

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Djilali Bounaama, Khemis Miliana

Faculté des Sciences de la nature et de la vie

Département de Biologie



Mémoire de fin d'étude en vue de l'Obtention du Diplôme

De Master en Sciences Biologiques

Spécialité : Analyses Biologiques et Biochimiques

Thème

**Traitement de l'eau de mer par hydroxyapatite
synthétisée à partir de coquilles d'œufs**

Présenté par :

M^{me}. BOUDJENOUN Meriem

Date de soutenance : 13/09/2017

Devant le jury

M. BRADA Moussa	Professeur	Univ. Khemis Miliana	Président
M. MAHI Miloud	MAA	Univ. Khemis Miliana	Examinateur
M^{me}. ZAOUADI Nesrine	MAA	Univ. Khemis Miliana	Examinatrice
M. AOUN Omar	MCA	Univ. Khemis Miliana	Promoteur
M. GUENDOUI Yassine	Ingénieur d'état en environnement	LNCAPPASM, Ain Benian. Alger.	Co-promoteur

Promotion 2016-2017

Remerciements

*Je remercie infiniment le **DIEU Tout Puissant** pour les nombreuses grâces et inspirations reçues gratuitement.*

Loin d'être une simple formalité académique, j'ai l'obligation intellectuelle de m'acquitter d'un devoir du cœur en exprimant ma reconnaissance et ma gratitude :

*Nous remercions **M. BRADA Moussa** qui nous a fait l'honneur de présider le jury, **Mme ZAOUADI Nesrine** et **M. MAHI Miloud** d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.*

*A mon promoteur **M. Aoun Omar** pour sa disponibilité et ses efforts, ses précieux conseils, pour l'accomplissement de ce travail.*

*A mon Co-promoteur **M. Guendouzi Yassine** pour ses remarques et ses orientations judicieuses, qui nous m'ont permis de mener à terme ce mémoire, aussi vrai que mes seules capacités n'auraient pas suffi à parachever cette étude*

*A **M. Moulla, M. Toumert** et **M^{me}. Guenatri** pour l'aide précieuse qui m'ont prodiguées.*

Qu'ils trouvent ici la grandeur de la reconnaissance que je leur accorde.

*Je tien à remercier **M^{me}. Amalou Saida**, Directrice Générale du Laboratoire National de Contrôle et d'Analyse des Produits de la Pêche et de l'Aquaculture et de la Salubrité des Milieux de m'avoir autorisé à effectuer les analyses au niveau des différents services.*

J'exprime toute ma gratitude envers tous ceux qui nous ont assistés, de près ou de loin, durant notre parcours universitaire.

Dédicaces

Il est naturel que ma pensée la plus forte aille à mes parents à qui je dois la vie ainsi qu'une part essentielle de ma personnalité et qui m'ont toujours orientés et motivés dans mes études. Ce mémoire représente donc l'aboutissement de soutien et des encouragements qu'ils m'ont prodigués tout au long de ma scolarité. Qu'ils sachent que l'amour qu'ils me donnent continue à m'animer et me permet d'envisager l'avenir comme un défi.

*A mon marié **Yassine** qui continu à m'encourager et aider pour continuer mes études*

*A mes chères sœurs **Yasmine, Leïla**, mon petit frère **Islam** qui ont su m'encourager et me supporter durant toutes mes années d'études.*

A ceux qui m'ont éclairés le chemin,

A mes honorables enseignants,

A ceux qui me sont chères et dont l'amitié est sincère.

Meriem

Sommaire

Résumé

Introduction	1
---------------------------	---

Chapitre I: Synthèse bibliographiques

2. Généralités sur l'analyse et traitement de l'eau.....	2
2.1 Polluants de l'eau.....	2
2.2 Quelques polluants communs.....	2
2.2.1 Polluants organique persistants (POPs).....	2
2.2.2 Polluants d'origine agricole	2
2.3 Elimination des polluants dissouts	3
2.3.1 Traitements biologiques	3
2.3.2 Traitements par les oxydants.....	3
2.3.3 Résines échangeuses d'ions	4
2.3.4 Techniques membranaires.....	5
2.4 Adsorption	6
2.4.1 Isotherme d'adsorption.....	6
2.4.2 Adsorbants low-Cost	7
3. Généralités sur l'Hydroxyapatite.....	8
3.1 Structure et utilisations de l'hydroxyapatite	8
3.2 Méthodes de synthèses de l'hydroxyapatite	10
3.2.1 Méthodes sèches.....	10
3.2.2 Méthodes humides.....	10
3.2.3 Synthèse hydrothermale	10
3.2.4 Méthode sol-gel.....	11
3.2.5 Précipitation	12
3.2.6 Synthèse à partir de sources biogénique.....	12

3.3	Synthèse de l'hydroxyapatite à partir de coquilles d'œuf	13
-----	--	----

Chapitre II : Matériels & Méthodes

4.	Matériel et méthodes	15
4.1	Matériel.....	15
4.1.1	Equipements d'analyse.....	15
4.2	Méthode	16
4.2.1	Contrôle de la qualité de l'eau de mer.....	16
4.2.2	Synthèse et caractérisation de l'Hydroxyapatite	22
4.2.3	Etude de l'adsorption du plomb	24
4.2.4	Etude de l'adsorption des nitrates	24
4.2.5	Traitement statistique	25

Chapitre III : Résultats & Discussion

5.	Résultats et Discussion.....	26
5.1	Contrôle de la qualité des échantillons d'eau de mer	26
5.1.1	Mesure In situ.....	26
5.1.2	Microbiologie de l'eau	26
5.2	Synthèse de l'Hydroxyapatite "HAp".....	27
5.2.1	Caractérisation de l'Hydroxyapatite "HAp".....	27
5.3	Etude de l'adsorption.....	30
5.3.1	Adsorption du Plomb	30
5.3.2	Adsorption des Nitrates.....	30
5.4	Etude de l'adsorption sur les échantillons d'eau de mer	33
5.4.1	Traitement des échantillons par de l'Hydroxyapatite "HAp"	33
	Conclusion.....	35

References bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

Tableau 1 : Différentes structures de l'HAp (Sadat-Shojai et al., 2013)	9
Tableau 2 : Equipement utilisé pour la caractérisation de l'hydroxyapatite	15
Tableau 3 : Paramètres physicochimiques d'eau de mer, mesurées In situ.....	26
Tableau 4 : Résultat d'analyse microbiologique dans l'eau de mer des deux stations	26
Tableau 5 : Ratio des intensités du calcium et potassium dans les coquilles d'œufs (EC-Lot 2) et l'hydroxyapatite (HAP1).....	29

Liste des figures

Figure 1 : Modèle structurel de l'HAp Pure (Jahan, 2016)	8
Figure 2 : Synthèse de l'hydroxyapatite par méthode hydrothermale (Sadat-Shojai et al., 2013)	11
Figure 3 : Synthèse de l'hydroxyapatite par méthode sol-gel (Sadat-Shojai et al., 2013)	11
Figure 4 : Synthèse de l'hydroxyapatite par méthode de précipitation (Sadat-Shojai et al., 2013).....	12
Figure 5 : (a) Micrographie de coquille d'œuf calciné, (b) Micrographie de hydroxyapatite synthétisée par précipitation (Baba et al., 2013)	14
Figure 6 : Localisation des stations de prélèvement.....	17
Figure 7 : représentation de la méthode de dénombrement des coliformes thermotolérants et Escherichia coli	19
Figure 8 : représentation de la méthode de dénombrement des Entérocoques.....	21
Figure 9 : Etapes de la synthèse de l'hydroxyapatite	23
Figure 10 : Spectre infrarouge de l'Hydroxyapatite de diffèrent origine	27
Figure 11 : Micrographie de la poudre des coquilles d'œuf calcinées à 900°C (x500)	28
Figure 12 : Micrographie de Hydroxyapatite synthetisé à partir de coquille d'œuf (x4000)..	28
Figure 13 : Spectre d'analyse par EDX des coquilles d'œufs calcinées à 900°C « EC-Lot 2 »	29
Figure 14 : Spectre d'analyse par EDX de l'hydroxyapatite obtenue à partir de coquilles d'œufs «HAP1 »	29
Figure 15 : Effet du temps de contact sur l'adsorption du plomb	30
Figure 16 : Effet du temps de contact sur l'adsorption des nitrates	31
Figure 17 : Effet de la dose de l'adsorbant sur l'adsorption des nitrates	31
Figure 18 : Effet de la dose des nitrates sur la saturation de l'Hydroxyapatite.....	32
Figure 19 : Isotherme d'adsorption de Langmuir.....	32
Figure 20 : Isotherme d'adsorption de Freundlich	33
Figure 21 : Effet de la dose de l'adsorbant sur l'adsorption des nitrates dans les échantillons d'eau de mer.....	33

Liste des abréviations

HAp : Hydroxyapatite

MEB : Microscope électronique à balayage

IR-TF : Spectromètre infrarouge à transformée de Fourier

EDX : Analyser en énergie dispersive à rayon X

NPP : Nombre le Plus Probable

Ca/P : Ratio Calcium Phosphore

Pb : Plomb

NO₃⁻ : Nitrate

Résumé : L'objectif de ce travail porte sur la valorisation et l'exploitation des coquilles d'œufs sous forme d'hydroxyapatite "HAp" pour le traitement de l'eau de mer. La synthèse de HAp a été réalisée par précipitation chimique (H_3PO_4 0,6 M ; $t = 25\text{ }^\circ\text{C}$; $8 \leq \text{pH} \leq 10$) à partir de coquilles d'œuf calcinées à $900\text{ }^\circ\text{C}$ / 1h. Le produit final est encore calciné à $900\text{ }^\circ\text{C}$ / 2h. Finalement, une quantité de HAp égale à 94 % du poids initial de coquille d'œufs a été synthétisée. Le ratio Ca/P (g/g) calculé lors de l'analyse par la méthode EDX : "Energy Dispersive X-ray", a diminué de 782,0 à 15,5 après la précipitation chimique. L'analyse par le Microscope Electronique à Balayage "MEB", a révélé une morphologie de particules à surface dense et trouble avec des vides trouvés entre les particules de la poudre des coquilles d'œuf, et un modèle mal cristallisé et dense dans le cas de l'HAP, avec une forme irrégulière, ovale et sphérique ressemblant à des pastilles. Pour une masse de 0,7 g d'HAp, une diminution de 4,5 % / 1h de la concentration en Nitrates (NO_3 , mg/l) et une diminution de 0,75 % / h dans le cas du Plomb (Pb, mg/l) a été observée.

Mots clés : Coquilles d'œuf ; Hydroxyapatite ; Biosorbant ; Nitrates ; Plomb ; Décontamination de l'eau de mer.

Abstract: This study aims to evaluate and exploit the eggshell in hydroxyapatite form, for the water treatment. The porous nature of the eggshell makes it an interesting material to be used as an adsorbent and as a precursor for the production of hydroxyapatite for the removal of heavy metals and certain anions such as the nitrates present in the water.

The synthesis of this salt was carried out by means of chemical precipitation (0.6 M H₃PO₄, t = 25 ° C., 8 ≤ pH ≤ 10) from calcinated egg shells at 900 ° C./1 h. The final product is further calcinated at 900 ° C./2 h.

After the treatment, a final quantity of HAp equal to 94% of the initial weight of the eggshell was synthesized. The Ca / P ratio calculated on EDX analysis decreased from 782.0 to 15.5 after chemical precipitation.

The interpretation of the micrographs revealed a morphology of particles with a dense and cloudy surface with voids found between the turbid particles of the powder of the eggshells and revealed a poorly crystallized and dense model with an irregular, oval and spherical shape pellets like particles of HAp. For 0.7 g of HAp used, a decrease of 4.5% / h of [NO₃] mg / l and a decrease of 0.75% / h of [Pb] mg / l was observed.

Keys words: Hydroxyapatite; Eggshells; chemical precipitation; Biosorbant; Nitrate; Lead.

ملخص: الهدف من هذا العمل هو تقييم واستغلال قشرة البيض على شكل هيدروكسيأباتيت «hydroxyapatite» لمعالجة المياه. الطبيعة المسامية لقشور البيض تجعل منه مادة مثيرة للاهتمام لاستخدامها لادمصاص وكسلائف لإنتاج هيدروكسي أباتيت لإزالة المعادن الثقيلة وبعض الأيونات مثل النترات الموجودة في الماء. تم تركيب هذا الملح عن طريق الترسيب الكيميائي 3PO_4 (M 0.6 ، 25 درجة مئوية. ، ≥ 8 درجة الحموضة ≥ 10) لقشور البيض المحروقة عند 900 درجة مئوية / ساعة، تم حرق المنتج النهائي أيضا عند 900 درجة مئوية / 2 ساعة . بعد المعالجة، تم تصنيع كمية نهائية من الهيدروكسي اباتيت تساوي 94% من الوزن الأولي لقشور البيض، انخفضت نسبة Ca / P في تحليل EDX من 782،0 إلى 15،5 بعد الترسيب الكيميائي. كشف التفسير المجهرى مورفولوجيا الجسيمات ذات سطح كثيف وغير منتظم مع فراغات وجدت بين الجزيئات في مسحوق قشور البيض، وكشفت عن نموذج غير متبلور جيدا، كثيف مع أشكال غير منتظمة، البيضاوية وكروية تشبه الحبيبات في الهيدروكسي اباتيت . وقد لوحظ انخفاض قدره 4.5% / ساعة من $[\text{NO}_3]$ مغ / لتر ونسبة 0.75% / ساعة من $[\text{Pb}]$ مغ / لتر

الكلمات المفتاحية : هيدروكسياباتيت؛ قشور البيض؛ الترسيب الكيميائي؛ لادمصاص البيولوجي ؛ نترات؛ الرصاص.

Introduction

Introduction

L'eau est la plus importante ressource naturelle dont l'être humain a exploité. La quantité de l'eau utilisable est très limitée sur terre, bien que l'eau est continuellement purifiée par évaporation et par précipitation, sa pollution est perçue comme l'un des plus grands problèmes environnementaux. Les polluants de l'eau sont à l'origine de plusieurs facteurs, à savoir : les facteurs physiques et/ou chimique, les facteurs biologiques, etc., (Goel, 2006). Pour remédier à ce problème, il existe différents procédés d'élimination des polluants, chacun de ces procédés a ses avantages et ses inconvénients, mais les majeurs inconvénients les plus communs est leur coût élevé ainsi que l'utilisation d'additifs persistants qui peuvent polluer l'eau traitée de nouveau (Baccar Ep Yanguï et al., 2014).

Parmi les différentes techniques de traitement de l'eau décrites, l'adsorption est généralement la plus utilisée pour l'élimination de quelques polluants dissous en raison de sa grande efficacité. À l'heure actuelle, il existe un intérêt croissant pour l'utilisation de matériaux alternatifs peu coûteux et non conventionnels ; tels que : les coquilles d'œufs ; les tiges de raisin, etc., qui sont considérés comme étant des déchets très utiles pour l'élimination de certains polluants au lieu des adsorbants traditionnels. La plupart des cas ont confirmé que l'utilisation de grandes quantités de tels types de déchets pour le traitement de l'eau polluée est une option attrayante et prometteuse avec un double avantage pour l'environnement (Zheng et al., 2007).

L'hydroxyapatite (HAP), synthétisée à partir de multiples sources biologiques (os d'animaux, coquilles d'œufs, etc.), a attiré une attention particulière en raison de sa forte capacité de sorption, de sa faible solubilité dans l'eau, de sa disponibilité, et de sa stabilité élevée dans des conditions d'oxydoréduction, etc., cependant, la production de HAP commerciale est encore coûteuse et une réflexion croissante a été donnée pour l'utilisation de méthodes plus économiques pour sa préparation. Les coquilles d'œufs, qui sont inutiles après l'utilisation du contenu de l'œuf, peuvent entraîner une pollution environnementale. Ces déchets, qui se trouvent en grande quantité dans les rejets de différentes industries agroalimentaires (Mortada et al., 2015), peuvent être valorisés sous forme d'hydroxyapatite, très utile pour le traitement de l'eau.

