

La RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA

RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université de BLIDA 1

Faculté des sciences

Département de chimie

Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master en chimie

Spécialité : Chimie Appliquée

Présenté par :

Zaoui Anfel & Djiar Nourhane

THÈME :

***Etude sur l'adsorption de certains antibiotiques du
type tétracycline sur une résine polymérique non-
ionique***

Encadré par le professeur : Mr Y .Bal

Mémoire présenté le 30/09/2021 devant le jury constitué par:

R. Belal, Président

A. Boulahouache, Examineur

Y. Bal, Encadreur

Professeur

MAA

Professeur

Université de Blida I.

Université de Blida I.

Université de Blida I.

Année universitaire : 2020/2021

Remerciements

Nous tenons à remercier et glorifier en premier Dieu, pour nous avoir donné la santé, la volonté et le courage, sans lesquels ce travail n'aurait pas été réalisé.

Nous tenons à remercier profondément et sincèrement tout ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail et particulièrement:

Notre encadreur au département de chimie Blida Mr le professeur Y.Bal , pour son aide précieuse, ses conseils pratiques et son suivi, tout au long de notre travail.

Les responsables et personnel de SAIDAL ANTIBIOTICAL de Médéa qui nous ont permis d'accomplir notre travail de recherche grâce à leur compréhension et leur aide.

Les membres du jury qui ont bien voulu consacrer une partie de leurs temps afin d'évaluer ce travail :

Mr le professeur Belal, qui a accepté de présider le jury de ce mémoire.

Mr. Boulahouache, qui nous a fait l'honneur d'examiner ce travail.

Tous les ingénieurs et les techniciens des laboratoires de chimie de l'université Blida I.

Et enfin, merci à nos parents et toute la famille et amis qui nous ont toujours soutenues.

Merci à toutes et à tous

Dédicace

A ma très chère mère

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que tu ais consentis pour mon instruction et mon bien être. Je te remercie pour tout le soutien et l'amour que tu me portais depuis mon enfance et j'espère que ta bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie

A mon très cher père

Autant de phrases et d'expressions ne sauraient exprimer ma gratitude. Vos conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Votre patience sans fin, votre compréhension et votre encouragement sont pour moi le soutien indispensable que vous avez toujours su m'apporter, j'ai jamais oublié ta souffrance durant chaque jour des cinq ans passés pour me conduire à l'université

A la mémoire de mon grand-père Ibrahim

C'est vrai qu'il n'est pas maintenant entre nous mais je ne l'ai jamais oublié, il reste dans mon cœur, je n'ai pas oublié ce jour-là, le jour où je lui ai dit que je continuerai mes études pour mon master, combien il était heureux et ma encouragé pour terminer mon parcours universitaire. Il a toujours été mon soutien

A mon neveu Ibrahim l'amour de la famille qui nous apporté toujours de la joie.

A mes très chers frères islam et Oussama et mahdi qui ont été toujours à mes côtés.

A ma belle-sœur Maroua qui est toujours avec moi comme une vraie sœur

A mes tantes Fouzia et Mounira qui ont été à mes côtés depuis ma naissance

A toute ma grande famille grands et petits « DJIAR et AISSAOUI »

A Anfel et sa famille

Nourhane

Dédicace

A ma très chère mère

Quoi que jefasse ou que je dise , je ne saurai point te remercier comme il se doit . Ton affection me couvre , ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles .

A la mémoire de mon père

Ce travail est dédié à mon père, décédé l'année dernière, qui était mon soutien, il m'a toujours soutenue tout au long de mon parcours universitaire, il a toujours travaillé dur pour mon bonheur.

A toute ma famille *qui m'a encouragée quand j'ai perdu mon très cher père*

A mes très chers frères Zaki et Chams *Pour leurs encouragements et leur soutien moral et physique.*

A ma belle-sœur Meagan Weir *qui est toujours avec moi comme une vraie sœur*

A ma nièce amira *la petite de la famille*

A Nourhane *et sa famille*

ملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة بعض الجوانب العملية المتعلقة بالارتباط عن طريق الامتزاز أوكسي تيتراسيكلين وكذلك المضادات الحيوية الأخرى ذات الصلة على راتينج اصطناعي غير أيوني ، XAD 1180. النتائج التي تم الحصول عليها ، على الرغم من تواضعها ، أظهرت ان التثبيت ، سريعاً نسبياً ، يمكن أن يكون كمياً وأن تأثير بعض العوامل التشغيلية مثل درجة الحموضة أو درجة الحرارة أو التركيز على هذا الامتزاز لا يمكن إهماله في الواقع ، بينما عند درجة الحموضة حوالي 7 ، يبدو الامتزاز غير ملائم ، على العكس من ذلك ، فإن الزيادة في درجة الحرارة تكثف العملية.

كلمات مفتاحية : أوكسي تيتراسيكلين ، عامل فعال ، مضاد حيوي ، راتينج صناعي غير أيوني ، XAD 1180 ،

Abstract

The objective of this work is to study some practical aspects related to the binding by adsorption of Oxytetracycline as well as other related antibiotics onto a non-ionic synthetic resin, XAD 1180. The results obtained, although modest, showed that the fixation, even relatively rapid, can be quantitative and that the influence of certain operational factors such as the pH, the temperature or the concentration on the adsorption operation can be not negligible. Indeed, while at pH around 7, adsorption seems unfavorable; on the contrary, the temperature rising increases the process yields.

Keywords: Antibiotic active agent, Tétracyclins, Oxytétracycline, non-ionic synthetic resin, XAD 1180, adsorption.

Résumé

L'objectif de ce travail consiste à étudier quelques aspects pratiques liés à la fixation par adsorption de l'Oxytétracycline ainsi que d'autres antibiotiques apparentés sur une résine synthétique non-ionique, la XAD 1180. Les résultats obtenus, bien que modestes, montrent bien que la fixation, relativement rapide, peut être quantitative et que l'influence de certains facteurs opérationnels comme le pH, la température ou la concentration sur cette adsorption peut être non négligeable. En effet, alors qu'à pH autour de 7, l'adsorption semble défavorable, au contraire, l'augmentation de la température intensifie le processus.

Mots clés : Agent actif antibiotique, Tétracyclines, Oxytétracycline, résine synthétique non-ionique, la XAD 1180, adsorption.

Liste des abréviations

OTC : oxytétracycline

CTC : chlorotétracycline

DC : doxycycline

XAD-1180: résine synthétique non-ionique

Om pFet Om pC: protéine majeures de la membrane externe

pH : le potentiel hydrogène

UV-Visible : ultraviolet-visible

IRTF : Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier.

KBr : Bromure de potassium.

Tr/min : tour par minute.

nm : nanomètre

pKa : le constant d'acidité ($-\log_{10} K_a$)

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Action antibactérienne de l'oxytétracycline | 8 |
| Figure 2 : Termes de base pour l'adsorption | 10 |
| Figure 3 : profil de l'adsorption en lit fixe | 12 |
| Figure 4 : la résine Amberlite XAD1180 | 14 |
| Figure 5 : Spectre IR schématique. | 19 |
| Figure 6 : Spectre IR de la résine XAD 1180 fourni par le fabricant..... | 20 |
| Figure 7 : Solutions montrant des échantillons d'antibiotique..... | 21 |
| Figure 8 : Montage expérimental de l'adsorption dynamique du l'oxytétracycline sur un lit d'adsorption fixe à base de résine XAD 1180..... | 24 |
| Figure 9 : Courbes d'étalonnage dans l'UV-Vis des composés antibiotiques dissous dans l'eau..... | 25 |
| Figure 10 : Effet du temps d'agitation sur le taux d'adsorption de l'antibiotique (OTC, Doc, CTC)..... | 27 |
| Figure 11 : Effet de la masse de la résine XAD1180 sur le taux d'adsorption de l'antibiotique (OTC, Doc, CTC)..... | 28 |
| Figure 12 : variation du taux d'adsorption de l'OTC en fonction de la température. | 29 |
| Figure 13 : Effet de la vitesse d'agitation sur l'adsorption de OTC sur la résine xad 1180 | 30 |
| Figure 14 : Variation du taux d'adsorption de l'OTC en fonction du pH de la solution.. | 31 |
| Figure 15 : Diagramme des espèces de l'OTC et de la TTC en fonction du pH..... | 31 |
| Figure 16 : Courbe de percée concernant l'adsorption de l'oxytétracycline sur la Résine xad1180 pour deux concentrations différentes : 50mg/L et 100mg/L. | 32 |
| Figure 17 : Instrument optique de lecture d'un antibiogramme | 33 |
| Figure 18 : Images montrant les testes d'antibiogrammes de l'oxytétracyclique à l'égard de microorganismes divers..... | 34 |

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1 : facteurs influençant l'équilibre d'adsorption | 11 |
| Tableau 2 : Quelques caractéristiques de la résine Amberlite XAD-1180..... | 14 |
| Tableau 3 : Groupes fonctionnels et leurs attributions spectroscopiques | 19 |
| Tableau 4 : Diamètre d'inhibition mesuré avec des souches testées par le lysozyme et l'oxytétracycline..... | 34 |

Table des matières

| | |
|----------------------------|---|
| Introduction générale..... | 1 |
|----------------------------|---|

Chapitre 1 : Etude bibliographique

| | |
|--|----|
| 1 Les antibiotiques | 4 |
| 1.1 Introduction | 4 |
| 1.2 Mode d'action et classification..... | 4 |
| 1.3 Structures et caractéristiques des tétracyclines..... | 5 |
| 1.3.1 l'oxytétracycline..... | 5 |
| 1.3.2 La doxycycline | 7 |
| 1.3.3 La chlorotétracycline..... | 7 |
| 1.4 L'activité antibactérienne en bref :..... | 8 |
| 1.5 Le phénomène d'adsorption | 9 |
| 1.5.1 Généralités :..... | 9 |
| 1.5.2 Description du mécanisme d'adsorption :..... | 10 |
| 1.5.3 Facteurs influençant l'équilibre d'adsorption :..... | 11 |
| Isothermes d'adsorption | 11 |
| 1.5.4 Mode de l'opération d'adsorption: | 12 |
| 1.5.5 Les supports adsorbants :..... | 13 |
| 1.6 Caractéristiques principales des résines Amberlite XAD : | 13 |
| 1.6.1 La résine Amberlite XAD 1180 : | 14 |

chapitre 2 :Partie expérimentale

| | |
|---|----|
| 2 Introduction :..... | 16 |
| 2.1 Réactifs et appareillages utilisés :..... | 17 |
| 2.1.1 Réactifs :..... | 17 |
| 2.1.2 Appareils et verreries utilisés : | 18 |
| 2.2 Méthodes de caractérisation des échantillons :..... | 18 |
| 2.2.1 Analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) :..... | 18 |
| 2.3 Analyse Spectrophotométrique dans l'UV-Vis..... | 21 |

| | | |
|-------|--|----|
| 2.4 | Préparation de la solution : | 21 |
| 2.5 | Dosage des solutions : | 21 |
| 2.6 | Procédé d'adsorption : | 21 |
| 2.6.1 | Optimisation du procédé : | 22 |
| 2.6.2 | Procédé de désorption : | 23 |
| 2.7 | Etude de l'opération d'adsorption en continu (dynamique) | 23 |
| 2.8 | Analyse microbiologique de l'oxytétracyclique | 24 |
| 2.8.1 | microorganismes tests: | 24 |
| 2.8.2 | L'étude de l'activité antibactérienne | 25 |
| 2.9 | Résultats et Discussion : | 25 |
| 2.9.1 | Effet du temps d'agitation : | 26 |
| 2.9.2 | Effet de la masse de la résine XAD-1180 : | 27 |
| 2.9.3 | Effet de la température : | 28 |
| 2.9.4 | Effet de la vitesse d'agitation : | 29 |
| 2.9.5 | Effet du pH : | 30 |
| 2.9.6 | Adsorption en continu (dynamique) : | 32 |
| 2.10 | Analyse microbiologique de l'Oxytétracycline | 33 |
| | Conclusion | 35 |

