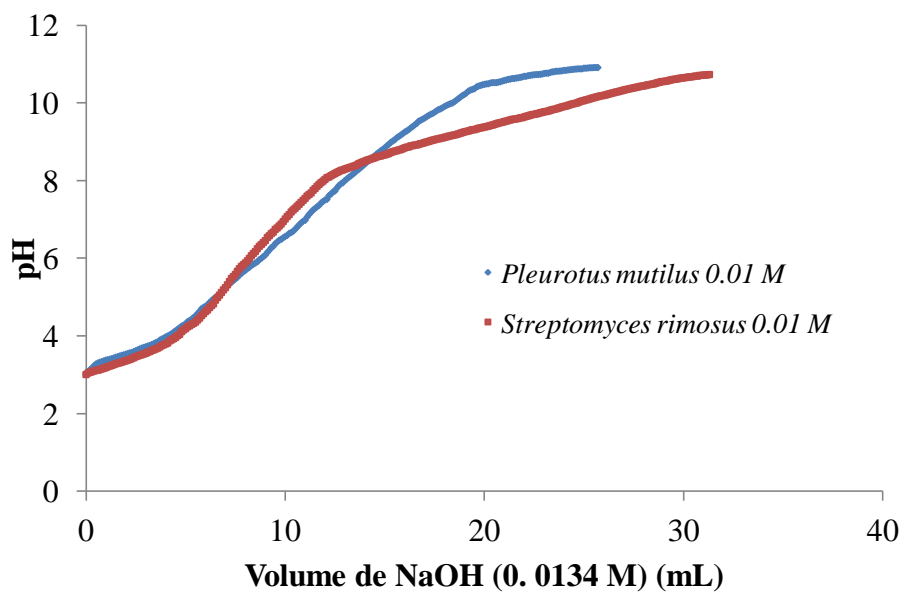


Figure III. 27. Courbes de titrage potentiométrique des deux biomasses de *Pleurotus mutilus* et de *Streptomyces rimosus* pour le fond électrolytique 0.01 M

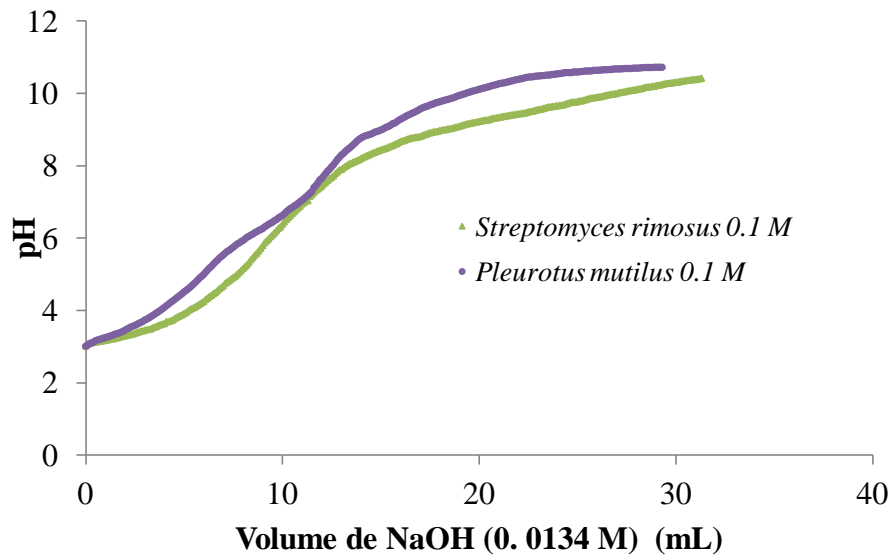


Figure III. 28. Courbes de titrage potentiométrique des deux biomasses de *Pleurotus mutilus* et de *Streptomyces rimosus* pour le fond électrolytique 0.1 M.

### III.4.2. Les fonctions de GRAN (1952)

Les fonctions de GRAN (1952) pour les deux fonds électrolytiques étudiés sont les suivantes (figures III.29 et III.30) :

-fond électrolytique 0.01 M :

$$G_1 = -0.008X + 0.028 \quad (R^2=0.99) \rightarrow V_{e1} = -0.028/-0.008 = 3.5 \text{ mL}$$

$$G_2 = 1.17 \cdot 10^{12} X - 5.49 \cdot 10^{12} \quad (R^2=0.99) \rightarrow V_{e2} = -5.49/1.17 = 4.71 \text{ mL}$$

-fond électrolytique 0.1 M :

$$G_1 = -0.013X + 0.046 \quad (R^2=0.98) \rightarrow V_{e1} = -0.046/-0.013 = 3.53 \text{ mL}$$

$$G_2 = 2.63 \cdot 10^{11} X - 9.66 \cdot 10^{11} \quad (R^2=0.99) \rightarrow V_{e2} = -9.66/-2.63 = 3.69 \text{ mL}$$



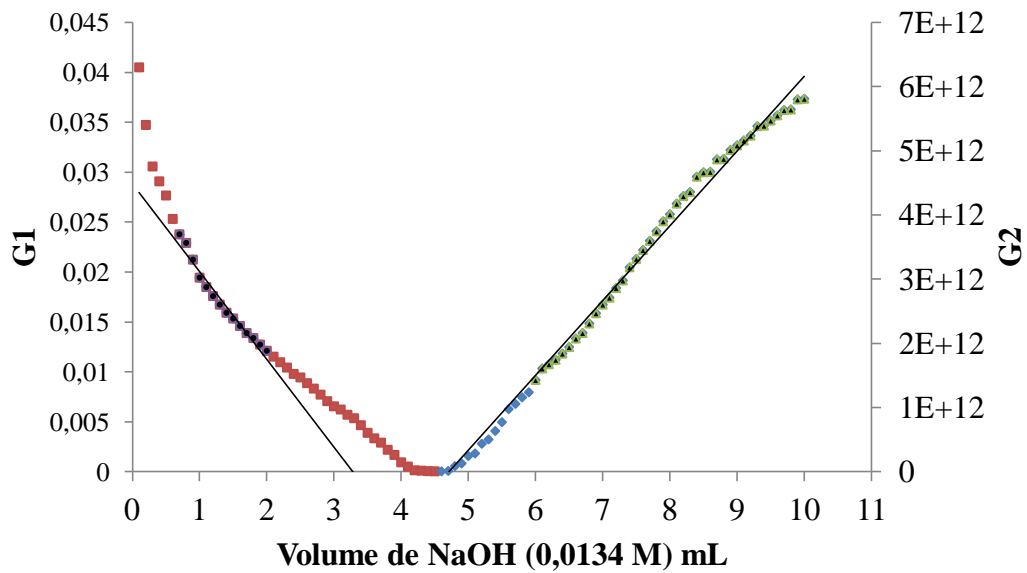


Figure III. 29. Les fonctions de GRAN pour le fond électrolytique ( $\text{NaNO}_3$  0.01 M)

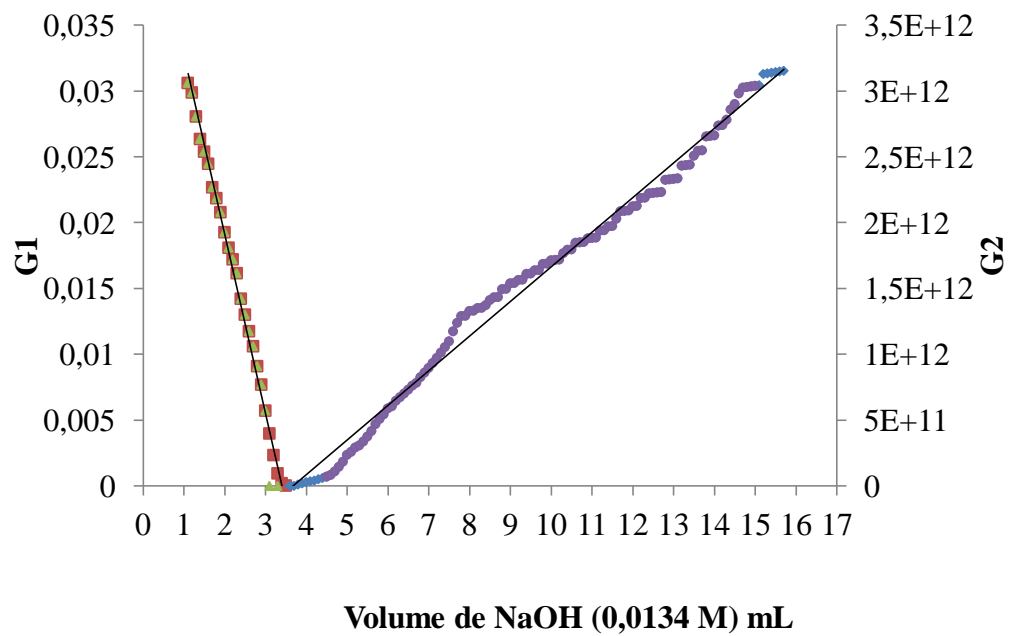


Figure III. 30. Les fonctions de GRAN pour le fond électrolytique ( $\text{NaNO}_3$  0.1 M)

Pour la biomasse de *Pleurotus mutilus*, les fonctions de GRAN (1952) pour les deux fonds électrolytiques étudiés sont les suivantes (figures III. 31&III. 32) :

-fond électrolytique 0.01 M :

$$G_1 = -0.008X + 0.032 \quad (R^2=0.88) \rightarrow V_{e1} = -0.032 / -0.008 = 4 \text{ mL}$$

$$G_2 = 7.71 \cdot 10^{11} X - 1.34 \cdot 10^{13} \quad (R^2=0.99) \rightarrow V_{e2} = 1.34 \cdot 10^{13} / 7.71 \cdot 10^{11} = 17.38 \text{ mL}$$

-fond électrolytique 0.1 M :

$$G_1 = -0.010X + 0.040 \quad (R^2=0.96) \rightarrow V_{e1} = -0.040 / -0.010 = 4 \text{ mL}$$

$$G_2 = 4 \cdot 10^{11} X - 6 \cdot 10^{12} \quad (R^2 = 0.98) \rightarrow V_{e2} = 6 \cdot 10^{12} / 4 \cdot 10^{11} = 17.20 \text{ mL}$$

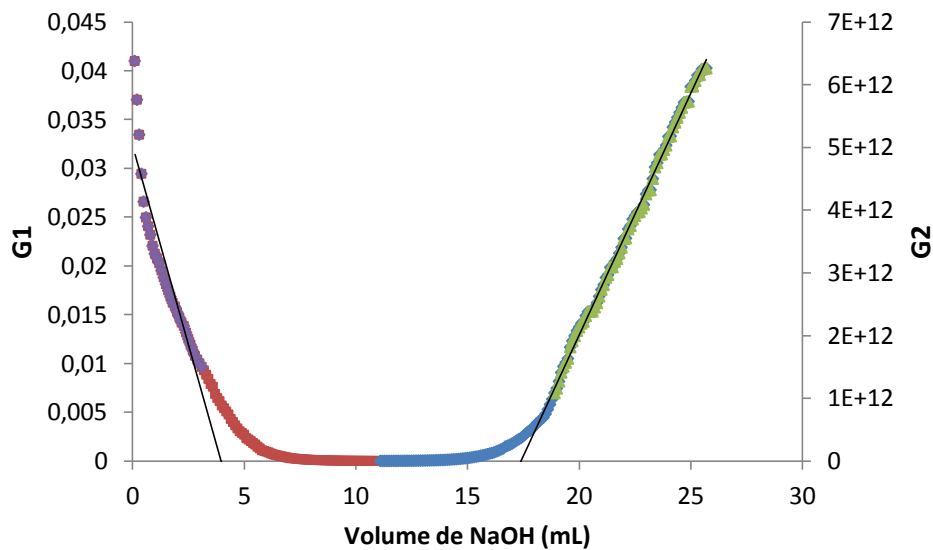


Figure III.31. Les fonctions de GRAN pour la biomasse de *Pleurotus mutilus* en présence du fond électrolytique 0.01 M

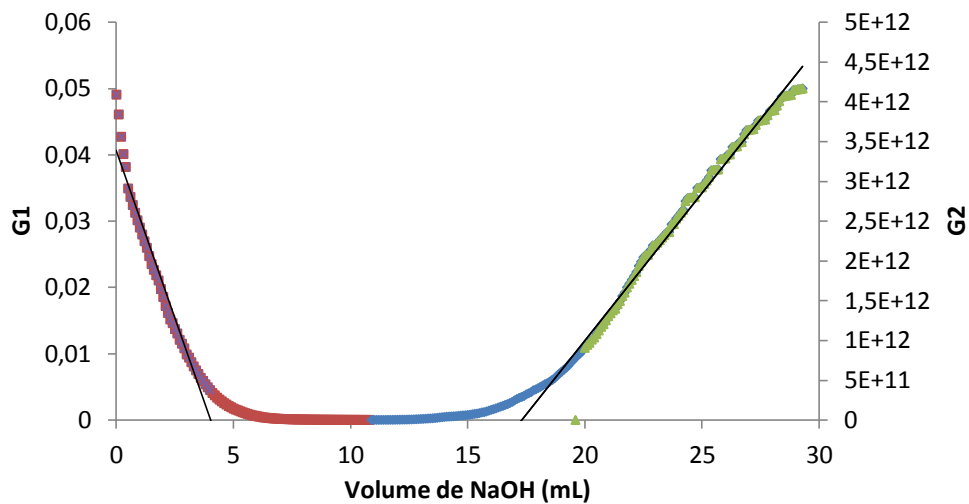


Figure III.32. Les fonctions de GRAN pour la biomasse de *Pleurotus mutilus* en présence du fond électrolytique 0.1 M

\*

Pour la biomasse de *Streptomyces rimosus*, les fonctions de GRAN (1952) pour les deux fonds électrolytiques étudiés (figures III.33 & III.34) sont les suivantes :

-fond électrolytique 0.01 M :

$$G_1 = -0.009X + 0.041 \quad (R^2 = 0.98) \rightarrow V_{e1} = -0.041 / -0.009 = 4.55 \text{ mL}$$

$$G_2 = 5.90 \cdot 10^{11} X - 1.42 \cdot 10^{13} \quad (R^2 = 0.99) \rightarrow V_{e2} = 1.42 \cdot 10^{13} / 5.90 \cdot 10^{11} = 24.03 \text{ mL}$$

-fond électrolytique 0.1 M :

$$G_1 = -0.007X + 0.041 \quad (R^2 = 0.99) \rightarrow V_{e1} = 0.041 / -0.007 = 5.86 \text{ mL}$$

$$G_2 = 2.42 \cdot 10^{11} X - 5.65 \cdot 10^{12} \quad (R^2 = 0.97) \rightarrow V_{e2} = 5.65 \cdot 10^{12} / 2.42 \cdot 10^{11} = 23.38 \text{ mL}$$

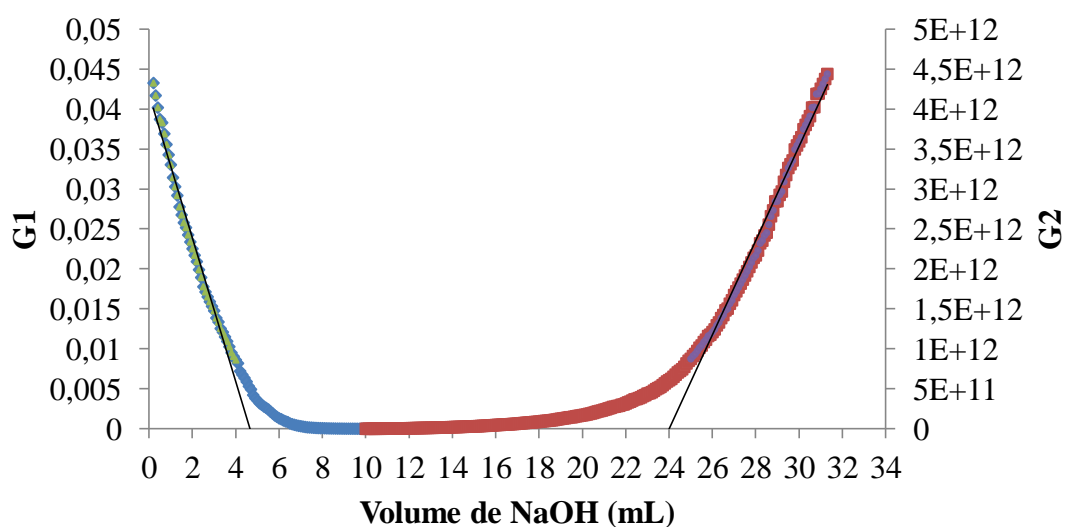


Figure III.33. Les fonctions de GRAN pour la biomasse de *Streptomyces rimosus* en présence du fond électrolytique 0.01 M

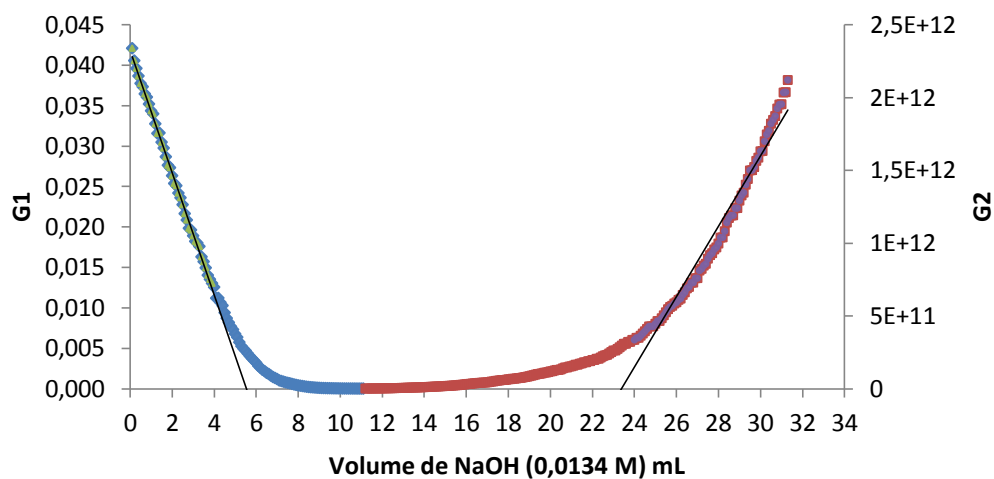


Figure III.34. Les fonctions de GRAN pour la biomasse de *Streptomyces rimosus* en présence du fond électrolytique 0.1 M

### III.4.3. La concentration totale des protons consommés en fonction du pH

Les variations de la concentration totale des protons consommés en fonction du pH de la suspension pour les deux biomasses et pour les deux fonds électrolytiques sont représentées sur les figures III.35, III.36, III.37, III.38. La consommation des protons débute à des valeurs de pH qui dépendent de la biomasse et de la concentration du fond électrolytique. En effet, pour la biomasse de *Pleurotus mutilus*, cette consommation commence à un pH = 4.19 pour le fond électrolytique 0.01 M, et à pH = 4.46 pour le fond électrolytique 0.1 M ; pour la biomasse de *Streptomyces rimosus*, cette consommation commence à pH = 4.54 pour le fond électrolytique 0.01 M, et à pH = 4.73 pour le fond électrolytique 0.1 M. Cette consommation de protons semble démarrer plutôt pour la biomasse qui présente la valeur du  $pH_{ZPC}$  la plus élevée.

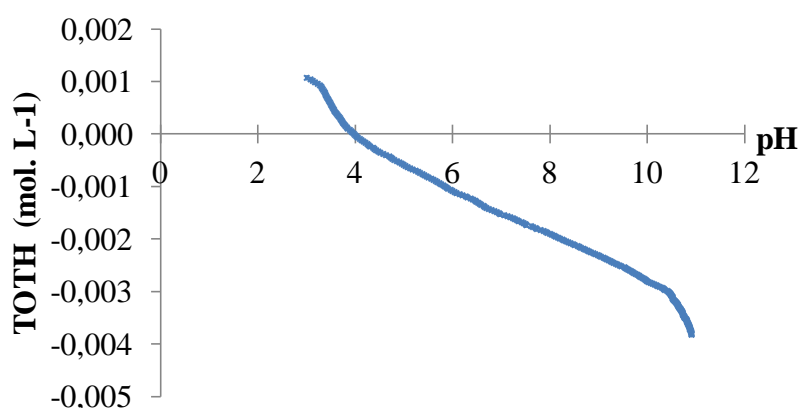


Figure III.35. Variation de la concentration totale des protons consommés en fonction du pH par la biomasse de *Pleurotus mutilus* en présence du fond électrolytique 0.01 M

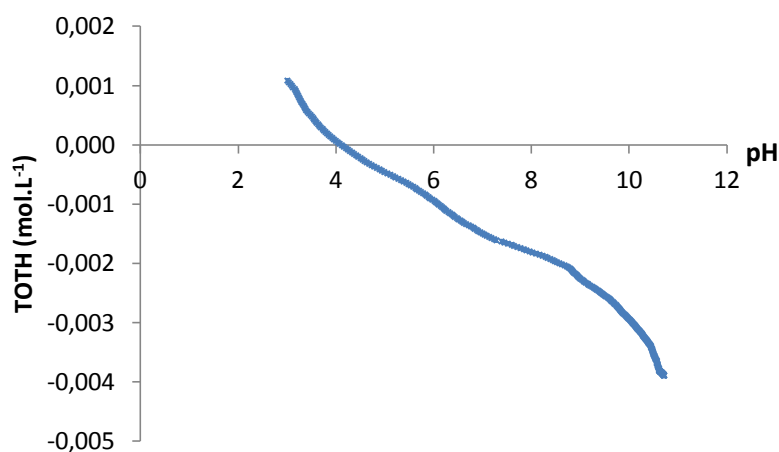


Figure III.36. Variation de la concentration totale des protons consommés en fonction du pH par la biomasse de *Pleurotus mutilus* en présence du fond électrolytique 0.1 M

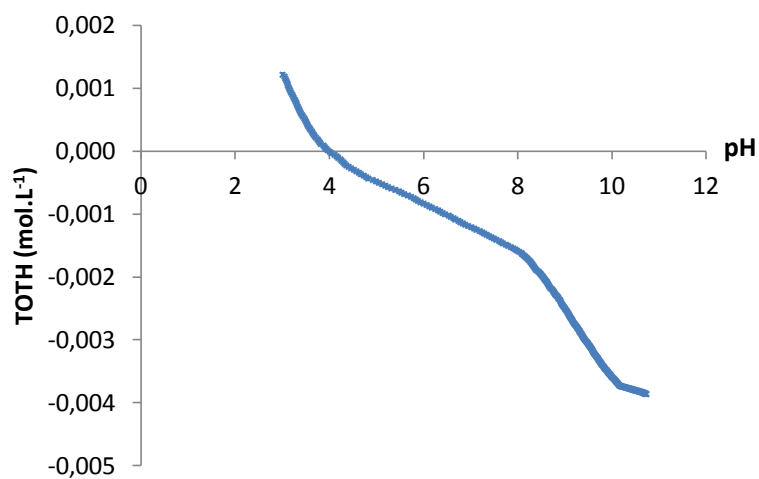


Figure III.37. Variation de la concentration totale des protons consommés en fonction du pH par la biomasse de *Streptomyces rimosus* en présence du fond électrolytique 0.01 M

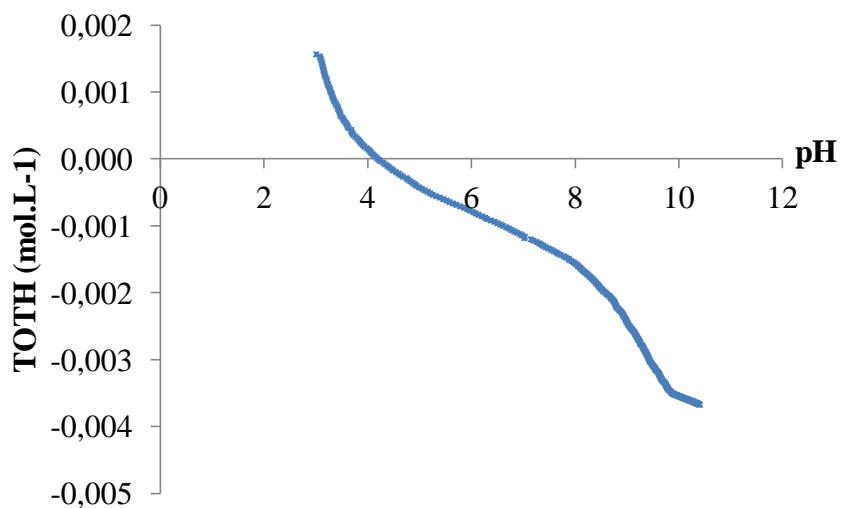


Figure III.38. Variation de la concentration totale des protons consommés (TOTH (mol/L) en fonction du pH par la biomasse de *Streptomyces rimosus* en présence du fond électrolytique 0.1 M

La concentration totale des sites de surface ( $H_s$ , mol/L) calculée à partir des deux points d'équivalence  $V_{e1}$  et  $V_{e2}$  est relativement plus élevée pour la biomasse bactérienne de *Streptomyces rimosus* par rapport à la biomasse fongique de *Pleurotus mutilus*, et elle semble peut varier en fonction de la concentration du fond électrolytique (tableau III.XIV, figure III.39).

