République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Yahia FARES de Médéa



Faculté des Sciences et de la Technologie

Département Génie des Procédés et de l'environnement

Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de Master en Génie des Procédés

Option : Génie des Procédés Pharmaceutiques

Thème

Traitement des effluents pharmaceutiques liquides complexes au moyen de tensioactifs

Présenté par

M^{me} : Alikacem Amina

Dirigé par le Docteur :

M^{r} : O. Benkortbi

Copromotrice :

M^{me} : A. Boukhelkhal

Promotion 2013-2014

REMERCIEMENTS

Je remercie Dieu, le Tout Puissant, le Miséricordieux, qui nous a donné l'opportunité de mener à bien ce travail.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à mon promoteur M^{r} O.BENKORTEBI pour son aide, son encouragement et ses précieux conseils.

Je remercie également M^{me} A.BOUKHELKHAL pour son dévouement, son aide, sa gentillesse.

J'exprime toute ma gratitude aux membres du jury pour m'avoir fait l'honneur d'examiner ce mémoire. Qu'ils trouvent ici l'expression de mon profond respect

Je veux également adresser mes remerciements à tous les employés et les cadres supérieurs de la société SAIDAL de MEDEA plus particulièrement du département contrôle de qualité pour leur soutien et leur disponibilité ainsi que les moyens mis à ma disposition durant toute la période de mon stage pratique.

Je ne terminerai pas sans avoir exprimé des remerciements envers toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce projet.

Bien sur, je n'oublie pas ma famille, mon mari, mes enfants et mes parents, de leur soutien.

TABLE DES MATIERES

PAGES

INTRODUCTION 1

CHAPITRE I : LES ANTIBIOTIQUES

I.1 HISTORIQUES 3

I.1.1 Définitions des antibiotiques 3

I.2 CLASSIFICATION DES ANTIBIOTIQUES 4

I.3 LES PENICILLINES 5

I.3.1 Classification des pénicillines selon l'origine 6

I.3.2 Les bêta -lactames 7

I.4 L'AMOXICILLINE ET L'AMPICILLINE TRIHYDRATEE $3H_2O$ (ORALE) 8

I.4.1 L'amoxicilline sodique (injectable) 9

I.4.1.a Définition 9

I.4.2 L'ampicilline sodique 9

I.5 LA STABILITE DES ANTIBIOTIQUES 10

I.5.1 Propriétés physico-chimiques 10

I.6 SOURCE ET DEVENIR DANS L'ENVIRENNEMENT 11

I.6.1 Usages et niveaux de consommation 11

I.6.2 Les sources des médicaments 12

I.6.3 Les antibiotiques 13

CHAPITRE II : LES TENSIOACTIFS

II.1 HISTORIQUE 14

II.2 DEFINITION 14

II.3 CLASSIFICATION 15

II.3.1 Tensioactifs anioniques 15

II.3.2 Tensioactifs cationiques 15

II.3.3 Tensioactifs non ioniques 16
II.3.4 Tensioactifs amphotères 16

II.4 PROPRIETES DES AGENTS TENSIOACTIFS 17
II.4.1. Adsorption aux interfaces 17
II.4.2 Micellisation 19
II.4.2.1 Description du phénomène 19
II.4.2.2 Définition de la CMC 19
II.4.2.3 Facteurs influençant la CMC 20
A. Effet de la structure du tensioactif 20
B. Effet de l'ajout d'électrolyte 21
C. Effet d'un additif organique 21
D. Effet de la température 21

II.5. SOLUBILITÉ DES TENSIOACTIFS 22
II.6 LES DIFFÉRENTS POUVOIRS DES TENSIOACTIFS 22
II.6.1 Pouvoir solubilisant 22
II.6.2 Pouvoir moussant 22
II.6.3 Pouvoir anti-moussant 23
II.6.4 Pouvoir émulsionnant 23
II.6.5 Pouvoir mouillant 23
II.6.6 Pouvoir dispersant 23
II.6.7 Pouvoir détergeant 23

II.7. LES DOMAINES D'APPLICATIONS 23
II.7.1 Secteur de la détergence 24
II.7.2 Secteur de la cosmétique 24
II.7.3 Secteur industriel 24

CHAPITRE III : LES METHODES PHYSICO-CHIMIQUES D'ANALYSE

<u>Partie A</u> : LA SPECTROSCOPIE UV- VISIBLE 25

III.A.1 LES TECHNIQUES SPECTROSCOPIQUES 25

III.A.2 PRINCIPE DES METHODES SPECTROSCOPIQUES. 25
III.A.3 LA SPECTROSCOPIE UV- VISIBLE 26
III.A.4 SPECTRE D'ABSORPTION (OU SPECTRE ELECTRONIQUE).. 27
III.A.5 APPAREILLAGE 27

Partie B : La chromatographie en phase liquide a haute performance (C.L.H.P) . . 28
III.B.1 NOMENCLATURE EN CHROMATOGRAPHIE 29
III.B.2 CLASSIFICATION DES TECHNIQUES CHROMATOGRAPHIQUES. 30
III.B.3 APPAREILLAGE DE LA HPLC 30
III.B.3.1 Réservoirs de phase mobile 30
III.B.3.2 Pompes 31
III.B.3.3 Injecteur ou vanne d'injection 31
III.B.3.4 Colonne 32
III.B.3.5 Détecteurs 33
III.B.3.6 Systèmes d'enregistrement et d'intégration 33
III.B.4 FONDEMENTS THEORIQUES DE LA CLHP 33
III.B.4.1 Processus de séparation 33
III.B.4.2 Coefficient de partage K 34
III.B.4.3 Facteur de Capacité k 35
III.B.4.4 Paramètres caractéristiques d'un pic 35
III.B.5 MODES DE SEPARATION EN HPLC 36
III.B.5.1 Polarité d'une molécule 37
III.B.5.2 Interactions entre les molécules 37
III.B.5.3 Les interactions diélectriques ou ioniques 38
III.B.5.4 les liaisons "hydrogène" 38
III.B.5.5 Les forces de VAN DER WAALS 38
III.B.5.6 Polarité de phase 38

LISTE DES TABLEAUX

N° Titre Page

I.1 : Principaux micro organisme producteurs des antibiotiques … 5

I.3.1 : Classifications des pénicillines selon leur origine … 6

III.B.1 : Solvants couramment utilisés en HPLC… 43

IV.A.1 : Absorbances de l'Ampicilline à λ = 218 nm.

IV.A.2 : Absorbances de l'Amoxicilline à λ = 272 nm.

IV.B.1 : Variation de la conductivité en fonction de la concentration en SDS à 20°C

IV.B.2 Variation de la conductivité en fonction de la concentration en CTAB à 20°C

IV.B.3: Comparaison entre les valeurs expérimentales et théoriques des CMC à 20°C page12

IV.B.4 Variation de la conductivité en fonction de la concentration en SDS en présence du CTAB à 20°C.

IV.C.1 : Effet de la composition de la phase mobile sur les temps de rétention et les surfaces des pics.

IV.C.2 : Effet du débit de la phase mobile sur le temps de rétention de l'ampicilline et l'amoxicilline

IV.C.3 : Effet du pH de la phase mobile sur le temps de rétention et les surfaces des pics

IV.C.4 : Effet de la composition de la phase mobile sur les temps de rétention et les surfaces des pics.

IV.C.5 : Détermination du temps de contact

IV.C.6 : Influence de la vitesse d'agitation

IV.C.7 : Effet de la concentration en antibiotiques

IV.C.8 : Effet de la concentration en SDS

IV.C.9 : Effet de la température

LISTE DES FIGURES

FIGURE ***PAGE***

I.3 : la structure chimique de la pénicilline 6

I.3.2.a : Structure de la fonction de Bêta lactame 7

I. 3.2.b : Structure de l' Acide 7- aminocéphalosporanique 7

I.4.1 : Structure chimique de l'amoxicilline $3H_2O$ 8

I.4.2 : Structure chimique de l'ampicilline $3H_2O$ 8

I.4.1.a : Structure chimique de l'amoxicilline sodique 9

I.4.2.a : Structure chimique de l'ampicilline sodique 9

I.6.1: Parts des médicaments humains et vétérinaires dans les ventes des familles d'antibiotiques en Europe en 2002. 11

I.6.2: Les différentes sources de contamination par les médicaments 12

II.1 : Représentation schématique d'un tensioactif 14

II.3.1: Exemple de tensioactif anionique (Dodécyl benzène sulfonate de sodium) 15

II.3.2 : Exemple d'un tensioactif cationique (bromure d'hexadécyle triméthylammonium) . 15

II.3.3 : Exemple de tensioactif nonionique (Octyl phenol poly-éthoxylé) 16

II.3.4: Exemple de tensioactif amphotère (Alkyl bétaine) 16

II. 4.1 : Diminution de la tension superficielle par addition d'un agent tensioactif. 18

II.4.2.2.a : concentration micellaire critique. 19

II.4.2.2.b: Evolutions de différentes propriétés physico-chimiques d'une solution en fonction de la concentration en tensioactifs. 20

III.A.1 : schéma du principe des méthodes spectroscopiques d'absorption. 26

III.A.2 : Spectre électronique d'absorption UV- Visible. 27

III.A.3 : Schéma d'un spectrophotomètre UV- Visible. 28

III.B.1 : Appareillage de HPLC. 31

TABLE DES MATIERES

PAGES

INTRODUCTION 1

CHAPITRE I : LES ANTIBIOTIQUES

I.1 HISTORIQUES 3

I.1.1 Définitions des antibiotiques 3

I.2 CLASSIFICATION DES ANTIBIOTIQUES 4

I.3 LES PENICILLINES. 5

I.3.1 Classification des pénicillines selon l'origine. 6

I.3.2 Les bêta -lactames 7

I.4 L'AMOXICILLINE ET L'AMPICILLINE TRIHYDRATEE $3H_2O$ (ORALE) 8

I.4.1 L'amoxicilline sodique (injectable) 9

I.4.1.a Définition 9

I.4.2 L'ampicilline sodique 9

I.5 LA STABILITE DES ANTIBIOTIQUES 10

I.5.1 Propriétés physico-chimiques 10

I.6 SOURCE ET DEVENIR DANS L'ENVIRENNEMENT 11

I.6.1 Usages et niveaux de consommation 11

I.6.2 Les sources des médicaments. 12

I.6.3 Les antibiotiques. 13

CHAPITRE II : LES TENSIOACTIFS

II.1 HISTORIQUE 14

II.2 DEFINITION 14

II.3 CLASSIFICATION 15

II.3.1 Tensioactifs anioniques 15

II.3.2 Tensioactifs cationiques 15

II.3.3 Tensioactifs non ioniques 16
II.3.4 Tensioactifs amphotères 16
II.4 PROPRIETES DES AGENTS TENSIOACTIFS 17
II.4.1. Adsorption aux interfaces 17
II.4.2 Micellisation 19
II.4.2.1 Description du phénomène 19
II.4.2.2 Définition de la CMC 19
II.4.2.3 Facteurs influençant la CMC. 20
A. Effet de la structure du tensioactif 20
B. Effet de l'ajout d'électrolyte 21
C. Effet d'un additif organique 21
D. Effet de la température 21
II.5. SOLUBILITÉ DES TENSIOACTIFS 22
II.6 LES DIFFÉRENTS POUVOIRS DES TENSIOACTIFS 22
II.6.1 Pouvoir solubilisant. 22
II.6.2 Pouvoir moussant. 22
II.6.3 Pouvoir anti-moussant. 23
II.6.4 Pouvoir émulsionnant. 23
II.6.5 Pouvoir mouillant. 23
II.6.6 Pouvoir dispersant. 23
II.6.7 Pouvoir détergeant. 23
II.7. LES DOMAINES D'APPLICATIONS 23
II.7.1 Secteur de la détergence. 24
II.7.2 Secteur de la cosmétique. 24
II.7.3 Secteur industriel 24

CHAPITRE III : LES METHODES PHYSICO-CHIMIQUES D'ANALYSE

III.1 LA SPECTROSCOPIE UV- VISIBLE 25
III.1.1 LES TECHNIQUES SPECTROSCOPIQUES 25
III.1.2 PRINCIPE DES METHODES SPECTROSCOPIQUES. 25