A cet effet, l'objectif de ce travail consiste, à une analyse caractéristique de l'hydroxyapatite, synthétisée à partir de coquilles d'œufs, et à tester sa capacité comme biosorbant de certains contaminants présents dans l'eau (certains anions et métaux lourds : Nitrates, Plombs, etc.). L'analyse physicochimique et microbiologique d'échantillon de l'eau utilisée est aussi envisagée.

Synthèse

Bibliographique

2. Généralités sur l'analyse et traitement de l'eau

2.1 Polluants de l'eau

L'eau pure n'est jamais trouvée dans la nature et il est de plus en plus rare de rencontrer une source d'eau qui ne nécessite aucun traitement avant d'être utilisée pour l'approvisionnement en eau potable. L'eau contient des matières biologiques et inorganiques. La matière trouvée dans l'eau est affecté par plusieurs facteurs : l'origine de la source, impacts de la végétation et des animaux et l'impact humains reflétant des activités telles que l'application de produits chimiques agricoles et les rejets industriels.

Il est normal de classer les impuretés trouvées dans l'eau dans l'un des trois états : suspendus, colloïdal et dissout. La méthode de traitement requise pour l'élimination des impuretés, dépend en partie de la finesse du matériau.

Bien que la matière trouvée dans l'eau brute puisse la rendre impropre la consommation humaine, le traitement peut également nuire à la qualité de l'eau en introduisant des polluants ou en modifiant des produits chimiques qui sont inoffensifs avant le traitement (Binnie et al., 2002).

2.2 Quelques polluants communs

2.2.1 Polluants organique persistants (POPs)

Les POP ont été et continuent d'être la plus grande préoccupation pour l'environnement dans le monde entier. Ce sont des composés hautement chlorés comme le DDT (dichlorodiphényltrichloroéthane) et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). Les POP sont dangereux pour la santé en raison de leur potentiel de bioaccumulation et de bioamplification dans le réseau alimentaire aquatique.

2.2.2 Polluants d'origine agricole

L'agriculture est également une source de pollution commune, car plusieurs millions de tonnes de produits chimiques et de pesticides, qui ont un impact négatif sur la qualité de l'eau sous terrain et sur la santé humaine, sont utilisés à l'échelle mondiale pour augmenter la production végétale. Parmi ces polluants on peut citer :

Nitrates : ce sont des anions qui se trouvent dans la plupart des eaux naturelles à des concentrations modérées, mais l'utilisation excessive d'engrais et les rejets non contrôlés sur les eaux usées brutes et traitées augmentent leurs concentrations dans les eaux et particulièrement les eaux souterraines (Shrimali and Singh, 2001). C'est aussi une source d'azote qui participe dans le phénomène d'eutrophisation des écosystèmes marin et d'eau douce, ce dernier provoque

le développement intensif du phytoplancton dont quelques espèces peuvent être toxiques et la diminution du taux d'oxygène qui induit la mort des poissons par asphyxie (Smith, 2003).

Métaux traces : parmi la diversité des contaminants affectant les ressources en eau, les métaux lourds reçoivent une attention particulière compte tenu de leur forte toxicité même à faible concentration (Marcovecchio et al., 2007). La plupart des métaux traces sont non dégradables, persistants dans l'environnement et toxiques pour les organismes vivants. Par conséquent, l'élimination des métaux traces de l'eau est importante pour protéger la santé publique. On rapporte que des industries telles que : le placage, la céramique, le verre, les mines et la fabrication de la batterie sont considérés comme les principaux Sources de métaux traces dans les cours d'eau locaux, ce qui peut causer la contamination des eaux souterraines par les métaux traces (Momodu and Anyakora, 2010).

En outre, les métaux traces qui se trouvent généralement à des concentrations élevées dans les lixiviats de décharge sont également une source potentielle de pollution pour l'eau de parcs. Les métaux traces les plus courants sont : le cadmium (Cd), le chrome (Cr), le cuivre (Cu), le plomb (Pb), le nickel (Ni) et le zinc (Zn) (Sharma and Sanghi, 2012).

2.3 Élimination des polluants dissouts

2.3.1 Traitements biologiques

Le métabolisme de certains groupes bactériens peut être mis à profit pour éliminer des molécules ou ions indésirables dans l'eau, comme les composés azoté, le fer, le manganèse ou la matière organique.

Les bactéries responsables de cette réaction biochimique opèrent dans les limites de pH et de température qui leur sont spécifiques. Elles décomposent de façon biochimique par oxydation des matières non séparables par décantation qui n'ont pas pu être éliminées par des procédés mécaniques des eaux usées (Metahri, 2012).

2.3.2 Traitements par les oxydants

Les procédés chimiques d'oxydation interviennent à différents niveaux dans le traitement des eaux (production d'eau potable, dépollution des eaux usées industrielles, ...). Les oxydants chimiques sont utilisés pour l'oxydation : des espèces inorganiques réduites, avec le fer ferreux Fe (II), le manganèse manganoux Mn (II) et le sulfure S (-II) ; des micropolluants inorganiques tels que l'arsenic, des composés organiques synthétiques dangereux tels que le trichloroéthène, les pesticides, les composés actifs pharmaceutiques, les perturbateurs endocriniens ou les toxines algales, etc.

Les oxydants chimiques les plus couramment utilisés dans le traitement de l'eau sont le chlore, l'ozone, le dioxyde de chlore et le permanganate.

L'ozone est parfois utilisé en conjonction avec le peroxyde d'hydrogène ou le rayonnement ultraviolet pour produire des radicaux libres qui ont des propriétés puissantes d'oxydation (Edzwald, 2010). Ces radicaux libres peuvent être mis en œuvre pour éliminer une partie de la pollution organique (DCO) et en favoriser le caractère biodégradable (élimination de la DCO réfractaire) (Abouzlam, 2014).

Le cas des U.V utilisé dans la désinfection de certaines eaux est particulier car il s'agit de radiation ionisantes : à ce titre ils possèdent une action biocide propre par destruction des acides nucléiques des microorganismes, mais ils agissent aussi par formation de radicaux libres qui sont des agents oxydants puissants (Eckenfelder and Vandevenne, 1982).

2.3.3 Résines échangeuses d'ions

Les échangeurs d'ions sont des substances granulaires insolubles, comportant dans leur structure moléculaire des radicaux acides ou basiques susceptibles de permuter, sans modification apparente de leur aspect physique et sans altération ou solubilisation, des ions positifs ou négatifs, fixés sur ces radicaux, contre des ions de même signe se trouvant en solution dans le liquide qui est en contact. Cette permutation appelée échange d'ions permet de modifier la composition ionique du liquide objet du traitement, sans modification du nombre total d'ions existant dans ce liquide au début de l'échange. L'échange d'ions est à la base d'un grand nombre de procédés chimiques qui peuvent être classés selon les trois catégories principales suivantes :

- ↳ **Substitution** : Un ion noble (par exemple le cuivre) est récupéré dans la solution et remplacé par un autre sans valeur. De façon analogue, un ion nocif (par exemple un cyanure) est retiré de la solution et remplacé par un autre inoffensif.
- ↳ **Séparation** : Une solution contenant un certain nombre d'ions différents (par exemple Li^+ , Na^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+ , tous sous forme de chlorures) est passée au travers d'une colonne de billes de résine. Les ions sont séparés et émergent par ordre croissant d'affinité pour la résine.
- ↳ **Élimination** : En utilisant une combinaison de résine échangeuse de cations (sous forme H^+) et de résine échangeuse d'anions (sous forme OH^-), tous les ions sont enlevés et remplacés par de l'eau (H^+ , OH^-). La solution est ainsi déminéralisée. Ceci est en réalité une variante particulière de la substitution.

Leurs domaines d'emploi sont extrêmement variés (Eckenfelder and Vandevenne, 1982) :

- ✓ Décarbonatation.
- ✓ Adoucissement de l'eau.
- ✓ Déminéralisation totale en plaçant des résines cationiques et anioniques fortes en série ou en lits mélangés.
- ✓ Elimination des métaux dans les eaux de process industrielles.

2.3.4 Techniques membranaires

Une membrane est une paroi mince, qui oppose une résistance sélective au transfert de certains constituants d'une solution. Elle sépare donc les espèces moléculaires ou ioniques présentes dans la solution.

Suivant les seuils de coupure et les pressions de fonctionnement on distingue :

- ↪ **Microfiltration** : qui atteint le domaine des particules en suspension de diamètre voisin de 50 nm. Les MES, les colloïdes et les bactéries sont rejetés. Lors de la séparation, la composition chimique de l'eau n'est pas modifiée. La MF est bien adaptée au traitement des eaux souterraines à forte turbidité occasionnelle.
- ↪ **Ultrafiltration (UF)** : utilise des membranes microporeuses dont les diamètres de pores sont compris entre 1 et 100 nm. De telles membranes laissent passer les petites molécules (eau, sels) et arrêtent les molécules de masse molaire élevée (polymères, protéines, colloïdes) (MAUREL, 1993). Pour cette raison, cette technique est utilisée pour l'élimination de macrosolutés présents dans les effluents ou dans l'eau à usage domestique, industriel (électronique) ou médical (Berland and Juery, 2002).
- ↪ **Nanofiltration (NF)** : cette technique se situe entre l'osmose inverse et l'ultrafiltration. Elle permet la séparation de composants ayant une taille en solution voisine de celle du nanomètre (soit 10 Å) d'où son nom. Les sels ionisés multivalents (calcium, magnésium, aluminium, sulfates, etc.) et les composés organiques non ionisés de masse molaire supérieure à environ 250 g/mol sont, fortement retenus (MAUREL, 1993).
- ↪ **Osmose inverse (OI)** : Le phénomène d'osmose est un phénomène naturel courant, notamment à travers les membranes cellulaires. La membrane semi-perméable laissera passer le solvant (le soluté ne passe pas) pour équilibrer la concentration. La différence de concentration crée une pression, appelée Pression osmotique. Pour inverser le passage du solvant et augmenter la différence de concentration, il faut appliquer une pression supérieure à la pression osmotique.

Cette technique est utilisée pour le dessalement des eaux de mer et des eaux saumâtres ; et pour la production d'eau ultra pure et de l'eau de process, en général (Berland and Juery, 2002) .

2.4 Adsorption

L'adsorption est un phénomène de surface avec un mécanisme commun pour l'élimination des polluants organiques et inorganiques. Lorsqu'une solution contenant un solvant absorbable entre en contact avec un solide, avec une structure de surface hautement poreuse, les forces d'attraction intermoléculaires liquide-solides provoquent la concentration ou la déposition d'une partie des molécules de soluté de la solution sur la surface solide. Le soluté retenu (sur la surface solide) dans les procédés d'adsorption est appelé adsorbat, alors que le solide sur lequel il est retenu s'appelle comme adsorbant. Cette accumulation superficielle d'adsorbat sur adsorbant s'appelle adsorption. Cette création d'une phase adsorbée ayant une composition différente de celle de la phase fluide en vrac constitue la base de la séparation par technologie d'adsorption.

Au fur et à mesure que l'adsorption progresse, un équilibre de l'adsorption du soluté entre la solution et l'adsorbant est atteint (où l'adsorption du soluté sur l'adsorbant est minimale). (Rashed, 2013).

2.4.1 Isotherme d'adsorption

L'affinité de l'adsorbat pour un adsorbant est quantifiée à l'aide d'isothermes d'adsorption, qui sont utilisées pour décrire la quantité d'adsorbat qui peut être adsorbée sur un adsorbant à l'équilibre et à une température constante. Pour la plupart des applications dans le traitement de l'eau, la quantité d'adsorbat adsorbée est généralement une fonction de la concentration en phase aqueuse et cette relation est communément appelée une isotherme (Chabani et al., 2006).

Les isothermes d'adsorption sont effectuées en exposant une quantité connue d'adsorbant dans un volume fixe de liquide à diverses concentrations d'adsorbat (Chabani et al., 2006). Comme, elles peuvent être utilisées pour analyser la distribution des tailles des pores, la surface, le volume des pores, la force d'interaction entre la paroi fluide et d'autres propriétés (Jahan, 2016).

Les équations souvent utilisées pour décrire les données expérimentales d'isothermes sont ceux développés par Freundlich, par Langmuir et par Dubinin-Radushkevich (Chabani et al., 2006).

↳ **Modèle de Langmuir** : il n'est valable que pour une adsorption sur une seule couche où tous les sites d'adsorption ont un même niveau d'énergie, et accueillent uniquement une molécule d'adsorbat par site (Bhatnagar et al., 2008).

- ↳ **Modèle de Freundlich** : le modèle empirique peut aussi être appliqué en considérant une adsorption non idéale sur des surfaces hétérogènes comme dans le cas d'une adsorption à couches multiples (Hameed and Daud, 2008).
- ↳ **Modèle Langmuir-Freundlich** : le modèle Langmuir-Freundlich qui est une combinaison des équations de Langmuir et de Freundlich est utilisée pour les surfaces hétérogènes (Crini and Badot, 2007).

2.4.2 Adsorbants low-Cost

Les sous-produits à faible coût provenant de secteurs agricoles, ménagers et industriels ont été reconnus comme solution durable pour le traitement des eaux usées.

La valorisation de ces sous-produits qui représentent actuellement un problème lors de leur élimination en raison de leur volume, leur toxicité ou leur nature physique, à savoir les déchets de pétrole, les pneus de rebut, les coques de riz).

Si ces déchets pourraient être utilisés comme adsorbants peu coûteux, ils offriraient un double avantage à l'environnement

Ces sous- produit sont en général divisé en cinq groupes (De Gisi et al., 2016):

- ✓ Déchets agricoles et ménagers (coquilles d'amandes, noyaux d'olives, coquilles d'œufs, etc.)
- ✓ Déchets industriel (aluminium, silice, boue rouge, etc.)
- ✓ Produits de la mère (Chitosane, algue, etc.)
- ✓ Les boues
- ✓ Sol et minerai (boues, zéolites, sédiments et sols, etc.)

3. Généralités sur l'Hydroxyapatite

3.1 Structure et utilisations de l'hydroxyapatite

L'Hydroxyapatite (HAp), est une forme minérale naturelle d'apatite de calcium. Elle est composée de deux unités de cellules cristallines de formule $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, chaque unité de cellule compte 44 atomes, dont 10 atomes de calcium, 6 de PO_4^{3-} tétraèdres et 2 de groupes OH bien organisés dans un système hexagonal tel qu'illustré dans la figure 1. L'HAp est un phosphate de calcium céramique, chimiquement similaire aux minéraux osseux (Baba et al., 2013; Jahan, 2016). L'utilisation de sels de phosphate de calcium (HAp) pour remplacer et renforcer le tissu osseux est connue depuis de nombreuses années, car il a été découvert que le phosphate de calcium joue un rôle majeur dans la phase inorganique des tissus durs, des os et des dents, ce qui a amené les chercheurs médicaux à considérer ce sel comme une alternative pour améliorer le processus de guérison (Abdulrahman et al., 2014).

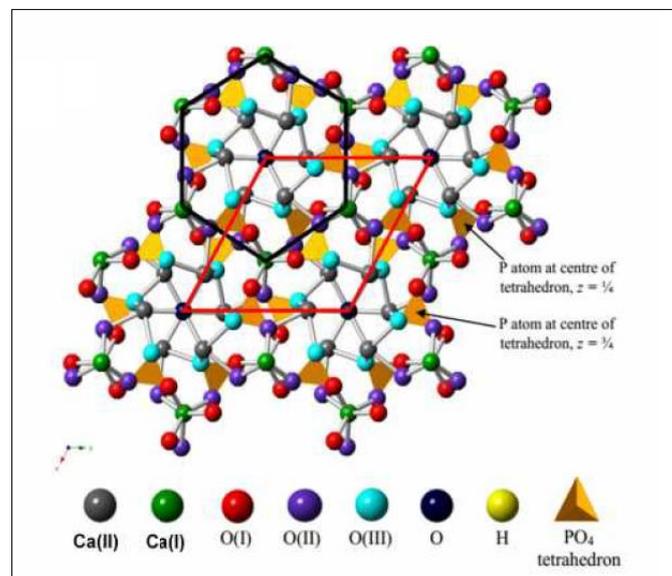


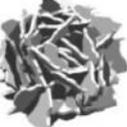
Figure 1 : Modèle structurel de l'HAp Pure (Jahan, 2016)

Ce matériau est capable d'intégrer biologiquement quand directement implanté dans un défaut osseux ; en outre, il ne produit aucun effet néfaste sur le système immunitaire, n'est pas toxique et présente un comportement ostéoconducteur (Angelescu et al., 2011).