Tableau III.XIV. Les résultats de l'application des fonctions de GRAN (1952)

Biomasses	Fonds électrolytique	$V_{e1}$ (ml)	$V_{e2}$ (ml)	$H_s$ (mol/L)
Pleurotus mutilus	NaNO <sub>3</sub> 0.01 M	4	17.38	3.27
	NaNO <sub>3</sub> 0.1 M	4.06	17.20	3.48
Streptomyces rimosus	NaNO <sub>3</sub> 0.01 M	4.55	24.03	4.90
	NaNO <sub>3</sub> 0.1 M	5.86	23.38	4.65
<u>Fonds électrolytique</u>				
	NaNO <sub>3</sub> 0.01 M	3.50	4.71	
	NaNO <sub>3</sub> 0.1 M	3.53	3.69	

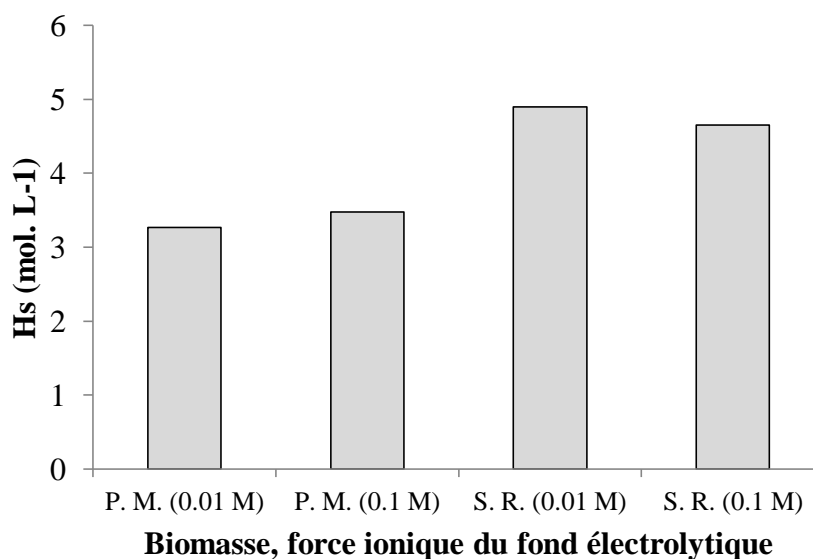


Figure III. 39. Concentration totale des sites de surface des deux biomasses en fonction de la force ionique du fond électrolytique (PM = *Pleurotus mutilus*, SR = *Streptomyces rimosus*)

### III.4.4. Utilisation du logiciel ProtoFit 2.1. rev 1

#### III.4.4.1. Les paramètres utilisés

Les paramètres utilisés dans la mise en œuvre pour la simulation et l'optimisation sont présentés dans le tableau III. XV.

Tableau III. XV. Les paramètres utilisés pour l'optimisation et la simulation par ProtoFit

Paramètres	Valeurs
Nombre de sites	4
Types de sites	acides
Valeurs initiales des logK	-3 -6 -9 -12
Concentration initiale des sites (logC)	2
Modèles de complexation de surface	DSM, NEM
Fond électrolytique	NaNO <sub>3</sub> (0.1 et 0.01 mol/L)
Titrant	NaOH (0.01 mol/L)
Volume de la solution	50 mL
Masse de la biomasse	3 g/L

#### III.4.4.2. Les représentations obtenues par les modèles

Les représentations graphiques obtenues portent, dans un premier temps, sur la modélisation du titrage avec la comparaison entre les volumes mesurés et les volumes calculés par le modèle (figures III. 40 & III. 41). Par la suite, la simulation permet d'optimiser les constantes de spéciation de surface en minimisant le poids de la somme des carrés entre les résultats de la fonction dérivée  $Q^*_{\text{adsorbant}}$  ( $Q^*_{\text{ads}}$ ) et ceux de la fonction dérivée  $F^*_{\text{adsorbant}}$  ( $F^*_{\text{ads}}$ ) du modèle. Pour chaque valeur de  $Q^*_{\text{adsorbant}}$ , une valeur correspondante de  $F^*_{\text{adsorbant}}$  est calculée (figures III. 42 & III. 43).

Les données du titrage sont comparées avec les résultats des modèles de simulation. En général, la concordance entre les valeurs mesurées et les valeurs calculées est relativement satisfaisante.

La largeur et la position des pics dépendent du modèle de protonation de surface utilisé. Les pics générés par le modèle non électrostatique NEM sont relativement étroits et centrés sur le pKa de la réaction. Les pics générés par le modèle électrostatique DSM seront plus larges et décalés soit vers les faibles valeurs du pH (pour les espèces chargées positivement) ou vers les



plus fortes valeurs du pH (pour les espèces chargées négativement). Si les effets électrostatiques jouent un rôle important dans la spéciation de surface, les pics changeront de position lorsque la force ionique change (Turner et Fein, 2006).

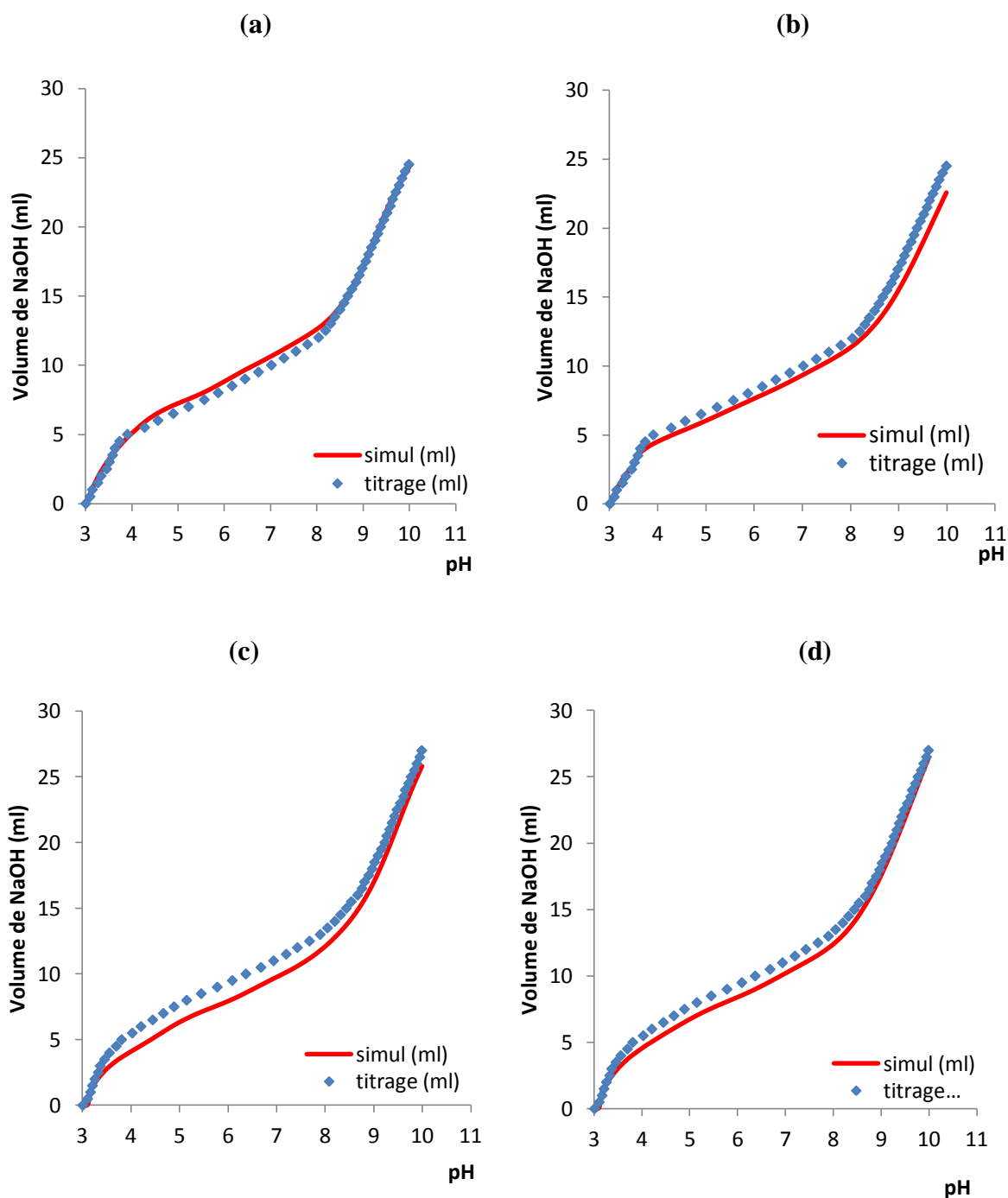


Figure III. 40. Courbes du titrage expérimental (bleu) et simulé par le modèle DSM et le modèle NEM pour la biomasse de *Streptomyces rimosus* pour les deux forces ioniques du fond électrolytique ((a) : modèle NEM, force ionique = 0.01 mol/L ; (b) : modèle DSM, force ionique : 0.01 mol/L; (c) : modèle NEM, force ionique = 0.1 mol/L ; (d) : modèle DSM, force ionique : 0.1 mol/L)

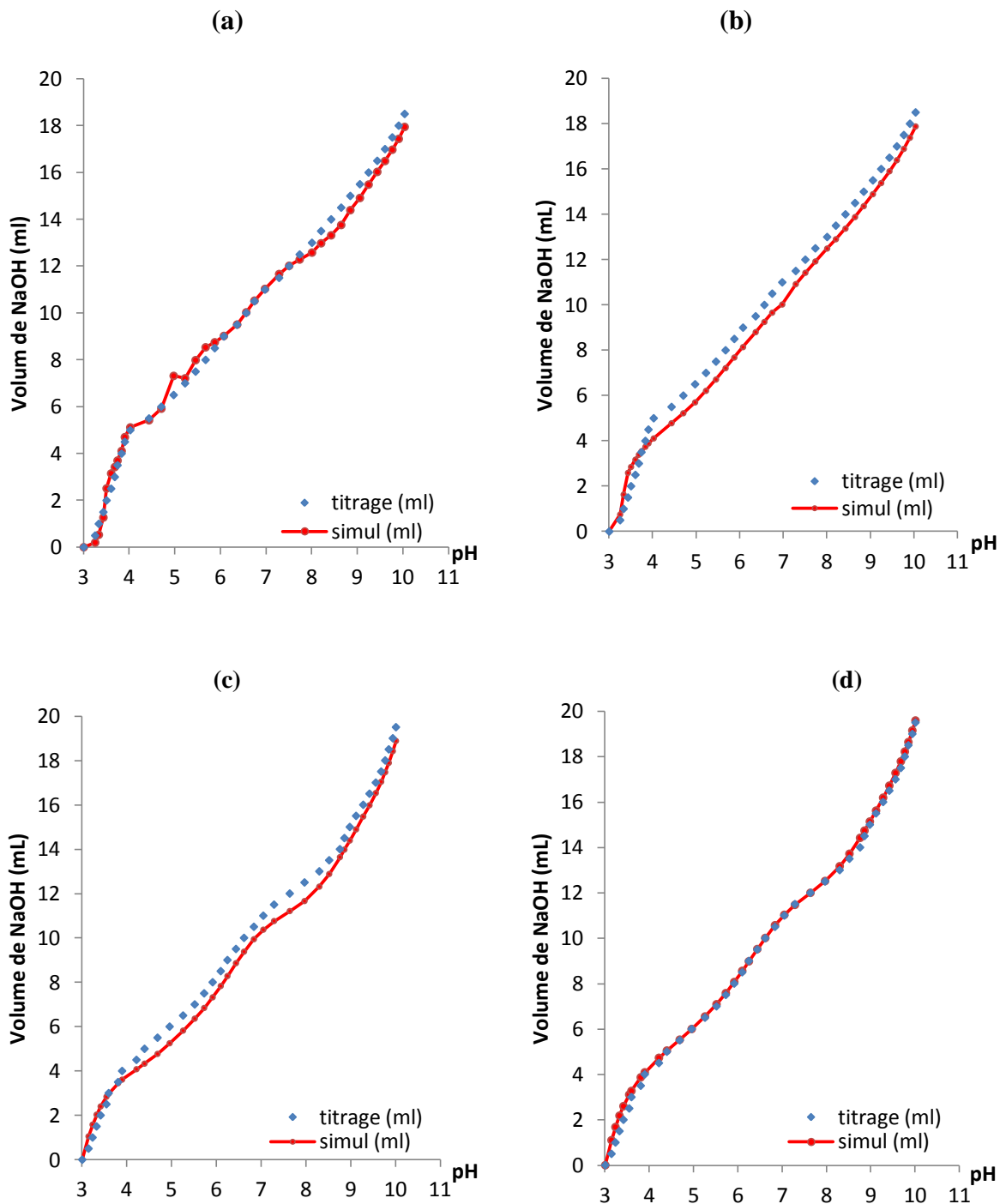


Figure III. 41. Courbes du titrage expérimental (bleu) et simulé par le modèle DSM et le modèle NEM pour la biomasse de *Pleurotus mutilus* pour les deux forces ioniques du fond électrolytique ((a) : modèle NEM, force ionique = 0.01 mol/L ; (b) : modèle DSM, force ionique : 0.01 mol/L ; (c) : modèle NEM, force ionique = 0.1 mol/L ; (d) : modèle DSM, force ionique : 0.1 mol/L)

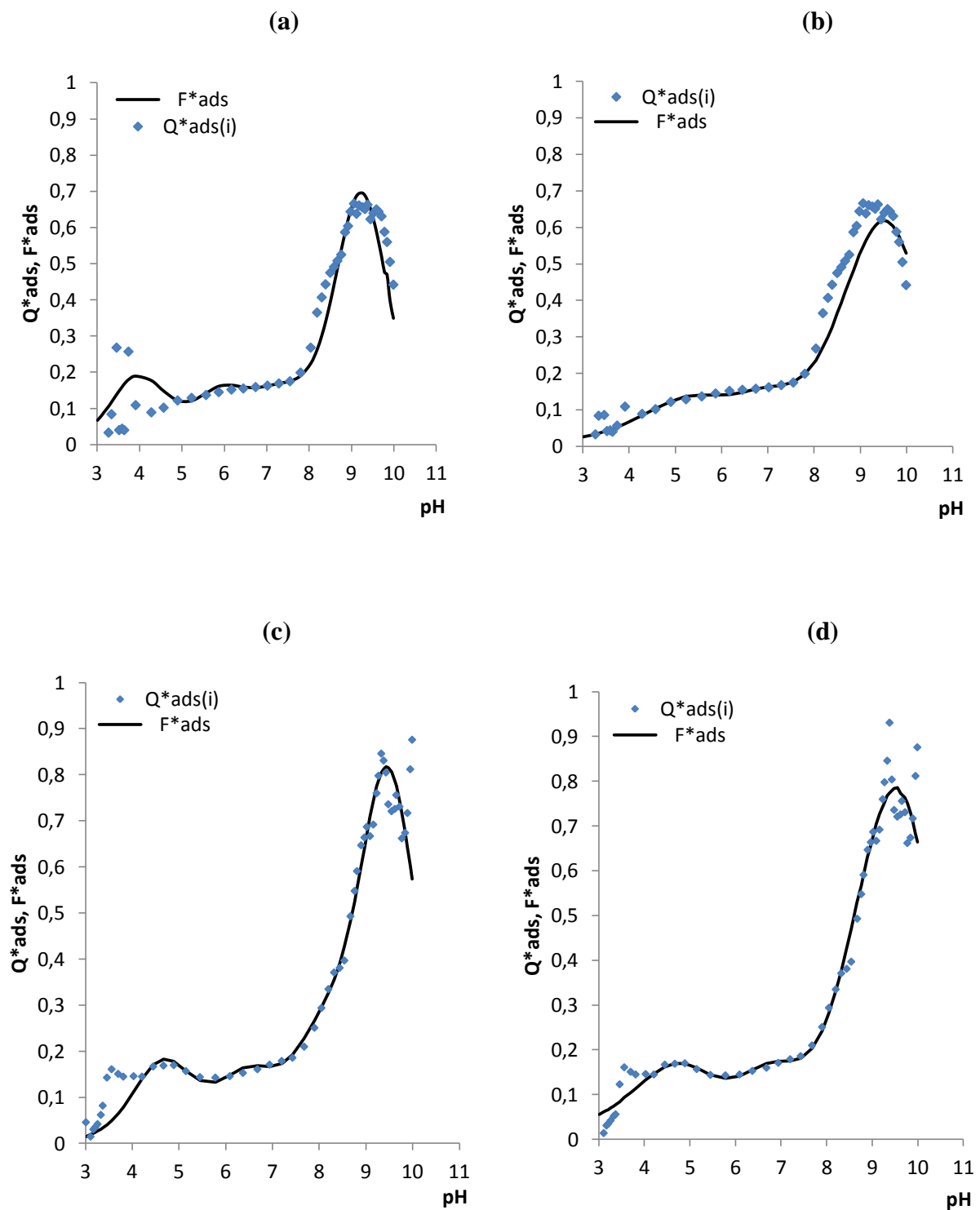


Figure III.42. La fonction  $Q^*_{ads}$  comparée avec les résultats des deux modèles de simulation ( $F^*_{ads}$ ) pour la biomasse de *Streptomyces rimosus* pour les deux forces ioniques du fond électrolytique ((a) : modèle NEM, force ionique = 0.01 mol/L ; (b) : modèle DSM, force ionique : 0.01 mol/L ; (c) : modèle NEM, force ionique = 0.1 mol/L ; (d) : modèle DSM, force ionique : 0.1 mol/L).

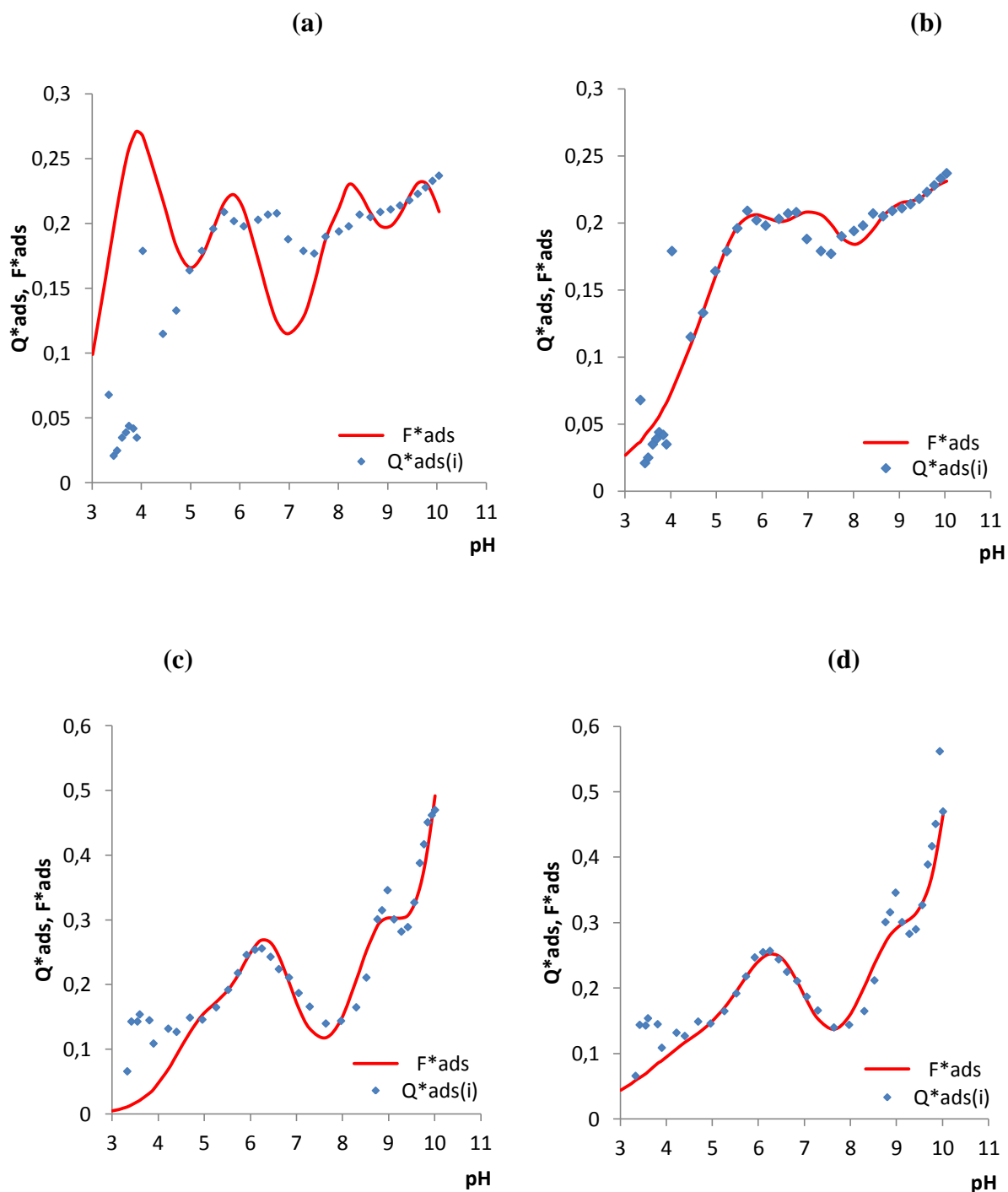


Figure III.43. La fonction  $Q^*_{ads}$  comparée avec les résultats des deux modèles de simulation ( $F^*_{ads}$ ) pour la biomasse de *Pleurotus mutilus* pour les deux forces ioniques du fond électrolytique ((a) : modèle NEM, force ionique = 0.01 mol/L ; (b) : modèle DSM, force ionique : 0.01 mol/L ; (c) : modèle NEM, force ionique = 0.1 mol/L ; (d) : modèle DSM, force ionique : 0.1 mol/L)

### III.4.6. 3. Les constantes de protonation de surface

Les valeurs obtenues pour chaque biomasse sont comparables pour les deux modèles pour une force ionique de 0.01M, elles sont relativement plus faibles pour le modèle DSM pour la force ionique 0.1 M (tableau III. XVI, figure III. 44).