Introduction générale

Introduction générale

L'oxytétracycline (OTC), la Doxycycline et la chlorotétracycline en tant qu'antibiotiques appartenant à la famille des tétracyclines sont largement utilisés en médecine humaine et vétérinaire pour la lutte contre toutes sortes de maladies infectieuses en raison de leur activité antimicrobienne à large spectre [1]. Cependant, et d'une manière inévitable ces antibiotiques très utilisés se trouvent rejetés dans les milieux aquatiques à travers les eaux usées domestiques, les effluents pharmaceutiques et les diverses excréctions. Ces rejets pourraient provoquer, à travers la contamination de la chaîne alimentaire, un empoisonnement biologique et donc des effets secondaires graves sur la santé humaine et l'écosystème [2,3]. En effet, une fois absorbés par les voies digestives, en surdoses, les propriétés toxicologiques des tétracyclines peuvent se manifester sous forme d'irritation gastro-intestinale, de nausées et vomissements, de diarrhée, de douleur abdominale, d'éruptions cutanées, ...etc. Pour cette raison, il est très important de développer des moyens efficaces pour lutter contre ce type de problème et d'en contrôler les effets sur la santé humaine, en particulier.

Parmi les méthodes de traitement, l'adsorption se prête particulièrement bien pour ce genre de problème. Elle peut être facilement adaptée à grande échelle et d'une manière économique pour décontaminer les liquides aussi bien aqueux qu'organiques. En effet, nombreux sont les matériaux solides utilisés pour l'élimination des contaminants, en raison de leur grande surface, de leur structure poreuse et de leur surface qui peut être d'ailleurs chargée de groupes fonctionnels [4-6]. Les résines synthétiques, parmi ces matériaux, peuvent avoir d'excellentes performances lorsqu'elles sont utilisées dans une opération d'adsorption afin d'éliminer ou de séparer des substances particulières car elles possèdent de bonnes propriétés mécaniques et aptes à une régénération efficace et facile.

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à la fixation d'agents antibiotiques de la famille des tétracyclines comme il a été mentionné ci-dessous sur une résine polymérique synthétique. La capacité d'adsorption a été mesurée en relation de la variation de certains facteurs opérationnels déterminant comme le temps, la concentration, la température ou le pH.

Introduction générale

Le mémoire est divisé en deux parties principales:

- Dans le premier chapitre nous avons présenté un aperçu bibliographique très restreint sur les agents antibiotiques étudiés.
- La partie expérimentale comportant diverses études et analyses est présentée dans la seconde partie. Des discussions sont également proposées dans cette partie.

Une conclusion et des suggestions sont présentées à la fin de ce mémoire.

Chapitre 1 :

Etude bibliographique

1 Les antibiotiques

1.1 Introduction

Les antibiotiques sont définis comme étant des composés chimiques susceptibles d'inhiber la croissance des micro-organismes (champignons microscopiques ou bactéries) [7]. Elles sont utilisées à la fois en médecine humaine et vétérinaire dans le traitement d'infections dues à des bactéries, des champignons ou des parasites. Ils sont aussi employés dans les élevages (agricoles et aquacoles) comme additifs alimentaires pour prévenir une infection et favoriser la croissance des animaux [8]. L'utilisation des antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire s'est répandue ces dernières années avec une consommation annuelle de 105 à 2×105 tonnes. Par conséquent, la possibilité de contamination des eaux avec de tels composés augmente considérablement [9]. Ces polluants sont introduits continuellement dans le milieu naturel en tant que composés parents, métabolites ou produits de dégradation ou sous les deux formes, par une grande variété de sources d'entrée [10].

1.2 Mode d'action et classification

D'une manière générale, l'action thérapeutique d'un agent antibiotique s'exerce de deux façons :

- en inhibant la multiplication des microorganismes: c'est l'action bactériostatique.
- en détruisant ceux-ci: c'est l'action bactéricide

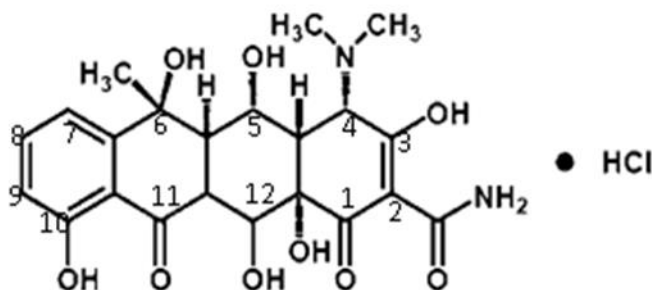
Les agents antibiotiques sont actuellement assez nombreux; cependant, nous nous sommes intéressées dans ce travail à certains d'entre eux appartenant à la famille des tétracyclines. L'auréomycine est la première tétracycline naturelle qui a été isolée en 1948 de la culture du *Streptomyces aureofaciens*. En 1950, l'oxytétracycline a été isolée à partir de *Streptomyces rimosus* et la tétracycline obtenue par hydrogénation catalytique de la chlorotétracycline puis par culture de *Streptomyces viridifaciens*[11]. Les tétracyclines sont commercialisées depuis 1955 [12]. On peut distinguer actuellement les tétracyclines de première génération, (obtenues par des bioprocédés) comme la chlorotétracycline, l'oxytétracycline, la tétracycline, ou la déméclocycline et des agents de deuxième génération, obtenues par héli synthèse à partir des premières comme la doxycycline ou la minocycline.

1.3 Structures et caractéristiques des tétracyclines

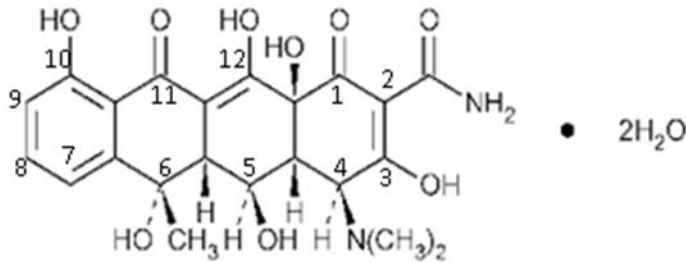
1.3.1 l'oxytétracycline est un antibactérien naturel de la famille des tétracyclines (qui doivent leur nom à leur structure tétra cyclique : noyau naphtacéne-carboxamide) , isolé en 1948 par Finlay à partir d'échantillons de terre (d'où l'une de ses dénominations commerciales, la Terramyciner). Produite par un champignon de l'ordre des Actinomycètes (Streptomyces rimosus), elle possède une activité bactériostatique à large spectre sur les bactéries à Gram positif et négatif [13] . La 1ère tétracycline fut l'Auréomycine, élaborée par des champignons Actinomycètes: Streptomyces auréofaciens et doit son nom au fait qu'à un certain stade de son développement, le champignon donne naissance à un pigment jaune d'or.

L'Oxytetracycline:(4S,4aR,5S,5aR,6S,12aS)-4-dimethyl-amino-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octanhydro-3,5,6,10,12,12a-hexahydroxy-6-methyl-1,11-dioxonaphtacene-2-carboxamide, peut être commercialisée sous 2 formes :

- sous forme de chlorhydrate, de formule : $C_{22}H_{24}N_2O_9$, HCL. Sa structure est :



- sous forme dihydratée , de formule : $C_{22}H_{24}N_2O_9 \cdot 2H_2O$. Sa structure est :



L'Oxytétracycline se fixe de manière réversible aux protéines plasmatiques , milieu dans lequel est largement diffusé. On relève les plus fortes concentrations dans les reins, le foie, la rate et les poumons (d'où l'importance du respect des délais d'attente). Elle fixe les ions métalliques et peut être de ce fait inactivé dans l'organisme d'où l'idée d'ajouter aux diverses formes des complexants. Cet agent diffuse facilement dans le liquide céphalorachidien, il franchit la barrière placentaire et entre dans la circulation foetale. L'élimination se fait sous une forme inaltérée, plus de la moitié par voie urinaire. [14].

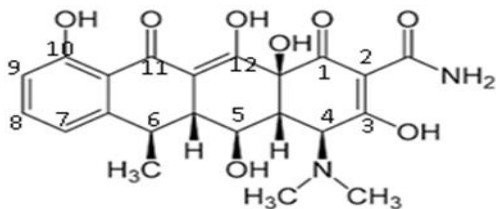
L'Oxytétracycline est une poudre cristalline jaune-vert d'une masse molaire de 460,44 g / mol, Le point de fusion est de 183 - 184,5 °C. Sous une forme non ionisée, il est difficilement soluble dans l'eau. Sous forme ionisée il est soluble dans l'eau et l'alcool, mais insoluble dans les solvants organiques. La rotation spécifique de l'Oxytétracycline est de +196° [13].

1.3.2 La doxycycline

est une molécule de la famille des cyclines utilisée comme agent antibiotique antibactérien. Elle est une tétracycline de deuxième génération beaucoup plus liposoluble que les tétracyclines de première génération (oxytétracycline, chlorotétracycline) et utilisée dans le traitement de diverses maladies infectieuses, respiratoires, génitales, urinaires et oculaires.