III.1.3 LA SPECTROSCOPIE UV- VISIBLE 26

III.1.4 SPECTRE D'ABSORPTION (OU SPECTRE ELECTRONIQUE).. 27

III.1.5 APPAREILLAGE 27

III.2 La chromatographie en phase liquide a haute performance (C.L.H.P) . . 28

III.2.1 NOMENCLATURE EN CHROMATOGRAPHIE 29

III.2.2 CLASSIFICATION DES TECHNIQUES CHROMATOGRAPHIQUES. 30

III.2.3 APPAREILLAGE DE LA HPLC 30

III.2.3.1 Réservoirs de phase mobile 30

III.2.3.2 Pompes 31

III.2.3.3 Injecteur ou vanne d'injection 31

III.2.3.4 Colonne 32

III.2.3.5 Détecteurs 33

III.2.3.6 Systèmes d'enregistrement et d'intégration 33

III.2.4 FONDEMENTS THEORIQUES DE LA CLHP. 33

III.2.4.1 Processus de séparation 33

III.2.4.2 Coefficient de partage K 34

III.2.4.3 Facteur de Capacité k 35

III.2.4.4 Paramètres caractéristiques d'un pic 35

III.2.5 MODES DE SEPARATION EN HPLC. 36

III.2.5.1 Polarité d'une molécule. 37

III.2.5.2 Interactions entre les molécules. 37

III.2.5.3 Les interactions diélectriques ou ioniques 38

III.2.5.4 les liaisons "hydrogène" 38

III.2.5.5 Les forces de VAN DER WAALS. 38

III.2.5.6 Polarité de phase 38

III.2.5 LA CHROMATOGRAPHIE DE PARTAGE OU DE SEPARATION 39
III.2.5.1 La chromatographie de partage à polarité de phases normale 40
III.2.5.2 La chromatographie de partage à polarité de phases inversée 40
III.2.5.3 Technique d'utilisation de la phase mobile 42
III.2.6 EXPLOITATION DE DONNEES 43
III2.6.1 Analyse qualitative 44
III.2.6.2 Analyse quantitative 44

CHAPITRE IV : PARTIE EXPERIMENTALE

IV. 1 OBJECTIF. . . . . .

IV.2 CARACTÉRISATION DES ANTIBIOTIQUES PAR SPECTROPHOTOMETRIE UV-VISIBLE. 46

IV.2.1 Appareillage 46

IV.2.2 Antibiotiques 46

IV.2.3 Elaboration des spectres électroniques 47

IV.2.4 Elaboration des courbes d'étalonnage 48

IV.3 DETERMINATION DE LA CONCENTRATION MICELLAIRE CRITIQUE (CMC)

IV. 3.1 Tensioactifs 50
IV.3.2 Principe 50
IV.3.3 Appareillage. 51
IV.3.4 Détermination de la (CMC) de chaque tensioactif à part 51
IV.3.5 Détermination de la CMC du mélange des tensioactifs 54

VI.4 ETUDE DE L'ELIMINATION DES ANTIBIOTIQUES PRÉSENTS EN MILIEUX AQUEUX AU MOYEN DE TENSIOACTIFS 56
IV.4.1 Matériel 57
IV.4.2 Produits chimiques 61
IV.4.3 Etude de l'élimination des antibiotiques. 62
IV.4.3.1 Préparation des échantillons. 62
IV.4.3.2 Préparation de la phase mobile. 63
IV.4.3.3 le calcul de titre en HPLC 64

IV.5 DETERMINATION DES CONDITIONS OPTIMALES 65

IV.5.1 Optimisation de la composition de la phase mobile pour l'ampicilline et l'amoxicilline 65

IV.5.2 Choix du débit de la phase mobile 69

IV.5.3 Choix de la phase stationnaire 72

IV.5.4 Choix du pH de la phase mobile 72
IV.5.5 Optimisation de la longueur d'onde du mélange 75
IV .5.6 Effet de l'isooctane. 77

IV.6 ETUDE PARAMETRIQUES 78
IV.6.1 Détermination du temps de contact 78
IV.6.2 Influence de la vitesse d'agitation 80
IV.6.3 Effet de la concentration en antibiotiques 82
IV.6.4 Effet de la concentration en SDS 83
IV.6.5 Effet de la température 85
IV.6.6 L'effet de tensioactif cationique 86
CONCLUSION GENERALE. 88
ANNEXE 90

LISTE DES TABLEAUX

N° Page

CHAPITRE I : LES ANTIBIOTIQUES

I.1 :Principaux micro organisme producteurs des antibiotiques … 5

I.3.1: Classifications des pénicillines selon leur origine… 6

CHAPITRE III : LES METHODES PHYSICO-CHIMIQUES D'ANALYSE

III.1 : Solvants couramment utilisés en HPLC… 43

CHAPITRE IV : PARTIE EXPERIMENTALE

IV.1 : Absorbances de l'Ampicilline à λ = 210 nm.. 48

IV.2 : Absorbances de l'Amoxicilline à λ = 272 nm.… 48

IV.3 :Variationde la conductivité en fonction de la concentration en SDS à 20°C 51

IV.4 : Variationde la conductivité en fonction de la concentration en CTAB à 20°C .. 52

IV.5: Comparaison entre les valeurs expérimentales et théoriques des CMC à 20°C 54

IV.6 : Variationde la conductivité en fonction de la concentration en SDS en présence du CTAB à 20°C.. 55

IV.7 : comparaison de titre de l'amoxicilline par apport à la norme 64

IV.8 : comparaison de titre de l'ampicilline par apport à la norme 65

IV.9 : Effet de la composition de la phase mobile sur les temps de rétention et les surfaces des pics. 66

IV.10 : Effet du débit de la phase mobile sur le temps de rétention de l'ampicilline et l'amoxicilline 70

IV.11 : Effet du pH de la phase mobile sur le temps de rétention et les surfaces des pics . . .73

IV.12 : Effet de l'isooctane sur le rendement d'adsorption 78

IV.13 : L'étude de l'influence du temps de contactsur l'adsorption. 79

IV.14 : Etude de l'influence de la vitesse d'agitation sur l'adsorption 81

IV.15 : Effet de la concentration en antibiotiques 82

IV.16 : Effet de la concentration en SDS 84
IV.17 :l'étude de l'influence de la température sur l'adsorption 85
IV.18 : Effet de l'ajout du CTAB su l'adsorption. 87

LISTE DES FIGURES

N° ***PAGE***

CHAPITRE I : LES ANTIBIOTIQUES

I.1 : lastructure chimique de la pénicilline 6

I.2. : Structure de la fonction de Bêta lactame 7

I.3 : Structure de l' Acide 7- aminocéphalosporanique 7

I.4 : Structure chimique de l'amoxicilline $3H_2O$ 8

I.5 : Structure chimique de l'ampicilline $3H_2O$ 8

I.6 : Structure chimique de l'amoxicilline sodique 9

I.7 : Structure chimique de l'ampicilline sodique 9

I.8: Parts des médicaments humains et vétérinaires dans les ventes des familles d'antibiotiques en Europe en 2002. 11

I.9: Les différentes sources de contamination par les médicaments 12

CHAPITRE II : LES TENSIOACTIFS

II.1 : Représentation schématique d'un tensioactif 14

II.3.1: Exemple de tensioactif anionique (Dodécyl benzène sulfonate de sodium) 15

II.3.2 : Exemple d'un tensioactif cationique (bromure d'hexadécyle triméthylammonium) . 15

II.3.3 : Exemple de tensioactif nonionique (Octyl phenol poly-éthoxylé) 16

II.3.4: Exemple de tensioactif amphotère (Alkyl bétaine) 16

II. 4.1 : Diminution de la tension superficielle par addition d'un agent tensioactif. 18

II.4.2.2.a : concentration micellaire critique. 19

II.4.2.2.b: Evolutions de différentes propriétés physico-chimiques d'une solution en fonction de la concentration en tensioactifs.. 20

CHAPITRE III : LES METHODES PHYSICO-CHIMIQUES D'ANALYSE

III.1 : schéma du principe des méthodes spectroscopiques d'absorption.. 26
III.2 : Spectre électronique d'absorption UV- Visible.. 27
III.3 : Schéma d'un spectrophotomètre UV- Visible.. 28
III.4 : Appareillage de HPLC.. 31
III.5 : 1re étape de l'injection avec une vanne à six voies.. 32
III.6 : Exemple de chromatogramme…. 35
III.7 : Largeurs caractéristiques d'un picchromatographique. 36
III.8 : Chromatographies à phase normale et à phase inverse…….. 39
III.9 : Phases greffées polaires…… 41
III.10 : Phases greffées apolaires… 42

CHAPITRE IV : PARTIE EXPERIMENTALE

IV.1 : Spectre électronique de l'ampicilline… 47
IV.2 : Spectre électronique de l'amoxcilline… 47
IV.3 : Courbe d'étalonnage de l'Ampicilline en solution dans l'eau distillé 49
IV.4: Courbe d'étalonnage de l'Amoxicilline… 49
IV.5 : Variation de la conductivité du SDS en fonction de sa concentration à T = 25 °C.. 52
IV.6: Variation de la conductivité du CTAB en fonction de sa concentration à T = 25 °C….53
IV.7 : Courbe de la conductivité en fonction de la concentration en SDS en présence du CTAB.(0,9/0,1).. 55
IV.8 : Courbe de la conductivité en fonction de la concentration en SDS en présence du CTAB.(0.6/0.4).. 56
IV.9: HPLC de l'étude 58
IV.10: le dispositif de filtration 59
IV.11 : le bain l'ultra son. 60

IV.12: les papiers filtres.. 60
IV.13 : le standard de l'amoxicilline tryhdraté 61
IV.14 : le standard de l'ampicilline tryhdraté 62
IV.15 : Effet de la composition de la phase mobile sur le chromatogramme de l'ampicilline et l'amoxicilline 68
IV.16 : Effet du débit de la phase mobile sur les temps de rétentions de l'amoxicilline et l'ampicilline 71
IV.17 : Effet du pH de la phase mobile sur le temps de rétention et les surfaces des pics 75
IV.18 : Optimisation de la longueur d'onde 77
IV.19: Effet du temps de contact 80
IV.20 : Influence de la vitesse d'agitation 81
IV.21 : Effet de la concentration en antibiotiques 83
IV.22 : Effet de la concentration en SDS 84
IV.23 : Effet de la température 85

Liste des abréviations

ACN	acétonitril
AMOXI $3H_2O$	Amoxicilline trihydrate.
AMOXI Na	Amoxicilline sodique
CMC	Concentration micellaire critique
CPG	la chromatographie en phase gazeuse
CTAB	**C**etyl**T**rimethyl**A**mmonium **B**romide.
HPLC	Chromatographie liquide à haute pression.
IR	infrarouge
MeOH	**M**éthanol
ND	non déterminé
OM	Orbitales moléculaires
PVDF	Polyfluorure de vinylidène
SDS	**S**odium **D**odécyl **S**ulfate
STEP	Station d'épuration des eaux usées
UV	Ultra violet
USP	United States parant

NOMENCLATURE

A	Absorbance.
Ae	Air de l'échantillon.
As	Air du standard.
C	Concentration.
C_m	Concentration dans la phase mobile .
C_s	Concentration dans la phase stationnaire.
DO	Densité optique.
E	Energie
h_{max}	Hauteur maximale du pic.
K	Coefficient de partage.
K_c	Conductivité de la solution.
l	Chemin optique (cm).
l_i	Largeur au niveau des points d'inflexion .
P	Moment dipolaire .
Ps	Pesée du standard en mg.
Pe	Pesée d'échantillon en mg
P	Pureté du standard en µg/mg ou en %.
q	Charge électrique
R	Rendement.
t_m	Temps mort .
t_r	Temps de rétention
t'_r	Temps de rétention réduit
T	Titre en %.
tr.	Tours de vitesse d'agitation
V_s .	Volume de phase stationnaire
V_m	Volume de phase mobile ou volume mort.