Pour les deux biomasses et les deux fonds électrolytiques, et les deux modèles, les valeurs obtenues sont comprises pour :

-pK<sub>1</sub> entre 3.05 et 4.95 et correspondraient aux groupes fonctionnels carboxyliques,

-pK<sub>2</sub> entre 4.52 et 6.36 et correspondraient aux groupes fonctionnels phosphatés,

-pK<sub>3</sub> entre 6.79 et 8.82 et correspondraient aux groupes fonctionnels amines,

-pK<sub>4</sub> entre 8.03 et 10.79 et correspondraient aux groupes fonctionnels hydroxyles.

Ces valeurs sont du même ordre de grandeur que celles observées par Borrok et al. (2004) pour un consortium de 36 espèces bactériennes lors de l'utilisation d'un modèle NEM (pK<sub>1</sub>= 3.12, pK<sub>2</sub> = 4.70, pK<sub>3</sub> = 6.57, pK<sub>4</sub>= 8.99). Pour une biomasse morte de *Mucoromycote sp.* XLC, en utilisant un modèle non électrostatique (NEM), Zhu et al. (2016) rapportent des valeurs également de même ordre de grandeur (pK<sub>1</sub> = 4.31, pK<sub>2</sub>=6.78, pK<sub>3</sub>=8.42, pK<sub>4</sub>=10.04). Luo et al. (2014) sur des microorganismes activés obtiennent des valeurs également de même ordre de grandeur (pK<sub>1</sub>=3.57, pK<sub>2</sub>=5.42, pK<sub>3</sub>=7.28, pK<sub>4</sub>=9.92).

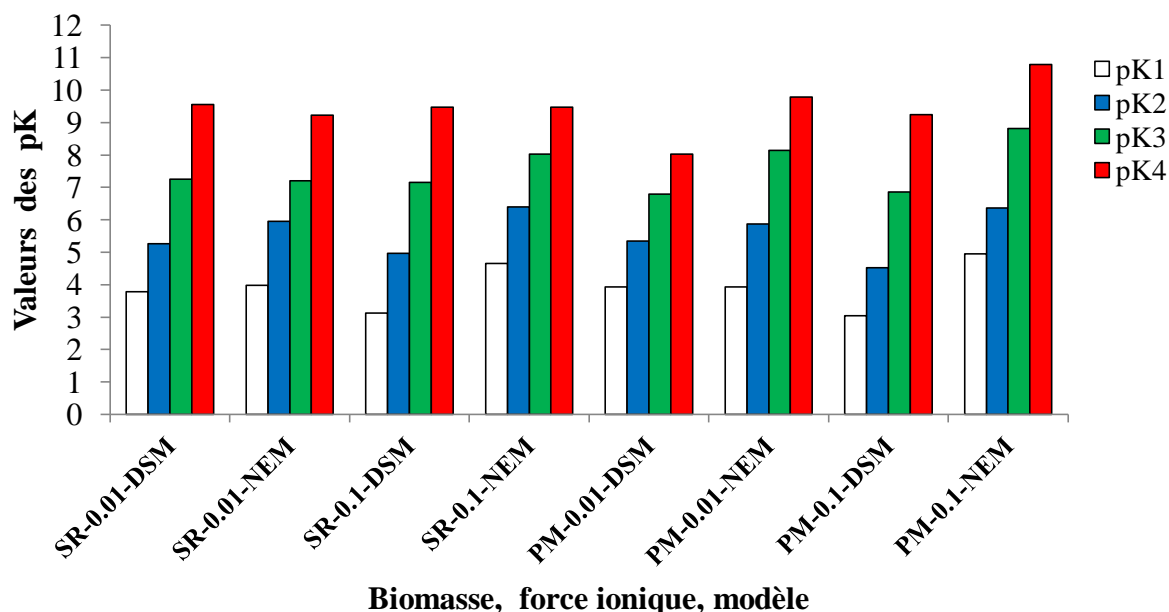


Figure III.44. Les valeurs des pKa obtenues en fonction de la biomasse (PM, SR), du fond électrolytique (0.1, 0.01), et du modèle utilisé (NEM, DSM).

#### III.4.6.4. La charge totale

Les valeurs extrêmes sont observées pour la biomasse morte de *Pleurotus mutilus* avec le fond électrolytique 0.1 M avec la valeur minimale de 1.39 mol/kg obtenue par le modèle DSM et la valeur maximale de 2.64 mol/kg obtenue avec le modèle NEM (tableau III. XVI, figure III. 45). Dans la majorité des cas, les valeurs les plus élevées sont obtenues avec la force ionique 0.1 M.

Ces valeurs sont relativement plus élevées que celle obtenue par Borrok et al. (2004) pour un consortium de 36 espèces bactériennes lors de l'utilisation d'un modèle NEM qui est en moyenne de 1.07 mol/kg. Elles sont relativement plus faibles que celle obtenue par Zhu et al. (2016) sur une biomasse morte fongique de *Mucoromycote sp. XLC* qui obtiennent avec un modèle non électrostatique une charge totale de 2.88 mol/kg.

Concernant l'effet de la force ionique les résultats bibliographiques montrent des comportements variables selon les biomasses étudiées. Pour *Bacillus subtilis*, Daughney et Fein (1998) observent que la concentration apparente totale des sites diminue avec la diminution de la force ionique (0.1 - 0.01M). Alors que Daughney et Fein (1998) et Yee et al. (2004) n'observent pas de différence dans les courbes de titrage acide-base pour *Bacillus subtilis* lorsque la force ionique varie entre 0.01 et 0.3 et entre 0.001 et 0.1 respectivement. Martinez et al. (2002) observent que la concentration apparente totale de la concentration des sites diminue avec la diminution de la force ionique pour *Escherichia coli*. Pour *Pseudomonas putida* et *Pseudomonas mendocina*, la variation de la force ionique entre 0.01 et 0.5 M n'affecte pas la concentration apparente totale des sites (Borrok et al., 2004). He et al. (2013) montrent que la concentration des sites diminue lorsque la force ionique diminue pour *Acidianus manzaensis*.

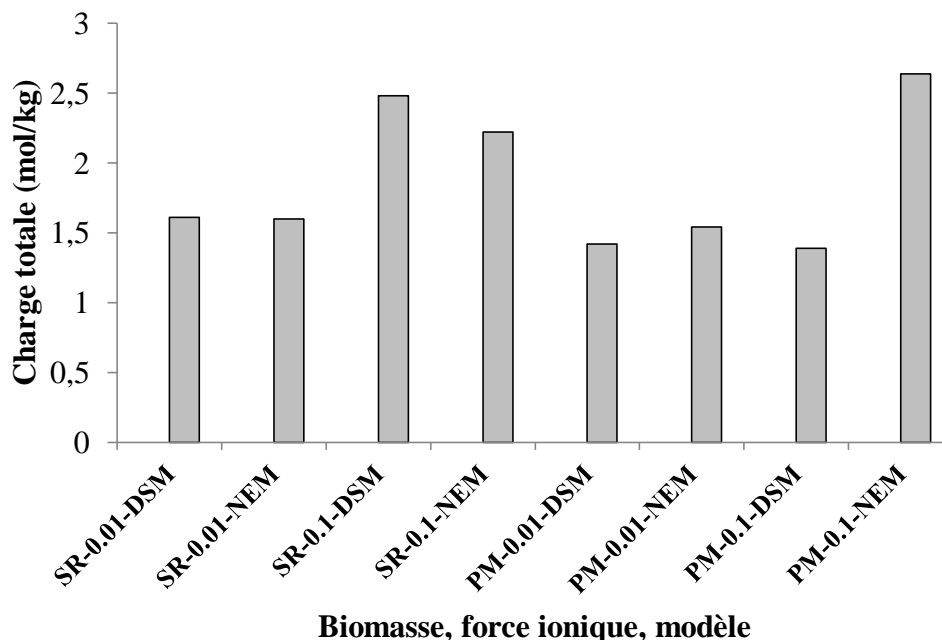


Figure III. 45. La charge totale obtenue en fonction de la biomasse (PM, SR), du fond électrolytique (0.1, 0.01), et du modèle utilisé (NEM, DSM).

#### III.4.6.5. L'évaluation des erreurs

Les deux sources qui s'expriment lors du titrage sont relatives à la mesure du pH et à l'erreur dans le volume du titrant.

Dans le calcul de  $Q_{ads}^*$ , une source d'erreur supplémentaire est en rapport avec le calcul des coefficients d'activité de  $H^+$  et  $OH^-$ , ce qui engendre une erreur dans  $Q_{ads}^*$  plus élevée à faible pH où le pouvoir tampon de la solution est plus élevé que celui de l'adsorbant (Turner et Fein, 2006).

L'évaluation de la précision des modèles selon les valeurs de la somme des carrées  $SS^*$  (equation (II.40)) montre que les deux modèles utilisés seraient relativement plus adaptés pour caractériser le comportement des deux biomasses en présence du fond électrolytique 0.1 M. En effet, les plus faibles valeurs de  $SS^*$  observées sont de 8.17 et 11.56 respectivement pour le modèle DSM et le modèle NEM pour la biomasse de *Streptomyces rimosus* ; elles sont de 19.75 et 19.89 respectivement pour le modèle DSM et le modèle NEM pour la biomasse de *Pleurotus mutilus*. Les valeurs de  $SS^*$  sont comprises entre 41 et 49 pour les deux biomasses en présence du fond électrolytique 0.01 M (tableau III. XVI, figure III. 46).

Tableau III. XVI. Valeurs optimisées du pK et C (mol. Kg<sup>-1</sup>) pour chaque site des deux biomasses pour deux forces ioniques du fond électrolytiques.

Biomasses et fond électrolytique	Modèles	pK1	C1	pK2	C2	pK3	C3	pK4	C4	C total (mol. kg <sup>-1</sup> )	SS*
SR 0.01	DSM	3.79	0.31	5.26	0.24	7.25	0.84	9.55	0.22	1.61	48.83
	NEM	3.98	0.33	5.95	0.24	7.21	0.2	9.23	0.83	1.6	41.69
SR 0.1	DSM	3.13	0.41	4.97	0.28	7.16	1.6	9.48	0.19	2.48	8.17
	NEM	4.66	0.31	6.4	0.24	8.02	0.29	9.47	1.38	2.22	11.56
PM 0.01	DSM	3.93	0.32	5.34	0.45	6.79	0.29	8.03	0.36	1.42	41.61
	NEM	3.93	0.36	5.88	0.45	8.14	0.36	9.78	0.37	1.54	46.89
PM 0.1	DSM	3.05	0.22	4.52	0.53	6.86	0.46	9.25	0.18	1.39	19.75
	NEM	4.95	0.44	6.36	0.20	8.82	0.45	10.79	1.55	2.64	19.89

(DSM : modèle de Donnan Shell ; NEM : modèle non électrostatique ; SR 0.01 : *Streptomyces rimosus* avec le fond électrolytique 0.01M ; SR 0.1 : *Streptomyces rimosus* avec le fond électrolytique 0.1M ; PM 0.01 : *Pleurotus mutilus* avec le fond électrolytique 0.01M ; PM 0.1 : *Pleurotus mutilus* avec le fond électrolytique 0.1M)

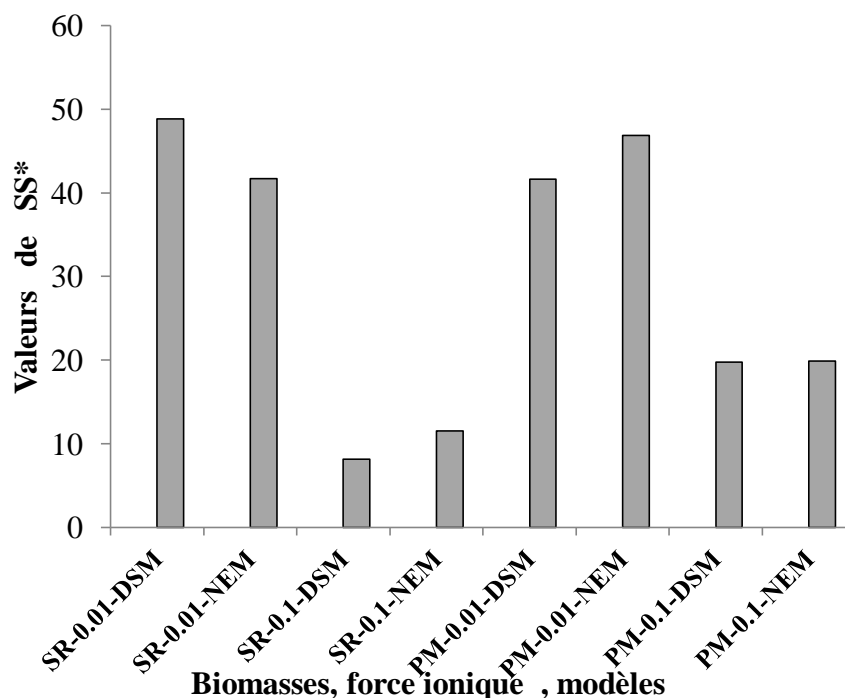


Figure III. 46. Variations des valeurs de SS\* en fonction de la biomasse, du fond électrolytique et du modèle utilisé.



## Conclusion

Les différentes approches mises en œuvre dans ce travail ont permis de mettre en évidence différents résultats relatifs aux groupes fonctionnels de surface des deux biomasses.

La concentration totale des sites de surface ( $H_s$ ) calculée à partir des deux points d'équivalence ( $V_{e1}$  et  $V_{e2}$ ) varie en fonction de la nature de la biomasse (4.65 à 4.90 mol/L respectivement pour les forces ionique 0.1 et 0.01 M pour la biomasse bactérienne, et 3.27 à 3.48 mol/L respectivement pour les forces ionique 0.01 et 0.1 M pour la biomasse fongique), mais elle est peu affectée par la force ionique du fond électrolytique.

La modélisation par la mise en œuvre du logiciel Protofit permet de calculer la concentration apparente totale des sites qui est comprise entre 1.39 et 2.64 mol. Kg<sup>-1</sup> pour les deux biomasses, les deux forces ioniques et les deux modèles de calcul utilisés. Cette concentration varie faiblement pour la force ionique 0.01 M entre les deux modèles DSM et NEM pour les deux biomasses (1.6 à 1.61 mol. Kg<sup>-1</sup> pour la biomasse bactérienne et 1.42 à 1.54 mol. Kg<sup>-1</sup> pour la biomasse fongique) ; pour la force ionique 0.1 M, elle diminue entre les deux modèles pour la biomasse bactérienne (2.48 à 2.22 mol. Kg<sup>-1</sup>), et elle augmente fortement pour la biomasse fongique (1.39 à 2.64 mol. Kg<sup>-1</sup>). Les valeurs des constantes de protonation des sites de surface calculées pour chaque biomasse sont comparables pour les deux modèles pour une force ionique de 0.01M, elles sont relativement plus faibles pour le modèle de Donnan Shell pour la force ionique 0.1 M. Pour les deux biomasses, les deux fonds électrolytiques, et les deux modèles, les valeurs obtenues pour les constantes des sites de surface sont comprises entre 3.05 et 4.95 pour pK<sub>1</sub> (groupes carboxyliques), entre 4.52 et 6.36 pour pK<sub>2</sub> (groupes phosphatés), entre 6.79 et 8.82 pour pK<sub>3</sub> (groupes amines), et entre 8.03 et 10.79 pour pK<sub>4</sub> (groupes hydroxyles).

Les différentes méthodes d'approche utilisées aboutissent à des évaluations sensiblement différentes de la capacité de biosorption évaluée à partir de la concentration des sites de surface. La méthode de Boehm aboutit aux valeurs les plus élevées, suivie par le calcul à partir de la fonction de Gran, et enfin par le calcul par le logiciel Protofit.

Finalement, l'utilisation de modèles de complexation de surface pour ces biomasses microbiennes mortes semble sous-estimer leur capacité de biosorption.

## CONCLUSION

Le présent travail a pour but d'évaluer les capacités de biosorption et de cerner les processus qui rentrent en jeu lors de la biosorption du nickel par deux biomasses mortes, l'une bactérienne de *Streptomyces rimosus* et l'autre fongique de *Pleurotus mutilus* qui sont des sous-produits de l'industrie algérienne des antibiotiques. L'accent est principalement mis sur le volet comparatif du comportement des deux biomasses microbiennes.

Les capacités de la biosorption sont évaluées par une étude expérimentale de l'influence du pH, de la concentration initiale en  $\text{Ni}^{2+}$ , du temps de contact, et de la taille des particules sur la biosorption. L'utilisation de modèles d'équilibre, de modèles cinétiques, et l'approche thermodynamique a permis de mieux cerner les processus de la biosorption.

L'optimisation des capacités de biosorption est réalisée par l'utilisation d'un plan expérimental selon la méthode de Taguchi.

La prédiction des groupes fonctionnels et de leur capacité de biosorption est réalisée par l'utilisation de modèles de complexation de surface.

Les principaux résultats obtenus montrent que le modèle de spéciation a prédit la formation de précipités de nickel à un pH supérieur à 8.0. Les performances de biosorption ont été fortement affectées par le pH de la solution et le temps de contact à température ambiante. Le pH optimal pour la biosorption du  $\text{Ni}^{2+}$  par les espèces bactérienne et fongique a été atteint à pH 8.0. Les bactéries Gram-positives présentent une capacité d'adsorption plus élevée que les champignons filamenteux, ce qui est dû à la capacité d'échange cationique plus élevée des bactéries Gram-positives, à la diffusion facile des ions  $\text{Ni}^{2+}$  dans les pores de *Streptomyces rimosus*. La chimisorption est le principal processus de la biosorption du nickel par les deux biomasses. La diffusion intraparticulaire ne constitue pas une contrainte dans la diffusion des ions dans les structures des deux biomasses. La biosorption du nickel par *Streptomyces rimosus* et *Pleurotus mutilus* est bien illustrée avec les équations de Dubinin-Radushkevich et Temkin pour les isothermes dans la plage de concentration du métal étudié. Les capacités d'adsorption maximales ( $q_{\text{max}}$ ) calculées à partir de l'isotherme d'adsorption de Langmuir étaient de 54 mg/g pour *Streptomyces rimosus* et 49 mg/g pour *Pleurotus mutilus*, respectivement. La cinétique de la biosorption du  $\text{Ni}^{2+}$  a été mieux décrite avec une cinétique de pseudo-second ordre. Les valeurs négatives de  $\Delta G^0$  indiquent une adsorption spontanée de nickel sur *Streptomyces rimosus* et sur *Pleurotus mutilus*.

L'optimisation par la mise en œuvre de la méthode de Taguchi réalisée sur la base d'un plan orthogonal L9 montre que l'influence des facteurs contrôlés diminue dans le sens concentration  $\text{Ni}^{2+}$  > pH > Temps > taille des particules. Les valeurs optimales des facteurs étudiés sont comparables pour les deux biomasses, à l'exception du facteur temps. La rapidité de la biosorption du nickel par la biomasse morte de *Pleurotus mutilus* est confirmée par l'étude de l'influence du temps de contact sur la biosorption, par l'utilisation du modèle cinétique de pseudo-second ordre, et par la méthode de Taguchi.

Les équations de régression multiple calculées permettent de prédire raisonnablement les valeurs de la biosorption de  $\text{Ni}^{2+}$  par les deux biomasses.

La comparaison des valeurs optimales des facteurs étudiés entre la méthode des facteurs simples et la méthode de Taguchi montre pour le pH, pour les deux biomasses et pour les deux méthodes la valeur optimale semble indépendante de la nature de la biomasse et de la méthode expérimentale, elle correspond à pH 8. Cette valeur correspond à la limite de la prépondérance de la précipitation chimique de  $\text{Ni}(\text{OH})_2$  sur la biosorption. Les concentrations optimales en nickel sont sensiblement plus élevées pour la méthode monofactorielle (428 mg/L et 479 mg/L) par rapport à la concentration optimale qui est de 450 mg/L pour les deux biomasses pour la méthode de Taguchi. Le temps nécessaire à l'équilibre (79 min et 93 min) obtenu pour la méthode monofactorielle est comparable à celui de la méthode Taguchi (60 min et 90 min). Pour la taille des particules, le comportement de la biomasse de *Pleurotus mutilus* semble indépendant de la taille des particules ; l'optimum est obtenu avec les particules de la classe 100-200  $\mu\text{m}$  pour la biomasse de *Streptomyces rimosus* pour la méthode monofactorielle. L'optimum est obtenu avec les particules de la classe 200-300  $\mu\text{m}$  pour les deux biomasses pour la méthode de Taguchi (1990). La différence entre les deux méthodes est importante pour ce facteur relatif à la taille des particules.

Par ailleurs, la combinaison des facteurs à leur optimum obtenu selon la méthode de Taguchi permet une augmentation de la biosorption par rapport à la valeur maximale obtenue par l'approche monofactorielle, cette augmentation est de 36.23 % pour la biomasse fongique et elle est de 31.81 % pour la biomasse bactérienne.

La quantification des groupes fonctionnels acides par la méthode de Boehm montre que la biomasse morte fongique de *Pleurotus mutilus* (4.33 mol/kg) est relativement plus élevée que celle de la biomasse morte bactérienne de *Streptomyces rimosus* (3.38 mol/Kg).

La concentration totale des sites de surface ( $H_s$ ) calculée à partir des deux points d'équivalence ( $V_{e1}$  et  $V_{e2}$ ) de la fonction de Gran (1952) varie en fonction de la nature de la biomasse (4.65 à 4.90 mol/L respectivement pour les forces ionique 0.1 et 0.01 M pour la

biomasse bactérienne, et 3.27 à 3.48 mol/L respectivement pour les forces ionique 0.01 et 0.1M pour la biomasse fongique), mais elle est peu affectée par la force ionique du fond électrolytique.

La modélisation par la mise en œuvre du logiciel Protofit permet de calculer la concentration apparente totale des sites qui est comprise entre 1.39 et 2.64 mol/kg pour les deux biomasses, les deux forces ioniques et les deux modèles de calcul utilisés. Cette concentration varie faiblement pour la force ionique 0.01 M entre les deux modèles DSM et NEM pour les deux biomasses, pour la force ionique 0.1 M, elle diminue entre les deux modèles pour la biomasse bactérienne, et elle augmente fortement pour la biomasse fongique. Les valeurs des constantes de protonation des sites de surface calculées pour chaque biomasse sont comparables pour les deux modèles pour une force ionique de 0.01M, elles sont relativement plus faibles pour le modèle de Donnan Shell pour la force ionique 0.1 M. Pour les deux biomasses, les deux fonds électrolytiques, et les deux modèles, les valeurs obtenues pour les constantes des sites de surface sont comprises entre 3.05 et 4.95 pour  $pK_1$  (groupes carboxyliques), entre 4.52 et 6.36 pour  $pK_2$  (groupes phosphatés), entre 6.79 et 8.82 pour  $pK_3$  (groupes amines), et entre 8.03 et 10.79 pour  $pK_4$  (groupes hydroxyles).

Les différentes méthodes d'approche utilisées aboutissent à des évaluations sensiblement différentes de la capacité de biosorption évaluée à partir de la concentration des sites de surface. La méthode de Boehm aboutit aux valeurs les plus élevées, suivie par le calcul à partir de la fonction de Gran, et enfin par le calcul par le logiciel Protofit.

Plus généralement, la tendance globale est que les deux biomasses microbiennes ont des comportements relativement spécifiques vis-à-vis de la biosorption du nickel.

Les résultats obtenus dans le cadre de ce travail confirment que cette bactérie à Gram positif et ce champignon filamenteux sont des biosorbants efficaces et peu coûteux pour éliminer le  $Ni^{2+}$  des solutions aqueuses.