La doxycycline (DC) ou (4*S*,4*aR*,5*S*,5*aR*,6*R*,12*aS*)-4-(diméthylamino)-3,5,10,12,12a-pentahydroxy-6-méthyl-1,11-dioxo-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahydrotétracène-2-carboxamide, de

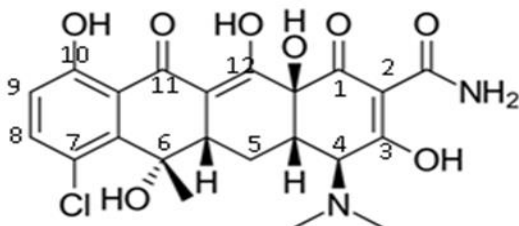
formule $C_{22}H_{24}N_2O_8$ possède la structure suivante :



Elle se trouve sous forme d'une poudre cristalline jaune d'une masse molaire de 444,4346 g/mol, le point de fusion est de 201°C. La solubilité dans l'eau est de l'ordre de 630mg·L⁻¹ à 25 °C.

1.3.3 La chlorotétracycline

C'est un antibiotique bactériostatique de la famille des tétracyclines de première génération. Son activité antibactérienne s'exerce par inhibition de la synthèse protéique. La structure moléculaire de la chlorotétracycline (CTC) est constituée de quatre anneaux à six membres en alternance de double liaison. La formule moléculaire est $C_{22}H_{23}ClN_2O_8$ [15] et la structure est :



1.4 L'activité antibactérienne :

Il est aujourd'hui largement reconnu que les tétracyclines inhibent la synthèse protéique bactérienne en empêchant l'association de l'aminocyl-ARNt avec le ribosome bactérien [13]. Pour interagir avec sa cible, l'oxytétracycline doit préalablement traverser un ou plusieurs systèmes membranaires dépendant du caractère Gram positif ou Gram négatif de la bactérie.

L'oxytétracycline, sous la forme de complexes cationiques (probablement de calcium ou de magnésium), traverse passivement la membrane externe des bactéries à Gram négatif par les canaux porines Om pF et Om pC. Le complexe cation métallique–oxytétracycline est attiré à travers la membrane externe par le potentiel de Donan. Il s'accumule ensuite dans le périplasma où il est probablement dissocié pour libérer de l'oxytétracycline non ionisée, molécule faiblement lipophile capable de diffuser à travers la bicouche lipidique de la membrane cytoplasmique [16]. De la même façon, la forme non ionisée lipophile est probablement l'espèce transférée à travers la membrane cytoplasmique des bactéries à Gram positif. Le passage des tétracyclines à travers la membrane cytoplasmique est actif et dépendant de la différence de pH entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule. Pour que l'oxytétracycline se chélate, il faut que le pH et la concentration en ions métalliques soient plus élevés à l'intérieur qu'à l'extérieur de la cellule [17]. L'action antibactérienne de l'oxytétracycline peut être illustrée dans la figure suivante :

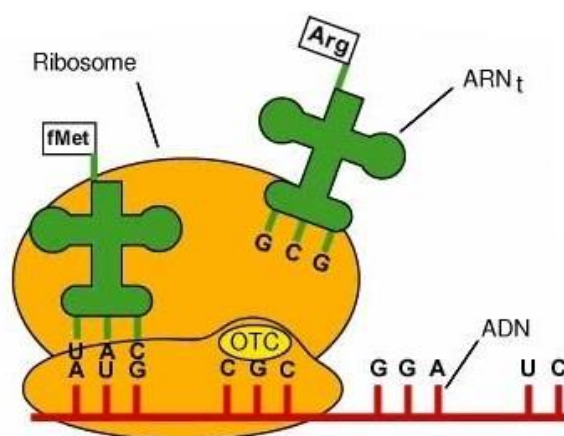


Figure 1 : Action antibactérienne de l'oxytétracycline

1.5 Le phénomène d'adsorption

1.5.1 Généralités :

L'adsorption est une méthode simple qui permet de séparer des polluants solubles des effluents. Cette technique de séparation constitue aujourd'hui une des techniques de séparation les plus importantes. Elle est largement utilisée pour la purification des gaz et des liquides dans des domaines très variés comme par exemple, le domaine environnemental et pharmaceutique. [18]. La séparation par adsorption sur des supports solides est possible grâce à des interactions qui peuvent être parfois spécifiques entre la surface des adsorbants et les molécules adsorbées. De nombreux types de matériaux actifs peuvent être envisagés dans des applications industrielles variées [19]. Généralement on distingue dans l'adsorption deux types différents de mécanismes: physique et chimique. L'adsorption physique (ou physisorption) est attribuée à des forces non spécifiques ou électrostatiques entre les substances en solution et la surface du solide. Dans le premier cas, il s'agit d'interactions liées aux forces de Van Der Waals et dans l'autre cas d'interaction entre dipôles permanents ou induits et des liaisons hydrogènes.

L'adsorption chimique (ou chimisorption) est relative à des liaisons chimiques covalentes ou électrostatiques entre l'adsorbât et l'adsorbant. La chimisorption est généralement irréversible et entraîne une modification des molécules adsorbées (échange de matière). Par comparaison, la physisorption est plus rapide et partiellement réversible, mais la discrimination entre ces deux types de mécanismes dans une réaction est difficile avec des énergies mises en jeu qui peuvent être très proches.

La réaction d'adsorption d'un soluté peut être réalisée en plusieurs étapes élémentaires successives, chacune de ces étapes pouvant contrôler le phénomène global dans certaines conditions. Supposons que l'adsorption soit effectuée sur un adsorbant poreux, l'adsorption du soluté dans ce cas s'effectue en 4 étapes principales [20] :

1. le transport du soluté jusqu'au voisinage de la surface externe de l'adsorbant. Cette étape résulte d'un phénomène de diffusion moléculaire.
2. le transfert de la matière de l'extérieur de l'adsorbant à l'intérieur des pores.
3. la fixation du soluté à la surface de l'adsorbant. Cette étape est souvent très rapide et n'influe pas sur le processus global.

4. le transfert du soluté sur la surface de régions de concentration en phase adsorbée élevée vers des zones de faible concentration. Cette étape est appelée diffusion interne dans le solide ou migration de surface.

1.5.2 Description du mécanisme d'adsorption :

L'adsorption se produit principalement en quatre étapes. La figure 2 représente un matériau(adsorbant) avec les différents domaines dans lesquels peuvent se trouver les molécules organiques ou inorganiques qui sont susceptibles de rentrer en interaction avec le solide.

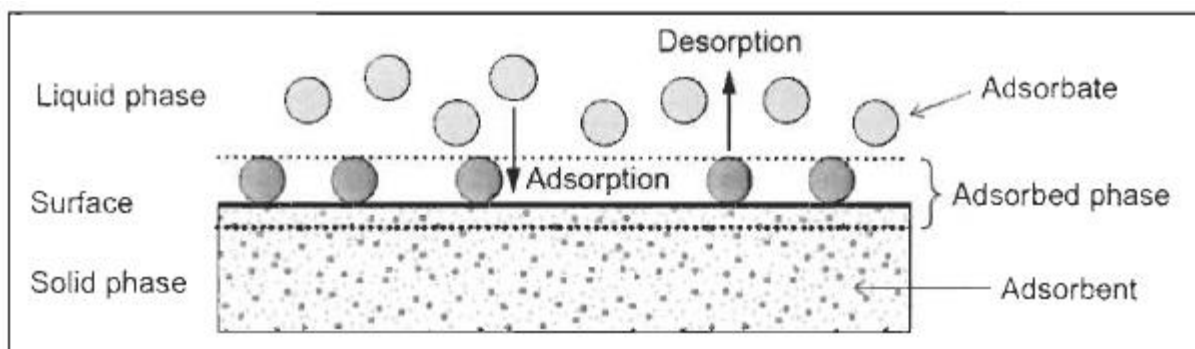


Figure 2 : Termes de base pour l'adsorption [21]

Avant son adsorption, le soluté va passer par les étapes suivantes:

- 1) Diffusion de l'adsorbât de la phase liquide externe vers celle située au voisinage de la surface de l'adsorbant.
- 2) Diffusion extragranulaire de la matière (transfert du soluté à travers le film liquide vers la surface des grains).
- 3) Transfert intragranulaire de la matière (transfert de la matière dans la structure poreuse de la surface extérieure des grains vers les sites actifs).
- 4) Réaction d'adsorption au contact des sites actifs, une fois adsorbée, la molécule est considérée comme immobile .

1.5.3 Facteurs influençant l'équilibre d'adsorption :

D'une manière générale, le phénomène d'adsorptions peut être affecté par de nombreux facteurs dont les principaux sont listés dans le tableau suivant [22]:

Tableau 1 : facteurs influençant l'équilibre d'adsorption

| Facteur | Action |
|--|---|
| Surface spécifique de l'adsorbant | La quantité adsorbée est proportionnelle à la surface développée en contact avec le milieu fluide (gaz ou liquide), plus la surface est grande plus l'adsorption est meilleure. |
| pH du milieu | Le pH conditionne la forme sous laquelle se trouve la molécule (ionisée ou neutre). |
| Température | La température est un paramètre thermodynamique important dans l'adsorption, car elle peut modifier les interactions moléculaires entre une phase fluide et la surface d'un solide. |
| Nature de l'adsorbant | Les solides polaires adsorbent préférentiellement les molécules polaires et les solides non polaires adsorbent de préférence des substances non polaires. |
| Concentration du produit adsorbable | L'équilibre d'adsorption, qui s'établit entre les concentrations de la phase solide et de la phase liquide, dépend de la concentration initiale des substances adsorbables. |
| Temps de contact | Pour atteindre l'équilibre, il faut que le temps de contact entre les deux phases adsorbant et adsorbat, soit suffisant ; et qui dit temps de contact perçoit aussi vitesse d'adsorption. |
| Isothermes d'adsorption | L'adsorption atteint après un certain temps, un état d'équilibre où les concentrations de l'adsorbat dans la phase solide ne varient plus. Cet état d'équilibre peut être décrit par une isotherme d'adsorption où l'on représente la concentration de l'adsorbat dans la phase solide en fonction de sa concentration dans la phase liquide à l'état d'équilibre . |

1.5.4 Mode de l'opération d'adsorption:

L'adsorption est une opération de séparation qui peut se dérouler en discontinu (très adaptée pour les travaux de laboratoire) ou en continu pour des applications surtout industrielles. Dans ce cas, les colonnes d'adsorption sont généralement de forme cylindrique et placée verticalement avec une hauteur de lit généralement comprise entre 0,5 et 3,0 m. L'écoulement de l'effluent à traiter peut être gravitaire ou forcé par une pompe avec un flux ascendant ou descendant à travers les adsorbants. La courbe de percée est souvent utilisée pour décrire la performance d'un lit fixe, elle est généralement représentée par le suivi de la concentration en sortie du lit en fonction du temps. Le temps de percée (temps à partir duquel la concentration à la sortie atteint plus de 5% de la concentration initiale) et le temps d'épuisement (le temps auquel la concentration à la sortie atteint 95% de la concentration initiale) sont des caractéristiques importantes pour l'appréciation du fonctionnement d'une colonne d'adsorption [23].