ملخص

إن المخاطر المحتملة في التصريف المستمر للمواد الصيدلانية على البيئة هو التلوث البيئي مما يؤدي إلى خلل في نظامه ولها تهديد معين على الصحة العامة.

في هذه الدراسة قمنا بتطبيق طريقة الامتزاز باستخدام مؤ ثرسطحي دوديسيل كبريتات الصوديوم وستيل ترمتيل امونيوم لكلا المضادات الحيوية أموكسيسيلين و الأمبيسلين . وقد أجريت هذه المضادات الحيوية في الوسط المائي.

في دراستنا ركزنا على المعايير التي يمكن أن تؤثر على امتصاص المضادات الحيوية مثل وقت الاتصال، وسرعة التحريك، والتركيز الأولي من المضادات الحيوية ...

النتائج تظهر أن العائد الأمثل للنظام المتكون من 5 : دقائق لوقت الاتصال , تركيز دوديسيل كبريتات الصوديوم يساوي 108 ميلي مول/ ل و تركيز المضادات الحيوية يساوي 0.04 مول/مل في درجة الحرارة تساوي 25°C.

مفاتيح الكلمات: الأمبيسلين , أموكسيسيلين ، الامتزاز، دوديسيل كبريتات الصوديوم ، بروميد ستيل ترمتيل امونيوم.

RESUME

La problématique concernant la présence et les risques potentiels liés aux rejets continuels des substances pharmaceutiques dans l'environnement constitue une pollution émergente conduisant à la perturbation des écosystèmes et présente une menace certaine sur la santé publique.

Dans ce travail nous avons appliqué le procédé d'adsorption au moyen de deux tensioactifs : le dodécylsulfate de sodium (SDS) et le Cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) sur deux antibiotiques : l'amoxicilline et l'ampicilline. Le traitement des solutions aqueuses de ces antibiotiques a été réalisé en milieux aqueux. Lors de notre étude, on s'est focalisé sur les paramètres qui peuvent influencer l'adsorption des antibiotiques à savoir le temps de contact, la vitesse d'agitation, la concentration initiale des antibiotiques et la température.

Les résultats trouvés montrent que le meilleur rendement a été obtenu pour un système composé de : 5min de contact , C_{SDS}= 12CMC , C_{ant}= 0.04mg/ml et T= 25°C.

Mots clés : Amoxicilline, Ampicilline, Adsorption, Dodécylsulfate de sodium, Cetyltrimethylammonium bromide, HPLC.

SUMMARY

The issue regarding the presence and the potential risks to the continued discharge of pharmaceutical substances in the environment is an emerging pollution leading to the disruption of ecosystems and has a certain threat to public health.

In this study we have applied the method of adsorption by means of two surfactants: sodium dodecyl sulfate (SDS) and cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) to both antibiotics: amoxicillin and ampicillin. Treatment of aqueous solutions of these antibiotics was performed in aqueous media. In our study, we focused on the parameters that can influence the adsorption of antibiotics namely the contact time, stirring speed, initial antibiotic concentration and temperature. The results show that the best performance was obtained for a system composed of: 5min contact, C_{SDS} = 12CMC , C_{ant} = 0.04mg/ml and T = 25°C.

Key words: Amoxicillin, Ampicillin, Adsorption, sodium dodecyl sulfate, cetyltrimethylammonium bromide, HPLC.

INTRODUCTION

L'activité industrielle dans le monde entier génère chaque année plusieurs millions de tonnes de déchets industriels, conduisant aux énormes contraintes environnementales, Les effets de ces déchets nommés 'polluants' sur les écosystèmes, sur la santé humaine ou animale ont été évalués et des réglementations ont pu être décidées et mises en œuvre.

Néanmoins, d'autres classes de contaminants des milieux aquatiques sont apparues ces dernières années : les résidus médicamenteux qui ont été identifiés comme potentiellement toxiques, car les médicaments sont des substances actives sur les organismes vivants, humains ou animaux. Leur présence dans l'environnement pose la question sur leurs actions potentielles sur les organismes non ciblés. Ces molécules présentent une toxicité pour l'homme à des doses plus ou moins fortes qui sont décrites lors de l'acceptation des dossiers d'autorisation de mise sur le marché. Elles sont classées en fonction de leurs actions curatives ou préventives : analgésiques, antiépileptiques, hypolipémiants, antihypertenseurs, antibiotiques … [1]. La dernière classe de médicaments fait plus particulièrement l'objet d'études de par leurs effets sur les souches bactériennes. L'importance de ce problème d'ordre sanitaire et technologique nous a incité à s'intéresser à ce thème.

Parmi les options techniques considérées pour le traitement des effluents pharmaceutiques pour d'éventuelles réutilisations des eaux usées semble un objectif. Depuis toujours, le traitement des eaux usées s'est fait de manière biologique. Cependant, les stations de traitement biologiques ne peuvent pas traiter les substances difficilement biodégradables ou toxiques. Pour cela, durant la dernière décennie, beaucoup de recherches ont porté sur une nouvelle classe de techniques d'oxydation : les procédés d'oxydation avancée (POA) ainsi que l'élimination des produits pharmaceutiques par adsorption. Ces technologies ont déjà montré leur potentiel dans le traitement de polluants organiques toxiques et biologiquement réfractaires.

Le présent travail, mené au Laboratoire de Physicochimie à SAIDAL, a pour objet d'apporter une contribution à la purification des milieux aqueux contaminés par des antibiotiques au moyen de tensioactifs. Dans ce contexte, l'étude a porté sur le traitement d'un milieu aqueux complexe constitué par deux antibiotiques (amoxicilline et ampicilline) en utilisant principalement un tensioactif anionique qui est le dodécylsulfate de sodium (**SDS)** et un autre cationique qui est le Cetyltrimethylammonium bromide (**CTAB).** Ces antibiotiques ont été choisis à cause de leur forte utilisation sur l'échelle mondiale et leur impact environnemental.

L'efficacité du traitement appliqué a été évaluée en utilisant la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) après avoir optimisé les paramètres de détection et de quantification de deux antibiotiques cités avant.

Ce mémoire est structuré en quatre chapitres :

- Le premier chapitre comporte des notions générales sur les antibiotiques et des données bibliographiques concernant les problèmes causés par les résidus médicamenteux notamment les antibiotiques.
- Dans le deuxième chapitre, nous aborderons une description générale des notions de base concernant les tensioactifs, leur classification, leurs propriétés et leur utilisation.
- Dans le troisième chapitre on décrit les principales méthodes physiques d'analyse utilisées à l'heure actuelle notamment la chromatographie liquide à haute performance qui va être utilisé durant notre étude expérimentale.
- Le quatrième chapitre est consacré à la présentation des produits utilisés et des détails pratiques des techniques expérimentales employées en commençant par la détermination des concentrations micellaires critiques (CMC) de nos tensioactifs suivie de l'optimisation des conditions opératoires d'analyse par HPLC afin de fixer les paramètres de détection et de quantification des deux antibiotiques à éliminer. On procède par la suite à une étude paramétriques de quelques facteurs influençant le procédé de traitement du milieu complexe traité au moyen de tensioactifs.

Nous terminons par une conclusion générale, tout en proposant des perspectives pour la continuation de cette étude.

I.1 HISTORIQUES :

La découverte des antibiotiques, comme arme de combat dans la lutte entreprise par la médecine contre les multiples microorganismes, qui portent atteinte à la santé, a ouvert la voie à un progrès immense, en vue du traitement d'un grand nombre de maladies,

la Pénicilline découverte par le microbiologiste anglais 'Alexander Fleming' en1929 (la date capitale de l'histoire des antibiotiques). Il a identifié la moisissure a un pénicillium et a étudié ses propriétés inhibitrices., Le Professeur Fleming avait procédé la préconisation des possibilités d'utilisation en médicine de sa découverte ,mais heurta aux difficultés d'isolement du constituant,d'autres tentatives d'isolement furent effectuer en 1932 »Rais Trick »et « All » ;en1935 « Reid » misent ses résultats .

En 1885 'Babas' a postulé à Paris l'intervention des substances chimiques dans ce phénomène d'inhibition, et en 1897 'Duchesne' a soutenu à Lyon une thèse de médecine intitulée : « La concurrence vitale chez les microorganismes à l'antagonisme entre les moisissures et les microbes » dans laquelle il envisage d'éventuelles applications thérapeutiques entre toutes les recherches ultérieures sur les antibiotiques les plus importantes.

Le terme d'antibiotique dérive d'antibiose, Il a été utilisé en 1889 par Vuillemin pour désigner un type d'association de systèmes vivants, dans laquelle un organisme détruit un autre de façon à se maintenir en vie. [2]

I.1.1 Définitions des antibiotiques

La définition des antibiotiques a connu une évolution dans le temps ainsi :

- Waksman (1943) a défini les antibiotiques comme " toutes substances chimiques produites par les micro-organismes capables d'inhiber le développement et détruire les bactéries et d'autres micro-organismes".
- Turpin et Velu (1957) ont quant à eux défini les antibiotiques comme " tout composant chimique élaboré par un organisme vivant ou produit par synthèse, à coefficient chimiothérapeutique élevé dont l'activité thérapeutique se manifeste à très faible dose d'une manière spécifique par l'inhibition de certains processus vitaux à l'égard des virus, des microorganismes et de certains êtres pluricellulaires".

Les antibiotiques se définissent actuellement comme des molécules antibactériennes synthétiques ou naturelles (d'origine biologique) capables d'inhiber la croissance des bactéries ou les détruire, Ils ont une toxicité sélective ; ils sont toxiques pour les bactéries mais pas pour l'organisme.

Les sources principales des antibiotiques sont les champignons, mais aussi les bactéries, Il existe également des antibiotiques entièrement synthétiques .

D'après le même auteur les antibiotiques sont définis aussi par leur :

- activité antibactérienne (spectre d'activité).
- toxicité sélective (mode d'action). [3]
- bonne absorption et diffusion dans l'organisme (pharmacocinétique).

Actuellement, il existe plus de 10 000 molécules d'antibiotiques, mais seulement une centaine (dont un quart sont des pénicillines) sont efficaces et utilisables pour des applications thérapeutiques. Les autres sont trop toxiques, trop instables ou ont une biodisponibilité insuffisante chez l'Homme. La plupart des antibiotiques sont des molécules naturelles, synthétisées par des procaryotes, des champignons, des végétaux supérieurs, des animaux ou des lichens. [4]

Parmi celles-ci, les ß-lactamines, les tétracyclines, les aminoglycosides, les macrolides, les glycopeptides, les sulfamides et les fluoroquinolones sont les plus importants (Kümmerer 2009). [4]

I.2 CLASSIFICATION DES ANTIBIOTIQUES

On peut classer les antibiotiques actuelles d'après plusieurs critères, en différentes catégories :

a)- d'après leur spectre d'action, les antibiotiques peuvent posséder :

- spectre très large (ampicillines , céphalosporines, tétracyclines).
- spectre moyen à prédominance sur les microorganismes gram positif (pénicillines, etc…).
- spectre étroit, sur les microorganismes gram négatif (polymixine).

b)- d'après le mécanisme d'action :

- bactériostatiques.
- bactéricides.

c)- d'après leurs propriétés physico-chimiques, ou d'après leur charge électrique :

- antibiotiques de' caractère acide (pénicillines, céphalosporines, etc.)
- de caractère basique (rifamycine, macrolides, etc.…).
- antibiotiques de caractère amphotère (tétracycline, …)

d)- la classification la plus pertinente est celle élaborée selon la structure chimique : la classification chimique établie PERDY se compose de neuf groupês :

- antibiotiques aliphatiques.
- antibiotiques alicycliques.