## Références bibliographiques

- Abbas, W., Bokhari, T.H., Bhatti, I.A., Iqbal, M., (2015). Degradation study of disperse red F3BS by gamma radiation/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Asian J. Chem.*, 27, 282-286.
- Abdel-Razek, A. 2011. Removal of chromium ions from liquid waste solutions using immobilized *Cunninghamella elegans*. *Nat. Sci.*, 9, 211-218.
- Abdolali, A., Ngo, H. H., Guo, W., Lu, S., Chen, S.-S., Nguyen, N.C., Wu, Y. (2016). A breakthrough biosorbent in removing heavy metals : Equilibrium, kinetic, thermodynamic and mechanism analyses in a lab-scale study. *Sci. Total Environ.*, 542, 603-611. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.10.095>.
- Addour, L., Bakhti, Z., Belhocine, D., Grib, H., Lounici, H., Paus, A., Piron, D., Mameri, N. (2003). Filtration of zinc ions utilizing pretreated *Streptomyces rimosus* biomass, *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 78, 1274–1280.
- Adegoke, H.I., AmooAdekola, F., Fatoki, O.S., & Ximba, B.J. (2014). Adsorption of Cr(VI) on synthetic hematite ( $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) nanoparticles of different morphologies. *Korean J. Chem. Eng.*, 31(1), 142-154. <https://doi.org/10.1007/s11814-013-0204-7>.
- Adesola, B., Ogundipe, K., Sangosanya, K.T., Akintola, B.D., Oluwa, A., Hassan, E. (2016). Comparative study on the biosorption of Pb(II) Cd(II) and Zn(II) using lemon grass (*Cymbopogon citratus*) : kinetics, isotherms and thermodynamics. *Chem. Int.*, 2, 89-102.
- Ahluwalia, S. S., & Goyal, D. (2007). Microbial and plant derived biomass for removal of heavy metals from wastewater. *Bioresource Technology*, 98(12), 2243-2257. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.12.006>.
- Ahmadi, M., Kouhgard, E., & Ramavandi, B. (2016). Physico-chemical study of dew melon peel biochar for chromium attenuation from simulated and actual wastewaters. *Korean J. Chem. Eng.*, 33(9), 2589-2601. <https://doi.org/10.1007/s11814-016-0135-1>.
- Ahn, C.K., Park, D., Woo, S.H., Park, J.M. (2009). Removal of cationic heavy metal from aqueous solution by activated carbon impregnated with anionic surfactants. *J. Hazard. Mater.*, 164, 1130-1136.
- AjayKumar, A.V., Darwish, N.A., Hilal, N. (2009). Study of various parameters in the biosorption of heavy metals on activated sludge. *World Appl. Sci. J.*, 5, 32-40.

- Akar, S.T., Akar, T., Kaynak, Z., Anilan, B., Cabuk, A., Tabak, Ö., Demir, T.A., Gedikbey, T. (2009). Removal of copper(II) ions from synthetic solution and real wastewater by the combined action of dried *Trametes versicolor* cells and montmorillonite. *Hydrometallurgy*, 97, 98-104.
- Akar, S.T., Yilmazer, D., Celik, S., Balk, Y.Y., Akar, T. (2013). On the utilization of a lignocellulosic waste as an excellent dye remover : Modification, characterization and mechanism analysis. *Chem. Eng. J.*, 229, 257-266.
- Aksu, Z., Dönmez, G. (2000). Combined effects of sucrose and copper(II) ions on the growth and copper(II) bioaccumulation properties of *Candida sp.* *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 75, 847-853.
- Aksu, Z., Açikel, Ü., Kabasakal, E., Tezer, S. (2002). Equilibrium modelling of individual and simultaneous biosorption of chromium(VI) and nickel(II) onto dried activated sludge. *Water Res.*, 36, 3063-3073.
- Aksu, Z. (2005). Application of biosorption for the removal of organic pollutants: a review. *Process Biochemistry*, 40(3), 997-1026. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.04.008>.
- Aksu, Z., & Tezer, S. (2005). Biosorption of reactive dyes on the green alga *Chlorella vulgaris*. *Process Biochemistry*, 40(3), 1347-1361. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.06.007>.
- Aksu, Z., Isoglu, I.A. (2006). Use of agricultural waste sugar beet pulp for the removal of Gemazol turquoise blue-G reactive dye from aqueous solution. *J. Hazard. Mater.*, 137, 418-430.
- Alam, M., Ahmad, S., Azhar, E., Haque, A., & Alam, Q. (2014). Microbial Sorption and Desorption of Chromium, Cadmium and Nickel from Aqueous Solution by Dried and Non Growing Biomasses of *Staphylococcus gallinarum W-61*. *J. Pure Appl. Microbiol.*, 8, 1961-1972.
- Alluri, H.K., Ronda, S.R., Settalluri, V.S., Bondili, J.S., Suryanarayana, V., Venkateshwar, P. (2007). Biosorption : an eco-friendly alternative for heavy metal removal. *Afr. J. Biotechnol.*, 6, 2924-2931.
- Alpat, S., Alpat, S.K., C, adirci, B.H., Özbayrak, Ö., Yasa, I. (2010). Effects of biosorption parameter : kinetics, isotherm and thermodynamics for Ni<sup>2+</sup> biosorption from aqueous solution by *Circinella sp.* *Electron. J. Biotechnol.*, 13, 4-5.

- Al-Qodah, Z. (2006). Biosorption of heavy metal ions from aqueous solutions by activated sludge. *Desalination*, 196, 164-176.
- Amini, M., Younesi, H., Bahramifar, N. (2009). Biosorption of nickel(II) from aqueous solution by *Aspergillus niger*: response surface methodology and isotherm study. *Chemosphere*, 75, 1483-1491.
- Amirnia S., Margaritis A. , Ray M. (2012). Adsorption of Mixtures of Toxic Metal Ions Using Non-viable Cells of *Saccharomyces cerevisiae*. *Adsorpt. Sci. Technol.*, 30, 1, 43-64.
- Anna, B., Kleopas, M., Constantine, S., Anestis, F., Maria, B., (2015). Adsorption of Cd(II), Cu(II) Ni<sup>2+</sup> and Pb(II) onto natural bentonite : study in mono-and multi-metal systems. *Environ. Earth Sci.*, 73, 5435-5444.
- Arief, V.O., Trilestari, K., Sunarso, J., Indraswati, N., Ismadji, S. (2008). Recent progress on biosorption of heavy metals from liquids using low cost biosorbents: characterization, biosorption parameters and mechanism studies. *Clean: Soil, Air, Water*, 36, 937-962.
- Aryal, M., Ziagova, M., Liakopoulou-Kyriakides, M. (2010). Study on arsenic biosorption using Fe(III)-treated biomass of *Staphylococcus xylosus*. *Chem. Eng. J.*, 162, 178-185.
- Asgher, M., Bhatti, H.N. (2010). Mechanistic and kinetic evaluation of biosorption of reactive azo dyes by free, immobilized and chemically treated *Citrus sinensis* waste biomass. *Ecol. Eng.*, 36, 1660-1665.
- Avery, S.V., & Tobin, J.M. (1993). Mechanism of adsorption of hard and soft metal ions to *Saccharomyces cerevisiae* and influence of hard and soft anions. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59(9), 2851-2856. Retrieved from <https://aem.asm.org/content/59/9/2851>.
- Ayanda, O. S., Fatoki, O. S., Adekola, F. A., & Ximba, B. J. (2013). Utilization of nSiO<sub>2</sub>, fly ash, and nSiO<sub>2</sub>/fly ash composite for the remediation of triphenyltin (TPT) from contaminated seawater. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 20(11), 8172-8181. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-1775-x>.
- Babarinde, A., Onyiaocha, G.O. (2016). Equilibrium sorption of divalent metal ions onto groundnut (*Arachis hypogaea*) shell : kinetics, isotherm and thermodynamics. *Chem. Int.*, 2, 37-46.

- Bai, R.S., & Abraham, T.E. (2002). Studies on enhancement of Cr(VI) biosorption by chemically modified biomass of *Rhizopus nigricans*. *Water Res.*, 36(5), 1224-1236. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00330-X](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00330-X).
- Bai, S.R., & Abraham, T. E. (2003). Studies on chromium(VI) adsorption-desorption using immobilized fungal biomass. *Bioresource Technology*, 87(1), 17-26. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(02\)00222-5](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00222-5).
- Bai, J., Yang, X., Du, R., Chen, Y., Wang, S., & Qiu, R. (2014). Biosorption mechanisms involved in immobilization of soil Pb by *Bacillus subtilis* DBM in a multi-metal-contaminated soil. *J. Environ. Sci. (China)*, 26(10), 2056-2064. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2014.07.015>
- Bailey, S. E., Olin, T. J., Bricka, R. M., & Adrian, D. D. (1999). A review of potentially low-cost sorbents for heavy metals. *Water res.*, 33(11), 2469-2479. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(98\)00475-8](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(98)00475-8).
- Bal, Y., Bal, K.E., Laarabi-Bouamrane, O., Lallam, A. (2006). Copper(II) uptake by *Pleurotus mutilus* biomass, chitin and chitosan. *Mineral Eng.*, 19, 1456-1458.
- Barka, N., Abdennouri, M., Boussaoud, A., & EL Makhfouk, M. (2010). Biosorption characteristics of Cadmium(II) onto *Scolymus hispanicus* L. as low-cost natural biosorbent. *Desalination*, 258(1), 66-71. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2010.03.046>.
- Barka, N., Ouzaouit, K., Abdennouri, M., El Makhfouk, M. (2013). Dried prickly pear cactus (*Opuntia ficus indica*) cladodes as a low-cost and eco-friendly biosorbent for dyes removal from aqueous solution, *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.*, 44, 52-60.
- Barrado, E., Vega, M., Pardon, R., Grande, P., Valle, J.L.D. (1996). Optimization of a purification method for metal-containing wastewater by use of a Taguchi experimental design. *Water Res.*, 30, 2309-2314.
- Barros, A. J. M., Prasad, S., Leite, V. D., & Souza, A. G. (2007). Biosorption of heavy metals in upflow sludge columns. *Bioresour. Technol.*, 98(7), 1418-1425. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.05.044>.
- Battacharya, P., Chakraborty, N., & Pal, R. (2015). Bioremediation of Toxic Metals Using Algae. In D. Das (Ed.), *Algal Biorefinery: An Integrated Approach*, 439-462. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-22813-6\\_19](https://doi.org/10.1007/978-3-319-22813-6_19).
- Bayramoglu, G., Akbulut, A., Arica, M.Y. (2016). Aminopyridine modified *Spirulina platensis* biomass for chromium(VI) adsorption in aqueous solution, *Water Science & Technology*, 74, 914-926.



- Behloul, M., Lounici, H., Abdi, N., Drouiche, N., Mameri, N. (2016). Adsorption study of metribuzin pesticide on fungus *Pleurotus mutilus*. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 1, 1-9.
- Beolchini, F., Pagnanelli, F., Toro, L., & Vegliò, F. (2003). Biosorption of copper by *Sphaerotilus natans* immobilised in polysulfone matrix: equilibrium and kinetic analysis. *Hydrometallurgy*, 70(1), 101-112. [https://doi.org/10.1016/S0304-386X\(03\)00049-5](https://doi.org/10.1016/S0304-386X(03)00049-5).
- Bhatti, H.N., Khadim, R., Hanif, M.A. (2011). Biosorption of Pb(II) and Co(II) on red rose waste biomass. *Iran. J. Chem. Chem. Eng.*, 30, 81-87.
- Bilal, N., Ali, S., Iqbal, M. (2014). Application of advanced oxidations processes for the treatments of textile effluents. *Asian J. Chem.*, 26, 1882-1886.
- Blanco, A., Sanz, B., Llama, M. J., & Serra, J. L. (1999). Biosorption of heavy metals to immobilised *Phormidium laminosum* biomass. *J. Biotechnol.*, 69(2), 227-240. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(99\)00046-2](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(99)00046-2).
- Blanes, P.S., Bordoni, M.E., González, J.C., García, S.I., Atria, A.M., Sala, L.F., Bellú, S. E. (2016). Application of soy hull biomass in removal of Cr(VI) from contaminated waters. Kinetic, thermodynamic and continuous sorption studies, *J. Environ. Chem. Eng.*, 4, 516-526.
- Boehm, H. P. (1994). Some aspects of the surface chemistry of carbon blacks and other carbons. *Carbon*, 32(5), 759-769. [https://doi.org/10.1016/0008-6223\(94\)90031-0](https://doi.org/10.1016/0008-6223(94)90031-0).
- Borda, M., & Sparks, D. (2007). Kinetics and Mechanisms of Sorption-Desorption in Soils: A Multiscale Assessment. In *Biophysico-Chemical Processes of Heavy Metals and Metalloids in Soil Environments*, by Violante A, Huang PM and Gadd GM. Wiley, New Jersey, USA, 97-124. <https://doi.org/10.1002/9780470175484.ch3>.
- Borrok D, Fein J.B., Kulpa C.F. (2004). Proton and Cd adsorption onto natural bacterial consortia: testing universal adsorption behavior. *Geochim Cosmochim Acta*, 68, 3231-3238.
- Boulaïche, W. (2008). Biosorption des ions Ni<sup>2+</sup> et Cd<sup>2+</sup> par la biomasse *pleurotus mutilus*. Thèse de Magister en Génie Chimique, Ecole Nationale Polytechnique, Alger.
- Bowman, S.M., Free, S.J. (2006). The structure and synthesis of the fungal cell wall. *Bioessays*, 28, 799-808.

- Box, G.E.P., & Behnken, D.W. (1960). Some New Three Level Designs for the Study of Quantitative Variables. *Technometrics*, 2(4), 455-475. <https://doi.org/10.1080/00401706.1960.10489912>.
- Boyd, G. E., Adamson, A. W., & Myers, L. S. (1947). The Exchange Adsorption of Ions from Aqueous Solutions by Organic Zeolites. II. Kinetics. *J. Am. Chem. Soc.*, 69(11), 2836-2848. <https://doi.org/10.1021/ja01203a066>.
- Brierley, C.L. (1990). Bioremediation of metal-contaminated surface and groundwaters. *Geomicrobiol. J.*, 8(3-4), 201-223. <https://doi.org/10.1080/01490459009377894>.
- Bunet R., Mendes M.V., Rouhier N., Pang X., Hotel L., Leblond P., Aigle B. (2008). Regulation of the Synthesis of the Angucyclinone Antibiotic Alpomyacin in *Streptomyces ambofaciens* by the Autoregulator Receptor AlpZ and Its Specific Ligand. *J. Bacteriol.*, 190(9), 3293-3305.
- Burnett, P.G., Heinrich, H., Peak, D. Bremer, P.J., McQuillan, A.J., Daughney, C. J. (2006). The effect of pH and ionic strength on proton adsorption by the thermophilic bacterium *Anoxybacillus flavithermus*. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 70, 1914-1927.
- Cáceres-Jensen, L., Rodríguez-Becerra, J., Parra-Rivero, J., Escudey, M., Barrientos, L., & Castro-Castillo, V. (2013). Sorption kinetics of diuron on volcanic ash derived soils. *J. Hazard. Mater.*, 261, 602-613. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.07.073>.
- Cantuaria, M.L., de Almeida Neto, A.F., Nascimento, E.S., Vieira, M.G.A. (2015). Adsorption of silver from aqueous solution onto pre-treated bentonite clay: complete batch system evaluation. *J. Clean. Product.*, 112, 1112-1121.
- Carmona, M.E.R., Pereira da Silva, M.A., Ferreira Leite, S.G., Vasco Echeverri, O.H., & Ocampo-López, C. (2012). Packed bed redistribution system for Cr(III) and Cr(VI) biosorption by *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.*, 43(3), 428-432. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2011.12.002>.
- Cazón, J.P., Viera, M., Donati, E., Guibal, E. (2013). Zinc and cadmium removal by biosorption on *Undaria pinnatifida* in batch and continuous processes, *J. Environ. Manage.*, 129, 423-434.
- Çelekli, A., & Bozkurt, H. (2011). Bio-sorption of cadmium and nickel ions using *Spirulina platensis*: Kinetic and equilibrium studies. *Desalination*, 275(1), 141-147. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2011.02.043>.

- Chary, G.H.V.C., Dastidar, M.G. (2010). Optimization of experimental conditions for recovery of coking coal fines by oil agglomeration technique. *Fuel*, 9, 2317-2322.
- Chergui, A., Bakhti, M. Z., Chahboub, A., Haddoum, S., Selatnia, A., & Junter, G. A. (2007). Simultaneous biosorption of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  and  $\text{Cr}^{6+}$  from aqueous solution by *Streptomyces rimosus* biomass. *Desalination*, 206(1), 179-184. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2006.03.566>.
- Chergui, A., Kerbachi, R., & Junter, G.-A. (2009). Biosorption of hexacyanoferrate(III) complex anion to dead biomass of the basidiomycete *Pleurotus mutilus*: Biosorbent characterization and batch experiments. *Chem. Eng. J.*, 147(2), 150-160. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2008.06.029>.
- Cherifi, H., Fatiha, B., & Salah, H. (2015). Biosorption of Pharmaceutical Pollutant. *Prog. Clean Energy*, Springer International Publishing. 739–750. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-16709-1\\_54](https://doi.org/10.1007/978-3-319-16709-1_54)
- Chojnacka, K. (2010). Biosorption and bioaccumulation – the prospects for practical applications. *Environ. Int.*, 36(3), 299–307. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2009.12.001>.
- Coman, V., Robotin, B., & Ilea, P. (2013). Nickel recovery/removal from industrial wastes: A review. *Resour., Conserv. Recycl.*, 73, 229-238. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2013.01.019>.
- Comte, S., Guibaud, G., & Baudu, M. (2008). Biosorption properties of extracellular polymeric substances (EPS) towards Cd, Cu and Pb for different pH values. *J. Hazard. Mater.*, 151(1), 185-193. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.05.070>.
- Congeevaram, S., Dhanarani, S., Park, J., Dexilin, M., Thamaraiselvi, K. (2007). Biosorption of chromium and nickel by heavy metal resistant fungal and bacterial isolates. *J. Hazard. Mater.*, 146, 270-277.
- Çoruh, S., Senel, G., Ergun, O.N. (2010). A comparison of the properties of natural clinoptilolites and their ion-exchange capacities for silver removal. *J. Hazard. Mater.*, 180(1-3), 486-492.
- Crini, G., & Badot, P.-M. (2008). Application of chitosan, a natural aminopolysaccharide, for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies: A review of recent literature. *Prog. Polym. Sci.*, 33(4), 399-447. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2007.11.001>.

- Daneshvar, N., Khataee, A.R., Rasoulifard, M.H., Pourhassan, M. (2007). Biodegradation of dye solution containing Malachite Green, optimization of effective parameters using Taguchi method. *J. Hazard Mater.*, 143, 214-219.
- Das, D., Vimala, R., Das. N. (2014). Biosorption of Zn(II) onto *Pleurotus platypus* : 5-Level Box-Behnken design, equilibrium, kinetic and regeneration studies. *Ecol. Eng.*, 64, 136-141
- Das, D., Varghese, L. R., & Das, N. (2015). Enhanced TDS removal using cyclodextrinated, sulfonated and aminated forms of bead-membrane duo nanobiocomposite via sophorolipid mediated complexation. *Desalination*, 360, 35-44. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2015.01.011>.
- Das, S. (2012). Biosorption of chromium and nickel by dried biomass of *Cyanobacterium Oscillatoria laete-virens*. *Int. J. Environ. Sci.*, 3, 341-352.
- Daughney C.J., Fein J.B. (1998). The effect of ionic strength on the adsorption of  $H^+$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  and  $Cu^{2+}$  by *Bacillus subtilis*. *J. Colloid Interface Sci.* 198, 53-77.
- Davis, T.A., Volesky, B., & Mucci, A. (2003). A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae. *Water res.*, 37(18), 4311-4330. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(03\)00293-8](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(03)00293-8).
- Delle Site, A. (2001). Factors Affecting Sorption of Organic Compounds in Natural Sorbent/Water Systems and Sorption Coefficients for Selected Pollutants. A Review. *J. Phys. Chem. Ref. Data*, 30(1), 187-439. <https://doi.org/10.1063/1.1347984>.
- Deng, S., Ting, Y.P. (2005). Polyethylenimine-modified fungal biomass as a high-capacity biosorbent for Cr(VI) anions : sorption capacity and uptake mechanisms. *Environ. Sci. Technol.*, 39, 8490-8496.
- Dhankhar, R., & Hooda, A. (2011). Fungal biosorption - an alternative to meet the challenges of heavy metal pollution in aqueous solutions. *Environ. Technol.*, 32(5), 467-491. <https://doi.org/10.1080/09593330.2011.572922>.
- Daneshvar, N., Khataee, A. R., Rasoulifard, M. H., & Pourhassan, M. (2007). Biodegradation of dye solution containing Malachite Green: Optimization of effective parameters using Taguchi method. *J. Hazard. Mater.*, 143(1), 214-219. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.09.016>.
- Dmytryk, A., Saeid, A., Chojnacka, K. (2014). Biosorption of microelements by *Spirulina*: towards technology of mineral feed supplements, *Sci. World J.*, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/356328>.

- Doehlert, D. H. (1970). Uniform Shell Designs. *Journal of the Royal Statistical Society: Series C (Applied Statistics)*, 19(3), 231-239. <https://doi.org/10.2307/2346327>.
- Dönmez, G., Aksu, Z. (1999). The effect of copper(II) ions on the growth and bioaccumulation properties of some yeasts. *Process Biochem.*, 35, 135-142.
- Dönmez, G., Aksu, Z. (2002). Removal of chromium(VI) from saline wastewaters by *Dunaliella* species. *Process Biochem.*, 38, 751-762.
- Doyle, R.J., Matthews, T.H., Streips, U.N. (1980). Chemical basis for selectivity of metal ions by the *Bacillus subtilis* cell wall, *J. Bacteriol.*, 143, 471-480.
- Elangovan, R., Philip, L., Chandraraj, K. (2008). Biosorption of chromium species by aquatic weeds : kinetics and mechanism studies. *J. Hazard. Mater.*, 52, 100-112.
- El-Toni, A.M., Habila, M.A., Ibrahim, M.A., Labis, J.P., ALOthman, Z.A. (2014). Simple and facile synthesis of amino functionalized hollow core-mesoporous shell silica spheres using anionic surfactant for Pb(II), Cd(II), and Zn(II) adsorption and recovery. *Chem. Eng. J.* 251, 441-451.
- Engin, A.B., Ozdemir, O., Turan, M., Turan, A.Z. (2008). Color removal from textile dye bath effluents in a zeolite fixed bed reactor: determination of optimum process conditions using Taguchi method. *J. Hazard. Mater.*, 159, 348-353.
- Fan, L., Luo, C., Li, X., Lu, F., Qiu, H., Sun, M. (2012). Fabrication of novel magnetic chitosan grafted with graphene oxide to enhance adsorption properties for methyl blue. *J. Hazard. Mater.* 215, 272-279.
- Fein, J.B., Boily, J.-F., Yee, N., Gorman-Lewis, D., & Turner, B. F. (2005). Potentiometric titrations of *Bacillus subtilis* cells to low pH and a comparison of modeling approaches. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 69(5), 1123-1132. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2004.07.033>.
- Fein, J.B., Daughney, C.J., Yee, N., & Davis, T. A. (1997). A chemical equilibrium model for metal adsorption onto bacterial surfaces. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 61(16), 3319-3328. [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(97\)00166-X](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(97)00166-X).
- Felmy, A.R., Girvin, D.C., Jenne, E.A. (1984). MINTEQA - Un programme informatique pour calculer les équilibres géochimiques aqueux EPA-600 / 3-84-031 US Environmental Protection Agency, Athens, GA.
- Fu, F., Wang, Q. (2011). Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review. *J. Environ. Manage.*, 92, 407-418.