L'examen d'une courbe de perçage met en évidence deux caractéristiques particulièrement importantes:

- Le temps d'une courbe de perçage en t_p , qui correspond au temps à partir duquel le lit commence à être saturé. Dans ce cas, la concentration de sortie atteint la limite fixée.
- La pente de la courbe de percée qui doit être quasiment verticale.

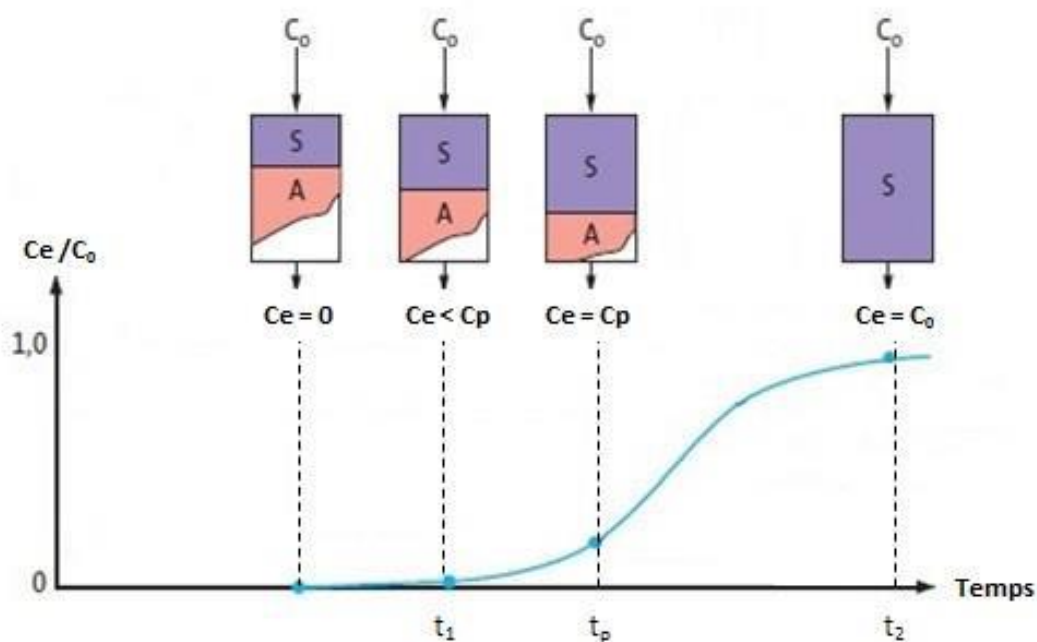


Figure 3 : profil de l'adsorption en lit fixe

L'évolution de la courbe de percée est liée à plusieurs facteurs tels que l'équilibre d'adsorption, la cinétique d'adsorption et les paramètres hydrodynamiques liés à la colonne et qui sont susceptibles de modifier les constantes thermodynamiques et cinétiques.

1.5.5 Les supports adsorbants :

La mise en œuvre de supports adsorbants dans les opérations de traitement solide-liquide est actuellement une évidence dans des domaines très variés comme l'environnement (traitement des eaux), l'industrie pétrochimique (séparation d'espèces chimiques) ou la pharmacie (purification d'agents actifs). Les matériaux adsorbants peuvent être de différentes natures; parmi les plus importants et d'usage courant dans l'industrie se trouvent les charbons actifs, les biosorbants, les matières d'origine inorganique et les résines synthétiques. Ces dernières sont largement utilisées comme matériaux adsorbants grâce à leur propriété d'échange d'ions. Les résines anioniques sont souvent utilisées pour éliminer spécifiquement des anions, tels que des colorants anioniques, les ions chromates, perchlorates, phosphates et nitrates, etc. et les résines cationiques pour éliminer différentes sortes de cations (organiques et inorganiques). Dans cette étude, nous nous sommes intéressés au troisième type de résines; les résines non-ioniques polyadsorbantes comme la famille des Amberlite XAD.

1.6 Caractéristiques principales des résines Amberlite XAD :

Les résines Amberlite XAD sont des résines macroporeuses qui peuvent avoir des structures rigides et tridimensionnelles en fonction des monomères de synthèse. Elles sont les plus convenables pour incorporer de grandes quantités de substance à cause de leurs grandes surfaces spécifiques, haute résistance mécanique, meilleure réticulation et faible gonflement durant l'imprégnation [24]. Leur classification est faite comme suit :

- Résines aromatiques obtenues par la polymérisation du monomère styrène. Ce sont des résines hydrophobes, telles que les XAD-4 et XAD-1180.
- Résine aliphatique, obtenue par la polymérisation du monomère acrylate de méthyle (AM), c'est une résine peu hydrophile, telles que la XAD-7 et la XAD-8.
- Résine aromatique réticulée, obtenue par la copolymérisation du styrène et du divinylbenzène, c'est une résine hydrophobe, telles que la IR-120 et l'Amberlite 200 [24].

1.6.1 La résine Amberlite XAD 1180 :

L'Amberlite XAD-1180 est une résine polymérique adsorbante qui est utilisée principalement dans la purification et la préparation de composés hydrophobes comme certaines vitamines, des antibiotiques, des enzymes, ...etc. L'élimination des détergents de la solution, l'immobilisation des enzymes, la séparation des solvants polaires et non polaires a été aussi reportée [25]. Certaines des principales caractéristiques de cette résine sont signalées dans le tableau 2 suivant :

Tableau 2 : Quelques caractéristiques de la résine Amberlite XAD-1180

| Caractéristique | Amberlite XAD-1180 |
|--------------------------|--|
| Matrice | Polystyrène – divinylbenzène |
| Taille des particules | 250-710 μm |
| Surface spécifique | 500 m^2/g |
| Porosité – volume poreux | 0.6 – 1.1 cm^3/g |
| Utilisation | <ul style="list-style-type: none">• Récupération de phénols , détergents et purification des aminoacides ;• Séparation des solutés organiques (protéines) a partir de solvants polaires ;• Séparation des métaux |



Figure 4 : la résine Amberlite XAD1180

Chapitre 2 :

Partie expérimentale

2 Introduction :

Dans cette partie, nous présentons les différents dispositifs expérimentaux, les procédures mises en œuvre et les techniques d'analyse . Elle comporte l'étude de l'adsorption et la désorption de l'oxytétracycline par la résine Amberlite XAD 1180 ainsi que la séparation et la purification d'autres antibiotiques de la famille des tétracyclines, en l'occurrence la doxycycline et la chlorotétracycline.

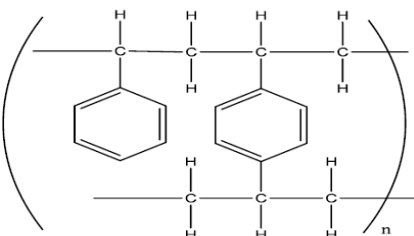
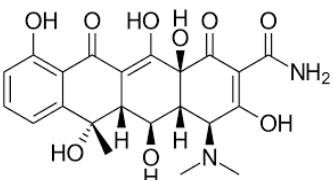
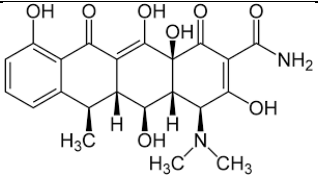
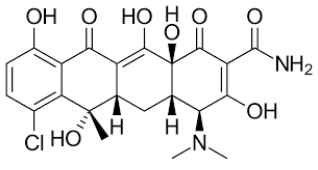
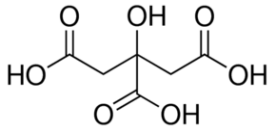
Le phénomène d'adsorption est évalué quantitativement par spectrophotométrie dans l'UV-Vis. L'influence de certains facteurs opérationnels, cités ci-dessous, a également été étudiée:

- temps d'agitation,
- variation de la concentration initiale de l'espèce antibiotique,
- température,
- pH,
- vitesse d'agitation.

2.1 Réactifs et appareillages utilisés :

2.1.1 Réactifs :

Dans le tableau suivant, nous avons présenté l'ensemble des réactifs que nous avons utilisés dans nos différents protocoles expérimentaux :

| | |
|--|---|
| <p>Amberlite XAD 1180 (résine polymérique)</p> |  |
| <p>Oxytétracycline</p> |  <p>$C_{22}H_{24}N_2O_9$</p> |
| <p>Doxycycline</p> |  <p>$C_{22}H_{24}N_2O_8$</p> |
| <p>Chlorotétracycline</p> |  <p>$C_{22}H_{23}ClN_2O_8$</p> |
| <p>Acide citrique</p> |  <p>$C_6H_8O_7$</p> |
| <p>Carbonate de sodium</p> | <p>Na_2CO_3</p> |
| <p>Bicarbonate de soude</p> | <p>$NaHCO_3$</p> |

| | |
|------------------------------|---------------------------|
| Hydrogénophosphate de sodium | Na_2HPO_4 |
| Méthanol | CH_3OH |

2.1.2 Appareils et verreries utilisés :

- ✓ Les masses des différents échantillons ont été pesées à l'aide d'une balance analytique électronique type (SCALTEC).
- ✓ L'agitation est assurée par l'agitateur mécanique type (VELP).
- ✓ Les mesures de pH sont effectuées par un pH-mètre type (Adwa).
- ✓ Spectrophotomètre d'absorption type UV-Vis (UV_1201 SHIMADZU).

2.2 Méthodes de caractérisation des échantillons :

2.2.1 Analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) :

C'est une méthode d'analyse qualitative, elle est très utilisée en chimie organique dans le but d'identifier les groupements caractéristiques d'une substance donnée; nos analyses ont été effectuées avec un spectrophotomètre de marque Shimadzu dans la plage de nombre d'onde $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ en utilisant des échantillons solides (pastillage avec le KBr). Le spectre obtenu de la résine XAD 1180, bien qu'il n'offre pas une très bonne résolution spectrale due à la qualité de la mesure on peut néanmoins proposer une caractérisation en se référant sur le spectre fourni par le fabricant dans la notice de fabrication.