L'HAp a également été étudié pour d'autres applications non médicales, par exemple, le revêtement d'hydroxyapatite est souvent appliqué aux implants métalliques, en particulier en acier inoxydable et alliage de titane pour améliorer les propriétés de la surface, comme support pour les colonnes chromatographiques et des catalyseurs (Baba et al., 2013; Gergely et al., 2010; Velayudhan et al., 2000).

Le tableau ci-après, résume les différents types de structure de L'HAp.

Tableau 1 : Différentes structures de l'HAp (Sadat-Shojai et al., 2013)

Forme	Description selon références	Intervalle des dimensions approximatif	Méthodes
	Irrégulière, non uniforme, sphérique	5nm-200µm	ss, mch, cc, hl, sg, hth, em, sch, ht, bs, cp
	Sphérique, microsphérique, nanosphérique, balle	10nm-1000µm	mch, cc, sg, hth, em, sch, ht, bs, cp
	Barre, aiguille, tube, filament, fibre, prisme hexagonal, bandelette	Longueur : 10 nm-150µm, diamètre 3 nm -50 µm	ss, mch, cc,hl, sg, hth,em, sch, ht, bs, cp
	Plate, feuille	Longueur : 40nm-50µm, largeur : 20nm-35µm Épaisseur : 5nm-3µm	cc,hth,bs,cp
	Nanotiges auto assemblées, clusters de nanotubes	Longueur : 200nm-80µm Largeur : 100 nm- 50µm, Diamètre : 200nm-75µm	cc, hl, hth, bs, cp
	Pissenlit, chrysanthème, fleur, paquet de fibres, rosette	Longueur 1-8µm Diamètre 20-500 nm	hth,em,bs
	Feuillet, flocon, plaque	800nm-10µm Nanoplaques organisées de 20-100nm d'épaisseur	cc, hl,cp
	Fleur	700nm-60µm organisées en pétales de 20nm-10µm de largeur et 180nm-50µm de longueur	cc,hth,bs
	Microsphère poreuse, mésoporeuse sphère	0,5-7µm pores de 20-150nm de diamètre	hth,cp
	Nanotiges auto assemblées, nœud d'arc	1,5-2,5µm nanotiges organisées de 100-150nm de diamètre et 1-2 µm de longueur	cp
	Haltère	2-3µm	cc

SS: synthèse à l'état solide, mch: méthode mécano-chimique, cc: précipitation chimique conventionnelle, hl: méthode d'hydrolyse, sg: sol-gelméthode, hth: méthode hydrothermale, em: méthode de l'émulsion, sch: méthode sonochimique, ht: processus à haute température, bs: synthèse à partir de sources biogènes, cp: procédures combinées.

3.2 Méthodes de synthèses de l'hydroxyapatite

3.2.1 Méthodes sèches

Les méthodes sèches n'utilisent pas de solvant, contrairement aux méthodes humides. Selon la littérature, les caractéristiques d'une poudre synthétisée par une méthode sèche ne sont pas fortement influencées par les paramètres de traitement ; par conséquent, la plupart des méthodes sèches ne nécessitent pas de conditions contrôlées avec précision, ce qui les rend propices à la production en série de poudres. Un certain nombre de chercheurs ont donc adapté des procédés secs bien connus, y compris la synthèse à l'état solide et le processus mécano-chimique, pour la préparation de particules de HAp (Sadat-Shojai et al., 2013).

3.2.2 Méthodes humides

Comme mentionné précédemment, la poudre de HAp générée à partir d'une méthode sèche typique est habituellement de grande taille et de forme irrégulière. Par conséquent, des méthodes humides ont été appliquées classiquement à la préparation de particules de HAp ayant une structure nanométrique avec une morphologie régulière.

De plus, dans une perspective fondamentale visant à comprendre le processus de biominéralisation *in vivo*, les voies de croissance des cristaux de HAp en solution ont fait l'objet d'un intérêt croissant au cours de la dernière décennie. Les réactions chimiques humides présentent des avantages dans leur capacité à contrôler la morphologie et la taille moyenne de la poudre, et, sur la base de nombreuses données expérimentales, elles sont les techniques les plus prometteuses pour la fabrication de HAp (Sadat-Shojai et al., 2013).

3.2.3 Synthèse hydrothermale

La synthèse hydrothermale se caractérise par la réaction de solutions aqueuses dans des récipients fermés sous une température ou pression contrôlée. La température peut être élevée au-dessus du point d'ébullition de l'eau, atteignant la pression de saturation de vapeur. La méthode hydrothermale a été trouvée comme une méthode appropriée pour préparer bien cristallisé et non aggloméré avec une taille, une forme et une composition homogènes qui peuvent être atteints même à basse température (Ashok et al., 2007; Felício-Fernandes and Laranjeira, 2000).

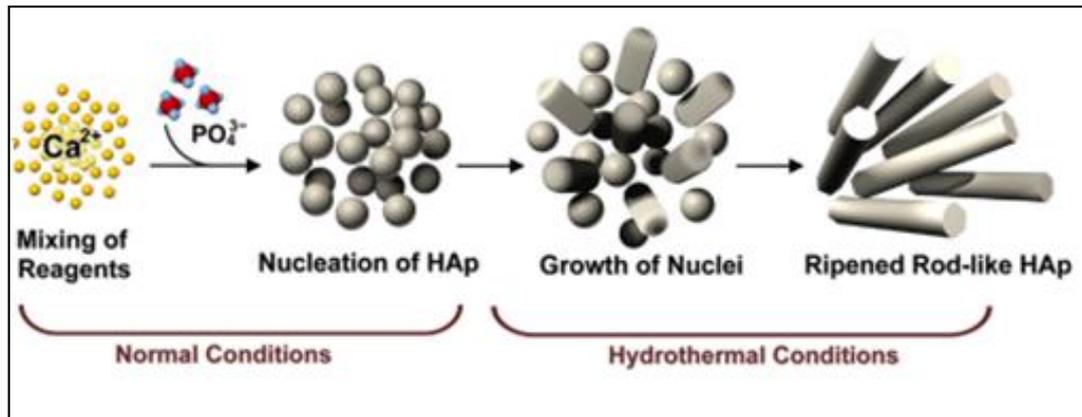


Figure 2 : Synthèse de l'hydroxyapatite par méthode hydrothermale (Sadat-Shojai et al., 2013)

3.2.4 Méthode sol-gel

L'approche sol-gel est une méthode efficace pour la synthèse de l'HAp, en raison de la possibilité d'un contrôle strict des paramètres du processus. Cette méthode offre un mélange au niveau moléculaire du calcium et du phosphore, qui est capable d'améliorer le produit chimique de HAp résultant dans une mesure significative. Seules des tentatives limitées ont été signalées sur le traitement sol-gel pour les matériaux HAp.

Il a été rapporté que les matériaux HAp synthétisés par le procédé sol-gel sont efficaces pour améliorer le contact et la stabilité aux interfaces osseuses artificielles / naturelles dans l'environnement *in vitro* et *in vivo*. Un certain nombre de combinaisons de précurseurs de calcium et de phosphore ont été utilisés pour la synthèse sol-gel de HAp. Encore une fois, l'activité chimique et la température requise pour former la structure d'apatite dépendent en grande partie de la nature chimique des précurseurs (Nayak, 2010).

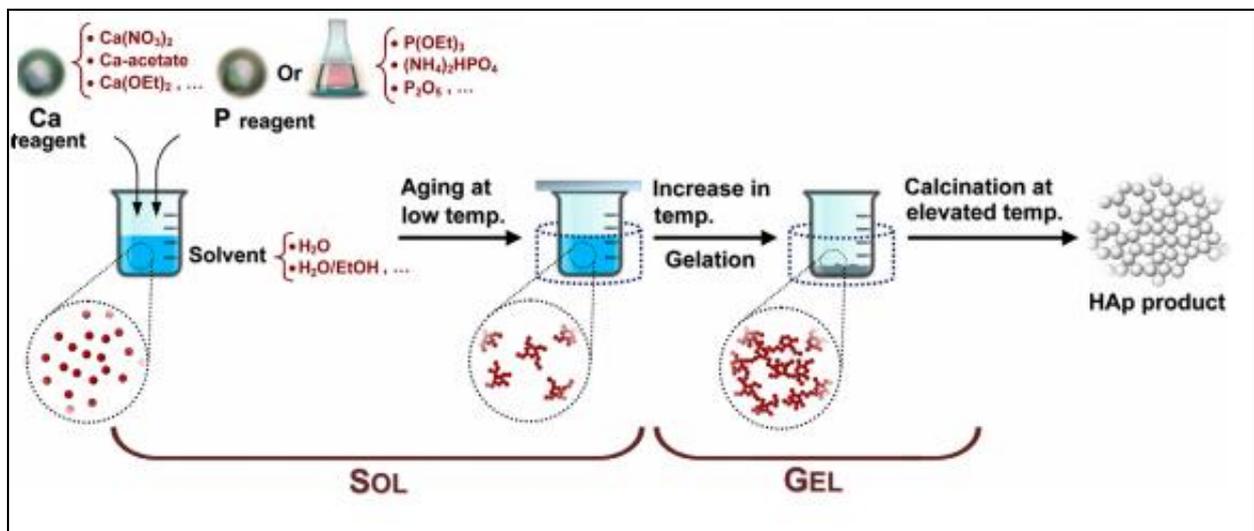


Figure 3 : Synthèse de l'hydroxyapatite par méthode sol-gel (Sadat-Shojai et al., 2013)

3.2.5 Précipitation

La technique la plus populaire et largement étudiée pour la synthèse de HAp est la technique de précipitation. Cette technique est également appelée précipitation humide ou précipitation chimique ou précipitation aqueuse. Cette technique est largement choisie pour synthétiser HAp à la différence d'autres techniques. Parce que, une quantité relativement importante de HAp peut être produite par technique de précipitation en l'absence de solvants organiques à un coût raisonnable (Nayak, 2010).

Ces méthodes sont basées sur deux types de réaction : neutralisation (acide-base) ou réaction entre les deux sels. Dans le cas de l'hydroxyapatite synthétisée par précipitation chimique, l'obtention d'un produit caractérisé par une pureté élevée et la cristallinité dépend d'un certain nombre de paramètres de processus, tels que la température de synthèse, la concentration initiale des réactifs impliqués dans la réaction de synthèse, le pH de la réaction environnementale, la vitesse d'addition d'acide, la vitesse d'agitation des réactifs et les conditions de traitement thermique appliquées sous forme de poudres d'hydroxyapatite séchées (Angelescu et al., 2011).

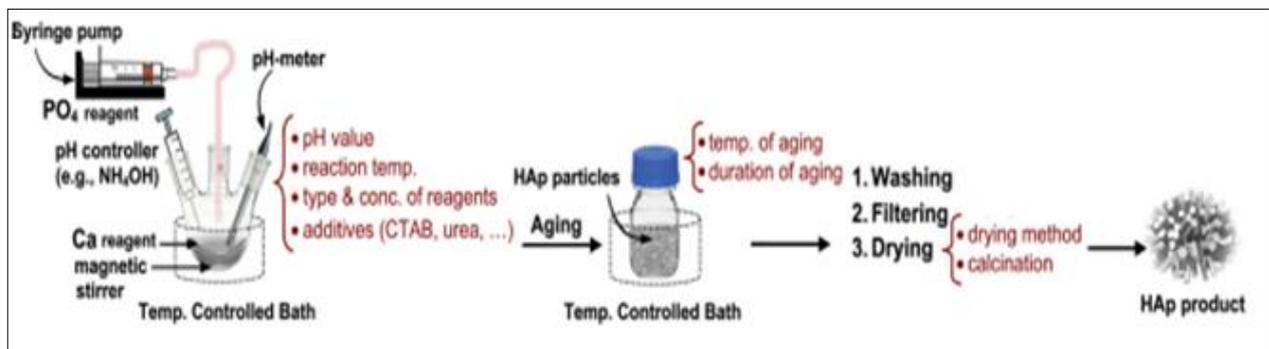


Figure 4 : Synthèse de l'hydroxyapatite par méthode de précipitation (Sadat-Shojai et al., 2013)

3.2.6 Synthèse à partir de sources biogénique

L'HAp générée partiellement ou entièrement de sources biogènes est mieux acceptée par les organes vivants, en raison de leur similitude physicochimique avec l'apatite osseuse humaine. Les sources potentielles sont divisées généralement en groupes, y compris l'extraction de minéraux à partir de déchets biologiques, synthèse à partir de coquilles d'œufs, synthèse à partir d'exosquelette d'organismes marins, synthèse à l'aide de biomolécules naturelles, et synthèse à l'aide de biomembranes.

L'extraction des déchets biologiques (principalement les os bovins, les écailles et les os de poissons) est la méthode la plus connue pour la préparation de l'HAp, ceci est un processus intéressant, non seulement en raison d'une caractéristique supérieure Du matériau extraits ais aussi pour le rendement environnemental et économique issu de la valorisation de ces déchets (An et al., 2007; Mondal et al., 2010).

L'extraction de l'HAp à partir de biodéchets nécessite un traitement thermique au préalable afin d'éliminer toute trace de matière organiques.

De par la simple calcination, d'autres procédés d'extraction, y compris l'hydrolyse enzymatique, le traitement au plasma, le traitement sous-critique de l'eau et l'hydrolyse hydrothermale alcaline peuvent également être utilisés (Barakat et al., 2009; Huang et al., 2011; Yoganand et al., 2011).

3.3 Synthèse de l'hydroxyapatite à partir de coquilles d'œuf

La nature poreuse de la coquille d'œufs en fait un matériau intéressant à utiliser comme adsorbant et comme précurseur pour la production de l'hydroxyapatite.

La coquille d'œuf se compose généralement de matériaux céramiques qui sont disposés dans une structure à trois couches, à savoir la cuticule sur la surface extérieure, une couche spongieuse (calcaire) et une couche interne lamellaire.

Les couches spongieuses et lamellaires forment une matrice composée de fibres protéiques liées à la calcite (carbonate de calcium) (Abdulrahman et al., 2014; Carvalho et al., 2011).

Les coquilles d'œufs constituent les 11% du poids total de l'œuf et sont constituées par le carbonate de calcium (94%), le phosphate de calcium (1%), la matière organique (4%) et le carbonate de magnésium (1%) (Singh and Mehta, 2012).