- Fiol, N., & Villaescusa, I. (2009). Determination of sorbent point zero charge: usefulness in sorption studies. *Environ. Chem. Lett.*, 7(1), 79-84. <https://doi.org/10.1007/s10311-008-0139-0>.
- Fomina, M., & Gadd, G. M. (2014). Biosorption: current perspectives on concept, definition and application. *Bioresour. Technol.*, 160, 3-14. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.102>.
- Fourest, E., & Roux, J.-C. (1992). Heavy metal biosorption by fungal mycelial by-products: mechanisms and influence of pH. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 37(3), 399-403. <https://doi.org/10.1007/BF00211001>.
- Fourest, E., Canal, C., & Roux, J.-C. (1994). Improvement of heavy metal biosorption by mycelial dead biomasses (*Rhizopus arrhizus*, *Mucor miehei* and *Penicillium chrysogenum*): pH control and cationic activation. *FEMS Microbiol. Rev.*, 14(4), 325-332. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1994.tb00106.x>.
- Fu, F., Wang, Q. (2011). Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review. *J. Environ. Manage.*, 92, 407-418.
- Gadd, G. M. (1992). Metals and microorganisms: a problem of definition. *FEMS Microbiol. Lett.*, 100(1-3), 197-203. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1992.tb14040.x>.
- Gadd, G.M. (1993). Microbial formation and transformation of organometallic and organometalloid compounds. *FEMS Microbiol. Rev.*, 11(4), 297-316. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1993.tb00003.x>.
- Gadd, G. M. (2009). Biosorption: critical review of scientific rationale, environmental importance and significance for pollution treatment. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 84(1), 13-28. <https://doi.org/10.1002/jctb.1999>.
- Gadd, G. M. (2010). Metals, minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation. *Microbiology*, 156(3), 609-643. <https://doi.org/10.1099/mic.0.037143-0>.
- Gadd, G. M., & Fomina, M. (2011). Uranium and Fungi. *Geomicrobiol. J.*, 28(5-6), 471-482. <https://doi.org/10.1080/01490451.2010.508019>.
- Gadd, G. M., Rhee, Y. J., Stephenson, K., & Wei, Z. (2012). Geomycology: metals, actinides and biominerals. *Environ. Microbiol. Rep.*, 4(3), 270-296. <https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2011.00283.x>.
- Galindo, L.S.G., Neto, A., Silva, M.G.C.d., Vieira, M.G.A. (2013). Removal of cadmium(II) and lead(II) ions from aqueous phase on sodic bentonite. *Mater. Res.* 16, 515-527.

- Galun, M., Galun, E., Siegel, B., Keller, P., Lehr, H., Siegel, S. (1987). Removal of metal ions from aqueous solutions by *Penicillium* biomass : kinetic and uptake parameters. *Water, air, soil poll.* 33, 359-371.
- Gandhi, M.R., Viswanathan, N., Meenakshi, S. (2010). Adsorption mechanism of hexavalent chromium removal using Amberlite IRA 743 resin. *Ion Exch. Lett.* 3, 25-35.
- Garnham G.W. (1997). *The use of algae as metal biosorbents*, Taylor&Francis, London,. 11-37.
- Ge, S., Dong, X., Zhou, J., Ge, S. (2013). Comparative evaluations on bio-treatment of hexavalent chromate by resting cells of *Pseudochrobactrum sp.* and *Proteus sp.* in wastewater. *J. Environ. Manage.* 126, 7-12.
- Ghasemi, M., Naushad, M., Ghasemi, N., & Khosravi-fard, Y. (2014). A novel agricultural waste based adsorbent for the removal of Pb(II) from aqueous solution: Kinetics, equilibrium and thermodynamic studies. *J. Ind. Eng. Chem.*, 20(2), 454-461. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2013.05.002>.
- Gholipour, M., Hashemipour, H., Mollashahi, M. (2011). Hexavalent chromium removal from aqueous solution via adsorption on granular activated carbon: adsorption, desorption, modeling and simulation studies. *J. Eng. Appl. Sci.*, 6, 10-18.
- Ghosh, S., Mondal, A., Paul, A. (2015). Hexavalent chromium biosorption by dried biomass of *Aspergillus niger* NUA101 isolated from Indian ultramafic complex. *Afr. J. Microbiol. Res.* 9, 220-229.
- Gönen, F., Aksu, Z. (2008). Use of response surface methodology (RSM) in the evaluation of growth and copper (II) bioaccumulation properties of *Candida utilis* in molasses medium, *J. Hazard Mater.* 154, 731-738.
- Gong, R., Ding, Y., Liu, H., Chen, Q., Liu, Z. (2005). Lead biosorption and desorption by intact and pretreated *Spirulina maxima* biomass. *Chemosphere*, 58, 125-130.
- Gorgievski, M., Božić, D., Stanković, V., Štrbac, N., & Šerbula, S. (2013). Kinetics, equilibrium and mechanism of Cu<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup> and Zn<sup>2+</sup> ions biosorption using wheat straw. *Ecol. Eng.*, 58, 113-122. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.06.025>.
- Gow, N.A., & Gadd, G.M. (1995). *Growing Fungus*. Springer Netherlands. Retrieved from <https://www.springer.com/gp/book/9780412466007>.
- Gran, G. (1952). Determination of the equivalence point in potentiometric titrations. Part II. *Analyst*, 77(920), 661-671. <https://doi.org/10.1039/AN9527700661>.

- Gray-Munro, J.E. and Strong, M. (2013). A study on the interfacial chemistry of magnesium hydroxide surfaces in aqueous phosphate solutions: Influence of  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$  and protein, *J. Colloid Interface Sci.*, 393, 421-428.
- Grün, C.H. (2003). Structure and biosynthesis of fungal alpha-glucans. Utrecht University Repository, (Dissertation) 143p.
- Guibal, E. (2004). Interactions of metal ions with chitosan-based sorbents: a review. *Sep. Purif. Technol.*, 38(1), 43-74. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2003.10.004>.
- Guo, J., Chen, S., Liu, L., Li, B., Yang, P., Zhang, L., Feng, Y. (2012). Adsorption of dye from wastewater using chitosan-CTAB modified bentonites. *J. Colloid Interface Sci.*, 382, 61-66.
- Guo, L.-J., Niu, C.-G., Wang, X.-Y., Wen, X.-J., & Zeng, G.-M. (2016). DTC-GO as Effective Adsorbent for the Removal of  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Cd}^{2+}$  from Aqueous Solution. *Water, Air, Soil Pollut.*, 227(6), 169. <https://doi.org/10.1007/s11270-016-2865-4>.
- Gupta, A., Balomajumder, C. (2015). Simultaneous adsorption of Cr(VI) and phenol onto tea waste biomass from binary mixture : multicomponent adsorption, thermodynamic and kinetic study. *J. Environ. Chem. Eng.* 3, 785-796.
- Gupta, V.K., & Rastogi, A. (2009). Biosorption of hexavalent chromium by raw and acid-treated green alga *Oedogonium hatei* from aqueous solutions. *J. Hazard. Mater.*, 163(1), 396-402. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.06.104>.
- Hackbarth, F.V., Girardi, F., de Souza, S.M.A. G.U., de Souza, A.A. U., Boaventura, R.A. R., & Vilar, V.J.P. (2014). Marine macroalgae *Pelvetia canaliculata* (Phaeophyceae) as a natural cation exchanger for cadmium and lead ions separation in aqueous solutions. *Chem. Eng. J.*, 242, 294-305. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.12.043>.
- Hans-Cur, F. (1995). Sorption sites in biofilms. *Water Sci. Technol.*, 32(8), 27-33. [https://doi.org/10.1016/0273-1223\(96\)00004-2](https://doi.org/10.1016/0273-1223(96)00004-2).
- He Z., Yanga Y., Zhoua S., Zhong H., Suna W. (2013). The effect of culture condition and ionic strength on proton adsorption at the surface of the extreme thermophile *Acidianus manzaensis*. *Colloids Surf., B*, 102, 667- 673.
- Henini, G., Laidani, Y., & Souahi, F. (2011). Study of adsorption of copper on biomass *pleurotus mutilus* and the possibility of its regeneration by desorption. *Energy Procedia*, 6, 441-448. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2011.05.051>.
- Ho, Y.S. and McKay, G. (1999). Pseudo-second order model for sorption processes, *Process Biochem.*, 34, 451-465.



- Ho, Y.-S., Chiu, W.-T., Wang, C.-C. (2005). Regression analysis for the sorption isotherms of basic dyes on sugarcane dust. *Bioresour. Technol.* 96, 1285-1291.
- Hockin, S.L., & Gadd, G. M. (2007). *Bioremediation of metals and metalloids by precipitation and cellular binding*. L. L. Barton & W. A. Hamilton. Cambridge: Cambridge University Press, 405-434. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511541490.015>.
- Holan, Z.R., Volsky, B. (1995). Accumulation of cadmium, lead, and nickel by fungal and wood biosorbents. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 53, 133-146.
- Hu, M.Z.-C., & Reeves, M. (1997). Biosorption of Uranium by *Pseudomonas aeruginosa* Strain CSU Immobilized in a Novel Matrix. *Biotechnol. Prog.*, 13(1), 60-70. <https://doi.org/10.1021/bp9600849>.
- Hu, X., Wang, J., Liu, Y., Li, X., Zeng, G., Bao, Z., Long, F. (2011). Adsorption of chromium (VI) by ethylenediamine-modified cross-linked magnetic chitosan resin: Isotherms, kinetics and thermodynamics. *J. Hazard. Mater.*, 185(1), 306-314. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.09.034>.
- Iqbal, M., Saeed, A. (2007). Production of an immobilized hybrid biosorbent for the sorption of Ni<sup>2+</sup> from aqueous solution. *Process Biochem.* 42, 148-57.
- Iqbal, J., Cecil, F., Ahmad, K., Iqbal, M., Mushtaq, M., Naeem, M., Bokhari, T. (2013). Kinetic study of Cr(III) and Cr(VI) biosorption using *Rosadamascene phy-tomass* : a rose waste biomass. *Asian J. Chem.* 25, 2099-2103.
- Iqbal, M., Bhatti, I.A. (2014). Re-utilization option of industrial wastewater treated by advanced oxidation process. *Pak. J. Agric. Sci.* 51, 1141-1147.
- Iqbal, M., Bhatti, I.A., Zia-ur-Rehman, M., Bhatti, H.N., Shahid, M. (2014). Efficiency of advanced oxidation processes for detoxification of industrial effluents. *Asian J. Chem.* 26, 4291-4296.
- Iqbal, M., Abbas, M., Arshad, M., Hussain, T., Khan, A.U., Masood, N., Tahir, M.A., Hussain, S.M., Bokhari, T.H., Khera, R.A. (2015). Gamma radiation treatment for reducing cytotoxicity and mutagenicity in industrial wastewater. *Polish J. Environ. Stud.* 24, 2745-2750.
- Iqbal, M., Khera, R.A. (2015). Adsorption of copper and lead in single and binary metal system onto *Fumaria indica* biomass. *Chem. Int.* 1, 157b-163b.
- Iqbal, M., Nisar, J. (2015). Cytotoxicity and mutagenicity evaluation of gamma radiation and hydrogen peroxide treated textile effluents using bioassays. *J. Environ. Chem. Eng.* 3, 1912-1917.

- Iqbal, M., Bhatti, I.A. (2015). Gamma radiation/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment of a nonylphenol ethoxylates: degradation, cytotoxicity, and mutagenicity evaluation. *J. Hazard. Mater.* 299, 351-360.
- Jamal, M.A., Muneer, M., Iqbal, M. (2015). Photo-degradation of monoazo dye blue 13 using advanced oxidation process. *Chem. Int.* 1, 12-16.
- Javaid, A., Bajwa, R., Shafique, U., & Anwar, J. (2011). Removal of heavy metals by adsorption on *Pleurotus ostreatus*. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.12.035>.
- Ji, J., Cooper, W.C. (1996). Nickel Speciation in Aqueous Chloride Solutions. *Electrochim. Acta*, 41(9), 1549-1560,
- Joo, J.H., Hassan, S.H.A., Oh, S.E. (2010). Comparative study of biosorption of Zn<sup>2+</sup> by *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus cereus*, *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 64, 734-741.
- Habish, A.J, Lazarevic, S., Jankovic-Castvan, I., Potkonjak, B., Janackovic, D., & Petrovic, R. (2014). The effect of salinity on the sorption of cadmium ions from aqueous medium on Fe(III)-sepiolite. *Chem. Ind. Chem. Eng. Q.*, 21, 28-28. <https://doi.org/10.2298/CICEQ140130028H>.
- Kanchana, S., Jeyanthi, J., Kumar, R.D. (2011). Equilibrium and kinetic studies on biosorption of chromium(VI) on to *Chlorella* species. *Euro. J. Sci. Res.* 63, 255-262.
- Kang, S.-Y., Lee, J.-U., Kim, K.-W. (2007). Biosorption of Cr(III) and Cr(VI) onto the cell surface of *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochem. Eng. J.* 36, 54-58.
- Kannan, N., Meenakshisundaram, M. (2002). Adsorption of Congo red on various activated carbons. A comparative study. *Water Air Soil Pollut.* 138, 289-305.
- Kapetas L., Ngwenya B.T., Macdonald A.M., Elphick S. (2011). Kinetics of bacterial potentiometric titrations: The effect of equilibration time on buffering capacity of *Pantoea agglomerans* suspensions. *J. Colloid Interface Sci.*, 359(2), 481-6.
- Kapoor, A., & Viraraghavan, T. (1998). Biosorption of heavy metals on *Aspergillus niger*: Effect of pretreatment. *Bioresour. Technol.*, 63(2), 109-113. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(97\)00118-1](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(97)00118-1).
- Kapoor, A., Viraraghavan, T., Cullimore, D.R. (1999). Removal of heavy metals using the fungus *Aspergillus niger*. *Bioresour. Technol.*, 70, 95-104.

- Kaushik, P., & Malik, A. (2009). Removal of Dyes by *Aspergillus* sp. in Growth Supportive and Growth Restricted Modes. *Colloids Surf. B. Biointerfaces*, 81(1), pp. 321-8. <https://doi.org/10.13140/2.1.2460.9925>.
- Kenney, J.P.L., Fein, J.B. (2011). Importance of extracellular polysaccharides on proton and Cd binding to bacterial biomass: A comparative study. *Chem. Geol.*, 286(3-4), 109-117. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2011.04.011>.
- Khadivinia, E., Sharafi, H., Hadi, F., Zahiri, H. S., Modiri, S., Tohidi, A., Mousavi, A., Salmanian, A.H., Noghabi, K.A. (2014). Cadmium biosorption by a glyphosate-degrading bacterium, a novel biosorbent isolated from pesticide-contaminated agricultural soils. *J. Ind. Eng. Chem.*, 20(6), 4304-4310. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2014.01.037>.
- Khambhaty, Y., Mody, K., Basha, S., Jha, B. (2008). Hg(II) removal from aqueous solution by dead fungal biomass of marine *Aspergillus niger* : Kinetic studies. *Sep. Sci. Technol.*, 43, 1221 - 1238.
- Khambhaty, Y., Mody K., Basha S., Jha B. (2009). Biosorption of inorganic mercury onto dead biomass of marine *Aspergillus niger* : kinetics, equilibrium, and thermodynamic studies. *Environ. Eng. Sci.*, 26:531-539.
- Khattree, R., Rao C.R. (2003). *Statistics in Industry. Handbook of statistics*, 22. Elsevier.
- Khitous, M., Salem, Z., & Halliche, D. (2015). Removal of Chromium from Synthetic and Real Effluents Using Uncalcined MgAl-NO<sub>3</sub> Layered Double Hydroxide: Column Study and Modeling. *Sep. Sci. Technol.*, 50(16), 2458–2466. <https://doi.org/10.1080/01496395.2015.1064135>.
- Kılıç, M., Keskin, M. E., Mazlum, S., & Mazlum, N. (2008). Effect of conditioning for Pb(II) and Hg(II) biosorption on waste activated sludge. *Chem. Eng. Process.*, 47(1), 31-40. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2007.07.019>.
- Kim, B., & Gadd, G.M. (2008). *Bacterial physiology and metabolism*. Cambridge University Press, New York, NY. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511790461>.
- Kim, D.-H., Park, W., Kim, Y.-J., Han, J., Oh, S.-G., & Kim, J. W. (2012). Biosorption behaviors of natural polymer microfibers synthesized by using cellulase-based enzyme reactions. *Macromol. Res.*, 20(5), 490-495. <https://doi.org/10.1007/s13233-012-0071-9>.
- Kiran, I., Akar, T., Tunali, S. (2005). Biosorption of Pb(II) and Cu(II) from aqueous solutions by pretreated biomass of *Neurospora crassa*. *Process Biochem.* 40, 3550 - 3558.

- Kirova, G., Velkova, Z., Stoytcheva, M., Hristova, Y., Iliev, I., & Gochev, V. (2015). Biosorption of Pb(II) ions from aqueous solutions by waste biomass of *Streptomyces fradiae* pretreated with NaOH. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.*, 29(4), 689-695. <https://doi.org/10.1080/13102818.2015.1036775>.
- Klimmek, S., Stan, H.-J., Wilke, A., Bunke, G., & Buchholz, R. (2001). Comparative Analysis of the Biosorption of Cadmium, Lead, Nickel, and Zinc by Algae. *Environ. Sci. Technol.*, 35(21), 4283-4288. <https://doi.org/10.1021/es010063x>.
- Kotrba, P. (2011). Microbial Biosorption of Metals-General Introduction. In P. Kotrba, M. Mackova, & T. Macek (Eds.), *Microbial Biosorption of Metals*, 1-6. Dordrecht : Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-0443-5\\_1](https://doi.org/10.1007/978-94-007-0443-5_1).
- Kratochvil, D., & Volesky, B. (1998). Advances in the biosorption of heavy metals. *Trends in Biotechnology*, 16(7), 291-300. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(98\)01218-9](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(98)01218-9).
- Kuhn, P.J., Trinici, A.P.J., Jung, M.J., Goosey, M.W., Copping, L.G. (1990). *Biochemistry of cell walls and membranes in fungi*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 317p.
- Kumar, P.S., Ramalingam, S., Kirupha, S.D., Murugesan, A., Vidhyadevi, T., Sivanesan, S. (2011). Adsorption behavior of nickel(II) onto cashew nut shell: equilibrium, thermodynamics, kinetics, mechanism and process design. *Chem. Eng. J.* 167, 122-131.
- Kuroda, K., & Ueda, M. (2011). Cell surface engineering of yeast for applications in white biotechnology. *Biotechnol. Lett.*, 33(1), 1-9. <https://doi.org/10.1007/s10529-010-0403-9>.
- Kuyucak, N., & Volesky, B. (1989). The mechanism of cobalt biosorption. *Biotechnol. Bioeng.*, 33(7), 823-831. <https://doi.org/10.1002/bit.260330705>.
- Lagergren, S. (1898). Ueber die Dämpfung elektrischer resonatoren, *Annalen der Physik*, 300, 193-416.
- Lakshmanraj, L., Gurusamy, A., Gobinath, M., Chandramohan, R. (2009). Studies on the biosorption of hexavalent chromium from aqueous solutions by using boiled mucilaginous seeds of *Ocimum americanum*. *J. Hazard. Mater.* 169, 1141-1145.
- Lam, Y. F., Lee, L. Y., Chua, S. J., Lim, S. S., & Gan, S. (2016). Insights into the equilibrium, kinetic and thermodynamics of nickel removal by environmental friendly *Lansium domesticum* peel biosorbent. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 127, 61-70. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.01.003>.

- Leyva-Ramos, R., Bernal-Jacome, L. A., & Acosta-Rodriguez, I. (2005). Adsorption of cadmium(II) from aqueous solution on natural and oxidized corncob. *Sep. Purif. Technol.*, 45(1), 41-49. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2005.02.005>.
- Li, P.S., Tao, H.C., (2013). Cell surface engineering of microorganisms towards adsorption of heavy metals. *Crit. Rev. Microbiol.* DOI: 10.3109/1040841X.2013.813898.
- Liu R., Song Y., Tang H. (2013). Application of the Surface Complexation Model to the Biosorption of Cu(II) and Pb(II) Ions onto *Pseudomonas Pseudoalcaligenes* Biomass . *Adsorpt. Sci. Technol.*, 31, 1-16.
- Lopez, A., Lazaro, N., Morales, S., Marquès, A.M. (2002). Nickel biosorption by free and immobilized cells of *Pseudomonas fluorescens 4F39* : A comparative study. *Water, Air, Soil Pollut.*135, 157-172.
- Lu S., Gibb S.W. (2008). Copper removal from wastewater using spent-grain as biosorbent. *Bioresour. Technol.*, 99(6), 1509-1517. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.04.024>.
- Luo, S., Yuan L., Chai, L., Min, X., Wang, Y., Fang, Y., Wang, P. (2006). Biosorption behaviors of Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> and mixture by waste activated sludge. *Trans. Nonferrous Met. Soc. China*, 16(6), 1431-1435. [https://doi.org/10.1016/S1003-6326\(07\)60033-8](https://doi.org/10.1016/S1003-6326(07)60033-8).
- Luo, F., Liu, Y., Li, X., Xuan, Z., & Ma, J. (2006). Biosorption of lead ion by chemically-modified biomass of marine brown algae *Laminaria japonica*. *Chemosphere*, 64(7), 1122-1127. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.11.076>.
- Mack, C., Wilhelmi, B., Duncan, J. R., & Burgess, J. E. (2007). Biosorption of precious metals. *Biotechnol. Adv.*, 25(3), 264-271. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.01.003>.
- Madani, M. (2015). Conception et dimensionnement d'une station d'épuration des eaux usées du complexe rhourde nous. Retrieved from <http://e-biblio.univ-mosta.dz/handle/123456789/8327>.
- Maestri, E., Marmiroli, M., Visioli, G., Marmiroli, N. (2010). Metal tolerance and hyperaccumulation: Costs and trade-offs between traits and environment. *Environ. Exp. Bot.*, 68(1), 1-13.
- Majolagbe, A.O., Adeyi, A.A., Osibanjo, O. (2016). Vulnerability assessment of groundwater pollution in the vicinity of an active dumpsite (Olusosun), Lagos, Nigeria. *Chem. Int.* 2, 232-241.