- antibiotiques aromatique .
- antibiotiques macrocycliques (macrolides , …)
- antibiotiques-oxygène hétérocyclique.
- antibiotiques dans la famille des quinones,…
- antibiotiques-nitrogène hétérocycliques.
-tétracyclines.
- antibiotiques de la famille des aminoacides peptides, beta-lactamines, …

Les antibiotiques peuvent provenir de plusieurs sources parmi un total de quelques 10700 antibiotiques décrit environ 1600 proviennent de champignon, les principaux micro-organismes producteur des antibiotiques sont présentées au tableau ci-après : [2]

Tableau I.1 : Principaux micro organisme producteurs des antibiotiques **:**[3]

Origine	Pourcentage de production des antibiotiques
Lichens et algue	0.8%
Bactéries	
Pseudomonadaceasse	1.3%
Bacillaceae	7.0%
Autre eubactérie	1.7%
Champignon	4.1%
Penecillium	3.0%
Aspergillus	1.2%
Fusarium	0.8%
Cephalosporium	5.0%
Autre fungi perfecti	69.7%
Basidiomycètes et ascomycètes	
actinomycètes	

I.3 LES PENICILLINES

Les pénicillines sont des antibiotiques d'origine biologique ou semi synthétiques (figure **I.1**), Les pénicillines sont les moins toxiques utilisées en chimie et font partie de bêta – lactame.

Elles ont certaines propriétés en commun telles que :

- structure chimique de base de l'acide 6 Amino pénicillinique

- absence de toxicité avec présence de l'allergénique similaire
- capacité d'induction de la formulation de pénicillinases bactériennes variables selon la pénicilline et le germe présent.
- activité bactérienne résultant du mode d'action à prédominance sur les bactéries Gram+. Mais elles se distinguent entrent – elles par d'autres caractères. [5]

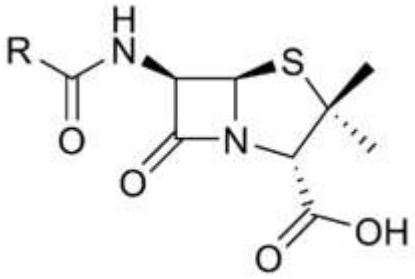


Figure I.1 : la structure chimique de la pénicilline. [6]

I.3.1 Classification des pénicillines selon l'origine

Les pénicillines sont classées en trois (03) catégories :

1 - Pénicilline Naturelle : obtenue par fermentation c'est-à-dire par la biosynthèse, comme la pénicilline G

2 - Pénicilline Biosynthétique : obtenue par la fermentation dirigée en présence des précurseurs, ajoutée au milieu de fermentation comme la Pénicilline V

3 - Pénicilline semi synthétique : obtenue par la synthèse chimique appelée semi synthèse en introduisant sur le carbone C6 différents radicaux (Ampicilline, Amoxicilline..).[5]

Tableau I.3.1 : Classifications des pénicillines selon leur origine.

ORIGINE	PENICILLINES
NATURELLLE	Pénicilline G, n-heptyl (pénicilline K) 2-pentenyl pénicilline (pénicilline F)
BIO SYNTHETIQUE	Pénicilline V, allyl mercaptomethyl pénicilline (Pénicilline O ou R_1 : H_2C=HC-CH_2-S-CH_2) Butyl mercaptomethyl pénicilline (pénicilline B.T)
SEMI SYNTHETIQUE	Propicilline, Synthecilline, Phenbecilline, Meticilline oxacilline, Ampicilline …..etc.

I.3.2 Les bêta -lactames

Tous les antibiotiques bêta -lactamines possèdent un cycle bâta -lactame commun dans leur molécules. Ils sont les plus utilisé à l'heure actuelle, car ils possèdent un spectre d'action large et une faible toxicité, ces antibiotiques possèdent de plus un second cycle :

1-Thiazolidine pour les pénicillines (naturelle, biosynthétique et semi synthétique) .

2-Dihydrothiozine pour les céphalosporines et céphamycines. [7]

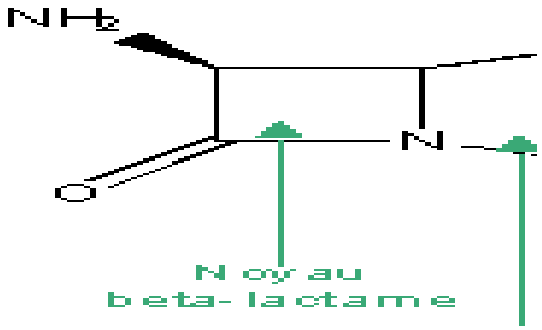


Figure I.2: Structure de la fonction de Bêta lactame.

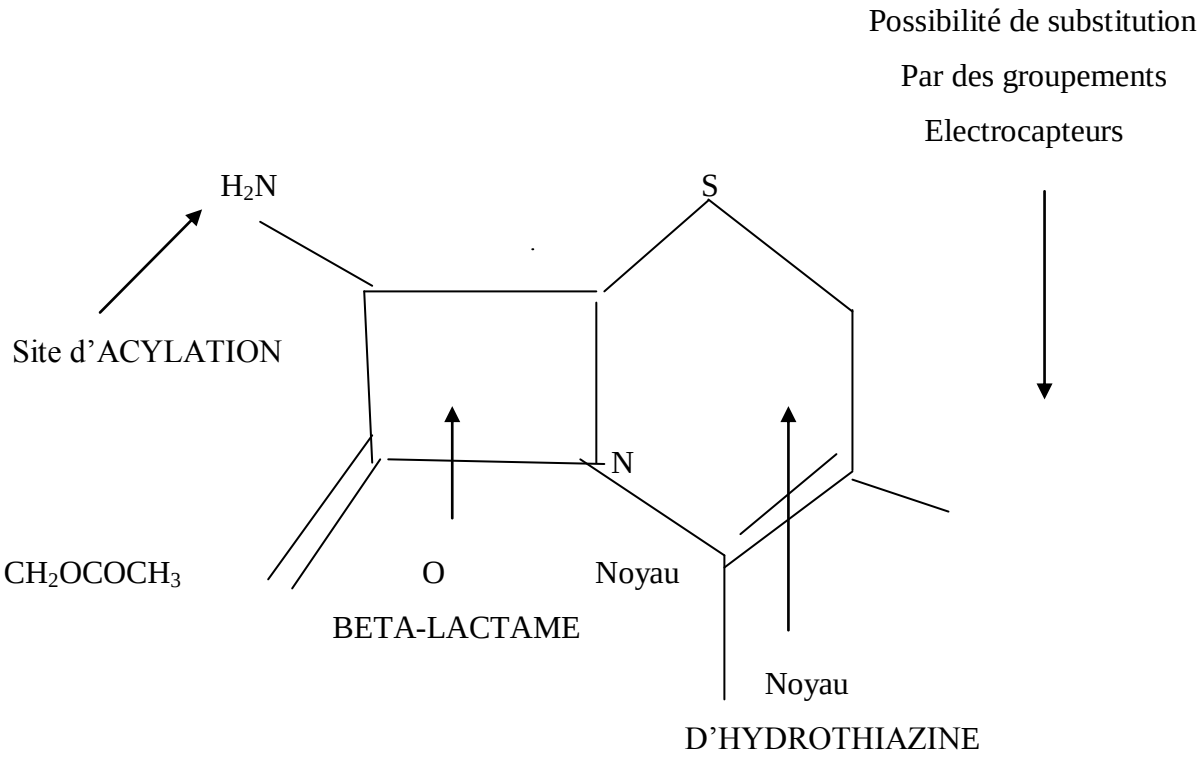


Figure I.3 : Structure de l' Acide 7- aminocéphalosporanique

I.4 L'AMOXICILLINE ET L'AMPICILLINE TRIHYDRATEE $3H_2O$ (ORALE)

L'Amoxicilline trihydratée est comme l'ampicilline, dérivé de l'acide 6-amino pénicillinique. Mais, il a une activité bactérienne plus efficace que l'ampicilline grâce à ces propriétés pharmacocénotiques. La formule brute est $C_{16}\ H_{19}\ N_3\ O_5\ S.\ 3H_2O$ et sa masse moléculaire est de 419,45 g/mol. Il se trouve sous forme de sirop et de gélules dispersibles. Chimiquement l'amoxicilline trihydratée ($3H_2O$) représente :

(2R, 5R, 6R) -6 [[2R)-2-amino-2-(4 hydroxy phényl) acétyl] amino]-3 ; 3-diméthyl-7-oxo-4-thia-1-azabi cyclo [3,2,0] heptane -2-carboxilique, calculé par rapport à la substance anhydre. [8]

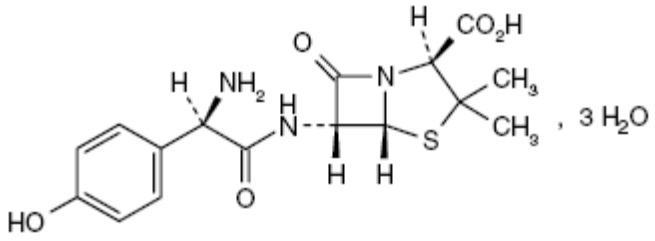


Figure I.4. : Structure chimique de l'amoxicilline $3H_2O$

L'ampicilline trihydratée est une poudre blanche, cristalline peu soluble dans l'eau, Insoluble dans les alcools.

sa formule brute : $C_{16}H_{19}N_3O_5S.3H_2O$ et sa masse moléculaire est de 403.5 g/mol. Chimiquement l'ampicilline trihydratée ($3H_2O$) représente :

(2S,5R,6R)-6-[[(2R)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid,

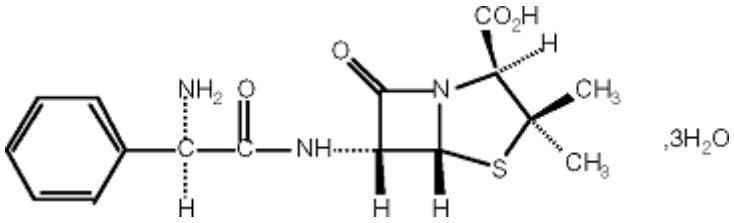


Figure I.5 : Structure chimique de l'ampicilline $3H_2O$

I.4.1 L'amoxicilline sodique (injectable)

I.4.1.a Définition :

L'amoxicilline sodique est une autre forme de l'amoxicilline. Sous forme injectable. Il a la même activité bactérienne que l'amoxicilline $3H_2O$ mais par contre c'est une forme la plus stable et donne une réponse biologique rapide.

Sa formule est : $C_{16}H_{18}N_3NaO_5S$ et sa masse moléculaire est de 387,39 g/mol

Chimiquement l'amoxicilline sodique représente :

(2R, 5R, 6R) -6[[2R)-2-amino-2-(4 hydroxy phényl) acétyl] amino]-3 ,3-diméthyl-7-oxo-4-thia-1- azabi cyclo [3, 2,0] heptane -2-carboxylate de sodium.

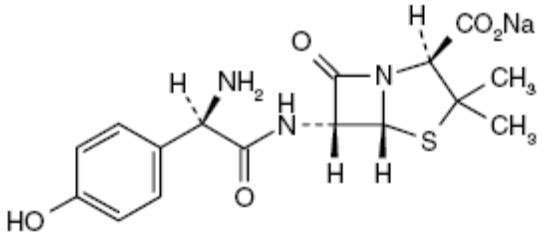


Figure I.6 : Structure chimique de l'amoxicilline sodique.[8]

I.4.2 L'ampicilline sodique :

Facilement soluble dans l'eau, sa formule est : $C_{16}H_{18}N_3NaO_4S$ et sa masse moléculaire est de 371.4g/mol.

Chimiquement l'ampicilline sodique représente :

(2S,5R,6R)-6-[[(2R)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-

7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylate,

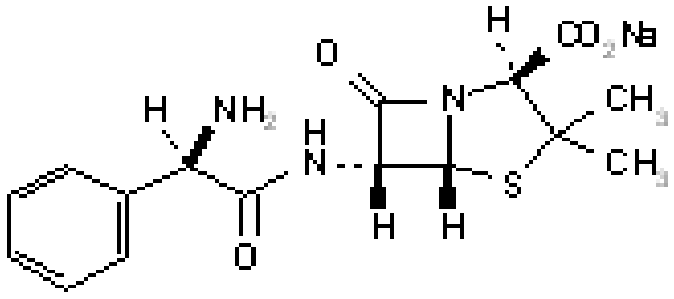


Figure I.7. : Structure chimique de l'ampicilline sodique

I.5 LA STABILITE DES ANTIBIOTIQUES :

IL y a plusieurs facteurs qui influent sur la stabilité des antibiotiques, on cite :

- Le pH de la solution.
- La température de stockage.
- Le taux d'humidité (emballage et milieux).
- La durée de stockage. [9]

I.5.1 Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques des molécules sont déterminantes pour leur devenir dans l'environnement. La solubilité, le coefficient de partage, le potentiel d'adsorption, la volatilisation, degré d'ionisation et la bioacummulation sont des paramètres qui permettent d'évaluer l'exposition potentielle à une substance chimique dans l'environnement.