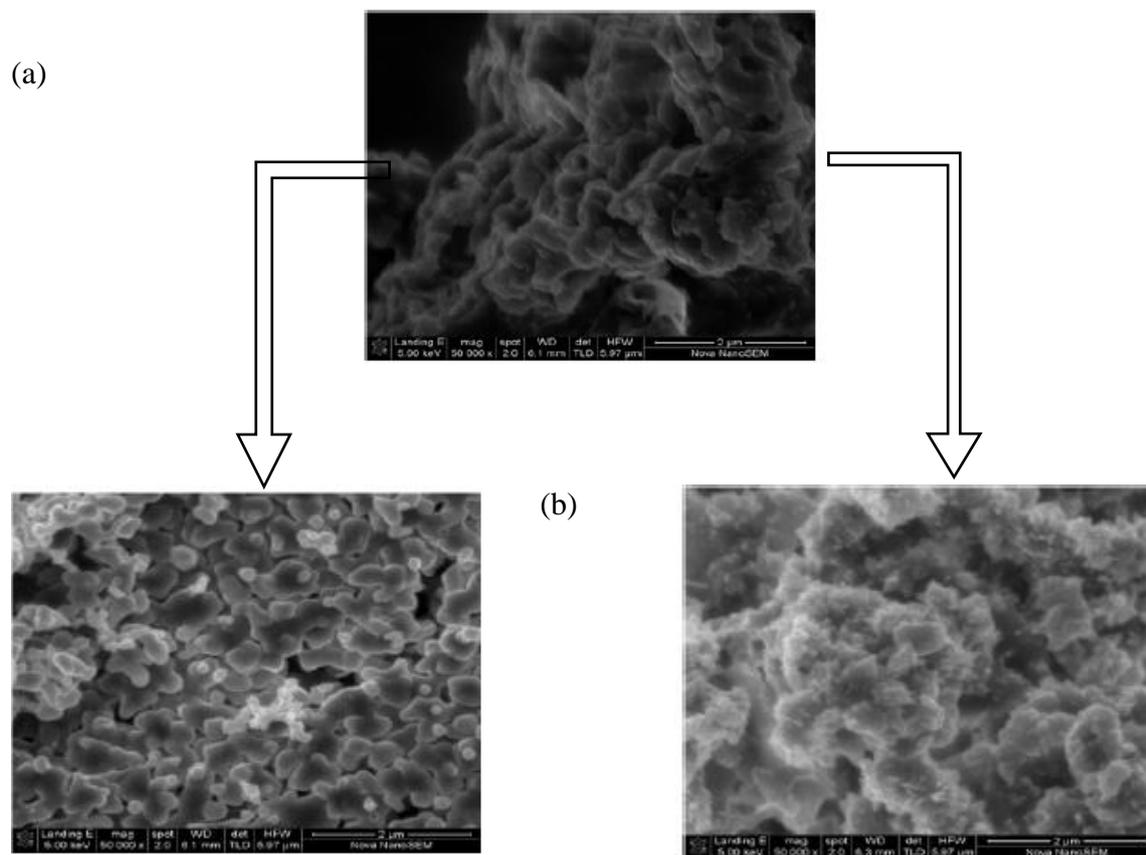


Figure 5 : (a) Micrographie de coquille d'œuf calciné, (b) Micrographie de hydroxyapatite synthétisée par précipitation (Baba et al., 2013)

Matériel

et

Méthodes

4. Matériel et méthodes

Notre travail a été réalisé au niveau du Laboratoire National de contrôle et d'analyse des Produits de la pêche et de l'aquaculture et de la salubrité des milieux « LNCAPPASM », Ain Benian, Alger, durant la période du mois de Février jusqu'au mois de Mai 2017, dont les objectifs sont :

- Effectuer un contrôle de la qualité physico-chimique et microbiologique de l'eau de mer issue de zones conchylicoles et de zones de rejet domestiques ;
- Synthèse et caractérisation de l'hydroxyapatite issue de la valorisation de coquilles d'œufs ;
- Traitement de l'eau de mer prélevée en utilisant l'hydroxyapatite comme Biosorbant pour les métaux lourds (plomb) et certains anions comme les nitrates.

4.1 Matériel

4.1.1 Equipements d'analyse

Tableau 2 : Equipement utilisé pour la caractérisation de l'hydroxyapatite

Equipement	Principe de fonctionnement	Model
Spectromètre à transformée de Fourier (IRTF)	Fournit des informations sur la liaison chimique ou la structure moléculaire des matériaux. La technique fonctionne sur le fait que les liaisons et les groupes de liaisons vibrent à une fréquence caractéristique. La transmittance du spécimen et la réflexion des rayons infrarouges à des fréquences différentes sont traduites en spectre d'absorption infrarouge composé de pics inversés. La taille et l'emplacement des pics ou les creux dans le spectre indiquent la composition et la quantité de matériel présent (Solihat, 2008).	THERMO Nicolet IS5 système ATR avec un cristal en Sélénure de Zinc -région 4000-500 cm ⁻¹ .
Microscope électronique à balayage (MEB)	Produit des images tridimensionnelles de la surface des échantillons avec une résolution pouvant atteindre quelques nm et une très grande profondeur de champ. Il permet également une microanalyse chimique élémentaire de la surface de l'objet par la méthode EDX (Energy Dispersive X-ray) ¹ .	Tecnai-Philips F30, FEI Co.
Analyse en énergie dispersive EDX	La rencontre entre le faisceau électronique incident et les atomes de la surface de l'objet génère des photons X, captés par un détecteur. Un élément donné émet des photons X caractérisés par leur énergie. Le traitement des signaux X permet de trier les photons par énergie, d'attribuer chaque photon détecté à un élément chimique (analyse qualitative) mais aussi de compter les photons en fonction de leur énergie (en eV) ¹ .	Amptek Experimenter's XRF Kit.

¹ <http://jean-jacques.auclair.pagesperso-orange.fr/meb/meb.htm> (dernière visite s'effectuée le 21/06/2017).

Equipement utilisé pour le dosage chimique		
Spectrophotomètre d'absorption atomique (SAA)	Technique de détermination de la concentration d'un élément dans un échantillon, par mesure de l'absorption d'un rayonnement électromagnétique par la vapeur atomique de l'élément générée à partir de l'échantillon. La mesure est effectuée la longueur d'onde de l'une des raie d'absorption de l'élément concerné. La quantité de rayonnement absorbée est, selon la loi de Beer-Lamber, proportionnelle à la concentration de l'élément (Européenne).	Thermo Fisher iCE 3300
Chromatographie ionique (CI)	basée sur des interactions ioniques (ou électrostatiques) entre des analytes ioniques et polaires, des ions présents dans l'éluant, et les groupes fonctionnels ioniques dérivés au support de la chromatographie ionique. Cela peut conduire à deux mécanismes distincts de séparation : (a) échange d'ions en raison de la liaison ionique compétitive (attraction), et (b) l'exclusion ionique due à la répulsion entre les ions d'analyte chargés de manière similaire et les ions dérivés sur le support de la chromatographie. (Bhattacharyya and Rohrer, 2012).	DIONEX, ICS 1100
Matériels utilisé pour le contrôle microbiologique		
	Etuves Bactériologiques (37°C/44°C)	Memmert

4.2 Méthode

4.2.1 Contrôle de la qualité de l'eau de mer

4.2.1.1 Prélèvement, prétraitement et stockage d'eau de mer

Deux prélèvements d'eau de mer ont été effectués, afin de les utiliser autant qu'il y a d'échantillons à tester. Le premier est prélevé au niveau du site Collo (Skikda) à proximité d'un gisement naturel des moules et à proximité du Port de Collo (source de pollution : Sels nutritifs, métaux traces). Le deuxième échantillon est collecté à proximité du port El Djamilia à Ain Benian (rejet des eaux usées et les rejets des bateaux).

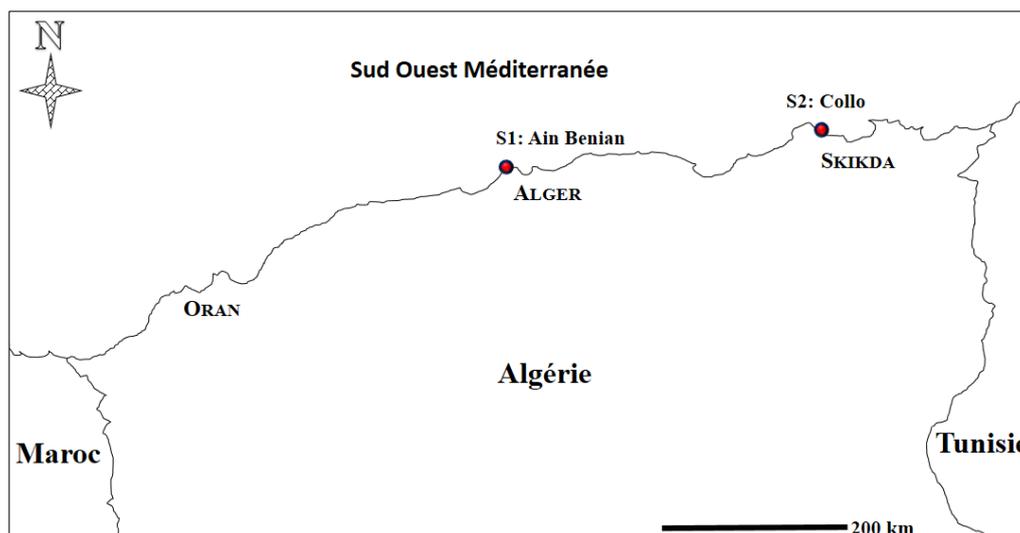


Figure 6 : Localisation des stations de prélèvement

Lors du prélèvement, des mesurés *In situ* concernant des paramètres physicochimiques : Temperature, pH, Oxygene dissous (OD), Substances dissoutes totales (TDS), Salinité (S)

Ces parametres ont été pris en consideration, afin de définir la qualité de la matrice d'eau étudiée en utilisant un multiparamètre HORIBA ®, Model U - 52 G, calibré par sa solution standard (100-4, standard solution).

4.2.1.2 Analyse des métaux traces

Le dosage du Plomb a été effectué par Spectrométrie d'Absorption Atomique Flamme (**SAAF**) Thermo Fisher iCE 3300, avec les paramétrés suivants :

- Solution standard : Nitrates de plomb
- Source : lampe à cathode creuse au plomb
- Longueur d'onde : 217nm
- Dispositif d'atomisation : bruleur de 50 mm, flamme air-acétylène.

Une gamme de 0 à 200 mg/l de plomb est testée (0, 20, 50, 150, 200), à partir d'une solution mère de 1 g/l qui est obtenue par la dissolution de nitrate de plomb ($Pb(NO_3)_2$) dans l'eau distillée.

4.2.1.3 Analyse des nitrates

Le dosage des nitrates a été effectué par chromatographie ionique DIONEX, ICS 1100, avec une phase mobile contenant mélange de solution de carbonate de sodium à 3.5 mM/L et une solution de bicarbonate de sodium à 1.0 mM/L avec un débit de 1 ml/min

En utilisant une colonnes anionique de type : Dionex IonPac™ AS14A ; RFIC™ ; (4 x 250 mm), Analytical.

4.2.1.4 Analyse microbiologique

L'analyse microbiologique fait parties des paramètres de contrôle de qualité des eaux afin de rechercher les germes indicateurs de pollution et leurs concentrations.

Des flacons en verre borosilicaté stérilisé ont été utilisés, le prélèvement a été effectué à une profondeur avoisinant les 50 cm le couvercle a été ouvert et fermé en étant immergé dans l'eau et stocké dans une glacière à 4 °C (Rodier, 1996).

✓ **Méthode du nombre le plus probable (NPP)**

Cette méthode est une estimation statistique du nombre de micro-organismes supposés distribués dans l'eau de manière parfaitement aléatoire. Dans ce type de méthode, les bactéries se multiplient librement dans le milieu liquide. En cas de présence, l'ensemble du milieu liquide inoculé vire à la « positivité » (trouble ou virage de l'indicateur). Un jugement quantitatif est possible en jouant sur les volumes de la prise d'essai. La précision s'accroît avec le nombre de reliquats par dilution. Celle-ci permet, en fonction du nombre de tubes ou puits « positifs » dans chaque série, d'indiquer la valeur statistiquement la plus probable : « nombre le plus probable » (NPP) (Rodier, 1996).

• **Dénombrement des coliformes totaux par méthode (NPP)**

Dilutions décimales

Dilution du 1/10 : dans un tube à essai contenant 9ml d'eau physiologique, ajouter 1 ml d'eau à analyser et agiter ;

Dilution du 1/100 du tube contenant de l'eau physiologique à la dilution 10^{-1} , prélever 1 ml et le verser dans un tube à essai contenant 9ml d'eau physiologique.

Opérer de la même façon jusqu'à la dilution voulue

La recherche des coliformes nécessite deux tests consécutifs (RODIER et al, 2001)

Test présomptif

Il a été effectué en utilisant le milieu ou bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol (BCPL) double et simple concentration (DC/SC). Après ensemencement des milieux avec la quantité nécessaire (1ml), nous avons agité et homogénéisé sans faire pénétrer de l'air dans la cloche, puis nous avons placé les tubes dans une étuve à 37°C pendant 48 heures. Dans cette phase nous avons utilisé :

- ✓ 3 tubes de BCPL/DC avec 10ml d'eau de mer ;
- ✓ 3 tubes de BCPL/SC avec 1ml d'eau de mer ;
- ✓ 3 tubes de BCPL/SC pour chaque dilution.

Lecture : Après 48 heures, sont considérés comme positifs, les tubes qui ont viré au jaune et qui présentent du gaz dans la cloche.

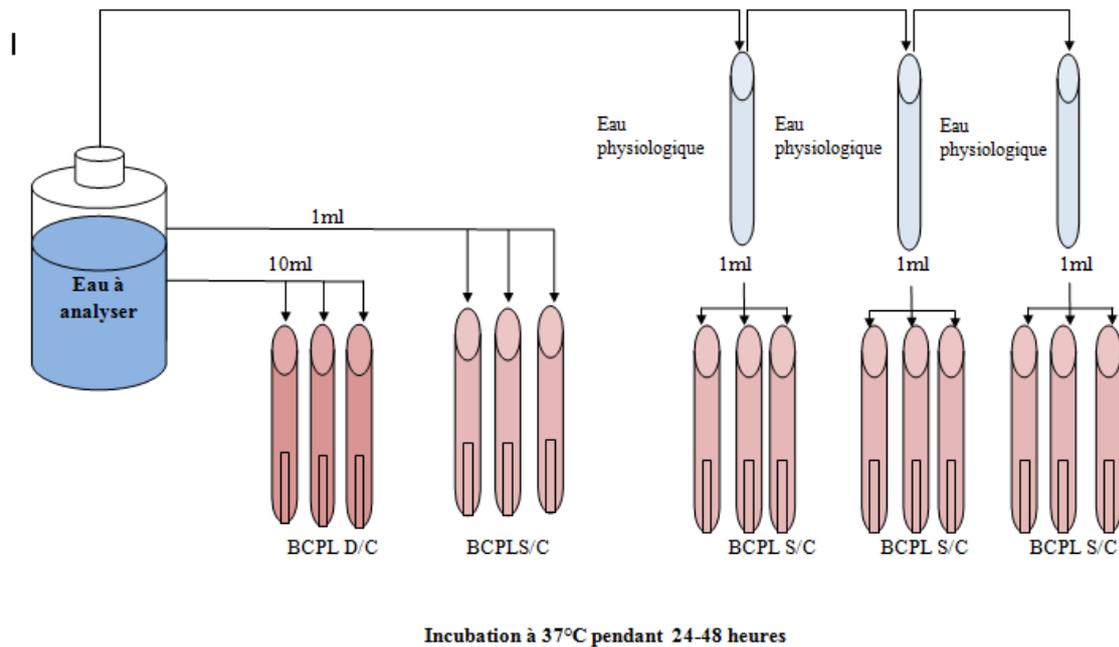
Test confirmatif : un repiquage des tubes BCPL positifs est effectué sur milieu SHUBERT et incubés à 44 °C pendant 48 heures

Lecture : Après 48 heures sont considérés comme positifs les tubes qui présentent un trouble

Recherche d'*E. coli* (test de Mac Kenzi) : quelques gouttes du Réactif de Kovacs sont ajoutées au tube positif.

Lecture : Sont considérés positifs les tubes ayant un anneau rouge à la surface indiquant la production d'Indole et confirmant la présence d'E-coli. Le nombre de tubes positifs dans chaque série de dilution a été noté et rapportés à la table de Mc Grady pour obtenir le nombre de coliformes totaux, thermotolérants et d'E-coli présents dans 100ml d'eau.

1. Test présomptif



2. Test confirmatif

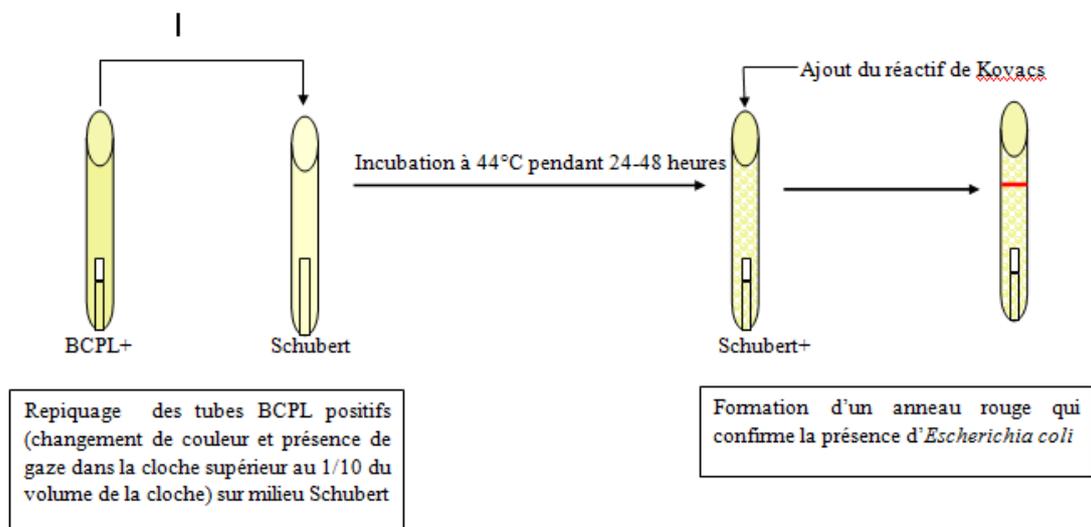


Figure 7 : représentation de la méthode de dénombrement des coliformes thermotolérants et *Escherichia coli*

- **Recherche et dénombrement des Enterocoques**

Les principes généraux de cette méthode sont ceux décrits dans l'exposé de la colimétrie en milieux liquides. Cependant, alors que le tube primaire contient déjà une certaine quantité d'azide de sodium, le repiquage des tubes positifs sur un milieu nettement plus inhibiteur (plus forte concentration en azide de sodium et présence d'éthyl violet) ne laisse se développer que les streptocoques fécaux.