- Malik, A. (2004). Metal bioremediation through growing cells. *Environ. Int.*, 30(2), 261-278.  
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2003.08.001>.
- Mali, A., Pandit, V., Majumder, D.R. (2014). Biosorption and desorption of zinc and nickel from wastewater by using dead fungal biomass of *Aspergillus flavus*. *Int. J. Tech. Res. Appl.* 2, 42-46.
- Malkoc E., Nuhoglu Y. (2005). Investigations of nickel(II) removal from aqueous solutions using tea factory waste. *J. Hazard. Mater.*, 127(1-3), 120-128.  
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.06.030>.
- Malkoc E., Nuhoglu Y. (2006). Fixed bed studies for the sorption of chromium(VI) onto tea factory waste. *Chem. Eng. Sci.* 61(13), 4363-4372.  
<https://doi.org/10.1016/j.ces.2006.02.005>.
- Mameri, N., Boudries, N., Addour, L., Belhocine, D., Lounici, H., Grib, H., Pauss, A. (1999). Batch zinc biosorption by a bacterial nonliving *Streptomyces rimosus* biomass, *Water Res.* 33, 1347-1354.
- Manzoor, Q., Nadeem, R., Iqbal, M., Saeed, R., Ansari, T.M. (2013). Organic acids pretreatment effect on *Rosa bourbonia* phyto-biomass for removal of Pb(II) and Cu(II) from aqueous media. *Bioresour. Technol.* 132, 446-452.
- Marandi, R. (2011). Biosorption of hexavalent chromium from aqueous solution by dead fungal biomass of *Phanerochaete cryosporium* : batch and fixed bed studies. *Can. J. Chem. Eng. Technol.* 2, 8-22.
- Marín, A.P., Aguilar, M., Meseguer, V., Ortuno, J., Sáez, J., Lloréns, M. (2009). Biosorption of chromium(III) by orange (*Citrus cinensis*) waste: batch and continuous studies. *Chem. Eng. J.* 55, 199-206.
- Bruins, MR., Kapil,S., Oehme, W. (2000). Microbial Resistance to Metals in the Environment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 45(3), 198-207.
- Martinez, R.E., Smith, D.S., Kulczycki, E., Ferris, F.G. (2002). Determination of intrinsic bacterial surface acidity constants using a Donnan shell model and a continuous pKa distribution method. *J. Colloid Interface Sci.* 253, 130 -139
- Martins, R.J., Pardo, R., Boaventura, R.A. (2004). Cadmium(II) and zinc(II) adsorption by the aquatic moss *Fontinalis antipyretica* : effect of temperature, pH and water hardness. *Water Res.* 38, 693-699.
- Martins, A.C., Pezotia, O., Cazetta, A.L., Bedin, K.C., Yamazaki, D.A.S., Bandoch, G.F.G., Asefa, T., Visentainer, J.V., Almeida, V.C. (2015). Removal of tetracycline by

- NaOH-activated carbon produced from macadamia nut shells: Kinetic and equilibrium studies, *Chem. Eng. J.*, 260, 291-299.
- Mata, Y. N., Blázquez, M. L., Ballester, A., González, F., & Muñoz, J. A. (2009). Sugar-beet pulp pectin gels as biosorbent for heavy metals: Preparation and determination of biosorption and desorption characteristics. *Chem. Eng. J.*, 150(2), 289-301. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2009.01.001>.
- Matos, G. D., & Arruda, M.A.Z. (2003). Vermicompost as natural adsorbent for removing metal ions from laboratory effluents. *Process Biochem.*, 39(1), 81-88. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(02\)00315-1](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(02)00315-1).
- Memon, J.R., Memon, S.Q., Bhangar, M.I., El-Turki, A., Hallam, K.R., Allen, G.C. (2009). Banana peel : a green and economical sorbent for the selective removal of Cr(VI) from industrial wastewater. *Colloid. Surf. B: Biointerfaces*, 70, 232-237.
- Meng, F.G., Chae, S.R., Shin, H.S., Yang, F.L., Zhou, Z.B. (2012). Recent advances in membrane bioreactors: configuration development, pollutant elimination, and sludge reduction. *Environ. Eng. Sci.* 29, 139-160.
- Mezguer, M., Kamel, N.E.H, Lounici, H., Kamel, Z. (2013). Characterization and properties of *Pleurotus mutilus* fungal biomass as adsorbent of the removal of uranium (VI) from uranium leachate, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 295, 393-403
- Michalak, I., Chojnacka, K., & Witek-Krowiak, A. (2013). State of the Art for the Biosorption Process-a Review. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 170(6), 1389-1416. <https://doi.org/10.1007/s12010-013-0269-0>.
- Michalak, I., Chojnacka, K., (2010). Interactions of metal cations with anionic groups on the cell wall of the macroalga *Vaucheria sp.*, *Eng. Life Sci.*, 10, 209-217.
- Mishra, S., & Doble, M. (2008). Novel chromium tolerant microorganisms: isolation, characterization and their biosorption capacity. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 71(3), 874-879. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.12.017>.
- Mishra, B., Boyanov, M., Bunker, B.A., Kelly, S.D., Kemner, K.M. and Fein, J.B. (2010) High- and low-affinity binding sites for Cd on the bacterial cell walls of *Bacillus subtilis* and *Shewanella oneidensis*. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 74, 4219 - 4233.
- Mishra, A., Tripathi, B. D., & Rai, A. K. (2014). Biosorption of Cr(VI) and Ni<sup>2+</sup> onto *Hydrilla verticillata* dried biomass. *Ecol. Eng.*, 73, 713-723. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.09.057>.
- Morley, G.F., Gadd, G.M. (1995). Sorption of toxic metals by fungi and clay minerals. *Mycol. Res.* 99, 1429-1438.

- Mousav, S.M., Yaghmaei, S., Jafari, A., Vossoughi, M., Ghobadi, Z. (2007). Optimization of ferrous biooxidation rate in a packed bed bioreactor using Taguchi approach. *Chem. Eng. Process.* 46, 935-940.
- Moussavi, G., Barikbin, B. (2010). Biosorption of chromium(VI) from industrial wastewater onto pistachio hull waste biomass. *Chem. Eng. J.* 162, 893-900.
- Moussous, S., Selatnia, A., Merati, A., Junter, G.A. (2012). Batch cadmium (II) biosorption by an industrial residue of macrofungal biomass (*Clitopilus scyphoides*). *Chem. Eng. J.* 197, 261-271.
- Musso, T., Parolo, M., Pettinari, G., Francisca, F. (2014). Cu(II) and Zn(II) adsorption capacity of three different clay liner materials. *J. Environ. Manage.* 146, 50-58.
- Myers Raymond, H., & Montgomery, D.C. (2002). *Response Surface Methodology: process and product optimization using designed experiment.* A Wiley-Interscience Publication.
- Nacéra, Y., Aicha, B. (2006). Equilibrium and kinetic modelling of methylene blue biosorption by pretreated dead *Streptomyces rimosus* : effect of temperature. *Chem. Eng. J.* 119(2), 121-125.
- Nadeem, R., Hanif, M. A., Shaheen, F., Perveen, S., Zafar, M. N., & Iqbal, T. (2008). Physical and chemical modification of distillery sludge for Pb(II) biosorption. *J. Hazard. Mater.*, 150(2), 335-342. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.04.110>.
- Nadeem, R., Manzoor, Q., Iqbal, M., Nisar, J. (2015). Biosorption of Pb(II) onto immobilized and native *Mangifera indica* waste biomass. *J. Ind. Eng. Chem.*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiec.2015.12.030>.
- Naja, G., Mustin, C., Berthelin, J., Volesky, B. (2005). Lead biosorption study with *Rhizopus arrhizus* using a metal-based titration technique. *J. Colloid Interface Sci.*, 292, 537-543.
- Naja, G., Mustin, C., Volesky, B., & Berthelin, J. (2005). A high-resolution titrator: a new approach to studying binding sites of microbial biosorbents. *Water res.*, 39(4), 579-588. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2004.11.008>.
- Naja G.M. & Volesky B. (2009). Toxicity and Sources of Pb, Cd, Hg, Cr, As, and Radionuclides in the Environment in Heavy Metals in the Environment. Boca Raton, FL: Taylor & Francis and CRC Press.
- Nethaji, S., Sivasamy, A., Thennarasu, G., Saravanan, S. (2010). Adsorption of malachite green dye onto activated carbon derived from *Borassus aethiopum* flower biomass. *J. Hazard. Mater.*, 181, 271-280.



- Ngah, W.W., Teong, L., Hanafiah, M. (2011). Adsorption of dyes and heavy metal ions by chitosan composites : a review. *Carbohydr. Polym.* 83, 1446-1456.
- Nidheesh, P.V., Gandhimathi, R., Ramesh, S.T., Anantha Singh, T.S. (2012). Kinetic analysis of crystal violet adsorption on to bottom ash. *Turk. J. Eng. Environ. Sci.* 36, 249-262.
- Niu, C.H., Volesky, B., & Cleiman, D. (2007). Biosorption of arsenic(V) with acid-washed crab shells. *Water res.*, 41(11), 2473-2478. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.03.013>.
- Niu, H., & Volesky, B. (2003). Characteristics of anionic metal species biosorption with waste crab shells. *Hydrometallurgy*, 71(1), 209-215. [https://doi.org/10.1016/S0304-386X\(03\)00158-0](https://doi.org/10.1016/S0304-386X(03)00158-0).
- Noeline, B., Manohar, D., Anirudhan, T. (2005). Kinetic and equilibrium modelling of lead(II) sorption from water and wastewater by polymerized banana stem in a batch reactor. *Sep. Purifi. Technol.* 45, 131-140.
- Noreen, S., Bhatti, H.N., Nausheen, S., Sadaf, S., Ashfaq, M. (2013). Batch and fixed bed adsorption study for the removal of Drimarine Black CL-B dye from aqueous solution using a lignocellulosic waste : a cost affective adsorbent. *Ind. Crops Product.*, 50, 568-579.
- Ofomaja, A.E., Ho, Y.-S., (2007). Equilibrium sorption of anionic dye from aqueous solution by palm kernel fibre as sorbent. *Dyes Pigm.* 74, 60-66.
- Ofomaja, A.E. (2010). Intraparticle diffusion process for lead(II) biosorption onto mansonia wood sawdust. *Bioresour. Technol.*, 101, 5868-5876.
- Ofudje E.A., Akiode O.K., Oladipo G.O., Adedapo A.E., Adebayo L.O., Awotula A.O. (2015). Application of raw and alkaline-modified coconut shaft as a biosorbent for Pb<sup>2+</sup> removal, *BioResources*, 10, 3462-3480.
- Oliveira, L.C.A., Rios, R.V.R.A., Fabris, J.D., Sapag, K., Garg, V.K., Lago, R.M. (2003). Clay-iron oxide magnetic composites for the adsorption of contaminants in water. *Appl. Clay Sci.* 22, 169-177.
- Osasona, I., Faboya, O.L., Oso, A.O., (2013). Kinetic, equilibrium and thermodynamic studies of the adsorption of methylene blue from synthetic wastewater using cow hooves, *Br. J. Appl. Sci. Technol.*, 3, 1006-1021.
- Oyetibo, G. O., Ishola, S. T., Ikeda-Ohtsubo, W., Miyauchi, K., Ilori, M. O., & Endo, G. (2015). Mercury bioremoval by *Yarrowia* strains isolated from sediments of

- mercury-polluted estuarine water. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 99(8), 3651-3657. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-6279-1>.
- Özer, A., Gürbüz, G., C, Alimli, A., Körbahti, B.K., (2008). Investigation of nickel(II) biosorption on *Enteromorpha prolifera* : optimization using response surface analysis. *J. Hazard. Mater.* 152, 778-788.
- Padmavathy, V., (2008). Biosorption of nickel(II) ions by baker's yeast : kinetic, thermodynamic and desorption studies, *Bioresour. Technol.* 99, 3100-3109.
- Pan J., Liu R., Tang H. (2007). Surface reaction of *Bacillus cereus* biomass and its biosorption for lead and copper ions. *All J. Environ. Sci.* 19, 403-408.
- Pan X, Eathiraj S., Munson M., Lambright D.G. (2006). TBC-domain GAPs for Rab GTPases accelerate GTP hydrolysis by a dual-finger mechanism. *Nature* 442(7100):303-306
- Pan, J. H., Liu, R. X., Tang, H.X., (2007). Surface reaction of *Bacillus cereus* biomass and its biosorption for lead and copper ions. *J. Environ. Sci. China* 19, 403 - 408.
- Pandey, B.K., Vyas, S., Pandey, M., Gaur, A., 2016a. Characterisation of municipal solid waste generated from Bhopal, India. *Curr. Sci. Perspect.* 2, 52-56.
- Park, D., Yun, Y.-S., & Park, J. M. (2010). The past, present, and future trends of biosorption. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 15(1), 86-102. <https://doi.org/10.1007/s12257-009-0199-4>.
- Parvathi K., Nagendran R., Nareshkumar R. (2007). Lead biosorption onto waste beer yeast by-product, a means to decontaminate effluent generated from battery manufacturing industry. *Electronic J. Biotechnol.* 10(1) 1-14. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-34582007000100009>.
- Peralta-Videa, J.R., Lopez, M.L., Narayan, M., Saupe G., Torresdey, J.G. (2009). The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: Implications for the food chain. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 41, 1665-1677.
- Peter, U.C., Chinedu, U. (2016). Model prediction for constant area, variable pressure drop in orifice plate characteristics in flow system. *Chem. Int.* 2, 80-88.
- Pino, G. H., Souza de Mesquita, L. M., Torem, M. L., & Saavedra Pinto, G. A. (2006). Biosorption of cadmium by green coconut shell powder. *Minerals Engineering*, 19(5), 380-387. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2005.12.003>.
- Popuri, S. R., Jammala, A., Suresh Reddy, K. V. N., & Abburi, K. (2007). Biosorption of hexavalent chromium using tamarind (*Tamarindus indica*) fruit shell-a

- comparative study. *Electronic J. Biotechnol.*, 10(3), 0-0.  
<https://doi.org/10.2225/vol10-issue3-fulltext-11>.
- Pundir, R., Chary, G.H.V.C., Dastidare, M.G., (2016). Application of Taguchi method for optimizing the process parameters for the removal of copper and nickel by growing *Aspergillus sp.*, *Water Resour. Ind.*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.wri.2016.05.001i>.
- Pundir, R., Chary, G. H. V. C., & Dastidar, M. G. (2018). Application of Taguchi method for optimizing the process parameters for the removal of copper and nickel by growing *Aspergillus sp.* *Water Resour. Ind.*, 20, 83-92.  
<https://doi.org/10.1016/j.wri.2016.05.001>.
- Puranik, P., Paknikar, K., (1997). Biosorption of lead and zinc from solutions using *Streptovercillium cinnamoneum* waste biomass. *J. Biotechnol.*, 55, 113-124.
- Qiu, H., Lv, L., Pan, B.-C., Zhang, Q.-J., Zhang, W.-M., Zhang, Q.-X., (2009). Critical review in adsorption kinetic models. *J. Zhejiang Univ. Sci. A* 10, 716-724.
- Qureshi, K., Ahmad, M.Z., Bhatti, I.A., Iqbal, M., Khan, A., (2015). Cytotoxicity reduction of wastewater treated by advanced oxidation process. *Chem. Int.* 1, 53-59.
- Rajalakshmi, R., Subhashini, S., Lalitha, P. (2009). Usefulness of activated carbon prepared from industrial wastes in the removal of nickel from aqueous solution. *J. Chem.* 6, 361-370.
- Rajappa, A., Ramesh, K., Nandhakumar, V., Ramesh, H. (2014). Equilibrium and isotherm studies of congo red adsorption onto commercial carbon. *Int.J.Curr. Res. Chem. Pharma.Sc.* 1(3), 43-48.
- Ramrakhiani, L., Majumder, R., & Khowala, S. (2011). Removal of hexavalent chromium by heat inactivated fungal biomass of *Termitomyces clypeatus* : Surface characterization and mechanism of biosorption. *Chem. Eng. J.*, 171(3), 1060-1068. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2011.05.002>.
- Rashid A., Bhatti H. N., Iqbal M., Noreena S.(2016). Fungal biomass composite with bentonite efficiency for nickel and zinc adsorption : A mechanistic study. *Ecol. Eng.*, 91, 459-471.
- Rehman, R., Anwar, J., & Mahmud, T. (2013). Sorptive removal of lead (II) from water using chemically modified mulch of *Madhuca longifolia* and *Polyalthia longifolia* as novel biosorbents. *Desalin. Water Treat.*, 51(13-15), 2624-2634.  
<https://doi.org/10.1080/19443994.2012.749200>.

- Ringot, D., Lerzy, B., Chaplain, K., Bonhoure, J.-P., Auclair, E., & Larondelle, Y. (2007). In vitro biosorption of ochratoxin A on the yeast industry by-products: Comparison of isotherm models. *Bioresour. Technol.*, 98(9), 1812-1821. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.06.015>.
- Rivera-Utrilla, J., Isidora Bautista-Toledo, M., Ferro-García, M.A., Moreno-Castilla, C. (2001). Activated carbon surface modifications by adsorption of bacteria and their effect on aqueous lead adsorption. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 76(12), 1209 - 1215.
- Romera, E., González, F., Ballester, A., Blázquez, M. L., & Muñoz, J. A. (2006). Biosorption with algae: a statistical review. *Crit. Rev. Biotechnol.*, 26(4), 223-235. <https://doi.org/10.1080/07388550600972153>.
- Safa, Y., Bhatti, H.N., (2011). Kinetic and thermodynamic modeling for the removal of Direct red-31 and Direct orange-26 dyes from aqueous solutions by rice husk. *Desalination*, 272, 313-322.
- Saha, P.D., Dey, A., Marik, P. (2012). Batch removal of chromium(VI) from aqueous solutions using wheat shell as adsorbent : process optimization using response surface methodology. *Desalin. Water Treat.* 39, 95-102.
- Sahmoune, M. N., Louhab, K. and Boukhiar, A. (2009). Biosorption of Cr(III) from Aqueous Solutions Using Bacterium Biomass *Streptomyces rimosus*, *Int. J. Environ. Res.*, 3 (2), 229-238.
- Sahmoune M.N. (2018). Performance of *Streptomyces rimosus* biomass in biosorption of heavy metals from aqueous solutions. *Microchem. J.*, 141, (2018) 87-95.
- Salvadori, M.R., Ando, R.A., do Nascimento, C.A.O., Corrêa, B. (2014). Intracellular Biosynthesis and Removal of Copper Nanoparticles by Dead Biomass of Yeast Isolated from the Wastewater of a Mine in the Brazilian Amazonia. *PLOS ONE*, 9(1), e87968. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087968>.
- Sandana Mala, J.G., Unni Nair, B., Puvanakrishnan, R., (2006). Bioaccumulation and biosorption of chromium by *Aspergillus niger* MTCC 2594. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 52, 179-186.
- Sangi, M.R., Shahmoradi, A., Zolgharnein, J., Azimi, G.H., Ghorbandoost, M., (2008). Removal and recovery of heavy metals from aqueous solution using *Ulmus carpinifolia* and *Fraxinus excelsior* tree leaves. *J. Hazard. Mater.* 155, 513-522.

- Satapathy, D., Natarajan, G.S. (2006). Potassium bromate modification of the granular activated carbon and its effect on nickel adsorption. *Adsorption*, 12(2), 147-154. <https://doi.org/10.1007/s10450-006-0376-0>.
- Sawalha, M. F., Peralta-Videa, J. R., Romero-González, J., Duarte-Gardea, M., & Gardea-Torresdey, J. L. (2007). Thermodynamic and isotherm studies of the biosorption of Cu(II), Pb(II), and Zn(II) by leaves of saltbush (*Atriplex canescens*). *J. Chem. Thermodyn*, 39(3), 488-492. <https://doi.org/10.1016/j.jct.2006.07.020>.
- Sayed, M. (2015). Efficient removal of phenol from aqueous solution by the pulsed high-voltage discharge process in the presence of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Chem. Int.* 1, 81-86.
- Selatnia, A., Madani, A., Bakhti, M. Z., Kertous, L., Mansouri, Y., & Yous, R. (2004a). Biosorption of Ni<sup>2+</sup> from aqueous solution by a NaOH-treated bacterial dead *Streptomyces rimosus* biomass. *Minerals Engineering*, 17(7), 903-911. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2004.04.002>.
- Selatnia, A., Bakhti, M. Z., Madani, A., Kertous, L., & Mansouri, Y. (2004b). Biosorption of Cd<sup>2+</sup> from aqueous solution by a NaOH-treated bacterial dead *Streptomyces rimosus* biomass. *Hydrometallurgy*, 75(1), 11–24. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2004.06.005>.
- Selatnia, A., Boukazoula, A., Kechid, N., Bakhti, M. Z., & Chergui, A. (2004c). Biosorption of Fe<sup>3+</sup> from aqueous solution by a bacterial dead *Streptomyces rimosus* biomass. *Process Biochem.*, 39(11), 1643–1651. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00305-4](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00305-4).
- Selatnia, A., Boukazoula, A., Kechid, N., Bakhti, M. Z., Chergui, A., & Kerchich, Y. (2004d). Biosorption of lead (II) from aqueous solution by a bacterial dead *Streptomyces rimosus* biomass. *Biochem. Eng. J.*, 19(2), 127–135. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2003.12.007>.
- Sepehr, M.N., Nasser, S., Yaghmaian, M.M.A.K. (2005). Chromium bioremoval from tannery industries effluent by *Aspergillus oryzae*. *Iran. J. Environ. Health Sci. Eng.* 2, 273-279.
- Sethurajan, M., van Hullebusch, E. D., & Nancharaiah, Y. V. (2018). Biotechnology in the management and resource recovery from metal bearing solid wastes: Recent advances. *J. Environ. Manage.*, 211, 138–153. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.01.035>.

- Sharma, S., Malik, A., Satya, S. (2009). Application of response surface methodology (RSM) for optimization of nutrient supplementation for Cr (VI) removal by *Aspergillus lentulus AML05*. J. Hazard Mater. 164, 1198-1204.
- Sheng, P. X., Ting, Y.-P., Chen, J. P., & Hong, L. (2004). Sorption of lead, copper, cadmium, zinc, and nickel by marine algal biomass: characterization of biosorptive capacity and investigation of mechanisms. J. Colloid Interface Sci., 275(1), 131-141. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.01.036>.
- Shinde, N.R., Bankar, A.V., Kumar, A.R., & Zinjarde, S.S. (2012). Removal of Ni<sup>2+</sup> ions from aqueous solutions by biosorption onto two strains of *Yarrowia lipolytica*. J. Environ. Manage., 102, 115-124. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.02.026>.
- Shoaib, A., Naureen, A., Tanveer, F., Aslam, N., (2012). Removal of Ni<sup>2+</sup> ions from substrate using filamentous fungi. Int. J. Agric. Biol., 14, 831-833.
- Shroff, K.A., & Vaidya, V.K. (2012). Effect of pre-treatments on the biosorption of Chromium (VI) ions by the dead biomass of *Rhizopus arrhizus*. J. Chem. Technol. Biotechnol., 87(2), 294-304. <https://doi.org/10.1002/jctb.2715>.
- Shroff, K.A., Vaidya, V.K. (2011). Kinetics and equilibrium studies on biosorption of nickel from aqueous solution by dead fungal biomass of *Mucor hiemalis*. Chem. Eng. J. 171, 1234-1245.
- Shukla, A., Zhang, Y.-H., Dubey, P., Margrave, J., Shukla, S.S. (2002). The role of sawdust in the removal of unwanted materials from water. J. Hazard. Mater. 95, 137-152.
- Sivakumar, P. and Palanisamy, P.N. (2009). Adsorption studies of basic red 29 by a non-conventional activated carbon prepared from euphorbia antiquorum L, Int. J. ChemTech Res., 1, 502-510.
- Sivaprakash, K., Blessi T.L., A., & Madhavan, J. (2015). Biosorption of Nickel from Industrial Wastewater using *Zygnema sp.* J. Inst. Eng.(India): Series A, 96(4), 319-326. <https://doi.org/10.1007/s40030-015-0131-1>.
- Soares, E.V., & Soares, H.M.V.M. (2012). Bioremediation of industrial effluents containing heavy metals using brewing cells of *Saccharomyces cerevisiae* as a green technology : a review. Environ. Sci. Pollut. Res., 19(4), 1066-1083. <https://doi.org/10.1007/s11356-011-0671-5>.
- Song, M.-H., Won, S. W., & Yun, Y.-S. (2013). Decarboxylated polyethylenimine-modified bacterial biosorbent for Ru biosorption from Ru-bearing acetic acid wastewater. Chem. Eng. J., 230, 303-307. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.06.087>.