Il est commun de partager le spectre FTIR en quatre régions caractéristiques: la région des liaisons simples ($2500\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$), la région des doubles liaisons ($1500\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$), la région des triples liaisons ($2000\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$) et, enfin, la région empreinte « the fingerprint région » ($600\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$). Ceci est schématisé dans la figure suivante :

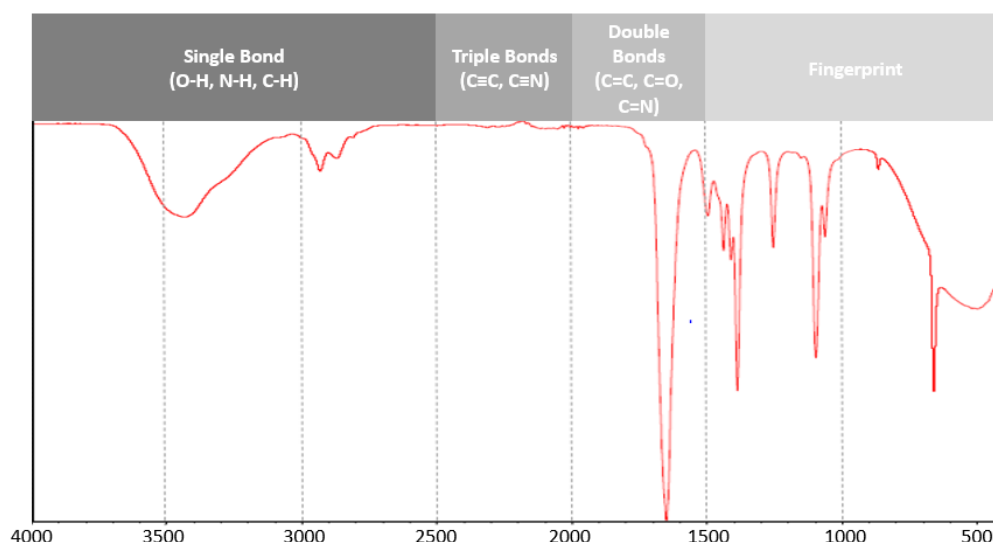


Figure 5 : Spectre IR schématique.

D'après les spectres de la résine, la région d'absorption des doubles liaisons n'est pas clairement observable alors que les trois autres sont présentés. En effet, sur la base des données bibliographiques spécialisées [26], on peut faire des attributions spectrales sommaires comme il est suggéré dans le tableau 3 ci-dessous :

Tableau 3 : Groupes fonctionnels et leurs attributions spectroscopiques

| Groupement chimique | Attribution de la bande (cm ⁻¹) |
|---|---|
| Saturated Aliphatic (alkene/alkyl) | |
| Methylene (>CH₂) Methylene C-H asym./sym. Stretch Methylene C-H bend | 2935–2915/2865–2845 1485–1445 |
| Methyne (>CH–) Methyne C-H stretch Methyne C-H bend | 2900–2880 1350–1330 |
| Skeletal C-C vibrations | 1300–700 |
| Aromatic ring (aryl) C=C-C Aromatic ring stretch Aromatic C-H stretch Aromatic C-H in-plane bend Aromatic C-H out-of-plane bend Aromatic combination bands | 1615–1580 1510–1450 3130–3070 1225–950 (several) 900–670 (several) 2000–1660 (several) |

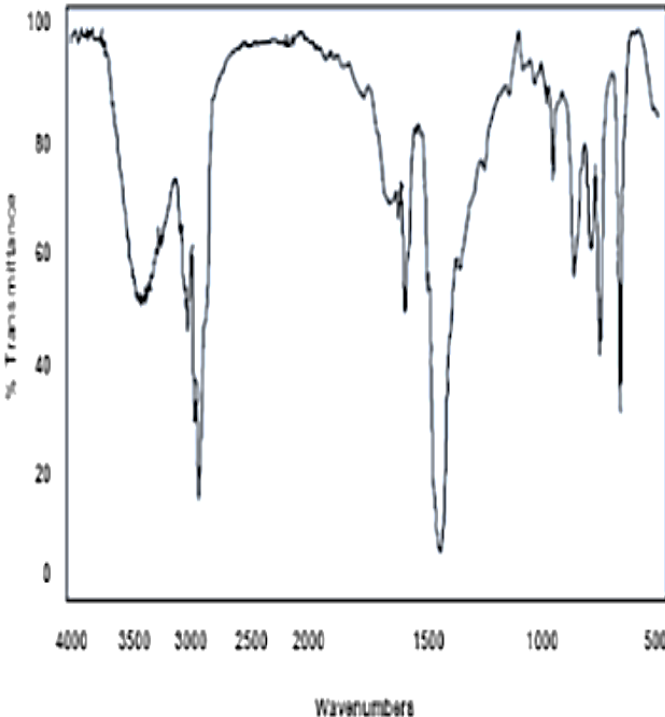


Figure 6 : Spectre IR de la résine XAD 1180 fourni par le fabricant

2.3 Analyse Spectrophotométrique dans l'UV-Vis

Avant chaque analyse, on procède à l'étalonnage de l'appareil, les solutions étalons sont préparées à partir des solutions mères contenant l'espèce bioactive (250 mg/L).

2.4 Préparation de la solution :

Dans une fiole jaugée de 500 ml, une quantité de 0,2500 g du soluté (oxytétracycline, doxycycline ou chlorotétracycline) est dissoute dans la petite quantité possible d'eau distillée puis on complète jusqu'au trait de jauge. Toutes solutions de concentrations inférieures sont obtenues par une simple dilution de la solution mère.



Figure 7 : Solutions montrant des échantillons d'antibiotique

2.5 Dosage des solutions :

A partir de la solution mère préparée de concentration connue, nous avons effectué des dilutions appropriées afin de déterminer la gamme d'étalonnage. Les mesures sont effectuées respectivement pour l'oxytétracycline, à 354 nm, pour la doxycycline, à 275 nm et pour la chlorotétracycline à 230 nm.

2.6 Procédé d'adsorption :

Dans l'opération d'adsorption des erlen-meyers de 250 ml ont été utilisés. Un volume de 50 ml de la solution est mis en contact avec une quantité de 0,2 g de la résine Amberlite XAD-1180 utilisée ici comme agent adsorbant, sous des conditions opératoires fixes : à température (environ 20 °C) et sous une agitation mécanique équivalent à la vitesse 1050tr/min. Par la suite, la solution est récupérée par filtration à l'aide d'un papier filtre et analysée par spectrophotométrie UV-Vis.

2.6.1 Optimisation du procédé :**2.6.1.1 Effet de la durée d'agitation :**

Une étude cinétique est mise en œuvre pour déterminer le temps nécessaire pour que le maximum d'adsorption soit atteint (temps d'équilibre). En effet, des tests ont été effectués dans une plage de temps allant de 1 à 180 minutes avec des échantillons préalablement thermostatés à 20 °C.

2.6.1.2 Etude de l'effet de la masse de la résine XAD-1180 :

Pour pouvoir étudier ce paramètre, dans des erlen-meyers de 250 ml, des quantités différentes de la résine Amberlite XAD-1180 (0.1g ; 0.15g ; 0.2g ; 0.25g ; 0.3g) sont mises en contact avec un volume de 50ml de la solution d'antibiotique sous une agitation magnétique pendant 2 heures à température 20 °C. La phase aqueuse est ensuite analysée par l'UV-Vis.

2.6.1.3 Etude de l'effet de la température :

Pour pouvoir étudier ce paramètre, dans des erlen-meyers de 250 ml, des quantités de 0,2 g de la résine Amberlite XAD-1180 sont mises en contact avec un volume de 50ml de solution sous une agitation magnétique pendant 2 heures et sous différentes températures (20, 30, 40, 50 °C) à l'aide d'une plaque chauffante agitatrice avec un régulateur de température. La phase aqueuse est ensuite analysée par l'UV-Vis.

2.6.1.4 Etude de l'effet du pH sur le phénomène d'adsorption:

Six pH initiaux de la phase aqueuse ont été choisis pour l'étude de ce paramètre sur les taux d'adsorption : 3, 5, 7, 8, 9.2 et 10.8. La masse de la résine XAD1180 utilisée dans chaque manipulation était de 0.2 g. L'adsorption est effectuée à une vitesse de 1050 tr/min et à la température ambiante de 20°C.

2.6.1.5 Etude de l'effet de la vitesse d'agitation :

L'effet de la vitesse d'agitation a été étudié dans l'intervalle de [150 à 1500 tour/min], pour cela dans des erlen-meyers de 250 ml une quantité de 0,2 g de la résine Amberlite XAD-1180 est mise en contact avec 50 ml de la solution aqueuse du soluté à la température d'environ 20 °C est cela pendant une durée de 02 heures. La phase liquide est analysée par la suite sous UV-Vis.

2.6.2 Procédé de désorption :

Dans une perspective de purification, une étude sur la désorption de l'antibiotique (préalablement fixé sur la résine) a été entreprise. En effet, la résine Xad1180 chargée est préalablement séchée pendant 20 minutes à 105°C. Une masse de 0,1 g est mise en contact avec un volume de 100 ml de l'agent éluant (50% méthanol + 50% eau distillée), sous agitation à 12 tour/min pendant une durée variable : 1h, 2h, 5h, 8h et 13h. La concentration de l'antibiotique dans l'agent éluant est évaluée par spectrophotométrie.

2.7 Etude de l'opération d'adsorption en continu (dynamique)

Dans cette partie de notre étude, nous nous sommes intéressées à l'étude de l'adsorption en dynamique. Dans ce système (voir figure ci-dessous), nous avons utilisé une mini colonne remplie de résine et des solutions d'OTC titrant 50 et 100mg/L. La colonne utilisée est cylindrique avec un diamètre intérieur de 2,5 cm et d'une hauteur de 15 ou 30 cm. Tout au long de l'expérience un collecteur est utilisé pour récupérer périodiquement l'effluent en sortie de colonne à intervalles de temps allant de 01 à 120min. L'échantillon est ensuite analysé à $\lambda = 354$ nm. Les résultats obtenus sont présentés graphiquement sous la forme d'une courbe de percée (concentration en fonction du temps), tout en gardant constants les paramètres suivants:

- ✓ Concentration initiale en soluté (50mg/L ou 100mg/L d'OTC).
- ✓ Hauteur du lit de la résine (6 cm).
- ✓ Débit de la solution (3,33 ml/min).
- ✓ pH initial de la solution égal à 7.



Figure 8 : Montage expérimental de l’adsorption dynamique du l’oxytétracycline sur un lit d’adsorption fixe à base de résine XAD 1180

2.8 Analyse microbiologique de l’oxytétracyclique

2.8.1 Microorganismes testés:

Huit souches standards appartenant à la collection ATCC qui sont citées dans le tableau ci-dessous et qui sont sensibles aux antibiotiques, ont été utilisées comme étant des microorganismes tests au cours de la détermination de l'activité antibactérienne:

| Bactéries | Levures et micro champignons |
|---------------------------------------|-------------------------------------|
| Salmonella typhimuriem ATCC 14028 | Candida albicans ATCC 10231 |
| Escherichia coli ATCC 8739 | Saccharomyces Cerevisiae ATCC 9763 |
| Bacillus subtilis ATCC 6633 | Aspergillus brasiliensis ATCC 16404 |
| Staphylococcus epidermidis ATCC 12228 | |
| Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027 | |

2.8.2 L'étude de l'activité antibactérienne

Le substrat actif OTC utilisé à une faible concentration de l'ordre du milligramme par millilitre est mis en contact selon une procédure normalisée avec le microorganisme dans une boîte Pétri dans un milieu de culture approprié (Sabouraud agar (SAB) qui est un milieu pour les champignons à la température 25°C et cela prend entre 3 – 5 jours ; Soja agar (SA) : qui est un milieu pour les bactéries à température 35-37°C et cela nécessite en général entre 18 et 24h. La mesure de l'effet antibactérien se fait après détermination du diamètre d'inhibition.