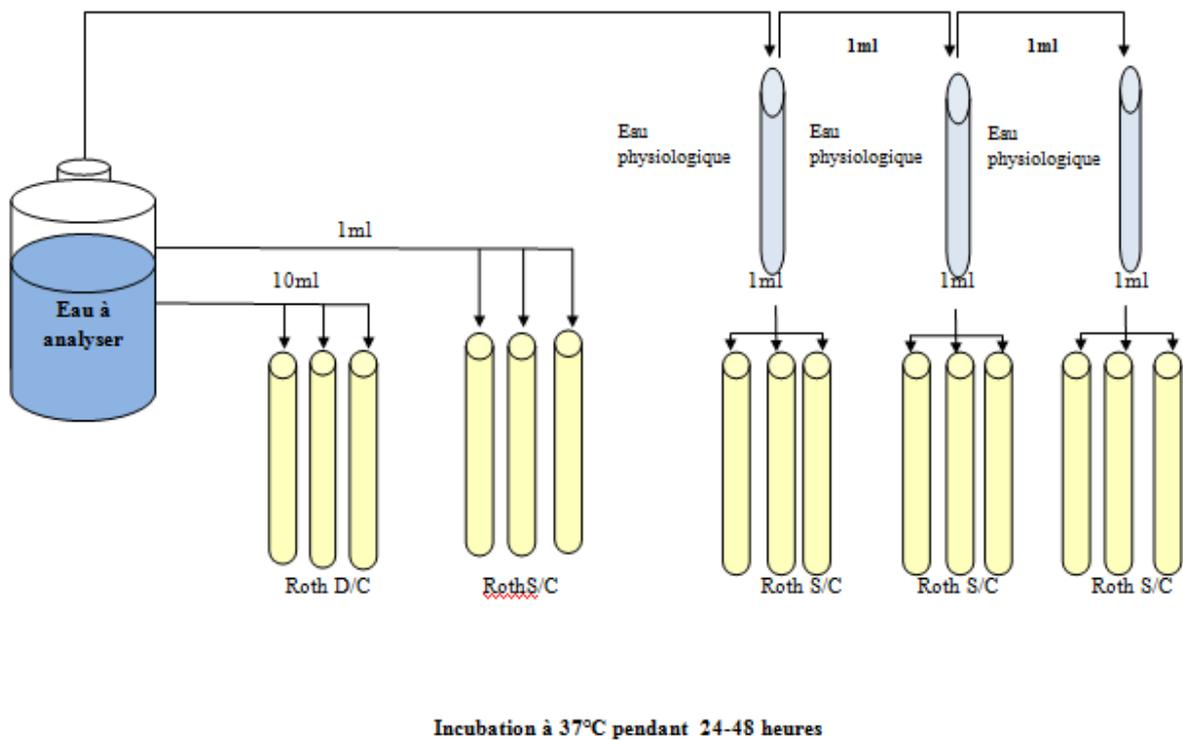
Test présumé : Après avoirensemencé l'eau d'échantillons dans des tubes multiples de milieu de ROTHE en utilisant 3 tubes de doubles concentrations avec 10 ml d'eau de mer, 3 tubes de simple concentrations avec 1 ml d'eau de mer et 3 tubes de simples concentrations avec 1 ml de chaque dilution, nous les avons incubés à 37 °C pendant 48 heures.

Lecture : tous les tubes présentant un trouble sont considérés comme positifs.

Test confirmatif : après agitation des tubes positifs, quelques gouttes ont été prélevées de chaque tube (4 à 6 gouttes) et reportées dans des tubes de milieu de Litsky à l'éthyle violet et d'azide de sodium (EVA). Incube à 37 °C pendant 24 heures.

Lecture : les tubes dont le trouble est important (jaune) et/ou présentant une pastille violette au fond sont considérés comme positifs.

1. Test présomptif



2. Test confirmatif

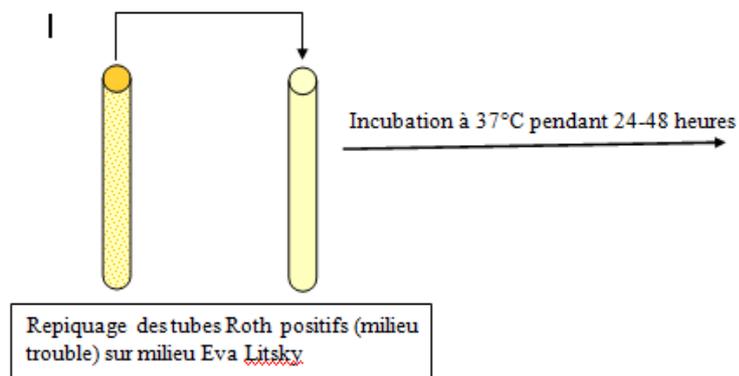


Figure 8 : représentation de la méthode de dénombrement des Entérocoques

- **Recherche des Salmonelles**

La recherche des salmonelles se fait par la méthode quantitative réalisé en trois étapes successives ;

- ✓ Enrichissement sur milieu FSB,
- ✓ L'isolement sur milieu Hektoen (Rodier, 1996)

4.2.2 Synthèse et caractérisation de l'Hydroxyapatite

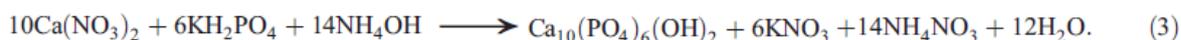
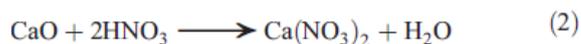
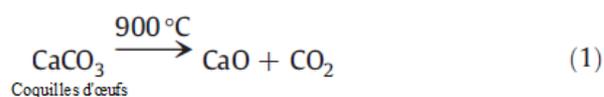
L'exploitation et la transformation de la coquille d'œuf en hydroxyapatite avaient pour objectif de vérifier s'il y aura adsorption de certains contaminants de l'eau (certains anions : Nitrates, Phosphore, Sulfates,... métaux traces : Plomb,...) :

4.2.2.1 Synthèse

- ✓ Les coquilles d'œuf de poule ont été collectées, lavées avec l'eau du robinet et portées à ébullition dans l'eau distillée pendant 1 heure puis la membrane a été séparée de la coquille, ces dernières ont été séchées à 80 °C dans une étuve pendant 1 heure (Khandelwal and Prakash, 2016).
- ✓ Les coquilles d'œufs nettoyées ont été conservées dans un récipient de porcelaine et ont été calcinées dans un four à moufle à 900 °C pendant une heure.
- ✓ Une quantité mesurée de coquilles d'œufs calcinés a été prise dans un bécher et dispersée dans de l'eau distillée.
- ✓ Une solution de 0,6 M de l'acide orthophosphorique a été ajoutée aux coquilles d'œuf en solution goutte à goutte pour diminuer le pH jusqu'à 8,5. La formation d'un précipité a été observée à ce stade, par la suite la solution a été maintenue pendant 24 h à température ambiante, pour le durcissement du précipité. La solution a encore été agitée pendant encore 30 minutes sur un agitateur magnétique et ensuite laissée pendant 24 h supplémentaires.
- ✓ Le précipité a été filtré avec du papier filtre et lavé avec de l'eau distillée et filtré à nouveau en utilisant du papier filtre.
- ✓ Le précipité a été séché au four pendant 2 h à 100 °C.
- ✓ Le précipité a été encore calciné à 900 °C pendant 2 h dans le four à moufle. À la fin un agglomérat cristallin a été retrouvé au fond du creusé (Baba et al., 2013).

Les étapes de synthèse sont résumées dans la (Fig. 9).

La réaction de production de l'HAp est la suivante (Khandelwal and Prakash, 2016):



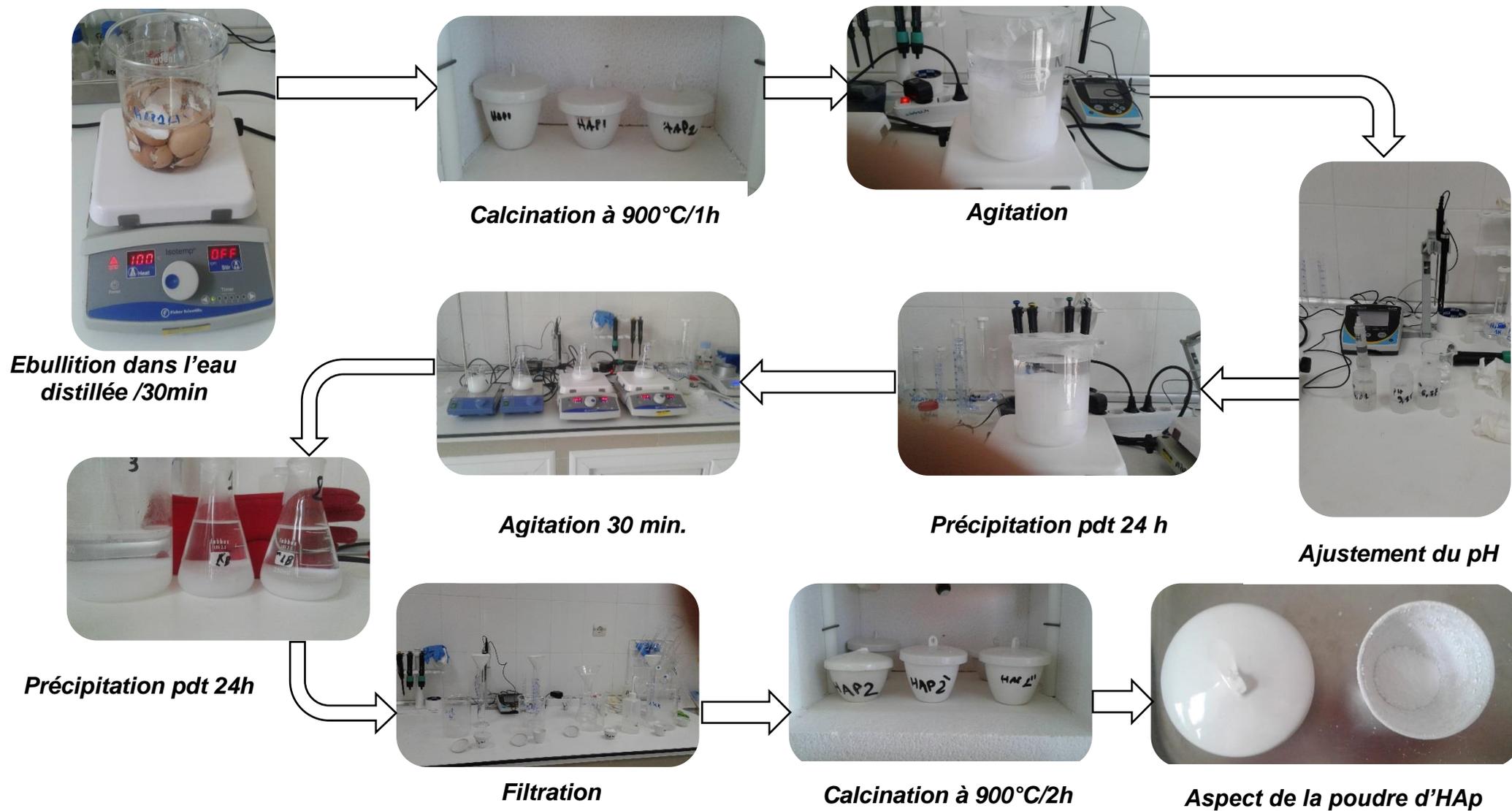


Figure 9 : Etapes de la synthèse de l'hydroxyapatite

4.2.2.2 Caractérisation

IRTF : La nature chimique et la structure des liaisons moléculaire des échantillons ont été confirmées à l'aide d'un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier (IRTF), THERMO Nicolet IS5 pour identifier les groupements fonctionnels de l'hydroxyapatite avec une transmittance infrarouge des échantillons dans la région 4000-500 cm^{-1} en utilisant un système ATR avec un cristal en Séléniure de Zinc. Cette analyse a été réalisée au niveau du laboratoire SIMAD (Casties, Toulouse).

EDX : l'analyse élémentaire a été effectuée par un spectromètre à énergie dispersive par rayons X (Amptek Experimenter's XRF Kit).

MEB : La caractérisation morphologique des échantillons de HAp a été effectuée à l'aide d'un Microscope électronique à balayage.

4.2.3 Etude de l'adsorption du plomb

4.2.3.1 Temps de contact optimum

Une quantité de 0,7g d'hydroxyapatite a été ajoutée à 100 ml de solution de nitrates de Plomb à 100 mg/l. Dans un pH neutre avec une agitation à 350 rpm, les dosages ont été effectués chaque : (5 – 30 – 60 – 90 - 120) minutes (Zheng et al., 2007).

4.2.4 Etude de l'adsorption des nitrates

4.2.4.1 Temps de contact optimum

Une quantité de 0,7g d'hydroxyapatite a été ajoutée à 100 ml de solution de nitrates de potassium à 100 mg/l. Dans un pH neutre avec une agitation à 250 rpm, les dosages ont été effectués chaque : (5 – 30 – 60 – 90 - 120) minutes (Islam et al., 2010).

4.2.4.2 Quantité optimum de l'hydroxyapatite

Des solutions de 100 ml de nitrates de potassium à 100 mg/l ont été préparées à pH neutre et on ajoute dans chacune (0,1 - 0,3 - 0,5 - 0,7 - 1,0) gramme d'hydroxyapatite, agité à 250 rpm pendant 60 minutes (Islam et al., 2010).

4.2.4.3 Saturation

On prépare des solutions de 100 ml de nitrates de potassium à (30 – 50 – 100 – 150 - 200) mg/l à pH neutre et on ajoute dans chacune 0,7 g d'hydroxyapatite (Islam et al., 2010).

- **Taux d'élimination (TE %)**

Le pourcentage d'élimination des nitrates et du plomb a été calculé selon la formule suivante :

$$TE (\%) = \frac{\text{Concentration initiale}}{\text{Concentration finale}} \times 100$$

4.2.5 *Traitement statistique*

Le traitement statistique a été effectué avec Microsoft Office EXCEL 2013 pour la réalisation des graphes et le calcul des formules des isothermes de Langmuir et Freundlich.

Résultats

et

Discussion

5. Résultats et Discussion

5.1 Contrôle de la qualité des échantillons d'eau de mer

5.1.1 Mesure *In situ*

Les résultats des mesures *In situ* ont été pris en considération, afin de définir la matrice d'eau étudiée (Tab. 3).

Tableau 3 : Paramètres physicochimiques d'eau de mer, mesurées *In situ*

Station	T (°C)	pH	OD (%)	TDS (mg/l)	S (‰)
« Collo », Skikda	14,42	8,08	100,11	28,9	33,60
« Ain Benian », Alger	15,60	8,30	85,26	27,8	31,79
Normes	-	6-8	120	-	-

On observe que tous les paramètres mesurés *In situ*, sont dans les normes décret exécutif n° 93-164 du 10 Juillet 1993, définissant la qualité requise des eaux de baignade.

5.1.2 Microbiologie de l'eau

D'après les résultats énumérés dans le Tab. 4, la station d'Ain Benian est plus contaminée par rapport à celle de Collo, en termes de pollution biologique, on note aussi l'absence des « entérocoques » et des « Salmonelle » au niveau des deux stations.