- Sposito, G. (1984). *The Surface Chemistry of Soils*. Oxford University Press, New York, 234p.
- Stumm, W., and Morgan, J. (1996). *Aquatic Chemistry*, 3<sup>rd</sup> Edition. Wiley-Interscience
- Suhasini, I., Sriram, G., Asolekar, S., Sureshkumar, G. (1999). Nickel biosorption from aqueous systems : studies on single and multimetal equilibria kinetics, and recovery. *Separat. Sci. Technol.* 34, 2761-2779.
- Sujatha, P., Kalarani, V., Kumar, B.N. (2012). Effective biosorption of nickel(II) from aqueous solutions using *Trichoderma viride*. *J. Chem.* 2013, 1-7.
- Taguchi, G., (1990). *Introduction to Quality Engineering*. McGraw-Hill, New York, USA, 191p.
- Tassist, A., Lounici, H., Abdi, N., Mameri, N. (2010). Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies on aluminum biosorption by a mycelial biomass (*Streptomyces rimosus*). *J. Hazard. Mater.* 183,35-43.
- Teixeira Tarley, C. R., & Zezzi Arruda, M. A. (2004). Biosorption of heavy metals using rice milling by-products. Characterisation and application for removal of metals from aqueous effluents. *Chemosphere*, 54(7), 987-995. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2003.09.001>.
- Tewari, N., Vasudevan, P., Guha, B. (2005). Study on biosorption of Cr(VI) by *Mucor hiemalis*. *Biochem. Eng. J.* 23, 185-192.
- Texier, A.-C., Andrès, Y., & Le Cloirec, P. (1999). Selective Biosorption of Lanthanide (La, Eu, Yb) Ions by *Pseudomonas aeruginosa*. *Environ. Sci. Technol.*, 33(3), 489-495. <https://doi.org/10.1021/es9807744>.
- Tsezos, M., & Volesky, B. (1982). The mechanism of uranium biosorption by *Rhizopus arrhizus*. *Biotechnol. Bioeng.*, 24(2), 385-401. <https://doi.org/10.1002/bit.260240211>.
- Tunali, S., Akar, T. (2006). Zn(II) biosorption properties of *Botrytis cinerea* biomass. *J. Hazard. Mater.* 131, 137-145.
- Turner, B. F., & Fein, J. B. (2006). Protokit: A program for determining surface protonation constants from titration data. *Computers & Geosciences*, 32(9), 1344-1356. <https://doi.org/10.1016/j.cageo.2005.12.005>.
- Ukpaka, C., Wami, E., Amadi, S. (2015). Effect of pollution on metal corrosion : a case study of carbon steel metal in acidic media. *Curr. Sci. Perspect.* 1, 107-111.

- Ukpaka, C.P. (2016). Predictive model on the effect of restrictor on transfer function parameters on pneumatic control system. *Chem. Int.* 2, 128-135.
- Ullah, I., Nadeem, R., Iqbal, M., Manzoor, Q. (2013). Biosorption of chromium onto native and immobilized sugarcane bagasse waste biomass. *Ecol. Eng.* 60, 99-107.
- Vaghetti, J.C.P., Lima, E.C., Royer, B., da Cunha, B.M., Cardoso, N.F., Brasil, J.L., Dias, S.L.P. (2009). Pecan nutshell as biosorbent to remove Cu(II), Mn(II) and Pb(II) from aqueous solutions. *J. Hazard. Mater.* 162, 270-280.
- Van der Wal, A., Norde, W., Zehnder, A.J.B., Lyklema, J. (1997). Determination of the total charge in the cell walls of Gram-positive bacteria. *Colloids Surf. B* 9, 81-100.
- Veglio, F., & Beolchini, F. (1997). Removal of metals by biosorption: a review. *Hydrometallurgy*, 44(3), 301-316. [https://doi.org/10.1016/S0304-386X\(96\)00059-X](https://doi.org/10.1016/S0304-386X(96)00059-X).
- Veneu, D.M., Pino, G.A.H., Torem, M. L., & Saint’Pierre, T.D. (2012). Biosorptive removal of cadmium from aqueous solutions using a *Streptomyces lunalinharesii* strain. *Miner. Eng.*, 29, 112-120. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2011.08.005>.
- Vijayaraghavan, K., Padmesh, T. V. N., Palanivelu, K., & Velan, M. (2006). Biosorption of nickel(II) ions onto *Sargassum wightii* : Application of two-parameter and three-parameter isotherm models. *J. Hazard. Mater.*, 133(1), 304-308. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.10.016>.
- Vijayaraghavan, K., & Yun, Y.-S. (2008). Bacterial biosorbents and biosorption. *Biotechnol. Adv.*, 26(3), 266-291. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.02.002>.
- Vijayaraghavan, K., Sathishkumar, M., & Balasubramanian, R. (2010). Biosorption of Lanthanum, Cerium, Europium, and Ytterbium by a Brown Marine Alga, *Turbinaria Conoides*. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 49(9), 4405-4411. <https://doi.org/10.1021/ie1000373>.
- Volesky, B. (1990). Removal and recovery of heavy metals by biosorption. In: Volesky B, editor. *Biosorption of Heavy Metals*. Boca.Ration, FL: CRC Press. pp. 7-43.
- Volesky, B. (1990). *Biosorption of Heavy Metals*. CRC Press.
- Volesky, B. (2001). Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century. *Hydrometallurgy*, 59, 203-216.
- Volesky, B. (2001). Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century. *Hydrometallurgy*, 59(2), 203-216. [https://doi.org/10.1016/S0304-386X\(00\)00160-2](https://doi.org/10.1016/S0304-386X(00)00160-2).



- Volesky, B. (2003). Sorption and Biosorption. BV Sorbex, Inc, 103-116.
- Volesky, B. (2007). Biosorption and me. *Water Res.*, 41, 4017-4029.
- Volesky, B., & Naja, G. (2007). Biosorption technology: Starting up an enterprise. *Int. J. Technology Transfer and Commercialisation Int. J. Technology Transfer and Commercialisation*, 6, 196-211. <https://doi.org/10.1504/IJTTC.2007.017806>.
- Wang, J., & Chen, C. (2006). Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: A review. *Biotechnol. Adv.*, 24(5), 427-451. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.03.001>.
- Wang, J., Liu, G., Zhou, C., Li, T., Liu, J. (2014). Synthesis : characterization and aging study of kaolinite-supported zero-valent iron nanoparticles and its application for Ni<sup>2+</sup> adsorption. *Mater. Res. Bull.* ,60, 421-432.
- Wang, W., Li, M., & Zeng, Q. (2012). Thermodynamics of Cr(VI) adsorption on strong alkaline anion exchange fiber. *Trans. Nonferrous Met. Soc., China*, 22(11), 2831-2839. [https://doi.org/10.1016/S1003-6326\(11\)61539-2](https://doi.org/10.1016/S1003-6326(11)61539-2).
- Wang, X.S., Li, Z.Z., Tao, S.R. (2009). Removal of chromium(VI) from aqueous solution using walnut hull. *J. Environ. Manage.* 90, 721-729.
- Weber, W.J., Morris, J.C. (1962). Advances in water pollution research. *Proc. First Int. Conf. Water Pollut. Res.*, 231.
- Weber, W.J. and Morris, J.C. (1963). Intraparticle diffusion during the sorption of surfactants onto activated carbon, *Journal of Saint, Engineering Division of American Society of Civil Engineers*, 89, 53- 61.
- Who. (2004). Guidelines for drinking-water quality. Recommendations, Geneva, 1(3), 334-335.
- Wilson, D., del Valle, M., Alegret, S., Valderrama, C., & Florido, A. (2013). Simultaneous and automated monitoring of the multimetal biosorption processes by potentiometric sensor array and artificial neural network. *Talanta*, 114, 17-24. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.03.066>.
- Won, S.W., Kwak, I.S., & Yun, Y.-S. (2014). The role of biomass in polyethylenimine-coated chitosan/bacterial biomass composite biosorbent fiber for removal of Ru from acetic acid waste solution. *Bioresour. Technol.*, 160, 93-97. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.082>.

- Wong, H. C., Liu, S.H., Wang, T.K., Lee, C.L., Chiou, C.S., Liu, D.P. (2000). Characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* O3 : K6 from Asia. Appl. Environ. Microbiol., 66, 3981-3986
- Wu, Y., Luo, H., Wang, H., Wang, C., Zhang, J., Zhang, Z. (2013). Adsorption of hexavalent chromium from aqueous solutions by graphene modified with cetyltrimethylammonium bromide. J. Colloid Interface Sci. 394, 183-191.
- Yadav, S., Srivastava, V., Banerjee, S., Weng, C.-H., Sharma, Y.C. (2013). Adsorption characteristics of modified sand for the removal of hexavalent chromium ions from aqueous solutions : kinetic, thermodynamic and equilibrium studies. Catena, 100, 120-127.
- Yadava, K., Tyagi, B., Singh, V. (1991). Effect of temperature on the removal of lead(II) by adsorption on china clay and wollastonite. J. Chem. Technol. Biotechnol. 51, 47-60.
- Yang, L., Chen, J.P. (2008). Biosorption of hexavalent chromium onto raw and chemically modified *Sargassum* sp. Bioresour. Technol. 99, 297-307.
- Yang, Y.-Q., Chen, H.-J., (2007). Study on the intercalation organobentonite and its adsorption. J. Xinyang Normal Univ. (Nat. Sci. Ed.) 3, 023.
- Yazdani, M., Yap, C.K., Abdullah, F., Tan, S.G. (2010). An in vitro study on the adsorption, absorption and uptake capacity of Zn by the bioremediator *Trichoderma atroviride*. Environ. Asia 3, 53-59.
- Yeddou-Mezenner, N. (2010). Kinetics and mechanism of dye biosorption onto an untreated antibiotic waste. Desalination 262, 251-259.
- Yee, N., Benning, L.G., Phoenix, V.R., Ferris F.G. (2004). Characterization of metal-*Cyanobacteria* sorption reaction : a combined macroscopic and infrared spectroscopic investigation. Environ. Sci. Technol., 38, 775-782.
- Yen, H.Y., Li, J.Y. (2015). Process optimization for Ni<sup>2+</sup> removal from wastewater by calcined oyster shell powders using Taguchi method. J. Environ. Manage. 161, 344-349.
- Younas, A., Nadeem, N., Iqbal, M. (2015). Ag(I) Cr(VI) and Pb(II) adsorption from aqueous media onto different adsorbent types. Asian J. Chem. 27, 3308-3314.
- Young, S.D., Bache, B.W., Welch, D., Anderson, H.A. (1981). Analysis of the potentiometric titration of natural and synthetic polycarboxylates, Journal of Soil Science, 32, 579-592.

- Yuncu, B., Sanin, F.D., & Yetis, U. (2006). An investigation of heavy metal biosorption in relation to C/N ratio of activated sludge. *J. Hazard. Mater.*, 137(2), 990-997. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.03.020>.
- Zafar, M. N., Aslam, I., Nadeem, R., Munir, S., Rana, U. A., & Khan, S. U.-D. (2015). Characterization of chemically modified biosorbents from rice bran for biosorption of Ni<sup>2+</sup>. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.*, 46, 82-88. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2014.08.034>.
- Zhang, Y., & Banks, C. (2006). A comparison of the properties of polyurethane immobilised Sphagnum moss, seaweed, sunflower waste and maize for the biosorption of Cu, Pb, Zn and Ni in continuous flow packed columns. *Water res.*, 40(4), 788-798. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.12.011>.
- Zhang, Y., Liu, W., Xu, M., Zheng, F., & Zhao, M. (2010). Study of the mechanisms of Cu<sup>2+</sup> biosorption by ethanol/caustic-pretreated baker's yeast biomass. *J. Hazard. Mater.*, 178(1), 1085-1093. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.02.051>.
- Zhao, G., Wu, X., Tan, X., Wang, X. (2011). Sorption of heavy metal ions from aqueous solutions : a review. *Colloid Sci. J.* 4, 19-31.
- Zhu W., Xu X., Xia L., Huang Q., Chen W. (2016). Comparative Analysis of Mechanisms of Cd<sup>2+</sup> and Ni<sup>2+</sup> Biosorption by Living and Nonliving *Mucoromycote sp. XLC*, *Geomicrobiol. J.*, 33, 3-4, 274-282.
- Zhu, W., Xu, X., Xia, L., Huang, Q., & Chen, W. (2016). Comparative Analysis of Mechanisms of Cd<sup>2+</sup> and Ni<sup>2+</sup> Biosorption by Living and Nonliving *Mucoromycote sp. XLC*. *Geomicrobiol. J.*, 33(3-4), 274-282. <https://doi.org/10.1080/01490451.2015.1052114>.
- Zolfaghari, G., Esmaili-Sari, A., Anbia, M., Younesi, H., Amirmahmoodi, S., Ghafari-Nazari, A. (2011). Taguchi optimization approach for Pb(II) and Hg(II) removal from aqueous solutions using modified mesoporous carbon. *J. Hazard. Mater.*, 192(3), 1046-1055.
- Zouboulis, A.I., Matis, K.A., Loukidou, M., Sebasta, F. (2003). Metal biosorption by PAN-immobilized fungal biomass in simulated wastewaters. *Colloid. Surf. A: Physicochem. Eng. Aspect* 212, 185-195.
- Zubair, A., Bhatti, H.N., Hanif, M.A., Shafqat, F. (2008). Kinetic and equilibrium modeling for Cr(III) and Cr(VI) removal from aqueous solutions by *Citrus reticulata* waste biomass. *Water Air Soil Pollut.* 191, 305-318.

## ANNEXES

### Annexe I. Influence de la concentration en Nickel

#### *Pleurotus mutilus*

Co (Ni, mg/l)	q (mq/g)		
50	4,929	1,016	0,038
100	11,325	12,303	12,107
150	21,633	17,721	14,786
200	26,562	25,584	26,562
250	36,870	36,381	37,360
300	45,712	45,223	36,419
350	44,282	45,261	41,348
400	47,744	46,277	46,766
450	46,314	44,358	54,140
500	44,885	51,732	50,265

#### *Streptomyces rimosus*

Co (Ni, mg/	q (mg/g)		
50	0,132	0,793	0,762
100	10,657	9,713	10,657
150	10,317	11,262	10,789
200	22,260	21,315	21,787
250	32,312	34,202	33,257
300	46,048	44,674	45,475
350	50,687	48,625	49,771
400	49,141	49,485	49,599
450	52,062	49,656	50,916
500	50,515	50,859	50,859

Annexe II. Influence du pH

<i>Pleurotus mutilus</i>			
pH	q (mg/g)		
3	7,177	11,965	9,031
4	31,528	31,528	31,528
5	31,528	31,528	31,528
6	36,419	37,397	38,376
7	38,376	36,419	37,397
8	41,310	46,201	46,201
9	80,437	80,437	80,437
10	90,218	90,218	90,218

<i>Streptomyces rimosus</i>			
pH	q(mg/g)		
3	20,769	16,856	14,900
4	24,681	22,725	23,703
5	25,659	25,659	26,638
6	31,039	30,746	31,039
7	45,712	45,712	45,223
8	41,310	44,245	47,179
9	73,100	73,100	72,611
10	85,328	88,262	87,284

Annexe III. Influence du temps

*Pleurotus mutilus*

temps (min)	q (mg/g)		
2	29,648	27,691	29,648
4	31,604	31,604	29,648
6	34,539	33,560	34,343
8	35,517	33,560	37,473
10	41,386	40,408	40,408
20	43,342	41,386	39,429
30	45,298	39,429	37,473
40	45,298	43,342	45,298
50	43,342	43,342	44,320
60	45,298	44,320	43,342
70	42,364	44,320	45,298
80	44,320	43,342	42,364
90	41,386	41,386	41,386
100	42,364	44,320	45,298
110	43,342	45,298	47,255
120	43,342	43,342	43,342

*Streptomyces rimosus*

temps (min)	q (mg/g)		
2	25,273	23,910	23,668
4	27,073	26,416	26,553
6	35,678	36,439	36,223
8	38,653	38,110	37,013
10	38,963	38,110	37,958
20	40,653	41,451	41,073
30	40,903	41,451	40,778
40	41,478	41,100	42,234
50	40,344	39,966	39,162
60	42,358	43,289	42,941
70	43,053	42,645	40,601
80	43,849	43,127	43,849
90	45,236	44,575	44,600
100	45,653	45,292	44,931
110	44,931	44,570	46,014
120	44,931	45,017	45,361

Annexe IV. Influence de la taille des particules

*Pleurotus mutilus*

Diamètre	Ni (mg/g)		
50-100 µm	45,94	49,86	43,99
100-200µm	45,78	47,91	43,88
200-300 µm	47,79	49,91	47,92

*Streptomyces rimosus*

Diamètre	Ni (mg/g)		
50-100 µm	41,31	38,38	37,40
100-200µm	41,11	43,27	45,22
200-300 µm	38,38	40,33	37,59

Annexe V. Résultats des titrages potentiométriques (valeurs moyennes et écart-types)

V (ml)	<i>Pleurotus mutilus</i>				<i>Streptomyces rimosus</i>			
	0.01M		0.1M		0.01M		0.1M	
V (ml)	pH	ET	pH	ET	pH	ET	pH	ET
0	3.01	0.00	3.01	0.00	3.01	0.00	3.01	0.00
0.1	3.09	0.03	3.04	0.01	3.05	0.01	3.08	0.00
0.2	3.13	0.03	3.07	0.01	3.07	0.01	3.10	0.00
0.3	3.18	0.02	3.10	0.01	3.08	0.01	3.11	0.01
0.4	3.24	0.02	3.12	0.01	3.10	0.01	3.12	0.01
0.5	3.28	0.03	3.16	0.03	3.12	0.01	3.13	0.00
0.6	3.31	0.03	3.18	0.03	3.12	0.01	3.13	0.01
0.7	3.33	0.03	3.20	0.03	3.14	0.01	3.15	0.00
0.8	3.34	0.03	3.21	0.03	3.16	0.01	3.15	0.01
0.9	3.37	0.03	3.23	0.03	3.17	0.01	3.16	0.00
1	3.38	0.03	3.25	0.03	3.19	0.01	3.17	0.01
1.1	3.39	0.04	3.26	0.03	3.21	0.02	3.18	0.00
1.2	3.41	0.04	3.28	0.03	3.23	0.02	3.20	0.00
1.3	3.42	0.04	3.30	0.03	3.25	0.02	3.21	0.00
1.4	3.44	0.04	3.32	0.04	3.27	0.03	3.21	0.00
1.5	3.46	0.04	3.34	0.05	3.29	0.03	3.23	0.00
1.6	3.47	0.04	3.36	0.05	3.30	0.03	3.24	0.01
1.7	3.49	0.04	3.38	0.05	3.32	0.03	3.26	0.01
1.8	3.51	0.04	3.39	0.05	3.33	0.03	3.28	0.01
1.9	3.52	0.03	3.42	0.06	3.35	0.03	3.28	0.00
2	3.53	0.03	3.45	0.07	3.37	0.03	3.30	0.00
2.1	3.55	0.03	3.48	0.08	3.38	0.03	3.32	0.00
2.2	3.57	0.03	3.51	0.09	3.40	0.03	3.32	0.01
2.3	3.58	0.04	3.54	0.10	3.42	0.04	3.34	0.01
2.4	3.60	0.04	3.56	0.10	3.44	0.04	3.35	0.02
2.5	3.62	0.04	3.59	0.09	3.47	0.04	3.37	0.02
2.6	3.65	0.03	3.61	0.10	3.49	0.04	3.39	0.03
2.7	3.67	0.03	3.64	0.10	3.51	0.04	3.41	0.03
2.8	3.69	0.04	3.66	0.09	3.52	0.04	3.43	0.03
2.9	3.71	0.04	3.69	0.09	3.54	0.04	3.43	0.02
3	3.73	0.04	3.73	0.09	3.56	0.04	3.45	0.02
3.1	3.74	0.04	3.75	0.11	3.59	0.03	3.47	0.02
3.2	3.76	0.04	3.79	0.13	3.60	0.03	3.47	0.03
3.3	3.78	0.03	3.82	0.13	3.63	0.03	3.48	0.03
3.4	3.81	0.03	3.86	0.13	3.65	0.02	3.52	0.03
3.5	3.83	0.04	3.89	0.13	3.67	0.02	3.53	0.03
3.6	3.85	0.04	3.93	0.14	3.69	0.03	3.56	0.04



3.7	3.90	0.04	3.96	0.15	3.72	0.03	3.59	0.05
3.8	3.92	0.03	4.00	0.15	3.75	0.04	3.60	0.05
3.9	3.95	0.04	4.04	0.14	3.78	0.04	3.62	0.05
4	3.98	0.04	4.08	0.14	3.80	0.04	3.64	0.05
4.1	4.00	0.05	4.13	0.15	3.82	0.04	3.69	0.07
4.2	4.03	0.05	4.17	0.16	3.88	0.01	3.69	0.05
4.3	4.06	0.04	4.21	0.15	3.91	0.00	3.71	0.06
4.4	4.10	0.05	4.25	0.14	3.93	0.01	3.73	0.06
4.5	4.14	0.05	4.29	0.14	3.97	0.03	3.77	0.06
4.6	4.18	0.04	4.33	0.15	4.01	0.05	3.80	0.06
4.7	4.22	0.05	4.37	0.16	4.05	0.07	3.83	0.06
4.8	4.26	0.06	4.42	0.18	4.12	0.03	3.86	0.07
4.9	4.28	0.06	4.46	0.17	4.16	0.03	3.88	0.08
5	4.31	0.06	4.51	0.17	4.19	0.04	3.91	0.08
5.1	4.37	0.05	4.55	0.17	4.24	0.06	3.94	0.08
5.2	4.40	0.05	4.59	0.18	4.27	0.07	3.99	0.08
5.3	4.44	0.04	4.63	0.19	4.30	0.10	4.03	0.08
5.4	4.48	0.04	4.68	0.19	4.33	0.09	4.05	0.08
5.5	4.52	0.05	4.73	0.19	4.36	0.09	4.08	0.07
5.6	4.58	0.06	4.79	0.19	4.41	0.08	4.11	0.07
5.7	4.64	0.07	4.84	0.19	4.46	0.09	4.14	0.07
5.8	4.71	0.09	4.90	0.18	4.53	0.09	4.18	0.07
5.9	4.74	0.06	4.94	0.17	4.58	0.06	4.21	0.07
6	4.77	0.06	4.99	0.16	4.63	0.04	4.24	0.06
6.1	4.81	0.04	5.06	0.15	4.67	0.05	4.30	0.06
6.2	4.86	0.04	5.12	0.14	4.73	0.04	4.34	0.06
6.3	4.92	0.05	5.17	0.12	4.79	0.06	4.39	0.06
6.4	4.96	0.05	5.22	0.11	4.83	0.05	4.42	0.06
6.5	5.00	0.07	5.28	0.10	4.93	0.05	4.46	0.05
6.6	5.04	0.06	5.34	0.09	4.99	0.04	4.50	0.05
6.7	5.08	0.04	5.39	0.09	5.06	0.02	4.55	0.05
6.8	5.14	0.04	5.44	0.07	5.12	0.02	4.60	0.07
6.9	5.19	0.04	5.49	0.06	5.19	0.03	4.64	0.08
7	5.25	0.04	5.54	0.05	5.25	0.02	4.68	0.07
7.1	5.30	0.04	5.59	0.04	5.32	0.03	4.75	0.07
7.2	5.34	0.04	5.63	0.04	5.41	0.03	4.79	0.07
7.3	5.39	0.04	5.66	0.04	5.48	0.04	4.83	0.06
7.4	5.43	0.03	5.70	0.03	5.54	0.02	4.87	0.05
7.5	5.47	0.04	5.74	0.01	5.59	0.02	4.91	0.06
7.6	5.51	0.05	5.79	0.02	5.67	0.04	4.94	0.08
7.7	5.57	0.04	5.83	0.02	5.74	0.05	4.99	0.08
7.8	5.61	0.02	5.86	0.01	5.79	0.04	5.05	0.09
7.9	5.66	0.03	5.90	0.02	5.84	0.04	5.10	0.09
8	5.69	0.03	5.93	0.03	5.88	0.03	5.16	0.08
8.1	5.74	0.04	5.97	0.03	5.94	0.04	5.21	0.08
8.2	5.77	0.04	6.02	0.03	6.00	0.05	5.26	0.10