- Volatilisation :

Les constantes de Henry des antibiotiques sont très faibles, de négligeable à 2 x 10-26 Pa L mol-1, indiquant que ceux-ci sont très peu susceptible d'être volatilisés et cela même à partir d'une solution. Néanmoins, ceci n'exclu pas la possibilité de transferts vers le compartiment atmosphérique à l'état absorbé sur des aérosols particulaires.

- Hydrosolubilité :

La solubilité des antibiotiques est très variable de l'ordre de quelques mg (acide oxolinique : 4 mg L-1) à quelques centaines de g L-1 (norfloxacine 178 g L-1). Elle n'est toutefois pas définie pour diverses molécules

- Liposolubilité :

Les antibiotiques ont généralement des coefficients de partage [octanol/eau] inférieurs à 3, seuil à partir duquel on considère qu'une substance est lipophile et donc potentiellement bioaccumulable.

- Répartition phase dissoute/particulaire :

Le K_d est le coefficient de partage d'une molécule entre la phase particulaire et la phase dissoute. Plus la valeur est élevée plus la molécule aura tendance à s'adsorber, et inversement, des valeurs faibles, traduit un caractère hydrophile avec un risque accru d'infiltration dans sol. Les antibiotiques ont des valeurs K_d très variables de 0,3 à 6310 L kg^{-1} selon les composés et la nature de sol , donc leurs adsorptions et leurs mobilités sont variables dans les sols. [4]

I.6 SOURCE ET DEVENIR DANS L'ENVIRENNEMENT

I.6.1 Usages et niveaux de consommation

Les antibiotiques sont utilisés en médecine humaine et vétérinaire à des fins préventives ou curatives. Certaines molécules sont polyvalentes ou à large spectre d'utilisation, d'autres sont spécifiques avec des usages en médecine humaine ou vétérinaire.

On a estimé que la quantité d'antibiotique utilisé au niveau mondial était de 100 000 à 200 000 tonnes par an. La comparaison des chiffres des différentes familles d'antibiotiques indique que les familles les plus utilisées ne sont pas identiques en médecines humaine et vétérinaire. En médecine humaine les antibiotiques les plus employés sont des β-lactamines (60 %), ensuite ce sont des macrolides, streptogramines et les fluoroquinolones représentent environ 15 %. En médecine vétérinaire les tétracyclines représentent à elles seules près de la moitié des ventes totales (40 %), ensuite, ce sont les associations des sulfamides et triméthoprimes (20%) (Figure **I.8.**). [4]

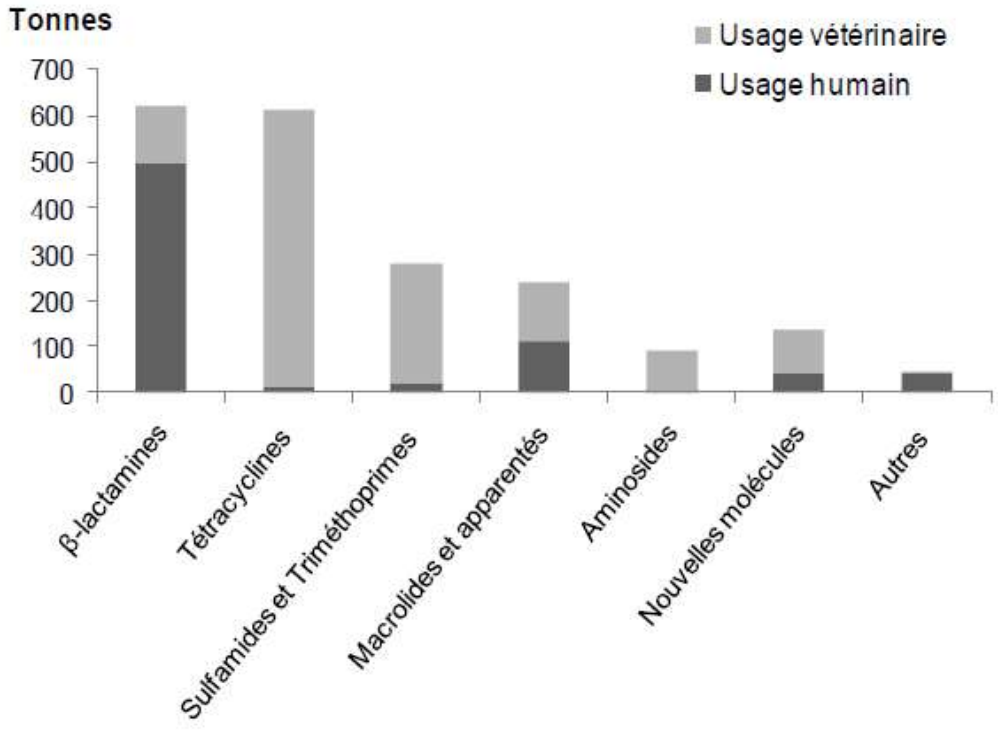


Figure I.8. : Parts des médicaments humains et vétérinaires dans les ventes des familles d'antibiotiques en Europe en 2002. [4]

I.6.2 Les sources des médicaments

Les résidus de médicaments humains ont pour origine les effluents des hôpitaux et pour la médecine de ville, les réseaux d'évacuation des eaux usées contenant les excrétas des patients. Ces effluents chargés de résidus sont traités dans la station d'épuration avant de rejoindre le milieu aquatique. En revanche, les résidus vétérinaires rejoignent l'environnement sans stade d'épuration. Le cheminement des effluents issus de l'usage vétérinaire est complexe à suivre ; en effet les effluents d'élevage peuvent rejoindre les eaux souterraines par percolation des excréments animaliers (lors des pâtures) et par épandage des lisiers agricoles. Dans les effluents d'élevage industriels, trouvent des concentrations pouvant aller jusqu'à plusieurs milligrammes de tétracyclines par gramme de lisier de porcs ou de moutons.

A partir des laboratoires de fabrication des substances pharmaceutiques, des résidus de synthèse comme des solvants sont encore rejetés. Avec le développement des techniques analytiques, la quantification de ces substances est réalisable dans les diverses compartiments environnementaux tels que les eaux usées urbaines, les boues des stations d'épuration, les effluents d'élevage, les sols amendés par ces produits, les eaux de surface, les eaux souterraines, les eaux potables et les eaux estuariennes et côtières (Figure **I.9)**. [4]

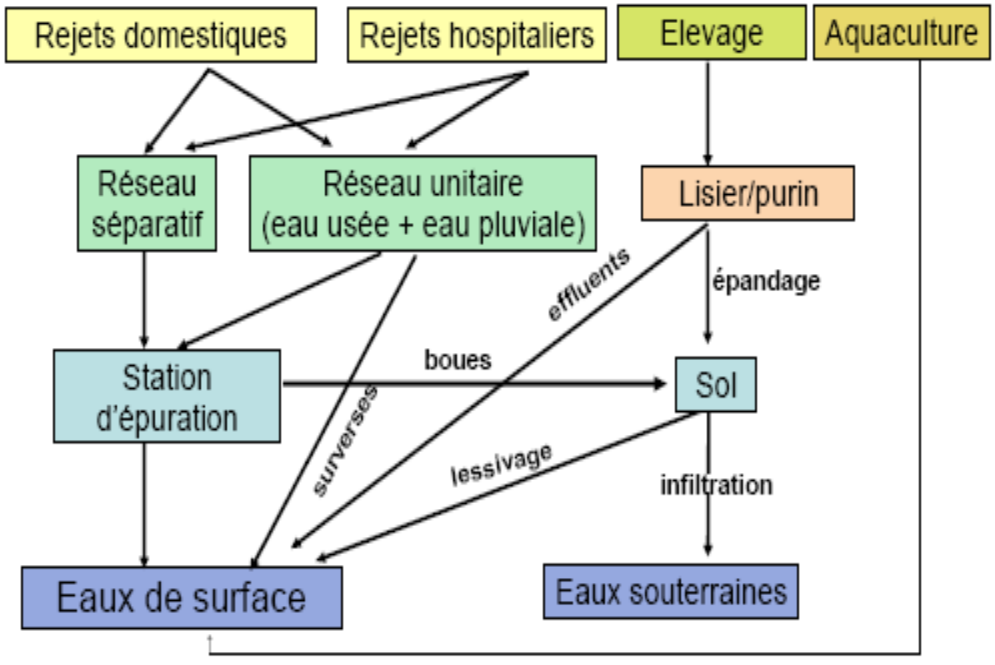


Figure I.9. : Les différentes sources de contamination par les médicaments. [4]

I.6.3 L'usage des antibiotiques

Leur usage intensif en médecine humaine et animale présente deux conséquences en matière d'impact environnemental : la présence de résidus actifs et la sélection de bactéries antibiorésistantes. Des bactéries antibiorésistantes (en plus de celles existant naturellement) sont diffusées à partir des zones de sélection prioritaire telles que les élevages ou les établissements de soins. [4]

II.1 HISTORIQUE

Parmi tous les tensioactifs que nous connaissons aujourd'hui, le plus ancien est le savon. Les premiers utilisateurs de savon auraient été les Sumériens en 2500 av. J.C. Ils fabriquaient les pains de savon à partir d'huiles végétales ou animales, de cendre d'os ou de bois et d'extraits de plantes parfumées. L'apparition du savon, tel que nous le connaissons aujourd'hui, aurait eu pour cadre la ville de Savone, en Italie, d'où il tire son nom. Pendant des siècles, le savon servait d'onguent, de cosmétique, de remède. Il faut attendre le Moyen-Age pour que le savon soit utilisé pour laver le linge. Il restera pendant longtemps un produit de luxe et deviendra accessible à toutes les bourses qu'au tournant du XXème siècle. C'est en 1916 que le premier détergent complètement synthétique, le « Nekal a », fut créé en Allemagne. A partir des années 50, le savon se voit remplacé par des tensioactifs de synthèse dans les formulations détergentes. Les tensioactifs, tels que nous les connaissons aujourd'hui, sont donc relativement récents.[10,11]

II.2DEFINITION

Une molécule tensioactive est une molécule organiques amphiphiles, elle se définit par la présence conjointe d'une partie hydrophile, qui présente une forte affinité pour les molécules d'eau et d'une partie hydrophobe (lipophile) que les molécules d'eau ont plutôt tendance à fuir (Figure **II.1**). La tête hydrophile est généralement constituée d'un ion ou d'un groupement possédant un moment dipolaire et la queue hydrophobe d'une ou de plusieurs chaînes aliphatiques. Lorsqu'elles se trouvent à l'interface eau-air, les molécules amphiphiles ont tendance à diriger leur tête hydrophile vers l'eau et leur queue hydrophobe vers l'air, ce qui a pour conséquence de modifier l'énergie de l'interface, C'est l'antagonisme de cette structure qui lui confère ses propriétés particulières.[11]

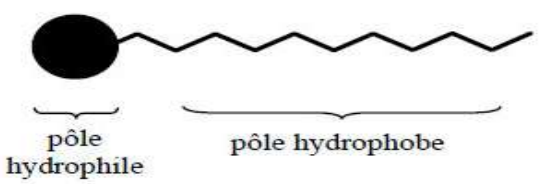


Figure II.1 : Représentation schématique d'un tensioactif.

II.3 CLASSIFICATION[11]

Les agents tensioactifs sont historiquement répartis selon la charge qu'ils libèrent en solution aqueuse. Il en existe ainsi quatre grandes classes : cationiques, anioniques, amphotères et non ioniques.