En comparant les résultats par rapport aux limites du décret exécutif n° 93-164 du 10 Juillet 1993, définissant la qualité requise des eaux de baignade on note une qualité très satisfaisante de l'échantillon issu de la station de Collo contrairement la quantité de coliformes fécaux de la station d'Ain Benian dépasse le seuil limite du décret mentionné (2000 UFT /100ml), cette station subit une forte pression anthropique d'origine biologique due à sa proximité d'une zone de rejet urbaine.

Tableau 4 : Résultat d'analyse microbiologique dans l'eau de mer des deux stations

Station	Unité	Coliformes totaux	Coliformes fécaux	<i>E. coli</i>	<i>Entérocoques</i>	<i>Salmonella</i>
COLLO (Gisement naturel de moule)	UFT/100 ml	43	4	4	Absence	Absence
Ain Benian (zone de rejet)		4600	4600	4600	Absence	Absence
Normes		10000	2000	2000	100	Absence

5.2 Synthèse de l'Hydroxyapatite "HAp"

5.2.1 Caractérisation de l'Hydroxyapatite "HAp"

La synthèse de ce sel a été réalisée par précipitation chimique (H_3PO_4 0,6M ; $t = 25^\circ\text{C}$; $8 \leq \text{pH} \leq 10$). Le produit final est encore calciné à $900^\circ\text{C} / 2\text{h}$. Après le traitement, une quantité finale de HAp, 94 % du poids initiale de coquille d'œuf, a été synthétisée.

5.2.1.1 Caractérisation de l'Hydroxyapatite par l'IR-TF

Les résultats obtenus sont en concordance avec ceux trouvés par (Prabakaran et al., 2005 ; Zhai et al., 2004). Les spectres (Fig. 10) montrent des bandes d'absorption à faible intensité et à faible intensité de P-O due à la présence du groupement PO_4^{3-} dans la région de 1052 cm^{-1} , qui sont caractéristiques de la HAp, ainsi que de la bande H-O de l'eau adsorbée. Un pic bien distinct 607 cm^{-1} indique le mode de vibration de la liaison O-H. L'épaule de bande à 3467 cm^{-1} est due à l'étirement des liaisons O-H de l'eau de cristallisation. La bande à 2923 cm^{-1} est due au bruit de fond du système de mesure.

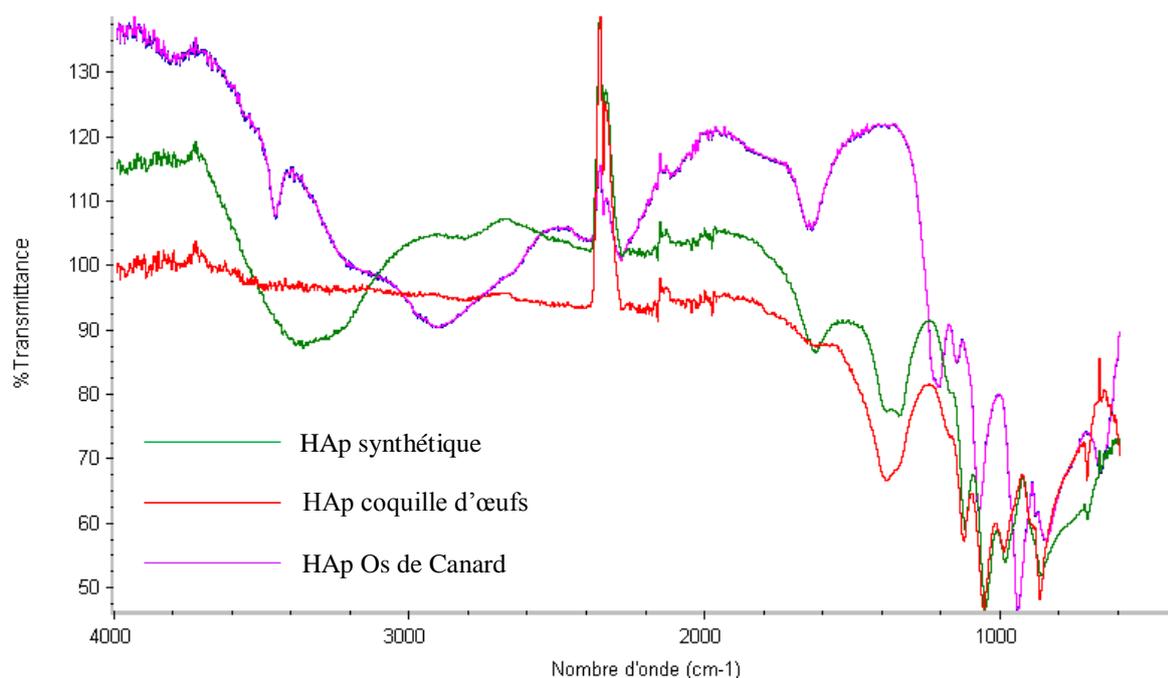


Figure 10 : Spectre infrarouge de l'Hydroxyapatite de différentes origines

5.2.1.2 Caractérisation de l'Hydroxyapatite par MEB

Les micrographies obtenues sont proches de celles citées dans la bibliographie (Baba et al., 2013; Gergely et al., 2010). La micrographie de la poudre des coquilles d'œuf avant le traitement, a révélé une morphologie de particules à surface dense et trouble avec des vides

trouvés entre les particules troubles (Fig. 11). la micrographie de l'HAP synthétisée a révélé un modèle mal cristallisé et dense, avec une forme irrégulière, ovale et sphérique ressemblant à des pastilles (Fig. 12) avec des surfaces plus lisses.

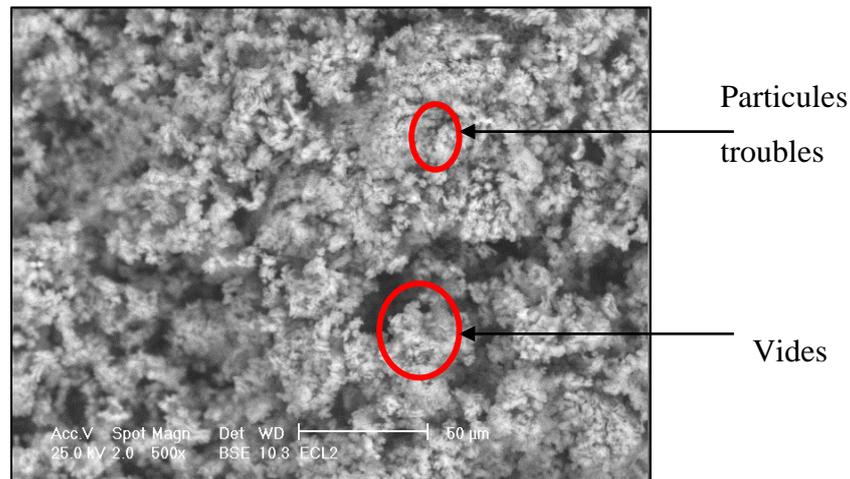


Figure 11 : Micrographie de la poudre des coquilles d'œuf calcinées à 900°C (x500)

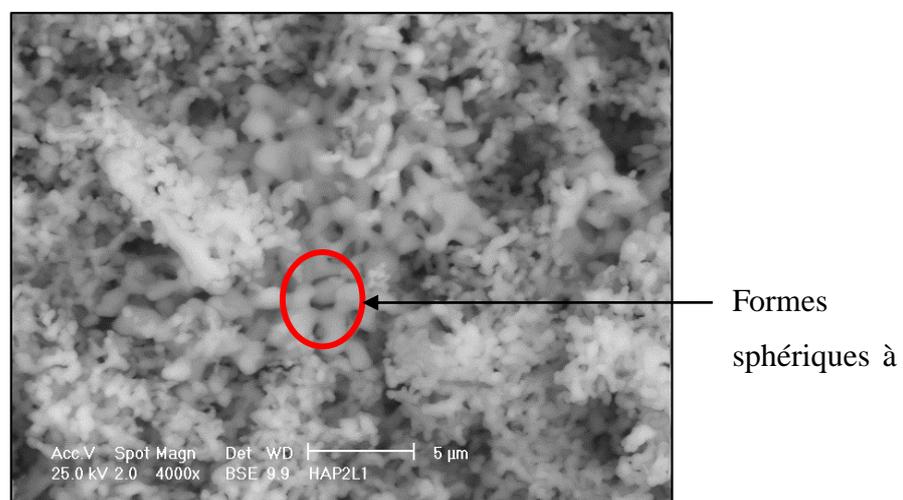


Figure 12 : Micrographie de Hydroxyapatite synthétisé à partir de coquille d'œuf (x4000)

5.2.1.3 Caractérisation de l'Hydroxyapatite par EDX

Le ratio Ca/P calculé lors de l'analyse par EDX a diminué de 782,0 à 15,5 au cours de la précipitation chimique (Fig. 13,14 et Tab. 5).

Selon (Khandelwal and Prakash, 2016), le ratio théorique Ca/P de l'hydroxyapatite pure se situe entre 1,67 et 2,4, se degré de pureté est exigé lors des applications médicales de l'hydroxyapatite (Baba et al., 2013), la valeur du ratio Ca/P de l'hydroxyapatite obtenu n'est pas compris dans cette intervalle né au moins l'utilisation de l'HAP obtenue comme biosorbant reste possible.

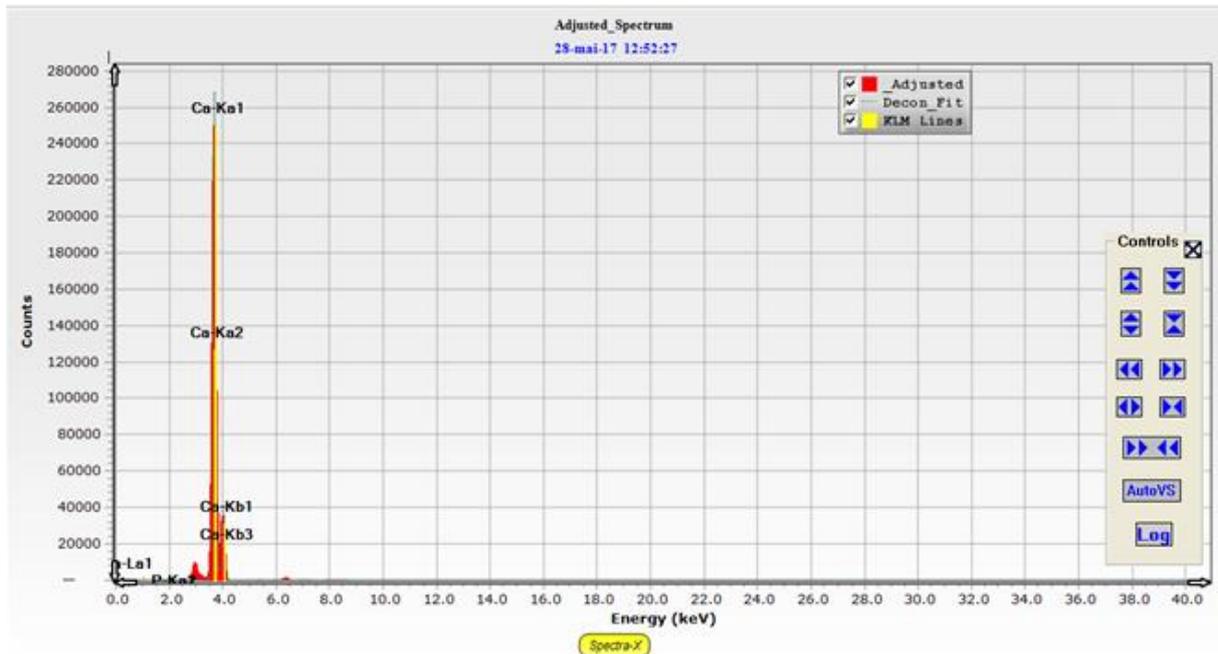


Figure 13 : Spectre d'analyse par EDX des coquilles d'œufs calcinées à 900°C « EC-Lot 2 »

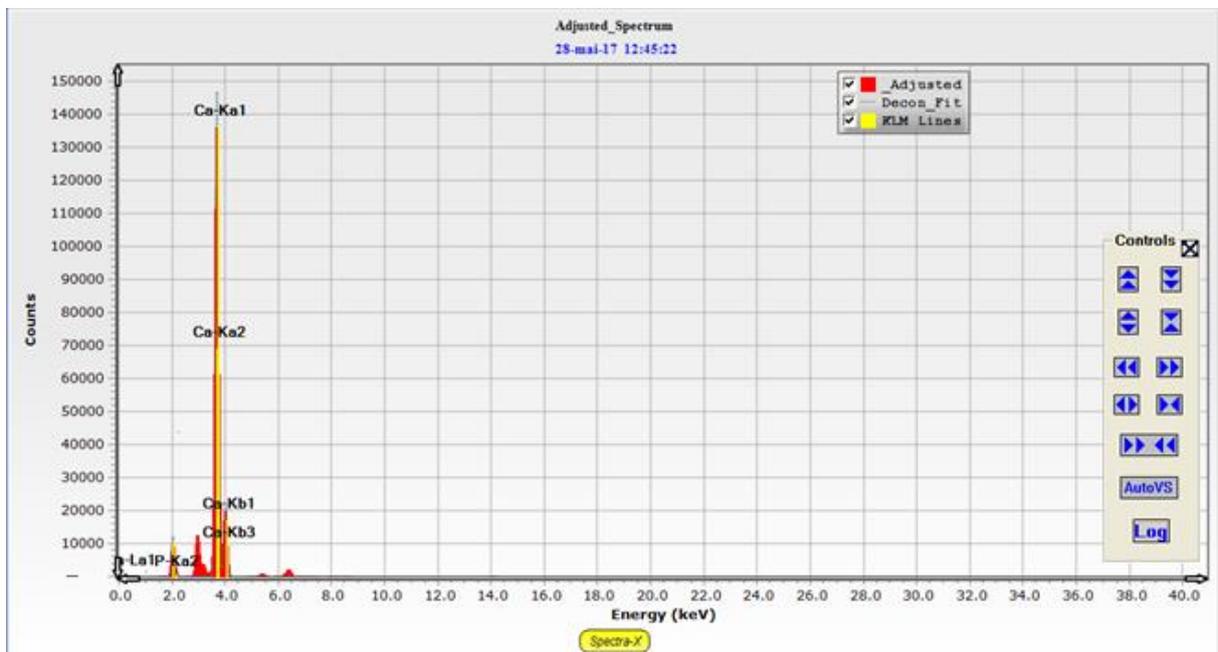


Figure 14 : Spectre d'analyse par EDX de l'hydroxyapatite obtenue à partir de coquilles d'œufs «HAP1 »

Tableau 5 : Ratio des intensités du calcium et potassium dans les coquilles d'œufs (EC-Lot 2) et l'hydroxyapatite (HAP1)

Code échantillon	Intensité du P Kα	Intensité du Ca Kα	Ca/P
EC-Lot 2	60 ± 6	46924 ± 165	782,0
HAP1	1400 ± 26	21636 ± 103	15,5

5.3 Etude de l'adsorption

5.3.1 Adsorption du Plomb

5.3.1.1 Temps de contact optimum

Selon la Fig. 15 on observe, après un temps de mise en contact $t = 5$ min, une diminution de teneur en Pb de 100,0 mg/l (pour $t = 0$ min.) jusqu'au 98,5 mg/l (pour $t = 120$ min.), soit une diminution de 0,75 % /h de [Pb] en mg/l pour une masse de 0,7 g d'HAp utilisée. Cette diminution est très faibles par rapport à celle trouvée par (Soares et al., 2016) qui est de 61%, ceci peut être due à un temps de contact insuffisant et à une propriété d'adsorption faible de l'hydroxyapatite synthétisée.