8.3	5.82	0.05	6.05	0.04	6.07	0.07	5.33	0.10
8.4	5.85	0.05	6.08	0.06	6.13	0.07	5.40	0.09
8.5	5.88	0.06	6.11	0.07	6.18	0.05	5.46	0.10
8.6	5.91	0.05	6.15	0.04	6.25	0.06	5.53	0.10
8.7	5.97	0.07	6.18	0.04	6.31	0.07	5.58	0.10
8.8	6.00	0.07	6.21	0.06	6.36	0.07	5.65	0.10
8.9	6.05	0.08	6.23	0.07	6.41	0.06	5.72	0.10
9	6.09	0.08	6.26	0.08	6.46	0.05	5.79	0.11
9.1	6.15	0.07	6.31	0.08	6.54	0.08	5.87	0.10
9.2	6.21	0.05	6.34	0.08	6.58	0.06	5.92	0.11
9.3	6.28	0.05	6.38	0.09	6.64	0.06	5.97	0.13
9.4	6.31	0.05	6.41	0.09	6.68	0.05	6.04	0.10
9.5	6.38	0.05	6.44	0.10	6.75	0.04	6.09	0.08
9.6	6.43	0.04	6.48	0.11	6.79	0.04	6.14	0.09
9.7	6.47	0.04	6.51	0.12	6.84	0.04	6.21	0.08
9.8	6.49	0.04	6.55	0.13	6.89	0.04	6.27	0.09
9.9	6.53	0.04	6.59	0.13	6.95	0.04	6.31	0.08
10	6.57	0.05	6.62	0.13	7.02	0.04	6.38	0.08
10.1	6.59	0.06	6.67	0.14	7.08	0.05	6.45	0.08
10.2	6.65	0.07	6.72	0.15	7.13	0.06	6.51	0.07
10.3	6.67	0.08	6.77	0.16	7.20	0.06	6.57	0.08
10.4	6.70	0.10	6.81	0.17	7.25	0.03	6.62	0.08
10.5	6.75	0.12	6.84	0.18	7.29	0.02	6.68	0.05
10.6	6.81	0.10	6.89	0.19	7.34	0.02	6.73	0.05
10.7	6.86	0.08	6.92	0.18	7.39	0.02	6.78	0.05
10.8	6.92	0.09	6.96	0.19	7.45	0.02	6.83	0.05
10.9	6.96	0.09	7.01	0.20	7.50	0.02	6.88	0.05
11	6.98	0.10	7.05	0.22	7.55	0.02	6.94	0.06
11.1	7.07	0.09	7.09	0.23	7.61	0.02	6.98	0.06
11.2	7.14	0.07	7.14	0.23	7.65	0.02	7.03	0.05
11.3	7.19	0.06	7.19	0.24	7.69	0.03	7.03	0.13
11.4	7.25	0.05	7.24	0.26	7.76	0.04	7.15	0.05
11.5	7.29	0.04	7.29	0.27	7.80	0.04	7.20	0.05
11.6	7.33	0.04	7.39	0.17	7.86	0.03	7.26	0.04
11.7	7.37	0.04	7.45	0.16	7.91	0.01	7.32	0.04
11.8	7.43	0.04	7.52	0.15	7.95	0.01	7.35	0.03
11.9	7.47	0.04	7.60	0.11	7.99	0.01	7.39	0.03
12	7.51	0.03	7.65	0.12	8.04	0.02	7.44	0.02
12.1	7.52	0.03	7.72	0.12	8.08	0.03	7.50	0.03
12.2	7.62	0.04	7.78	0.12	8.10	0.04	7.55	0.01
12.3	7.66	0.03	7.85	0.09	8.13	0.06	7.59	0.00
12.4	7.72	0.04	7.90	0.08	8.16	0.04	7.64	0.00
12.5	7.74	0.05	7.97	0.10	8.19	0.05	7.68	0.00
12.6	7.82	0.04	8.03	0.12	8.22	0.05	7.72	0.01
12.7	7.88	0.03	8.10	0.13	8.24	0.05	7.79	0.03
12.8	7.92	0.05	8.17	0.14	8.27	0.05	7.83	0.02

12.9	7.95	0.05	8.23	0.14	8.28	0.07	7.88	0.02
13	8.01	0.06	8.30	0.15	8.30	0.09	7.90	0.00
13.1	8.05	0.06	8.34	0.19	8.32	0.09	7.94	0.01
13.2	8.09	0.06	8.39	0.20	8.34	0.09	7.98	0.02
13.3	8.13	0.06	8.44	0.20	8.35	0.11	8.01	0.02
13.4	8.17	0.08	8.48	0.19	8.37	0.11	8.05	0.02
13.5	8.21	0.08	8.53	0.19	8.39	0.11	8.06	0.00
13.6	8.26	0.08	8.58	0.16	8.41	0.12	8.10	0.00
13.7	8.30	0.08	8.63	0.16	8.44	0.12	8.12	0.00
13.8	8.34	0.09	8.68	0.15	8.46	0.12	8.14	0.01
13.9	8.39	0.07	8.73	0.14	8.49	0.12	8.17	0.02
14	8.43	0.06	8.76	0.13	8.50	0.12	8.20	0.02
14.1	8.48	0.06	8.80	0.13	8.53	0.12	8.23	0.01
14.2	8.52	0.06	8.82	0.12	8.54	0.12	8.25	0.02
14.3	8.58	0.07	8.84	0.12	8.56	0.12	8.28	0.01
14.4	8.61	0.08	8.85	0.12	8.58	0.12	8.30	0.02
14.5	8.65	0.10	8.87	0.12	8.59	0.12	8.33	0.03
14.6	8.70	0.10	8.90	0.10	8.62	0.11	8.35	0.03
14.7	8.73	0.10	8.93	0.09	8.63	0.11	8.37	0.03
14.8	8.77	0.11	8.94	0.07	8.64	0.12	8.40	0.03
14.9	8.81	0.11	8.96	0.07	8.66	0.12	8.41	0.03
15	8.85	0.10	8.98	0.07	8.67	0.12	8.44	0.02
15.1	8.90	0.10	9.01	0.08	8.68	0.12	8.45	0.02
15.2	8.94	0.09	9.04	0.09	8.70	0.12	8.47	0.02
15.3	8.99	0.09	9.07	0.10	8.73	0.14	8.49	0.02
15.4	9.02	0.09	9.08	0.10	8.75	0.15	8.52	0.03
15.5	9.06	0.09	9.12	0.09	8.76	0.16	8.54	0.02
15.6	9.11	0.09	9.16	0.08	8.77	0.17	8.56	0.02
15.7	9.14	0.09	9.17	0.08	8.79	0.18	8.59	0.02
15.8	9.17	0.09	9.21	0.08	8.80	0.19	8.61	0.02
15.9	9.21	0.10	9.25	0.07	8.83	0.19	8.63	0.03
16	9.25	0.11	9.28	0.07	8.85	0.20	8.67	0.03
16.1	9.28	0.10	9.31	0.06	8.86	0.22	8.68	0.03
16.2	9.32	0.10	9.34	0.07	8.87	0.23	8.70	0.03
16.3	9.36	0.11	9.37	0.07	8.90	0.25	8.72	0.02
16.4	9.39	0.09	9.40	0.07	8.90	0.26	8.74	0.02
16.5	9.44	0.08	9.42	0.07	8.92	0.26	8.76	0.02
16.6	9.47	0.08	9.45	0.07	8.92	0.26	8.77	0.03
16.7	9.54	0.07	9.47	0.07	8.94	0.26	8.77	0.03
16.8	9.56	0.08	9.50	0.07	8.96	0.26	8.79	0.03
16.9	9.59	0.09	9.53	0.08	8.97	0.27	8.79	0.03
17	9.61	0.10	9.56	0.07	8.98	0.27	8.81	0.03
17.1	9.65	0.09	9.59	0.08	9.00	0.27	8.83	0.03
17.2	9.68	0.09	9.61	0.07	9.01	0.26	8.85	0.04
17.3	9.71	0.11	9.63	0.07	9.03	0.26	8.86	0.04
17.4	9.73	0.12	9.65	0.07	9.05	0.26	8.89	0.03

17.5	9.77	0.12	9.68	0.08	9.06	0.25	8.90	0.03
17.6	9.80	0.12	9.69	0.08	9.07	0.25	8.92	0.03
17.7	9.83	0.12	9.71	0.08	9.08	0.24	8.94	0.03
17.8	9.85	0.12	9.74	0.08	9.10	0.24	8.94	0.03
17.9	9.88	0.11	9.75	0.09	9.10	0.23	8.95	0.03
18	9.91	0.11	9.77	0.09	9.12	0.23	8.97	0.03
18.1	9.94	0.10	9.78	0.09	9.13	0.24	8.98	0.03
18.2	9.96	0.10	9.80	0.09	9.15	0.24	8.99	0.03
18.3	9.99	0.11	9.82	0.09	9.16	0.24	8.99	0.03
18.4	10.00	0.11	9.83	0.10	9.17	0.23	9.01	0.03
18.5	10.04	0.12	9.85	0.10	9.18	0.23	9.02	0.03
18.6	10.08	0.11	9.86	0.10	9.19	0.23	9.03	0.03
18.7	10.12	0.10	9.88	0.10	9.21	0.23	9.05	0.03
18.8	10.16	0.08	9.90	0.09	9.23	0.23	9.06	0.04
18.9	10.19	0.07	9.92	0.08	9.24	0.23	9.07	0.04
19	10.22	0.06	9.94	0.08	9.26	0.23	9.09	0.04
19.1	10.26	0.05	9.96	0.08	9.27	0.22	9.11	0.04
19.2	10.31	0.04	9.97	0.08	9.28	0.22	9.12	0.04
19.3	10.34	0.04	9.99	0.08	9.30	0.22	9.14	0.04
19.4	10.35	0.03	10.01	0.08	9.32	0.22	9.16	0.04
19.5	10.37	0.03	10.03	0.08	9.32	0.22	9.16	0.05
19.6	10.41	0.02	10.05	0.08	9.33	0.22	9.17	0.04
19.7	10.44	0.02	10.07	0.08	9.35	0.22	9.19	0.04
19.8	10.45	0.02	10.08	0.08	9.36	0.23	9.20	0.05
19.9	10.47	0.02	10.09	0.08	9.37	0.22	9.21	0.04
20	10.48	0.02	10.11	0.08	9.38	0.22	9.23	0.04
20.1	10.49	0.03	10.13	0.08	9.39	0.21	9.23	0.03
20.2	10.50	0.03	10.14	0.09	9.41	0.21	9.25	0.03
20.3	10.52	0.03	10.16	0.09	9.42	0.21	9.26	0.03
20.4	10.53	0.04	10.17	0.10	9.43	0.22	9.26	0.03
20.5	10.53	0.04	10.18	0.10	9.45	0.22	9.27	0.03
20.6	10.53	0.04	10.20	0.10	9.47	0.22	9.29	0.03
20.7	10.54	0.04	10.22	0.10	9.48	0.22	9.31	0.03
20.8	10.55	0.03	10.23	0.11	9.50	0.21	9.31	0.03
20.9	10.57	0.03	10.25	0.11	9.51	0.22	9.33	0.03
21	10.58	0.03	10.26	0.11	9.52	0.22	9.33	0.03
21.1	10.59	0.03	10.27	0.12	9.54	0.21	9.34	0.03
21.2	10.61	0.03	10.28	0.11	9.55	0.21	9.36	0.03
21.3	10.62	0.03	10.29	0.12	9.56	0.21	9.36	0.03
21.4	10.63	0.03	10.31	0.12	9.58	0.21	9.38	0.03
21.5	10.63	0.03	10.32	0.11	9.59	0.22	9.38	0.03
21.6	10.65	0.04	10.34	0.11	9.60	0.21	9.40	0.03
21.7	10.65	0.03	10.35	0.10	9.60	0.22	9.40	0.03
21.8	10.66	0.04	10.36	0.10	9.62	0.22	9.42	0.03
21.9	10.67	0.03	10.38	0.10	9.63	0.23	9.42	0.03
22	10.69	0.03	10.39	0.11	9.64	0.23	9.43	0.03

22.1	10.69	0.03	10.40	0.12	9.66	0.23	9.43	0.03
22.2	10.71	0.03	10.41	0.11	9.67	0.22	9.45	0.03
22.3	10.71	0.02	10.43	0.11	9.69	0.22	9.45	0.03
22.4	10.72	0.03	10.44	0.11	9.70	0.22	9.47	0.03
22.5	10.73	0.02	10.45	0.12	9.71	0.23	9.48	0.03
22.6	10.74	0.03	10.45	0.12	9.72	0.22	9.50	0.04
22.7	10.74	0.03	10.45	0.12	9.73	0.23	9.50	0.03
22.8	10.74	0.04	10.47	0.12	9.75	0.23	9.52	0.03
22.9	10.75	0.04	10.48	0.12	9.76	0.23	9.54	0.03
23	10.76	0.04	10.48	0.12	9.78	0.23	9.55	0.03
23.1	10.77	0.03	10.48	0.12	9.78	0.24	9.55	0.03
23.2	10.77	0.03	10.49	0.12	9.79	0.23	9.57	0.03
23.3	10.79	0.03	10.49	0.12	9.81	0.23	9.59	0.03
23.4	10.80	0.03	10.50	0.12	9.83	0.23	9.60	0.03
23.5	10.81	0.03	10.50	0.11	9.84	0.23	9.62	0.03
23.6	10.82	0.02	10.50	0.11	9.85	0.22	9.62	0.03
23.7	10.82	0.02	10.52	0.11	9.87	0.22	9.64	0.03
23.8	10.83	0.03	10.52	0.11	9.88	0.22	9.64	0.03
23.9	10.83	0.03	10.53	0.10	9.90	0.22	9.65	0.03
24	10.84	0.03	10.54	0.09	9.91	0.23	9.65	0.03
24.1	10.84	0.03	10.54	0.10	9.92	0.22	9.67	0.03
24.2	10.85	0.03	10.55	0.09	9.94	0.22	9.67	0.03
24.3	10.86	0.03	10.57	0.09	9.96	0.22	9.69	0.03
24.4	10.87	0.04	10.57	0.08	9.97	0.22	9.70	0.03
24.5	10.87	0.03	10.57	0.08	9.99	0.21	9.72	0.03
24.6	10.88	0.04	10.57	0.08	10.00	0.22	9.74	0.03
24.7	10.88	0.04	10.57	0.08	10.01	0.22	9.76	0.03
24.8	10.88	0.04	10.59	0.08	10.04	0.23	9.76	0.03
24.9	10.88	0.04	10.59	0.08	10.05	0.23	9.76	0.03
25	10.90	0.04	10.59	0.08	10.07	0.22	9.77	0.03
25.1	10.90	0.04	10.59	0.08	10.08	0.22	9.79	0.03
25.2	10.90	0.04	10.60	0.07	10.09	0.21	9.79	0.03
25.3	10.91	0.04	10.61	0.08	10.11	0.21	9.81	0.03
25.4	10.91	0.04	10.62	0.07	10.13	0.21	9.82	0.03
25.5	10.92	0.04	10.62	0.07	10.14	0.20	9.84	0.03
25.6	10.92	0.04	10.62	0.07	10.16	0.20	9.86	0.03
25.7	10.92	0.04	10.62	0.07	10.17	0.19	9.87	0.04
25.8			10.63	0.07	10.18	0.19	9.87	0.03
25.9			10.63	0.07	10.19	0.18	9.88	0.04
26			10.63	0.07	10.20	0.17	9.89	0.03
26.1			10.64	0.08	10.21	0.18	9.90	0.04
26.2			10.64	0.08	10.23	0.18	9.91	0.03
26.3			10.65	0.08	10.24	0.17	9.92	0.03
26.4			10.65	0.08	10.26	0.17	9.94	0.04
26.5			10.65	0.08	10.27	0.16	9.95	0.04
26.6			10.66	0.08	10.28	0.16	9.96	0.03

26.7	10.66	0.08	10.29	0.16	9.97	0.03
26.8	10.67	0.08	10.31	0.16	9.97	0.03
26.9	10.67	0.07	10.32	0.15	9.99	0.03
27	10.67	0.07	10.34	0.15	9.99	0.03
27.1	10.67	0.07	10.35	0.14	10.02	0.04
27.2	10.67	0.07	10.36	0.14	10.03	0.05
27.3	10.68	0.08	10.37	0.13	10.04	0.04
27.4	10.68	0.07	10.38	0.13	10.04	0.05
27.5	10.68	0.07	10.39	0.12	10.06	0.05
27.6	10.68	0.07	10.40	0.13	10.07	0.04
27.7	10.68	0.07	10.41	0.12	10.08	0.05
27.8	10.69	0.08	10.43	0.11	10.09	0.04
27.9	10.70	0.07	10.44	0.12	10.09	0.05
28	10.70	0.07	10.44	0.11	10.10	0.04
28.1	10.70	0.07	10.45	0.10	10.12	0.04
28.2	10.70	0.07	10.47	0.10	10.12	0.04
28.3	10.71	0.08	10.48	0.10	10.14	0.04
28.4	10.71	0.07	10.49	0.10	10.16	0.03
28.5	10.71	0.07	10.49	0.10	10.17	0.03
28.6	10.71	0.07	10.51	0.10	10.18	0.03
28.7	10.71	0.07	10.53	0.10	10.18	0.03
28.8	10.71	0.07	10.54	0.09	10.19	0.03
28.9	10.72	0.06	10.56	0.09	10.19	0.03
29	10.72	0.06	10.56	0.09	10.21	0.03
29.1	10.72	0.06	10.57	0.08	10.22	0.03
29.2	10.72	0.06	10.57	0.07	10.23	0.03
29.3	10.72	0.06	10.59	0.07	10.25	0.03
29.4			10.60	0.06	10.26	0.04
29.5			10.61	0.06	10.27	0.04
29.6			10.62	0.06	10.27	0.04
29.7			10.62	0.05	10.28	0.05
29.8			10.64	0.05	10.29	0.04
29.9			10.65	0.05	10.30	0.05
30			10.65	0.04	10.31	0.04
30.1			10.66	0.04	10.31	0.04
30.2			10.67	0.03	10.32	0.04
30.3			10.67	0.04	10.34	0.04
30.4			10.68	0.04	10.34	0.04
30.5			10.68	0.03	10.35	0.04
30.6			10.70	0.04	10.36	0.04
30.7			10.70	0.04	10.36	0.03
30.8			10.71	0.04	10.38	0.04
30.9			10.71	0.04	10.38	0.03
31			10.72	0.03	10.38	0.03
31.1			10.72	0.03	10.40	0.03

## Annexe VI. Données utilisées pour la modélisation par ProtoFit

# Titration biomasse microbienne – *Pleurotus mutilus* - 0.01 M

```
38      !nb
0.050   !init_vol(solution volum; L)
0.01    !Cs (background elctrolyt;mol/l)
1.0     !Z
298.15  !T(K)
0.150   ! adsorbent_mass (g)
0.14    !SSA (m^2/g)
-0.0134 !Nacid (eq/L); following data is pH, ml
3.01    0.0
3.26    0.5
3.34    1
3.44    1.5
3.51    2
3.61    2.5
3.69    3
3.75    3.5
3.84    4
3.91    4.5
4.03    5
4.44    5.5
4.71    6
4.98    6.5
5.23    7
5.46    7.5
5.68    8
5.88    8.5
6.08    9
6.37    9.5
6.57    10
6.75    10.5
6.98    11
7.29    11.5
7.51    12
7.74    12.5
8.01    13
8.21    13.5
8.43    14
8.65    14.5
8.85    15
9.06    15.5
9.25    16
9.44    16.5
9.61    17
9.77    17.5
9.91    18
10.04   18.5
```

# Titration biomasse microbienne – *Pleurotus mutilus* - 0.1 M

40 !nb  
0.050 !init\_vol(solution volum; L)  
0.01 !Cs (background elctrolyt;mol/l)  
1.0 !Z  
298.15 !T(K)  
0.150 ! adsorbent\_mass (g)  
0.14 !SSA (m<sup>2</sup>/g)  
-0.0134 !Nacid (eq/L); following data is pH, ml  
3.01 0.0  
3.15 0.5  
3.24 1  
3.33 1.5  
3.42 2  
3.55 2.5  
3.60 3  
3.81 3.5  
3.90 4  
4.22 4.5  
4.40 5  
4.69 5.5  
4.96 6  
5.26 6.5  
5.52 7  
5.73 7.5  
5.92 8  
6.10 8.5  
6.25 9  
6.44 9.5  
6.62 10  
6.84 10.5  
7.05 11  
7.29 11.5  
7.64 12  
7.97 12.5  
8.30 13  
8.52 13.5  
8.76 14  
8.86 14.5  
8.98 15  
9.12 15.5  
9.28 16  
9.42 16.5  
9.56 17  
9.68 17.5  
9.77 18  
9.85 18.5  
9.94 19  
10.01 19.50



# Titration d biomasse microbienne- *Streptomyces rimosus* - 0.01 M

50 !nb  
0.050 !init\_vol(solution volum; L)  
0.01 !Cs (background elctrolyt;mol/l)  
1.0 !Z  
298.15 !T(K)  
0.150 ! adsorbent\_mass (g)  
0.14 !SSA (m<sup>2</sup>/g)  
-0.0134 !Nacid (eq/L); following data is pH, ml  
3.01 0.0  
3.10 0.5  
3.15 1  
3.27 1.5  
3.34 2  
3.46 2.5  
3.52 3  
3.59 3.5  
3.64 4  
3.74 4.5  
3.91 5  
4.28 5.5  
4.57 6  
4.90 6.5  
5.23 7  
5.57 7.5  
5.87 8  
6.17 8.5  
6.45 9  
6.74 9.5  
7.02 10  
7.29 10.5  
7.55 11  
7.80 11.5  
8.04 12  
8.19 12.5  
8.30 13  
8.39 13.5  
8.50 14  
8.59 14.5  
8.67 15  
8.76 15.5  
8.85 16  
8.92 16.5  
8.98 17  
9.06 17.5  
9.12 18  
9.18 18.5  
9.26 19  
9.32 19.5  
9.38 20  
9.45 20.5

9.52	21
9.59	21.5
9.64	22
9.71	22.5
9.78	23
9.84	23.5
9.91	24
9.99	24.5

# Titration biomasse microbienne – *Streptomyces rimosus* - 0.1 M

55	!nb
0.050	!init_vol(solution volum; L)
0.01	!Cs (background elctrolyt;mol/l)
1.0	!Z
298.15	!T(K)
0.150	! adsorbent_mass (g)
0.14	!SSA (m^2/g)
-0.0134	!Nacid (eq/L); following data is pH, ml
3.01	0.0
3.11	0.5
3.17	1
3.21	1.5
3.26	2
3.33	2.5
3.37	3
3.46	3.5
3.56	4
3.70	4.5
3.81	5
4.03	5.5
4.21	6
4.45	6.5
4.67	7
4.89	7.5
5.15	8
5.45	8.5
5.78	9
6.09	9.5
6.37	10
6.68	10.5
6.94	11
7.20	11.5
7.43	12
7.68	12.5
7.90	13
8.05	13.5
8.20	14
8.32	14.5

8.44	15
8.54	15.5
8.67	16
8.76	16.5
8.81	17
8.90	17.5
8.97	18
9.02	18.5
9.09	19
9.16	19.5
9.23	20
9.27	20.5
9.33	21
9.38	21.5
9.43	22
9.48	22.5
9.55	23
9.62	23.5
9.65	24
9.72	24.5
9.77	25
9.84	25.5
9.89	26
9.95	26.5
9.99	27