II.3.1 Tensioactifs anioniques :

Les surfactants anioniques se dissocient en un anion amphiphile, et un cation qui est en général un métal alcalin ou un ammonium quaternaire (Figure**II.3.1**). A ce type appartiennent les détergents synthétiques comme les alkylbenzènesulfonates, les savons tels les sels de sodium d'acides gras, les agents moussants comme le lauryl sulfate, les dispersants du type lignosulfonate, etc. La production des surfactants anioniques représente environ 55 % des surfactants produits annuellement dans le monde.

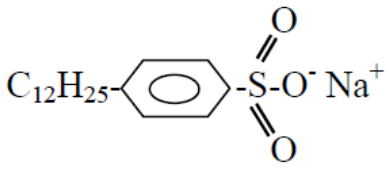


Figure II.3.1: Exemple de tensioactif anionique (Dodécyl benzène sulfonate de sodium)

II.3.2 Tensioactifs cationiques :

Ils se dissocient en solution aqueuse en un cation organique, et un anion généralement de type halogénure. La grande majorité de ces surfactifs sont des composés azotés de type sel d'amine grasse ou d'ammonium quaternaire (Figure **II.3.2**). Ces surfactifs sont beaucoup plus chers à fabriquer que les antérieurs, et de ce fait on ne les utilise que dans des applications particulières qui font appel à leur propriété bactéricide, ou à leur capacité de s'adsorber facilement sur des substrats biologiques ou inertes possédant une charge négative. Cette adsorption en fait d'excellents agents antistatiques, hydrophobants et mêmes inhibiteurs de corrosion, utilisés dans les produits tant industriels que d'usage domestique.

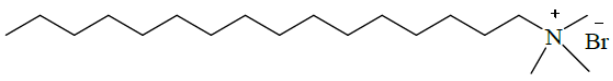


Figure II.3.2 : Exemple d'un tensioactif cationique (bromure d'hexadécyletriméthylammonium)

II.3.3 Tensioactifs non ioniques :

Ils viennent au deuxième rang par ordre d'importance industrielle avec un peu moins de 40 % du total. En solution aqueuse ils ne s'ionisent pas, car ils possèdent un groupe hydrophile du type alcool, phénol, ester, éther ou même amide. Une forte proportion de ces surfactifs sont rendus relativement hydrophiles grâce à la présence d'une chaîne polyéther de type poly-oxyde d'éthylène. En ce qui concerne le groupe hydrophobe, c'est souvent un radical alkyle ou alkylbenzène, et parfois une structure d'origine naturelle comme un acide gras quand une basse toxicité est indispensable (Figure **II.3.3**).

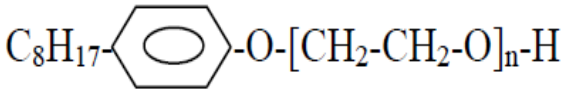


Figure II.3.3 : Exemple de tensioactif nonionique (Octylphenol poly-éthoxylé)

II.3.4 Tensioactifs amphotères :

Les surfactants dits amphotères possèdent deux groupes fonctionnels, l'un anionique, l'autre cationique (Figure **II.3.4**). Dans la plupart des cas, c'est le pH qui détermine le caractère dominant du fait qu'il favorise l'une ou l'autre des dissociations possibles : anionique à pH alcalin, cationique à pH acide. Près de leur point isoélectrique, ils sont réellement amphotères, c'est-à dire qu'ils possèdent les deux charges à la fois, et présentent souvent un minimum d'activité superficielle. Ces surfactants sont en général très peu irritants, compatibles avec les autres surfactants et dans la plupart des cas, ils peuvent s'utiliser dans des formules pharmaceutiques ou cosmétiques.

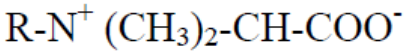


Figure II.3.4 : Exemple de tensioactif amphotère (Alkyl bétaine)

II.4PROPRIETES DES AGENTS TENSIOACTIFS

Les deux propriétés essentielles des composés tensioactifs qui permettent de comprendre les phénomènes observés et qui déterminent leurs domaines d'application sont :

- l'adsorption aux interfaces qui provoque une diminution des tensions interfaciales. Cette propriété est responsable des phénomènes de mouillage, de dispersion, de détergence et d'émulsification ;
- l'autoagrégation en solution ou micellisation qui gouverne les propriétés de solubilisation et de micro - émulsification.

II.4.1. Adsorption aux interfaces

Un tensioactif est un composé chimique qui, dissous ou dispersé dans un liquide, possède la propriété surprenante de s'adsorber aux interfaces, ce qui détermine un ensemble de propriétés physico-chimiques d'intérêt pratique [13]. En effet, les molécules tensioactives comportant une partie hydrophile et une partie lipophile ont tendance à s'orienter, à se concentrer, aux interfaces de façon à accroître les interactions attractives (partie hydrophile/eau et partie lipophile/phase lipophile).Ce phénomène d'adsorption (concentration plus importante à la surface qu'à l'intérieur de la phase liquide) apparaît aussi bien aux interfaces liquide – liquide, liquide – solide qu'aux interfaces liquide-gaz. Cette adsorption du tensioactif provoque une diminution de la tension interfaciale entre les deux phases considérées selon la loi de Gibbs ; la diminution de la tension interfaciale est fonction de la concentration en tensioactif à l'interface (excès superficiel) et donc de l'aire occupée par le tensioactif à l'interface. Lorsque l'interface est saturée, la tension interfaciale est minimale et constante.

L'adsorption des tensioactifs aux interfaces et la diminution consécutive de la tension interfaciale sont responsables des deux phénomènes suivants :

- la dispersion est favorisée puisque l'énergie nécessaire à l'augmentation de l'aire de l'interface est d''autant plus faible que la tension interfaciale est faible. Ce concept s'applique aussi bien aux dispersions liquide – liquide (émulsions), aux dispersions solide – liquide (suspensions) qu'aux dispersions air— liquide (mousses) ;
- le mouillage est favorisé par la diminution de la tension interfaciale solide liquide. Ce concept s'applique au mouillage d'une surface hydrophile par une huile.[14]

Le diagramme schématisant la diminution de la tension superficielle suite à l'augmentation de la concentration en tensioactif comprend plusieurs zones bien distinctes, numérotées A, B, C comme sur la figure**II.4.1**. [14]

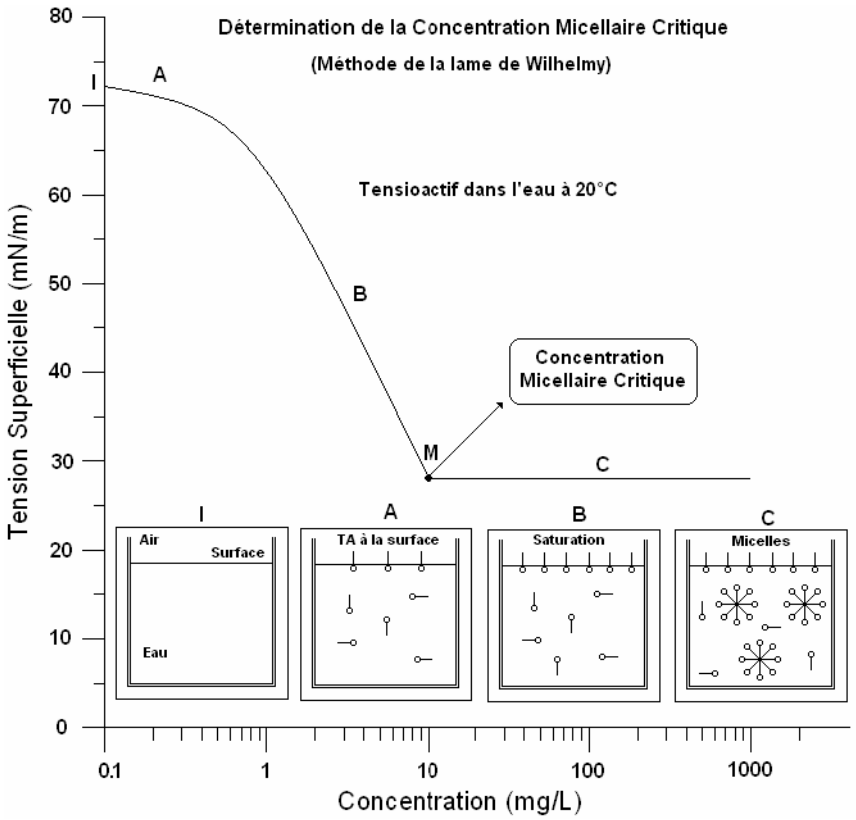


Figure II.4.1: Diminution de la tension superficielle par addition d'un agent tensioactif. [14]

- Dans la zone A, [dγ/d logc] diminue, donc l'excès superficiel du tensioactif, Γmax, augmente avec la concentration en tensioactif.
- Dans la zone B, [dγ d log c] est constant, signifiant que la concentration superficielle d'excès reste théoriquement constante : l'interface est proche de la saturation en tensioactif. L'abaissement de la tension superficielle traduit uniquement la variation du potentiel chimique.
- Dans la zone C, la tension superficielle est constante, donc [dγ/d log c] est nul, l'interface est toujours saturée en tensioactif.

II.4.2 Micellisation

II.4.2.1 Description du phénomène

En solution à faible concentration, un tensioactif est présent sous forme de monomères, dont une partie est située à l'interface solution-air. L'augmentation de la concentration en tensioactifs engendre une saturation progressive de l'interface. Au-delà de cette saturation, les molécules de monomères s'organisent pour former des agrégats moléculaires appelés micelles, mesurant entre 0,001 et 1 µm, afin de minimiser les contacts entre les parties hydrophobes des molécules de tensioactifs et les molécules d'eau. Le phénomène de micellisationpeut être rencontré dans divers solvants.[13]

Les micelles sont de petits assemblages de molécules amphiphiles qui mettent leurs chaines hydrocarbonées à l'abri de l'eau, tout en gardant leurs groupes polaires en surface de l'assemblage, immergés dans l'eau (Teixeira da Silva, 2004). La force motrice de la micellisation est donc l'attraction des chaînes hydrophobes entre elles et leur répulsion pour l'eau.[14]

II.4.2.2 Définition de la CMC

La CMC est définie comme étant la concentration au-delà de laquelle les molécules de tensioactifs s'auto associent et s'arrangent sous forme d'agrégats particuliers appelés micelles (Figure **II.4.2.2**).

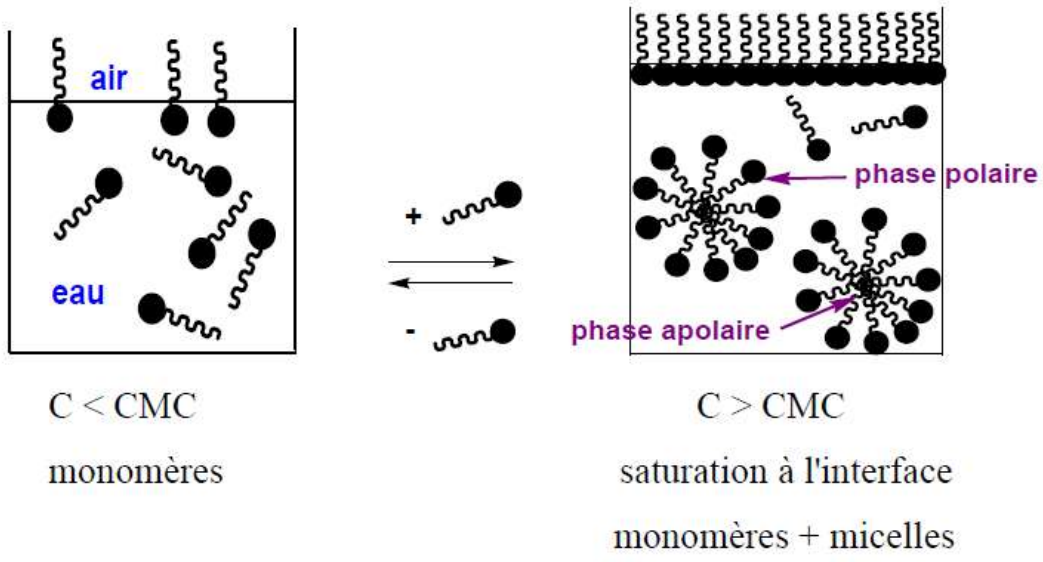


Figure II.4.2.2.a: concentration micellaire critique. [13]