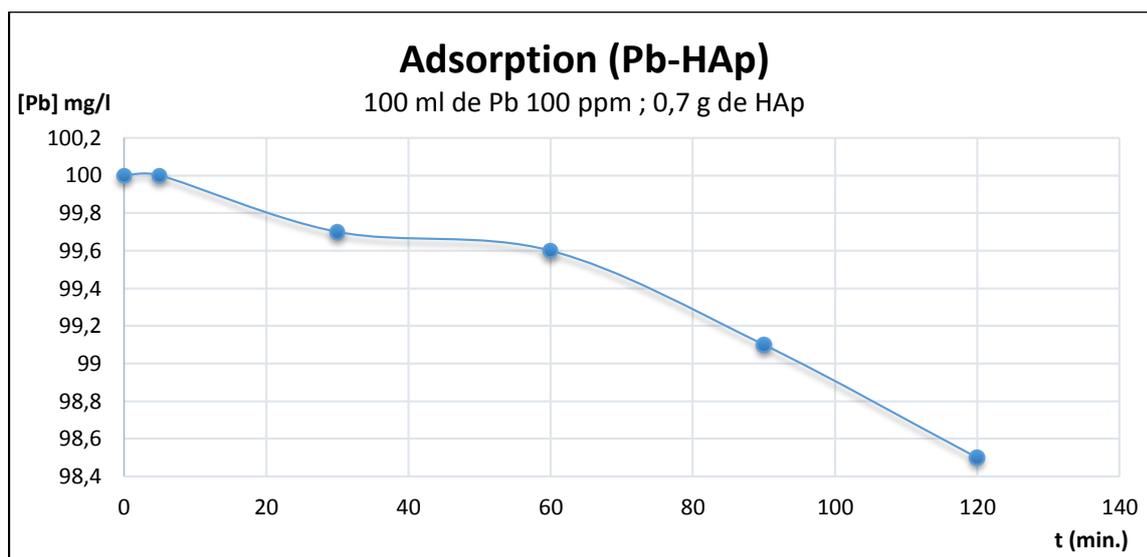


Figure 15 : Effet du temps de contact sur l'adsorption du plomb

5.3.2 Adsorption des Nitrates

L'analyse des nitrates est un paramètre très important dans le processus de contrôle des eaux, due au fait de leurs réduction en nitrites ces dernière sont à l'origine de pathologies chez les êtres humains, aussi c'est une source d'azote responsable du phénomène d'eutrophisation qui provoque une diminution du taux d'oxygène et la prolifération d'algues toxiques dans les milieux aquacoles.

5.3.2.1 Temps de contacte optimum

Pour l'ensemble des expériences réalisées, on fixe la vitesse d'agitation par 150 tpm.

Si on fixe la quantité de l'Hydroxyapatite à 0,7 g (valeur empirique) avec un $pH \geq 6$, on observe une diminution de concentration de nitrate en fonction du temps (Fig.16). Dans un temps de 120 min. on a une diminution de 8,91 % de la concentration en NO_3 . Dans les travaux de (Islam et al., 2010), une diminution de 40 % a été observés dès les premières cinq minutes, cette différence peut être expliquée par l'utilisation d'une méthode de synthèse de l'HAp plus

développée et plus couteuse Pour augmenter l'adsorption il est nécessaire d'élargir le temps de contact (au moins 48 h).

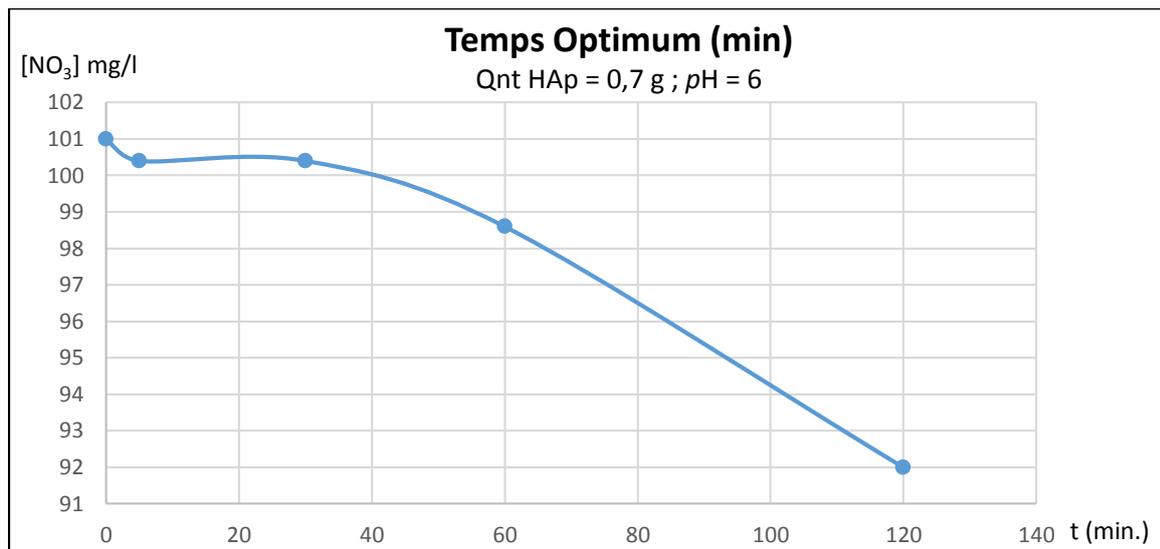


Figure 16 : Effet du temps de contact sur l'adsorption des nitrates

5.3.2.2 Effet de la dose

Dans un volume de 100 ml de NO₃ : 101 mg/l, on ajoute des quantités différentes (0,1, 0,3, 0,5, 0,7 et 1g de HAp). La concentration finale de nitrate mesurée est inversement proportionnelle avec la dose de l'HAp ajoutée (Fig. 17) : la teneur en nitrate diminue si on augmente la masse de l'HAp ajoutée. Dans le cas de notre étude, une masse de 1 g de l'HAp diminue la teneur de NO₃ en 4,36 %. Il est nécessaire d'augmenter la quantité de l'HAp, pour connaître la dose optimum et pouvoir déterminer la phase de saturation de l'HAp.

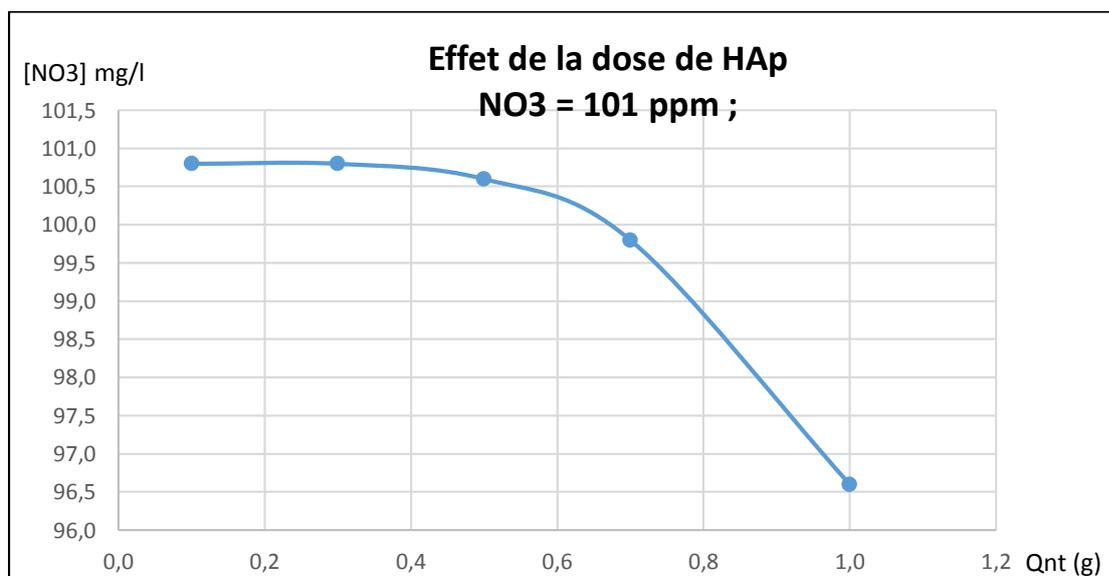


Figure 17 : Effet de la dose de l'adsorbant sur l'adsorption des nitrates

5.3.2.3 Saturation

Afin d'estimer le degré de saturation, on ajoute 0,7 g de HAp pour cinq échantillons de différente concentration initiale de nitrite $[\text{NO}_3]_i$ en mg/l, après une agitation de 60 min. les concentrations finales mesurées de nitrate sont fortement corrélées avec les concentrations initiales ($r^2 = 1$; Fig. 18). Cette corrélation doit être causée soit par la faible masse de HAp utilisée (0,7 g) et/ou bien par le faible temps de contact (30 min.).

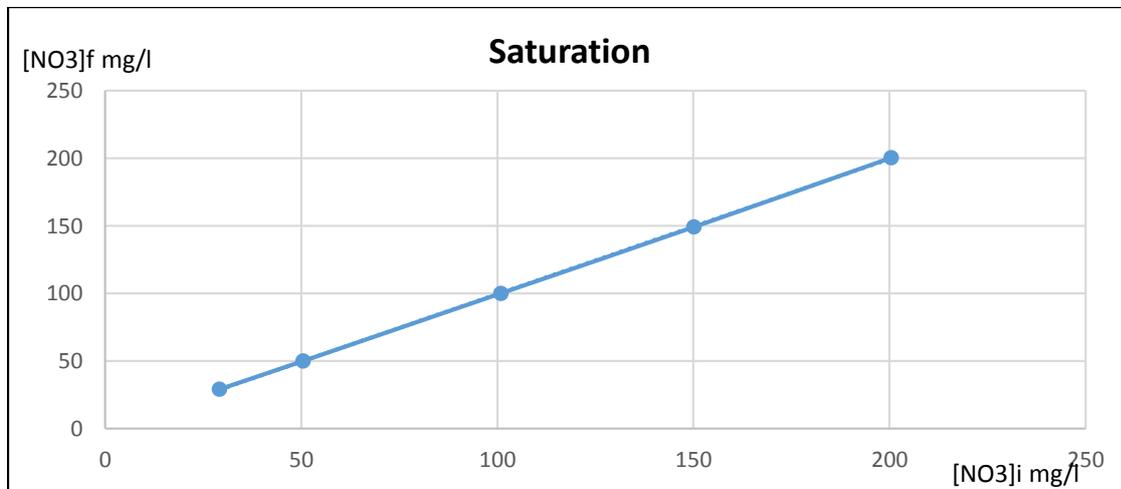


Figure 18 : Effet de la dose des nitrates sur la saturation de l'Hydroxyapatite

5.3.2.4 Isothermes d'adsorption

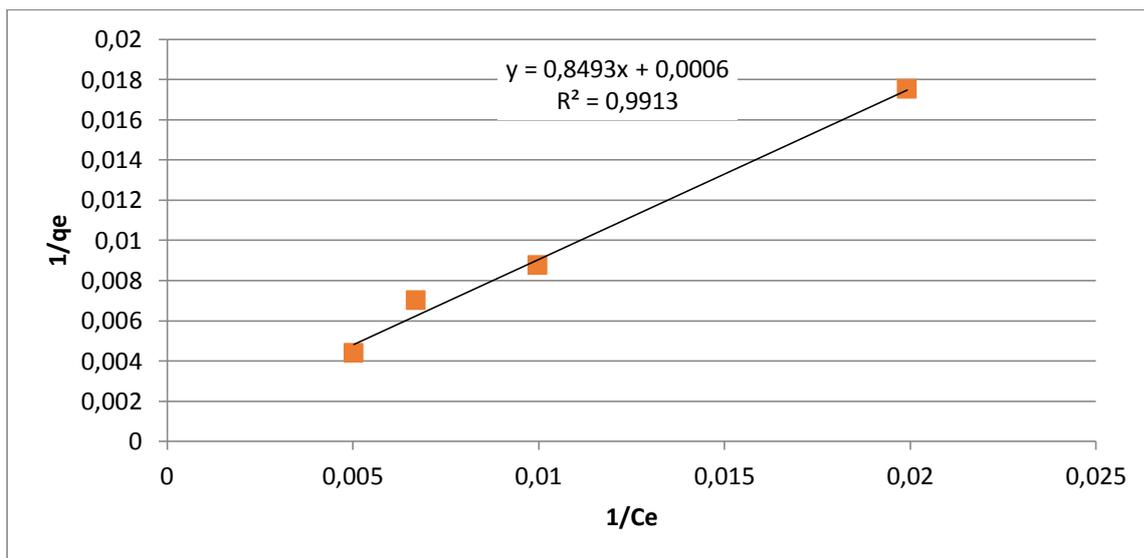


Figure 19 : Isotherme d'adsorption de Langmuir

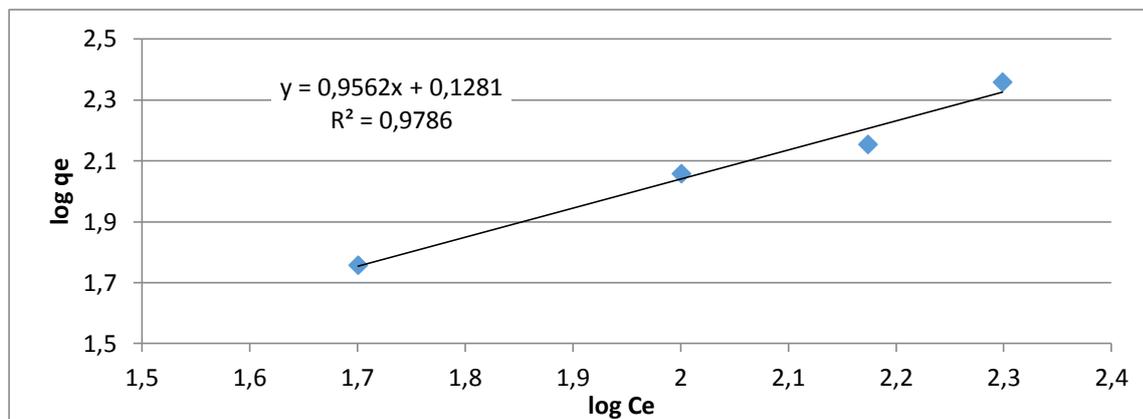


Figure 20 : Isotherme d'adsorption de Freundlich

Le tracé de $1/q_e$ en fonction de $1/C_e$ (Fig. 19) donne une droite avec une pente $1/ab$ et une ordonnée à l'origine $1/b$ (Zheng et al., 2007).

En comparant les coefficients de corrélation (R^2) des deux isothermes, l'adsorption des nitrates par l'HAp semble suivre le modèle de Langmuir, le modèle linéarisé de l'équation de Langmuir est valable pour la sorption monocouche sur une surface avec des sites identiques à un nombre fini, est attribuée par l'équation suivante :

$$\frac{1}{q_{eq}} = \frac{1}{b q_0 C_{eq}} + \frac{1}{q_0}$$

Où q_0 est la quantité maximale d'ion nitrate par unité de poids de HAp pour former une monocouche complète à la surface (capacité d'adsorption) C_e désigne la concentration d'adsorbant à l'équilibre en solution, q_e est la quantité adsorbée par unité de masse d'adsorbant et b est l'énergie de liaison constante (Islam et al., 2010).

5.4 Etude de l'adsorption sur les échantillons d'eau de mer

5.4.1 Traitement des échantillons par de l'Hydroxyapatite "HAp"

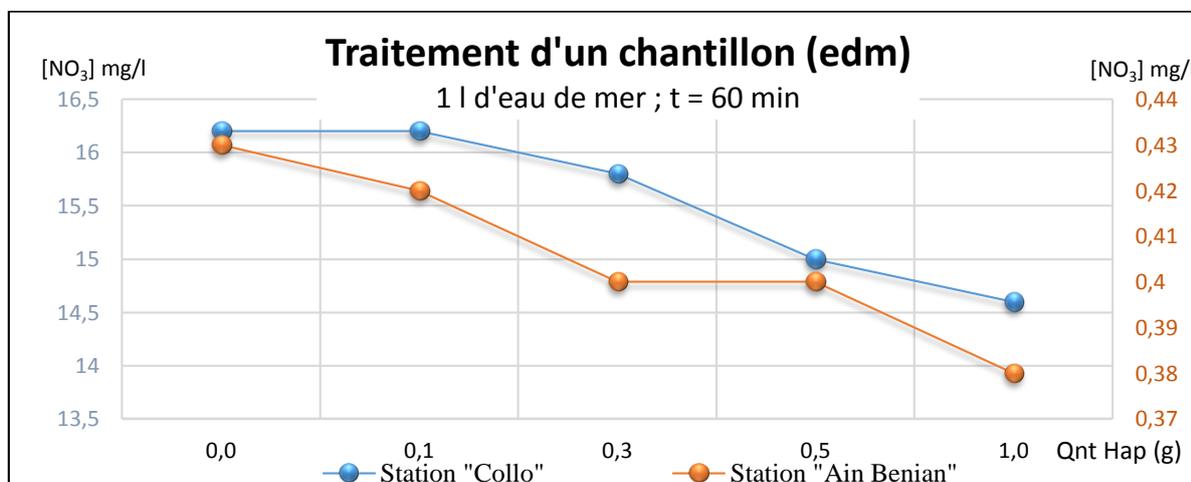


Figure 21 : Effet de la dose de l'adsorbant sur l'adsorption des nitrates dans les échantillons d'eau de mer

Le traitement de l'échantillon par différentes quantités de HAp, nous a permis de conclure que la quantité de NO_3 adsorbé augmente avec l'augmentation de la masse de l'HAp ajoutée, pour un temps constant ($t = 60 \text{ min.}$).