Si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 20 mm, le microorganisme se trouve être extrêmement sensible; il est très sensible si ce diamètre est compris entre 15 et 19 mm, sensible s'il est compris entre 9 et 14 mm et non sensible s'il est inférieur de 8 mm.

2.9 Résultats et Discussion :

Dans cette étude, la technique analytique principale qui a été utilisée pour mesurer la concentration des agents antibiotiques dans les différentes procédures expérimentales est la spectrophotométrie UV-Vis. Pour cela, des courbes d'étalonnage correspondent à chaque substance ont été établies comme il est montré ci-dessous. Ces courbes sont utilisées pour évaluer la concentration de ces substances dans les différentes solutions.

Par régression linéaire les constantes A et B correspondent à l'équation $Y = A + B * X$ où Y exprime les valeurs de l'absorbance et X celles des concentrations en mg/l.

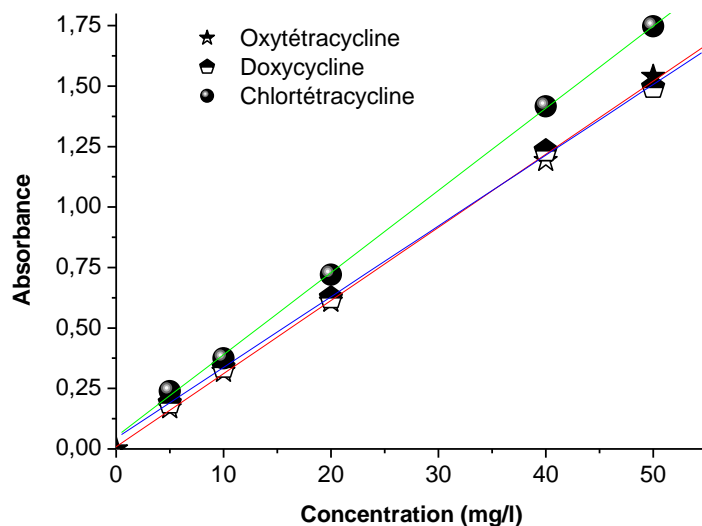


Figure 9 : Courbes d'étalonnage dans l'UV-Vis des composés antibiotiques dissous dans l'eau.

| Régression linéaire selon l'équation : $Y = A + B * X$ | | | |
|--|------------------------|--------------------|--------------------------|
| Y : absorbance, X : concentration | | | |
| paramètre | Oxytétracycline | Doxycycline | Chlortétracycline |
| A | 0,0088 | 0,04477 | 0,05045 |
| B | 0,03023 | 0,02923 | 0,03395 |

2.9.1 Effet du temps d'agitation :

Afin d'étudier la cinétique d'adsorption des espèces antibiotiques sur la résine, le taux d'adsorption de chacune de ces espèces a été mesuré en fonction du temps comme le montre la figure 10. on remarque bien d'après cette figure que le phénomène d'adsorption est relativement rapide puisque les conditions d'équilibre sont atteints au bout de 30 min pour la doxycycline et la chlorotétracycline ; cependant, environ 60 min sont nécessaires dans le cas de l'oxytétracycline.

Les résultats montrent clairement que l'adsorption de la doxycycline est meilleure (quantitativement) et plus rapide. Ceci peut s'expliquer, d'une part, par les caractéristiques structurales de la molécule car, en effet, cet antibiotique est plus lipophile donc hydrophobe et, d'autre part, par le caractère très poreux de la résine qui possède, par ailleurs, une structure non ionique et ne possédant aucun groupement polaire.

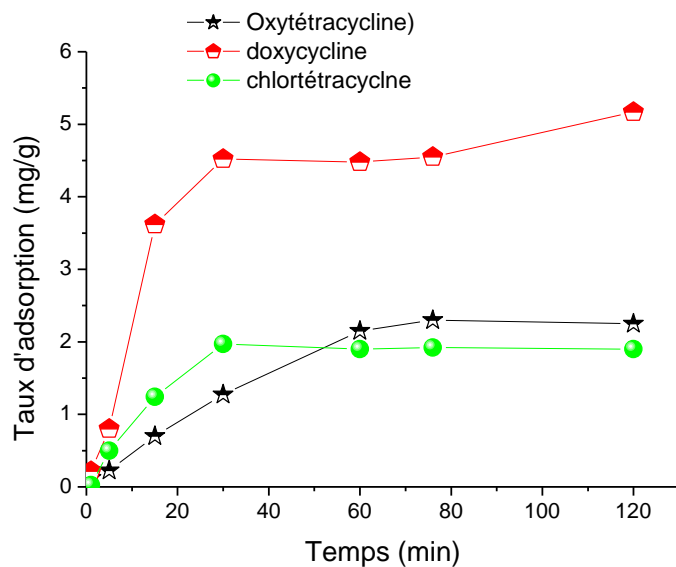


Figure 10 : Effet du temps d'agitation sur le taux d'adsorption de l'antibiotique (OTC, DC, CTC) $C=50\text{mg/l}$, $\text{pHi}=7$; $T=20^\circ\text{C}$, m résine = 0.2g, V solution = 50 MI

2.9.2 Effet de la masse de la résine XAD-1180 :

A une concentration initiale définie du substrat, la diminution de la masse de l'adsorbant permet d'augmenter le taux d'adsorption (en $\text{mg}_{\text{substrat}}/\text{g}_{\text{résine}}$) qui atteindra, normalement, un seuil limite à la saturation. Cette tendance qui a été obtenue et présentée dans la figure 11 est due à la relation entre le nombre (ou bien la concentration) des sites actifs disponibles pour le phénomène d'adsorption et qui sont proportionnels avec la surface spécifique et donc la masse de l'adsorbant comme il a été souligné [27].

Comme il a été signalé précédemment l'adsorption suit l'ordre croissant suivant $\text{DC} > \text{CTC} > \text{OTC}$ et cette diminution suit en fonction de la masse de l'adsorbant, au moins au-delà d'une certaine masse qui est dans ce cas de l'ordre de 100 mg (0.1g).

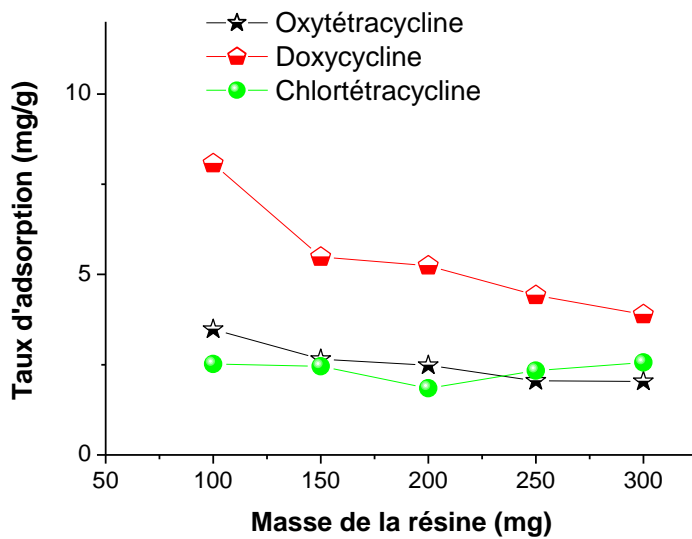


Figure 11 : Effet de la masse de la résine xad1180 sur le taux d'adsorption de l'antibiotique (OTC, DC, CTC) : $C_0 = 50 \text{ mg/L}$, $T = 20 \pm 2^\circ\text{C}$, $\text{pH} = 7$, Vitesse d'agitation = 1050 tr/min , temps de contact = 2 heures, $V \text{ solution} = 50 \text{ ml}$

2.9.3 Effet de la température :

L'effet de la température sur le phénomène d'adsorption a été évalué dans le cas de l'oxytétracycline et les résultats sont représentés dans la figure 12. D'après ces résultats, on peut bien observer que l'influence de la température sur le taux d'adsorption est palpable car on remarque bien que les taux d'adsorption augmentent avec l'augmentation de la température notamment lorsque celle-ci se trouve supérieure à 30°C .

Ainsi nous pensons que la température possède un effet sur le phénomène de diffusion de la molécule à l'intérieur de l'adsorbant (diffusion interne) et de plus il s'agit de l'influence du facteur thermodynamique principal dans ce processus d'adsorption.

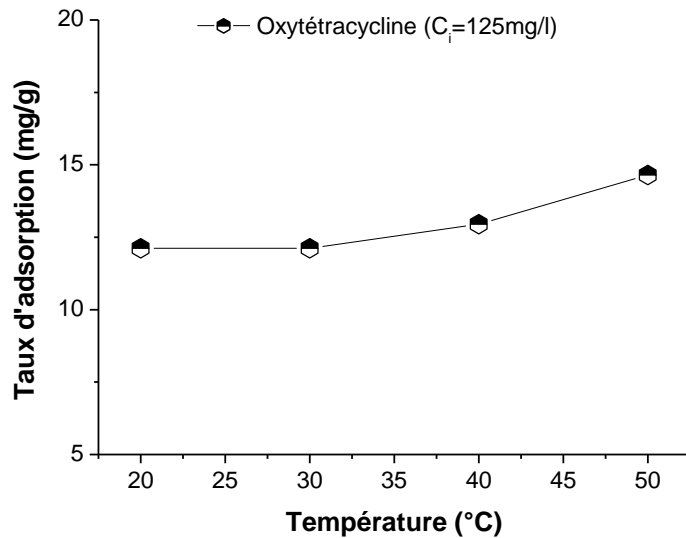


Figure 12 : variation du taux d'adsorption de l'OTC en fonction de la température.

Vsolution = 50 ml, vitesse d'agitation=1050 tr/min, pHi=7; C=125mg/l, m résine =0.2g

2.9.4 Effet de la vitesse d'agitation :

Dans la figure13 l'effet de la vitesse d'agitation sur le pourcentage d'adsorption de l'oxytétracycline sur la résine Xad 1180 est présenté. Il semble que ce facteur opérationnel n'a pas d'influence notable sur le phénomène d'adsorption de OTC. En effet, le taux d'adsorption reste pratiquement constant lorsque l'intensité de l'agitation change cela peut démontrer que le phénomène de transfert externe de la molécule (diffusion externe) est très rapide par rapport à la diffusion interne (dans les pores) qui doit dans ce cas contrôler le phénomène cinétique global.