A la CMC, de nombreuses propriétés physico-chimiques subissent une brusque discontinuité (Figure **II.4.2.2.b**). La valeur de la CMC mesurée varie légèrement suivant la méthode retenue pour la déterminer. Expérimentalement, la CMC est déterminée par une rupture de pente sur une courbe représentant la variation d'une propriété en fonction de la concentration en tensioactif. La connaissance de cette valeur permet donc de prévoir certains domaines d'applications pratiques de ces molécules. [13]

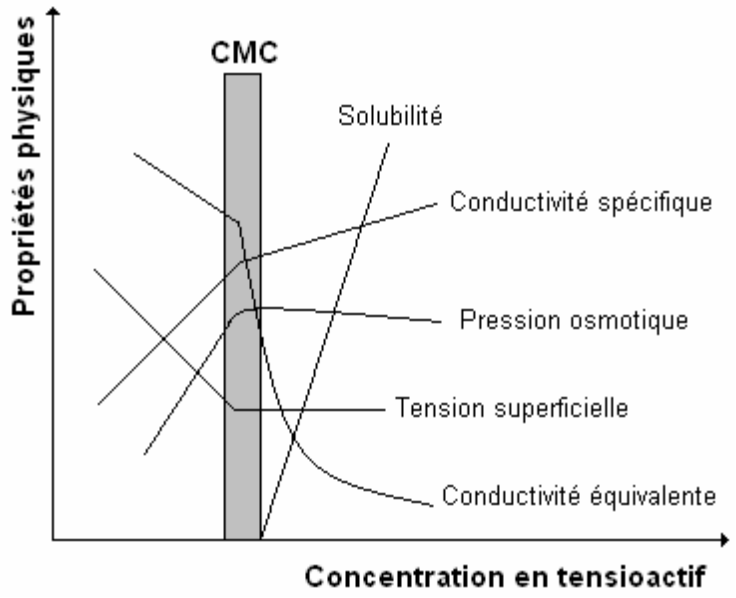


Figure II.4.2.2.b: Evolutions de différentes propriétés physico-chimiques d'une solution en fonction de la concentration en tensioactifs. [13]

II.4.2.3Facteurs influençant la CMC

La valeur de la CMC est une caractéristique du tensioactif qui dépend, en plus de sa nature chimique, de plusieurs facteurs externes.[14]

A. Effet de la structure du tensioactif

La valeur de la CMC dépend essentiellement de la nature des parties hydrophobe et hydrophile du tensioactif. En général, pour une chaîne hydrophobe identique, les tensioactifs contenant une tête ionique ont une CMC plus élevée que ceux portant des groupements neutres. Ceci est du aux répulsions électroniques entre les têtes polaires voisines de monomères de tensioactifs à l'intérieur des micelles. La partie hydrophobe a un impact plus important sur la valeur de la CMC. De manière générale, l'augmentation de

l'hydrophobie en allongeant la partie apolaire du tensioactif a pour conséquences d'augmenter la tendance du tensioactif à s'auto-associer en solution au dessus de la CMC. [15]

B. Effet de l'ajout d'électrolyte

L'ajout d'électrolyte à une solution micellaire peut avoir une influence importante sur les propriétés d'un système de tensioactifs ioniques. Selon Mukerjee (1967), le changement de la CMC du tensioactif en présence de sel peut être attribué aux effets « salting out » ou « salting in » sur les différents groupements hydrophobes du tensioactif. En effet, les interactions entre l'eau et les ions peuvent avoir un effet sur le coefficient d'activité du sel. Si la concentration en sel augmente, le coefficient d'activité augmente provoquant un effet « salting out », dans le cas inverse, le sel solubilisé provoque un effet « salting in ». L'ajout de sel provoque la diminution des forces de répulsion électrostatiques entre les têtes polaires, cela favorise l'agrégation des tensioactifs. Il en résulte une diminution de la CMC.[16]

C. Effet d'un additif organique

La solubilisation d'une substance organique dans des micelles de tensioactif a une influence remarquable sur la CMC. La substance solubilisée va être plus ou moins soluble dans l'eau et elle va modifier la structure quasi-cristalline de l'eau. Il peut y avoir deux effets :

- Une molécule organique stabilisant la structure de l'eau aura tendance à diminuer la CMC.
- Tandis qu'une molécule démolissant la structure de l'eau tendra à augmenter la CMC. Ainsi, plus la substance active à solubiliser est hydrophobe, plus les tensioactifs s'agrègent vite donc plus la CMC est faible. [17]

D. Effet de la température

On observe deux effets contraires dans le cas des tensioactifs ioniques. Selon la relation entre l'énergie libre standard de Gibbs et le phénomène de micellisation, il existe une dépendance de la CMC à la température d'après Tokuhiro et Ionescu. A des températures plus élevées il peut y avoir une légère augmentation de la CMC car une élévation de la température augmente l'agitation thermique. Un effet contraire induit une

diminution de la couche d'hydratation, donc, une diminution de la CMC. Le bilan des deux effets mis en jeu déterminera l'effet de la température sur la micellisation.[17]

II.5. SOLUBILITÉ DES TENSIOACTIFS

La solubilité des tensioactifs dans l'eau ou dans les hydrocarbures varie en fonction de l.'importance relative de leurs parties hydrophobes et hydrophile (balance hydrophobe / lipophile).

En ce qui concerne la variation de solubilité des tensioactifs dans l.'eau avec la température, la solubilité dans l.'eau des tensioactifs ioniques croît brusquement à partir d'une certaine température appelée point de Kraft ou température critique de micellisation. La connaissance du point de Kraft est souvent nécessaire et, dans la plupart des applications, il est indispensable de choisir un tensioactif dont le point de Kraft soit inférieur à la température d'utilisation.[14]

II.6LES DIFFÉRENTS POUVOIRS DES TENSIOACTIFS [18]

Les tensioactifs constituent l'une des grandes familles d'auxiliaires chimiques. Ils ont la particularité de posséder des propriétés multiples qui leurs confèrent le pouvoir de présenter de plusieurs rôles :

II.6.1 Pouvoir solubilisant

Les solutions d'agents de surface, au-delà de leur CMC, ont la propriété d'augmenter la solubilité apparente des composés pas ou peu solubles dans l'eau, soit en incluant dans la micelle des molécules de produits, soit en formant des micelles mixtes avec le produit à solubiliser. Ce phénomène est mis à profit, par exemple, dans la teinture des fibres polyesters ou pour la polymérisation en émulsion.

II.6.2 Pouvoir moussant

Il est lié aux caractéristiques mécaniques des films superficiels qui constituent les parois des bulles de la mousse. Certais tensioactifs ont la capacité de former rapidement des couches interfaciales et superficielles, assez résistantes pour ne pas céder à la pression interne de l'air emprisonné et à la pression externe des moléculesd'eau, mais également assez élastiques pour encaisser sans éclater tous les petits chocs mécaniques au cours de leur déplacement. Cette propriété est mise à profit principalement dans les shampooings, les produits douche et les forages à mousse.

II.6.3 Pouvoir anti-moussant

A l'opposé, les anti-mousses sont des produits susceptibles de se rassembler aux interfaces et de désorganiser les films superficiels en faisant chuter leurs propriétés mécaniques.

II.6.4 Pouvoir émulsionnant

Il permet de disperser et de maintenir en suspension un liquide dans un autre liquide non miscible. Les applications des émulsions sont très nombreuses, notament en cosmétique, car elles permettent de présenter des principes actifs les plus souvents présents dans les corps gras sous des formes directement utilisables car dispersées dans une quantité d'eau suffisante.

II.6.5 Pouvoir mouillant

Il favorise l'étalement d'un liquide sur une surface lisse et augmente la vitesse de pénétration dans les substances poreuses. Cette propriété est mise à profit quand une solution traitante doit agir sur une surface lisse (lavage des sols, traitement phytosanitaire des feuilles…) ou lorsque des corps poreux doivent etre traités par une solution aqueuse (teinture et blanchiement des textiles) .

II.6.6 Pouvoir dispersant

Il augmente la stabilité des suspensions de petites particules solides dans un liquide en évitant leur agrégation. Cette caractéristique est utilisée pour des dispersions de boues de forage et de pigments dans les peintures.

II.6.7 Pouvoir détergeant

Il permet, aux agents de surface, de détacher d'un support les produits qui le souillent et de les maintenir en dispersion. Il résulte principalement de la conjugaison des pouvoirs mouillant, émulsionnant et dispersant. Il n'existe pas de détergent universel et chaque application nécessite le choix des produits et d'une formulation.

II.7. LES DOMAINES D'APPLICATIONS

Les domaines d'application des tensioactifs sont multiples. Ils jouent le rôle soit de matière première de base pour la formulation de produits détergents ou cosmétiques, soit de produits auxiliaires dans les procédés de fabrication de l'industrie textile, des métaux, du cuir ou du pétrole. Trois grands secteurs d'activité se partagent le marché, à savoir les secteurs de la détergence, de la cosmétique et des usages industriels.[14]

II.7.1 Secteur de la détergence

Les tensioactifs entrent dans la formulation de tous les détergents et représentent en moyenne 20% de leur composition. Il convient de distinguer la détergence ménagère et la détergence industrielle, cette dernière concernant en grande partie le secteur de l'agroalimentaire. La détergence ménagère quant à elle regroupe plusieurs classes de produits tels que les lessives, les adoucissants, les produits vaisselle et les produits d'entretien. À noter que le secteur des lessives est le plus gros consommateur de tensioactifs avec plus de 50% du marché.

II.7.2 Secteur de la cosmétique

On distingue deux grands domaines, la cosmétique rincée (produits d'hygiène lavants tels que les shampooings, gels douches, dentifrices) et la cosmétique blanche (produits de beauté tels que les crèmes, laits, maquillages et autres produits de soin). La cosmétique rincée utilise les tensioactifs pour leur propriété détergente tandis que la cosmétique blanche privilégie le pouvoir adoucissant et émulsifiant.

II.7.3 Secteur industriel

Outre la détergence et la cosmétique, les domaines d'application des tensioactifs sont nombreux: les industries des additifs alimentaires, des céramiques, des matières plastiques, des peintures, du cuir, du papier, du pétrole, du phytosanitaire et engrais, également la métallurgie et le textile.[19]

III.1 LA SPECTROSCOPIE UV- VISIBLE

III.1.1 LES TECHNIQUES SPECTROSCOPIQUES

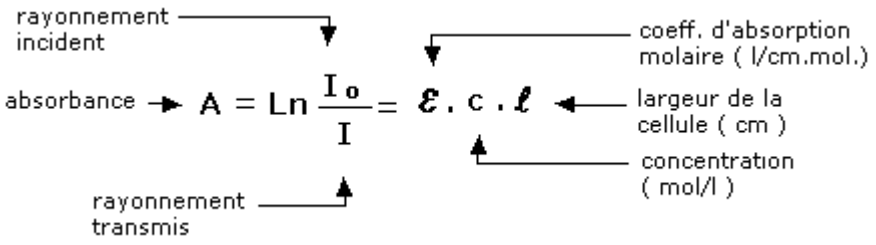
Découverte par Bensen et kirchhoff, la spectroscopie est aujourd'hui la technique la plus utilisées en chimie, physique et biologie pour extraire des informations du monde microscopiques.

Les techniques spectroscopiques sontparmi les nombreuses méthodes instrumentales utilisées pour déterminer la concentration d'une espèce chimique en solution, les méthodes les plus courantes sont celles basées sur la mesure de l'intensité d'absorption ou d'émission (spectrophotométrie) d'un rayonnement électromagnétique par les espèces à doser. Les rayonnements les plus souvent utilisés sont l'ultraviolet (UV), la lumière visible et l'infrarouge (IR). Le domaine du visible et de l'UV a été abondamment étudié et ce depuis longtemps. Mais s'il est indispensable pour une approche expérimentale de la nature de la liaison chimique. Son emploi est de plus en plus réservé à l'analyse quantitative via la loi de Beer-Lambert.