Pour 1 g d'HAp, une diminution de 9,88 % et 11,63 % de teneur en NO_3 a été enregistrée pour les échantillons provenant de Collo et Ain Benian respectivement (Fig. 21).

Conclusión

Conclusion

L'objectif de ce travail est d'une part, la caractérisation de l'HAp synthétisée à partir des coquilles d'œufs, par précipitation chimique en présence d'acide ortho phosphorique et son utilisation comme adsorbant de certain polluant solubles de l'eau (comme : les Nitrates et le Plomb) et d'autre part le contrôle physicochimique et microbiologique de l'eau de mer issue d'une zone conchylicole et d'une zone de rejet.

Une quantité finale de HAp qui est 94 % du poids initiale de coquille d'œuf, a été synthétisée. Le ratio Ca/P calculé lors de l'analyse par EDX, a diminué de 782,0 à 15,5 après la précipitation chimique.

L'analyse par microscope électronique à balayage de la poudre d'HAp a révélé un modèle mal cristallisé et dense, avec une forme irrégulière, ovale et sphérique ressemblant à des pastilles

La concentration en nitrates a diminuée de 4.5% /h, par contre, celle du plomb a diminuée de 0.75% /h avec une quantité de HAp égale à 0.7g ceci peut être une propriété d'adsorption faible de l'hydroxyapatite synthétisée et un temps de contact très réduit.

Le contrôle physico-chimique et des échantillons analysés indique une bonne qualité des prélèvement effectué au niveau des station de Collo (Skikda) et de Ain benian (Alger), et pour ceux qui est de la microbiologie, l'analyse des échantillons d'eau prélevée indique une concentration acceptable en germes indicateurs de pollution (Coliformes et Entérocoques) sauf pour la station de Ain Benian qui contient des teneurs élevée en *E. coli*, le résultat de cette analyse peut être expliqué par le prélèvement qui a été effectué à l'embouchure d'un rejet domestique.

Au terme de ces résultats, nous avons pu conclure que, la méthode de précipitation est une méthode appropriée à la synthèse de l'HAp, qu'on peut considérée comme adsorbant potentiel de certains anion et métaux lourds. Et pour mieux compléter et valoriser ainsi les résultats issus de ce travail, il est très intéressant de prendre en considération les perspectives mentionnées ci-après :

- ↳ Augmentation du temps de contact avec l'adsorbant, pour suivre davantage la cinétique d'adsorption des éléments étudiés ;
- ↳ Application d'autres modèles d'isothermes d'adsorption,
- ↳ Application sur d'autres polluants de l'eau (nitrites, autre métaux traces, colorants...). et,
- ↳ Optimisation et validation de la méthode de synthèse et d'analyse appliquée, en comparant avec un matériau de référence.

Références

Bibliographiques

References bibliographiques

1. Idris Abdulrahman, Hamzat Ibiyeye Tijani, Bashir Abubakar Mohammed, et al., "From Garbage to Biomaterials: An Overview on Egg Shell Based Hydroxyapatite," *Journal of Materials*, vol. 2014, Article ID 802467, 6 pages, 2014. doi:10.1155/2014/802467.
2. Abouzlam, M., 2014. Optimisation d'un procédé de traitement des eaux par ozonation catalytique. Thèse Doctorat. *Univ. Poitiers*. France. 157 p.
3. An, G.-H., Wang, H.-J., Kim, B.-H., Jeong, Y.-G., Choa, Y.-H., 2007. Fabrication and characterization of a hydroxyapatite nanopowder by ultrasonic spray pyrolysis with salt-assisted decomposition. *Materials Science and Engineering: A* 449, 821-824.
4. Angelescu, N., Ungureanu, D., Anghelina, F., 2011. Synthesis and characterization of hydroxyapatite obtained in different experimental conditions. *Sci Bull Valahia Univ Mater Mech* 6, 15-18.
5. Ashok, M., Kalkura, S.N., Sundaram, N.M., Arivuoli, D., 2007. Growth and characterization of hydroxyapatite crystals by hydrothermal method. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 18, 895-898.
6. Baba, A., Oduwole, I., Salami, F., Adekola, F., Adeboye, S., 2013. Synthesis of hydroxyapatite from waste egg-shell by Precipitation method. *Ife Journal of Science* 15, 435-443.
7. Baccar Ep Yangui, R., i Adroguer, S., Blánquez Cano, P., Bouzid, J., 2014. Removal of water pollutants by adsorption on activated carbon prepared from olive-waste cakes and by biological treatment using ligninolytic fungi. Thèse Doctorat. *Univ Barcelone*. Espagne. 274 p.
8. Barakat, N.A., Khil, M.S., Omran, A., Sheikh, F.A., Kim, H.Y., 2009. Extraction of pure natural hydroxyapatite from the bovine bones bio waste by three different methods. *Journal of materials processing technology* 209, 3408-3415.
9. Berland, J., Juery, C., 2002. Les procédés membranaires pour le traitement de l'eau. Document technique FNDAE, 1-71.
10. Bhatnagar, A., Ji, M., Choi, Y.H., Jung, W., Lee, S.H., Kim, S.J., Lee, G., Suk, H., Kim, H.S., Min, B., 2008. Removal of nitrate from water by adsorption onto zinc chloride treated activated carbon. *Separation Science and Technology* 43, 886-907.
11. Bhattacharyya, L., Rohrer, J.S., 2012. Applications of ion chromatography in the analysis of pharmaceutical and biological products. ed. John Wiley & Sons. 448 p
12. Binnie, C., Kimber, M., Smethurst, G., 2002. Basic water treatment. ed. Royal society of chemistry. 291 p.
13. Carvalho, J., Ribeiro, A., Graça, J., Araújo, J., Vilarinho, C., Castro, F., 2011. Adsorption process onto an innovative eggshell-derived low-cost adsorbent in simulated effluent and real industrial effluents, 1St International Conference WASTES: Solutions, Treatments and Opportunities. CVR-Centro para a Valorização de Resíduos, pp. 166-172.
14. Chabani, M., Amrane, A., Bensmaili, A., 2006. Kinetic modelling of the adsorption of nitrates by ion exchange resin. *Chemical Engineering Journal* 125, 111-117.

15. Crini, G., Badot, P.-M., 2007. Traitement et épuration des eaux industrielles polluées: Procédés membranaires, bioadsorption et oxydation chimique. ed. Presses Univ. Franche-Comté. 352p
16. De Gisi, S., Lofrano, G., Grassi, M., Notarnicola, M., 2016. Sustainable Materials and Technologies 9 (2016) 10–40.
17. Eckenfelder, W.W., Vandevenne, L., 1982. Gestion de eaux usées urbaines et industrielles: Caractérisation-Techniques dépuración-Aspects économiques. ed. Technique & documentation Lavoisier. 503p.
18. Edzwald, J.K., 2010. Water Quality and Treatment A Handbook on Drinking Water. ed. McGrawHill. 1696 p.
19. Européenne, P., (2008) 6^{ème} édition. Conseil de l'Europe, Strasbourg, France.
20. Felício-Fernandes, G., Laranjeira, M., 2000. Calcium phosphate biomaterials from marine algae. Hydrothermal synthesis and characterisation. Quimica Nova 23, 441-446.
21. Gergely, G., Wéber, F., Lukács, I., Tóth, A.L., Horváth, Z.E., Mihály, J., Balázs, C., 2010. Preparation and characterization of hydroxyapatite from eggshell. Ceramics International 36, 803-806.
22. Goel, P., 2006. Water pollution: causes, effects and control. ed. New Age International. 418 p
23. Hameed, B., Daud, F., 2008. Adsorption studies of basic dye on activated carbon derived from agricultural waste: Hevea brasiliensis seed coat. Chemical Engineering Journal 139, 48-55.
24. Huang, Y.-C., Hsiao, P.-C., Chai, H.-J., 2011. Hydroxyapatite extracted from fish scale: Effects on MG63 osteoblast-like cells. Ceramics International 37, 1825-1831.
25. Jahan, S.A., 2016. Hydroxyapatite from waste materials for treatment of heavy metals in aqueous medium. Doctorat thesis. University of Dhaka. Bangladesh. 176 p.
26. Khandelwal, H., Prakash, S., 2016. Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite Powder by Eggshell. Journal of Minerals and Materials Characterization and Engineering 4, 119.
27. Islam, M., Mishra, P. C., & Patel, R. (2010). Physicochemical characterization of hydroxyapatite and its application towards removal of nitrate from water. Journal of environmental management, 91(9), 1883-1891.
28. Marcovecchio, J.E., Botté, S.E., Freije, R.H., 2007. Heavy metals, major metals, trace elements. Handbook of water analysis 2, 275-311.
29. MAUREL, A., 1993. Techniques séparatives à membranes: Osmose inverse, nanofiltration, ultrafiltration, microfiltration tangentielle considérations théoriques. Techniques de l'ingénieur. Génie des procédés 3, J2790. 2791-J279024.
30. METAHRI, M., 2012. Elimination simultanée de la pollution azotée, par des procédés mixtes. cas de la STEP Est de la ville de Tizi-Ouzou. These de Doctorat. Univ Tizi-Ouzou. 138 p.
31. Momodu, M., Anyakora, C., 2010. Heavy metal contamination of groundwater: the Surulere case study. Res J Environ Earth Sci 2, 39-43.
32. Mondal, S., Mahata, S., Kundu, S., Mondal, B., 2010. Processing of natural resourced hydroxyapatite ceramics from fish scale. Advances in Applied Ceramics 109, 234-239.

33. Mortada, W.I., Kenawy, I.M., Abdelghany, A.M., Ismail, A.M., Donia, A.F., Nabieh, K.A., 2015. Determination of Cu^{2+} , Zn^{2+} and Pb^{2+} in biological and food samples by FAAS after preconcentration with hydroxyapatite nanorods originated from eggshell. *Materials Science and Engineering: C* 52, 288-296.
34. Nayak, A.K., 2010. Hydroxyapatite synthesis methodologies: an overview. *International Journal of ChemTech Research* 2, 903-907.
35. Prabakaran, K., Kannan, S., Rajeswari, S., 2005. Development and characterisation of zirconia and hydroxyapatite composites for orthopaedic applications. *Trends. Biomater. Artif. Organs* 18, 114-116.
36. Mohamed Nageeb Rashed (2013). Adsorption Technique for the Removal of Organic Pollutants from Water and Wastewater, Organic Pollutants - Monitoring, Risk and Treatment, Prof. M.Nageeb Rashed (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/54048.
37. Rodier, J., 2009. L'analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer, J. Rodier.
38. Sadat-Shojai, M., Khorasani, M.-T., Dinpanah-Khoshdargi, E., Jamshidi, A., 2013. Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. *Acta biomaterialia* 9, 7591-7621.
39. Sharma, S.K., Sanghi, R., 2012. Advances in water treatment and pollution prevention. ed. Springer Science & Business Media. 460 p.
40. Shrimali, M., Singh, K., 2001. New methods of nitrate removal from water. *Environmental pollution* 112, 351-359.
41. Singh, V., Mehta, N., 2012. Synthesis of Nano Crystalline Hydroxyapatite from Egg Shells by Combustion Method. Volume 1, Issue 3, 94 p
42. Smith, V.H., 2003. Eutrophication of freshwater and coastal marine ecosystems a global problem. *Environmental Science and Pollution Research* 10, 126-139.
43. Solihat, R., 2008. rothermal Synthesis of Hydroxyapatite from Eggshell: XRD, FTIR and SEM-EDXA Characterization. Rapport N° G74104024. Bogor agricultural university. India. 13 p.
44. Soares, M. A., Marto, S., Quina, M. J., Gando-Ferreira, L., & Quinta-Ferreira, R. (2016). Evaluation of eggshell-rich compost as biosorbent for removal of Pb (II) from aqueous solutions. *Water, Air, & Soil Pollution*, 227(5), 150.
45. Velayudhan, S., Ramesh, P., Sunny, M., Varma, H., 2000. Extrusion of hydroxyapatite to clinically significant shapes. *Materials Letters* 46, 142-146.
46. Yoganand, C., Selvarajan, V., Goudouri, O., Paraskevopoulos, K., Wu, J., Xue, D., 2011. Preparation of bovine hydroxyapatite by transferred arc plasma. *Current Applied Physics* 11, 702-709.
47. Zhai, R.S., Das, A., Hsu, C.K., Han, C.C., Canteenwala, T., Chiang, L.Y., Chuang, T.J., 2004. Polymeric fullerene oxide films produced by decomposition of hexanitro [60] fullerene. *Carbon* 42, 395-403.
48. Zheng, W., Li, X.-m., Yang, Q., Zeng, G.-m., Shen, X.-x., Zhang, Y., Liu, J.-j., 2007. Adsorption of Cd (II) and Cu (II) from aqueous solution by carbonate hydroxylapatite derived from eggshell waste. *Journal of Hazardous Materials* 147, 534-539.

Annexes

Annexe I

➤ **Matériel utilisé pour le contrôle physico- chimique**

- ✓ Agitateur magnétique.
- ✓ Balance de précision.
- ✓ Plaque chauffante.
- ✓ Spectrophotomètre d'adsorption dans l'infrarouge.
- ✓ Spectrophotomètre d'absorption atomique
- ✓ EDX
- ✓ MEB
- ✓ pH mètre

➤ **Matériel utilisé pour le contrôle microbiologique**

a) Equipements

- ✓ Autoclave.
- ✓ Bain marie.
- ✓ Bec benzène.
- ✓ Etuves réglées à 37°C, 44°C.

b) Milieux de culture

- ✓ Bouillon lactose au pourpre de bromocresol (BCPL) double et simple concentration.
- ✓ Milieu Roth double et simple concentration
- ✓ Milieu EVA Litsky
- ✓ Bouillon SFB
- ✓ Gelose Hektoen
- ✓ Reactif de kovacs

➤ **Verreries et consommables**

- ✓ Alcool.
- ✓ Barreau magnétique.
- ✓ Bécher.
- ✓ Boîtes pétri de 90 mm de diamètre.
- ✓ Creusé en porcelaine.
- ✓ Entonnoirs.
- ✓ Eprouvettes 250 ml, 500 ml.
- ✓ Erlenmeyer 250ml.
- ✓ Fioles jaugées 100ml, 1L.
- ✓ Papier filtre.
- ✓ Spatule
- ✓ Tubes à essai stériles
- ✓ Embouts stériles
- ✓ micropipette.

Annexe II

Réactifs

➤ **Acide ortho phosphorique 0,6N**

- ✓ 1,36 ml d'acide ortho phosphorique à 85%.
- ✓ 100 ml d'eau distillée.

➤ **Acide Chlorhydrique 1N**

- ✓ 5 ml d'HCl.
- ✓ 100 ml avec de l'eau distillée.

➤ **Hydroxyde de Sodium 1N**

- ✓ 4g d'hydroxyde de sodium 1M.
- ✓ 100 ml d'eau distillée

➤ **Solution mère de nitrate de potassium 1g/l**

- ✓ 1,063g de nitrate de potassium
- ✓ 1000 ml d'eau distillée

➤ **Solution de référence pour le dosage du Plomb**

Préparer les solutions de référence à partir de solution à 0,1% de plomb (Pb) en le diluant avec une solution d'acide nitrique exempt de Cadmium et de Plomb à 3,5% v/v.