Toutefois, afin de mieux comprendre l'action de ce type de facteur de nature physique sur le phénomène d'adsorption, des études plus étayées doivent être entreprises.

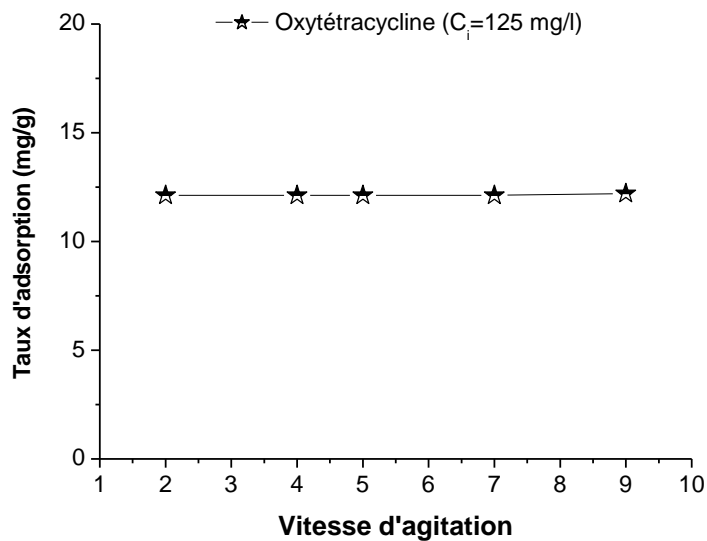


Figure 13 : Effet de la vitesse d'agitation sur l'adsorption de OTC sur la résine xad 1180 (C₀= 50 mg/L, T= 20±2°C, m = 0,2g, pH = 7, Temps= 120 min, V_{solution}= 50 mL).

2.9.5 Effet du pH :

Les quelques antibiotiques étudiés ici et appartenant à la famille des tétracyclines possèdent tous des structures moléculaires complexes dans lesquelles se trouvent aussi bien des fragments polaires que non polaires ou faiblement polaires. Ces caractéristiques démontrent, de toute évidence, la variation de propriétés comme la solubilité, la stabilité, ...etc. Dans la figure14 on peut bien constater de l'influence du pH sur le taux d'adsorption de l'oxytétracycline sur la résine XAD 1180. La figure montre que l'adsorption est relativement défavorable à pH neutre et semble meilleure aux milieux acides. En effet, possédant la possibilité de se dissocier en milieu aqueux de produire différentes espèces chargées en fonction du pH, lorsque celui-ci se trouve autour de la neutralité, l'OTC se trouve également dans la neutralité ce qui indique que dans cette forme cet antibiotique est faiblement adsorbé. Cette réflexion qu'illustre la figure 15 d'après l'étude de Punamiya et al. [28] peut également être exploitée dans la compréhension du phénomène d'adsorption dans le cas des autres antibiotiques étudiés (DC et CTC) mais cela nécessite plus d'expérimentations.

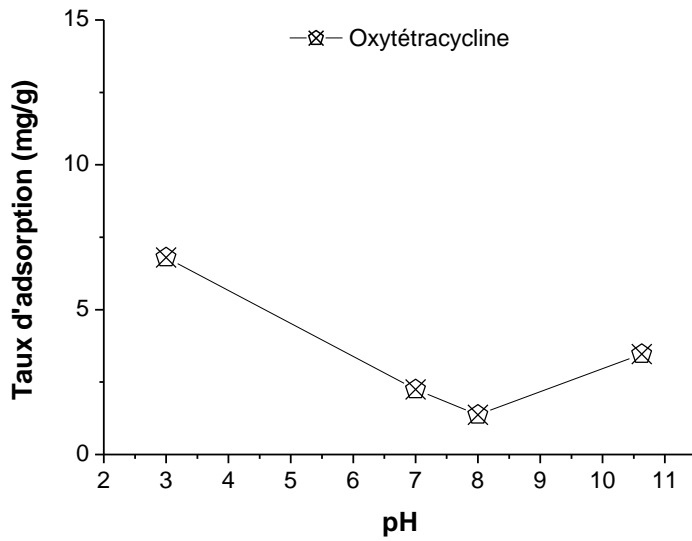


Figure 14 : Variation du taux d'adsorption de l'OTC en fonction du pH de la solution. $V_{\text{solution}}= 50 \text{ mL}$, $C=50\text{mg/l}$; $T=20 \text{ }^\circ\text{C}$, $m_{\text{résine}}=0.2\text{g}$; vitesse d'agitation= 1050 tr/min , durée d'agitation = 120 min .

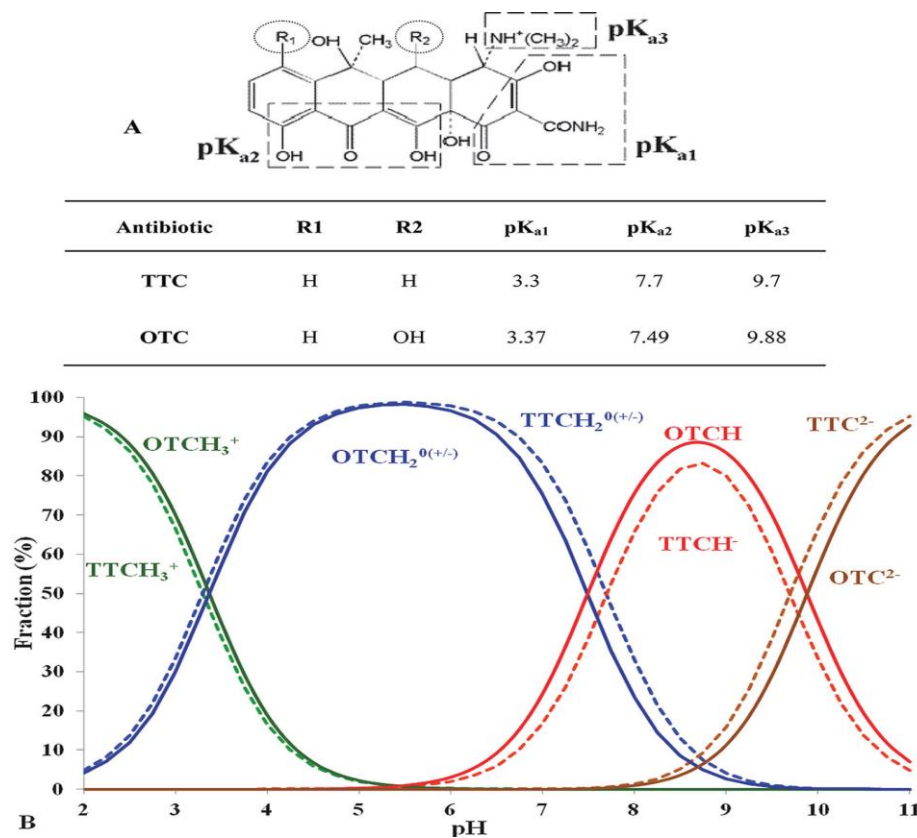


Figure 15 : Diagramme des espèces de l'OTC et de la TTC en fonction du pH. D'après [28]

2.9.6 Adsorption en continu (dynamique) :

Afin de simuler l'adsorption étudiée dans une opération réelle, des tests sur colonne chargée en résine ont été effectués uniquement avec l'oxytétracycline et pour deux concentrations initiales différentes (50 et 100 mg/l). Les résultats obtenus sont présentés graphiquement (figure 16) sous la forme d'une courbe de percée qui donne l'évolution de la concentration à la sortie de la colonne en fonction du temps, tout en gardant constants les autres paramètres comme le pH (7), ou la température (20°C).

Les résultats obtenus montrent que, dans les conditions expérimentales utilisées, la résine n'a pas encore atteint le seuil de saturation correspondant à $C_{eq}/C_0=1$ selon la durée réservée à cette expérience (120 min). En effet, une concentration initiale de l'OTC supérieure à 100 mg/l dans l'influent serait requise pour utiliser pleinement les capacités adsorptives de la résine qui est démontrée ici comme étant un support effectif et utile dans cette opération.

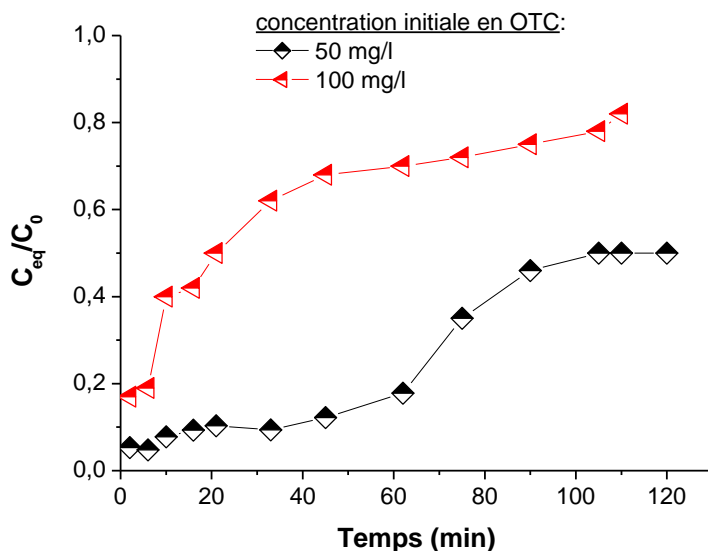


Figure 16 : Courbe de percée concernant l'adsorption de l'oxytétracycline sur la Résine xad1180 pour deux concentrations différentes : 50mg/L et 100mg/L. Débit de la solution d'alimentation : 3 ,33 ml/min ; température = 20 °C ; pHi = 7. Hauteur du lit = 6 cm et diamètre de la colonne = 2 cm.

2.10 Analyse microbiologique de l'Oxytétracycline

Les tests microbiologiques effectués sur plusieurs souches microbiennes et fongiques standard selon les procédures normalisées nous a permis d'obtenir les antibiogrammes montrés dans la figures17. Nous rappelons que cette mesure (diamètre d'inhibition) a été effectuée avec un instrument optique qui nous permet la lecture de la mesure. En outre, on précise bien que cette étude ne visait pas la réalisation de testes qui sont communs mais l'évaluation de l'activité de l'antibiotique à l'état supporté sur la résine polymérique; expérimentation qui n'a pas été accomplie, malheureusement, pour des raisons de temps.



Figure 17 : Instrument optique de lecture d'un antibiogramme



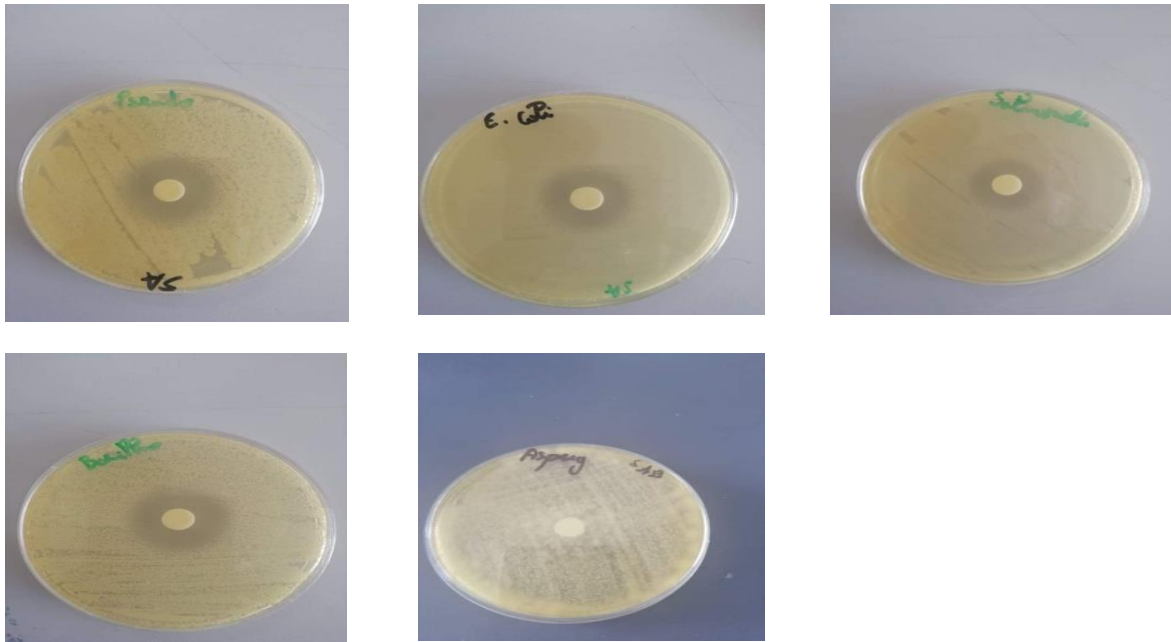


Figure 18 : Images montrant les tests d’antibiogrammes de l’oxytétracyclique à l’égard de microorganismes divers

Les mesures obtenues relatives au diamètre d’inhibition sont consignés dans le tableau présenté ci-dessous. Les mesures montrent bien que l’action de l’antibiotique sur les microchampignons comme l’Aspergillus ou le Saccharomyces est insignifiante alors qu’elle est évidente sur la majorité des bactéries étudiées.

Tableau 4 : Diamètre d’inhibition mesuré avec des souches testées par le lysozyme et l’oxytétracycline

| Microorganisme | Code | activité | diamètre | observation | Durée | température |
|-----------------------------------|------------|----------|-------------|---------------|-------|-------------|
| <i>Candida albicans</i> | ATCC 10231 | + | 26,6mm | sensible | 18h | 35 - 37 °C |
| <i>Salmonella typhimurium</i> | ATCC 14028 | + | 19,8mm | intermédiaire | 18h | 35 - 37 °C |
| <i>Escherichia coli</i> | ATCC 8739 | + | 23,6mm | sensible | 18h | 35 - 37 °C |
| <i>Bacillus subtilis</i> | ATCC 6633 | + | 24,6mm | sensible | 18h | 35 - 37 °C |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | ATCC 12228 | + | 27,8mm | sensible | 18h | 35 - 37 °C |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | ATCC 9027 | + | 27,4mm | sensible | 18h | 35 - 37 °C |
| <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> | ATCC 9763 | - | pas d'effet | résistant | 3j-5j | 25 °C |
| <i>Aspergillus brasiliensis</i> | ATCC 16404 | - | pas d'effet | résistant | 3j-5j | 25 °C |

Conclusion générale

Conclusion générale :

Dans cette étude nous avons démontré que la fixation de l'Oxytétracycline ainsi que d'autres antibiotiques apparentés sur la résine non ionique XAD1180 était possible. En effet, avec une cinétique d'adsorption intéressante (l'équilibre est atteint au bout d'une durée inférieure à 01 heures) cet adsorbant peut être indiqué dans la séparation ou la purification d'agents actifs comme l'antibiotique testé ici.

En outre, il est démontré ici que l'influence de certains facteurs opérationnels comme le pH ou la température sur l'importance du phénomène d'adsorption était évident. Aux pHs proches de la valeur 7, il apparaît que l'adsorption de l'oxytétracycline est la moins favorable et qu'à pH légèrement acide elle devient meilleure. L'étude de l'influence du facteur pH devrait être étendue aux autres antibiotiques afin de pouvoir comprendre et expliquer le phénomène d'adsorption sur le plan physico-chimique.

Des mesures supplémentaires (spectroscopiques et quantitatives) sont nécessaires pour pouvoir modéliser entièrement le phénomène d'adsorption des antibiotiques étudiés ici sur la résine polymérique non-ionique XAD 1180 qui offre beaucoup d'avantages pratiques comme la stabilité chimique, la capacité d'adsorption élevée et l'aptitude à la régénération. Nous recommandons aussi, par cette occasion, d'évaluer d'une manière approfondie les propriétés antibactériennes de la résine chargée en antibiotique pour des applications particulières.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- [1] - L. B. Pickens and Y. Tang: J. Biol. Chem. 285 (2010), p.27509
- [2] - L. Migliore, M. Fiori, A. Spadoni, et al.: J. Hazard. Mater. 215-216 (2012), p.227
- [3] - Z. Chi, R. Liu and H. Zhang: Sci. Total environ. 408 (2010), p.5399
- [4] - L. Aristilde, C. Marichal, J. Mische-brendle, et al.: Environ. Sci. Technol. 44 (2010), p.7839
- [5] - L. Huang, Y. Sun, W. Wang, et al.: Chem. Eng. J. 171 (2011) , p. 1446
- [6] - P. Oleszczuk, B. Pan and B. Xing: Environ. Sci. Technol. 43 (2009), p. 9167
- [7] - A. Marzo, I. Dal bo, chromatography as an analytical tool for selected antibiotic classes: a reappraisal addressed to pharmacokinetic applications, j. Chromatogr. A. 812 (1998) 17–34. Doi :10.1016/s0021-9673(98)00282-9.
- [8] – M.J. Capdeville. Etude des cycles biogéochimiques des contaminants organiques dits « émergents » dans les systèmes aquatiques, thèse dirigée par Dr hélène budzinski epoc-lptc, umr 5805 cnrs, l’université bordeaux 1, (2011).
- [9] - W. Xu, G. Zhang, S. Zou, X. Li, Y. Liu, determination of selected antibiotics in the victoria harbour and the pearl river, south china using high-performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry, environ. Pollut. 145 (2007) 672–679. Doi: 10.1016/j.envpol.2006.05.038.
- [10] - V. Homem, I. Santos, degradation and removal methods of antibiotics from aqueous matrices –a review, j. Environ. Manage. 92 (2011) 2304–2347. Doi :10.1016/j. Jenvman. 2011.05.023.
- [11] - J.taoufik. Les tétracyclines. In : précis de chimie thérapeutique. Collection medika; 2007. P: 522-527.
- [12] - M. Moulin, a. Coquerel. Tétracyclines. In : abrégés de pharmacologie: connaissances et pratique, 2ème édition. Masson ; 2002. P : 193-199.

Références bibliographiques

- [13] - R. Delépée thèse de doctorat Chimie Biologie « Devenir dans l'environnement dulçaquicole de l'oxytétracycline, l'acide oxolinique et la fluméquine, antibiotiques utilisés en thérapeutique piscicole » Université de Nantes, 16 Jan 2009.
- [14] - N. Ekorezock, j. Simon, c. Evrard thèse doctorat « contrôle de qualité de l'oxytétracycline injectable à usage vétérinaire disponible au mali » faculté de médecine de pharmacie et d'odontostomatologie université de bamako, avril 2006.
- [15] - Budavary S., M. O'Neil & A. Smith (Eds). 1996. The Merck Index. Merck and Co. Whitehouse Station. NJ.
- [16] - Chopra, I. and Roberts, M. (2001) Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 65, 232-260).
- [17] - Schnappinger, D., Hillen, W. Tetracyclines: antibiotic action, uptake, and resistance mechanisms. *Arch Microbiol* 165, 359–369 (1996)).
- [18] - Sun, L.-M., and Meunier, F. (2013). Adsorption-Aspects théoriques | Techniques de l'Ingénieur
- [19] - Rocher, V. (2008). Synthèse et caractérisation de billes d'alginate magnétiques pour l'élimination de polluants organiques dans les effluents par séparation magnétique. phd thesis. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI.
- [20] - Cheknane, B. (2011). Contribution à l'étude de l'adsorption de colorants basiques d'effluents industriels sur une argile pontée granulée (Doctoral dissertation, Limoges).
- [21] - Worch, E., adsorption technology in water treatment. 2012. Walter de gruyter
- [22] –Beriber .a .(2016) Étude de l'adsorption et de la désorption de l'amoxicilline sur un charbon actif à base de pédicelle de datte .
- [23] - Lezehari, M., Baudu, M., Bouras, O., and Basly, J.-P. (2012). Fixed-bed column studies of pentachlorophenol removal by use of alginate-encapsulated pillared clay microbeads. *J. Colloid Interface Sci.* 379, 101–106.

Références bibliographiques

[24] - O. Abderrahim, thèse de doctorat : Etude de l'extraction liquide-solide de différents métaux par des résines imprégnées de d2ehpa/topo et par l'acide polyéthylèneimineméthylène phosphonique, université de tlemcen, 2006.

[25] - P. K. Tewari, A. K. Singh, Synthesis, characterization and applications of pyrocatechol modified Amberlite XAD-2 resin for preconcentration and determination of metal ions in water samples by flame atomic absorption spectrometry (FAAS), *Talanta*, 53 (2001), 823-833.

[26] - coates, j. (2000). Interpretation of infrared spectra, a practical approach. *Encyclopedia of analytical chemistry*, 12, 10815-10837.

[27] - boumchita s, lahrichi a, benjelloun y, lairini s, nenov v, zerrouq f (2016). Elimination d'un colorant cationique dans une solution aqueuse par un déchet alimentaire : epluchure de pomme de terre. *J. mater. Environ. Sci.* 7 (1) :73-84, issn: 2028-2508.

[28] - p. Punamiya, d. Sarkar, s. Rakshit & r. Data. Effectiveness of aluminium-based drinking water treatment residuals as a novel sorbent to remove tetracyclines from aqueous medium. *J. Environ.qual.* 42:1449-1459 (2013).