III.1.2 PRINCIPE DES METHODES SPECTROSCOPIQUES [20]

Le principe de l'utilisation de la spectrophotométrie pour l'analyse quantitative est basé sur le fait que l'intensité d'absorption (ou d'émission) est fonction de la concentration de la particule qui absorbe (ou qui émet) de la lumière.

Lorsque d'une lumière monochromatique d'intensité I_o traverse un milieu homogène, l'intensité de la lumière émergente I décroît selon une fonction exponentielle lorsque l'épaisseur l du milieu absorbant augmente (voir figure**III.1**) . Si on étudie principalement des solutions, la loi de Beer fait intervenir les concentrations et s'exprime sous la forme suivante :



où ε est le coefficient d'extinction molaire ($l \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$), c est la concentration de la solution ($mol^{-1} \cdot l$), **l** est le **chemin optique** (cm). Le rapport **I/I_0** est appelé la **transmission** aussi appelée « **transmittance**» et notée T, celle-ci est reliée à la **densité optique**, Daussi appelée « **absorbance** » par la relation :

$$D = \log 1/T$$

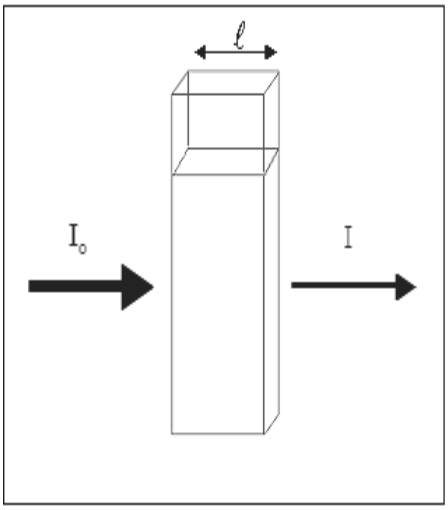


Figure III.1 : schéma du principe des méthodes spectroscopiques d'absorption.

III.1.3 LA SPECTROSCOPIE UV- VISIBLE

Cette méthode est basée sur l'utilisation d'un spectrophotomètre qui détermine l'absorption d'une solution pour une longueur d'onde donnée ou pour une plage de longueurs d'ondes judicieusement choisie. Le domaine UV s'étale entre 10 et 400 nm mais la plupart des spectroscopes ont comme limites 190 à 400 nm. De plus, ces appareils permettent aussi d'accéder aux longueurs d'ondes visibles, entre 400 et 750 nm.

L'énergie E ($E = hc / \lambda$) absorbée par la substance à analyser provoque des transitions électroniques entre un niveau fondamental et un niveau excité. La spectroscopie UV- visible s'occupe des électrons de valence. Les transitions possibles seront donc entre les électrons des orbitales moléculaires (OM) liantes ou non liantes et orbitales moléculaires anti-liantes.Les trois types d'OM rencontrées dans les molécules organiques (en absence de métaux de transition) sont les OM non liantes (n), les OM liantes σ et π ou antiliantes σ* et π*.

III.1.4 SPECTRE D'ABSORPTION (OU SPECTRE ELECTRONIQUE)

Les spectres d'absorption sont la représentation de l'absorbance de la substance en fonction de la longueur d'onde variable. Sur ces spectres (figure **III.2**), chaque transition électronique correspond à une bande d'absorption bien déterminée avec un maximum d'absorbance pour une valeur de longueur d'onde notée λ_{max}

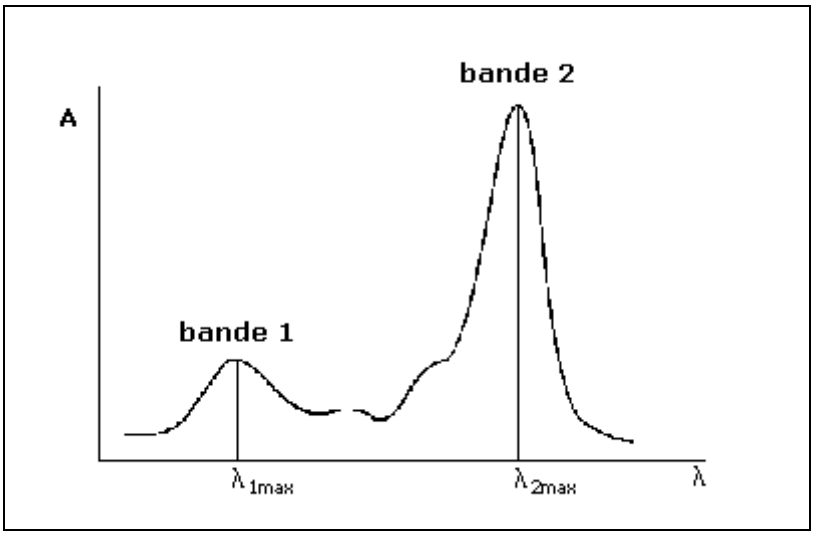


Figure III.2 : Spectre électronique d'absorption UV- Visible.

Les deux grandeurs caractéristiques d'une molécule en spectroscopie UV- visible seront sa longueur d'onde d'absorption maximale (λ_{max}) et son coefficient d'absorption (ε_{max}) à λ_{max} donné. Précisons que la λ_{max} correspond à la longueur d'onde la mieux absorbée par la molécule, et ε_{max} l'aptitude plus ou moins importante à absorber les photons à cette longueur d'onde. Ces deux valeurs caractérisent un site de la molécule, site dont la structure possède l'aptitude à absorber les électrons UV ou visible. Ce site

III.1.5 APPAREILLAGE

Un spectrophotomètre (figure **III.3**) comprend six parties essentielles :

1/ Une source lumineuse constituée par une lampe à décharge au deutérium utilisée dans le domaine de 190 à 400 nm et une lampe à filament de tungstène pour la région allant de 350 à 800 nm.

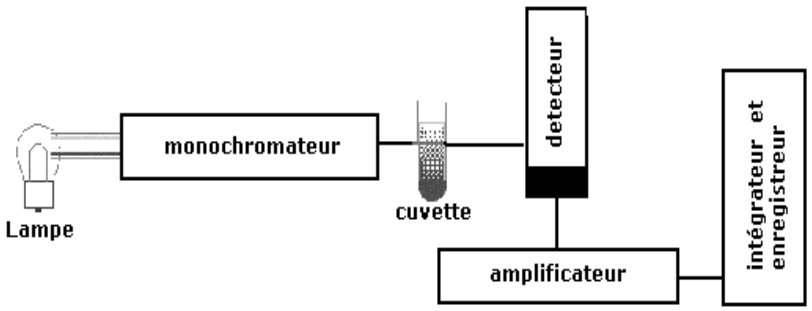


Figure III.3 : Schéma d'un spectrophotomètre UV- Visible

2/ Un monochromateur constitué par un prisme, un réseau ou un filtre coloré. Le rôle du monochromateur est d'isoler le rayonnement sur lequel on fait la mesure.

3/ Une cuve (cuvette ou cellule). Elle contient soit l'échantillon soit la référence. La longueur de la cuve est définie (1,2,4 ou 5cm de trajet optique). Elle doit être transparente aux radiations d'étude. Par exemple en UV, les cuves sont en quartz, elles ne peuvent être ni en verre ni en plastique.

4/ Le détecteur. Il assure la transformation du signal optique en signal électrique. Il en existe plusieurs types : photodiodes, barrettes de diode, photomultiplicateur,… etc.

5/ Un amplificateur dont le rôle est d'amplifier le signal électrique.

6/ Un système d'exploitation des résultats consistant en un intégrateur et un enregistreur.

III.2 La chromatographie en phase liquide a haute performance (C.L.H.P)

[20-24]

La chromatographie est une technique analytique dont les premières expériences celles de TSWETT, datent de 1903.Elle permet la séparation ou la purification d'un ou de plusieurs composés d'un mélange(les solutés)par entraînement au moyen d'une **phase mobile** (liquide ou gaz) le long d'une **phase stationnaire** (solide ou liquide fixé), grâce à la (ré)partition sélective des solutés entre ces deux phases. Chaque soluté est donc soumis à une force de rétention (exercée par la phase stationnaire) et une force de mobilité (due à la phase mobile).

Lorsque les molécules à séparer sont entraînées par une phase mobile gazeuse sur une phase stationnaire (solide ou liquide) : c'est la chromatographie en phase gazeuse (CPG),si les molécules à séparer sont éluées par une phase mobile liquide sur une phase stationnaire

(solide ou liquide) on l'appelle chromatographie en phase liquide pour leur identification et leur quantification.

La forme moderne de la chromatographie en phase liquide est arrivée dans les laboratoires industriels à la fin des années soixante-dix, bien après la chromatographie en phase gazeuse ou celle sur couche mince (planaire).les exigences de qualité étant de plus en plus strictes, cette méthode s'est rapidement répandue dans toutes les industries chimiques, para chimique, cosmétiques, pharmaceutique… ce marché considérable a entrainé des développements rapides et aujourd'hui la chromatographie en phase liquide est une des principales méthodes d'analyses dans ces industries. Elle atteint un haut degré de fiabilité et de performance. La chromatographie en phase liquide a haute performance permet de réaliser assez facilement des séparations et des analyses qui seraient difficiles ou impossibles par d'autres technique chromatographiques.

A l'origine, la chromatographie en phase liquide se faisait avec des colonnes en verre. Le liquide traversait la phase stationnaire par gravité ou sous faible pression (pompe péristaltique). Puis, pour augmenter le débit (gagner du temps), des essais ont été sous haute pression **(HPLC en anglais**), après d'autre modifications (taille des particules…), le ' P 'de pression est devenu le P de performance. Aujourd'hui l'HPLC est la chromatographie en phase liquide a haute performance. Performante, car cette technique peut effectuer des séparations plus difficiles. Les quantités de solutés sont plus faibles. Les pics sont beaucoup plus fins et la résolution est nettement meilleure.

III.2.1 NOMENCLATURE EN CHROMATOGRAPHIE

a/ Phase

En chimie, une phase est la partie homogène d'un système.

b/ Phase stationnaire

Support plus ou moins poreux (silice ou polymère) recouvert ou non d'un gel (liquide greffé) qui a les propriétés désirées pour retenir les molécules de soluté. Le diamètre des particules est généralement compris entre 3 et 10 µm.

c/ Phase mobile

C'est un liquide, constitué par un solvant ou par deux à trois solvants miscibles, qui entraîne l'échantillon à analyser à travers la colonne.

d/ Eluant- phase éluante

Un éluant est une phase mobile. La notion de pouvoir éluant correspond au pouvoir d'entraîner les solutés à travers la colonne.

III.2.2APPAREILLAGE DE LA HPLC

L'instrumentation de la CLHP(Figure **III.4)**comprend un système d'introduction dusolvant: réservoirs de phase mobiles, vannes ,une ou plusieurs **pompes**, contrôleur de débit et **une vanne d'injection** dans **la colonne** quipermet d'introduire la phase mobile en haut de la colonne de manière continue,sans pulsations et avec un débitvolumétrique et une pression connues.

L'appareillage doit permettre l'utilisation de colonnes de différentes dimensions et fonctionnant dans des conditions variables.Du côté des basses pressions se trouve **undétecteur**qui doit montrer unegrande sensibilité et une réponse rapide.

Le fonctionnement optimal de tous les appareils est obtenu a l'aide d'uncontrôle informatique.

III.2.2.1 Réservoirs de phase mobile

Un appareil de CLHP comprend un ou plusieurs réservoirs, en verre ou en acier inoxydable résistants a la corrosion et contenant les solvants. On recommande cependant l'emploi d'un vase clos pour éviter l'évaporation, surtout si l'un des solvants est très volatil.Des gaz ambiants comme l'oxygène, peuvent être dissous dans les solvants,former des bulles dans la colonne et créer des perturbations dans la détection.De même des poussières en suspension peuvent perturber les séparations etgêner le bon fonctionnement des pompes et des détecteurs. Il est doncsouhaitable de dégazer et de filtrer les solvants. Plusieurs techniques sontutilisées:

Ledégazagepeut être effectue par une vive agitation, par ultrasons, ou parbarbotage d'hélium.

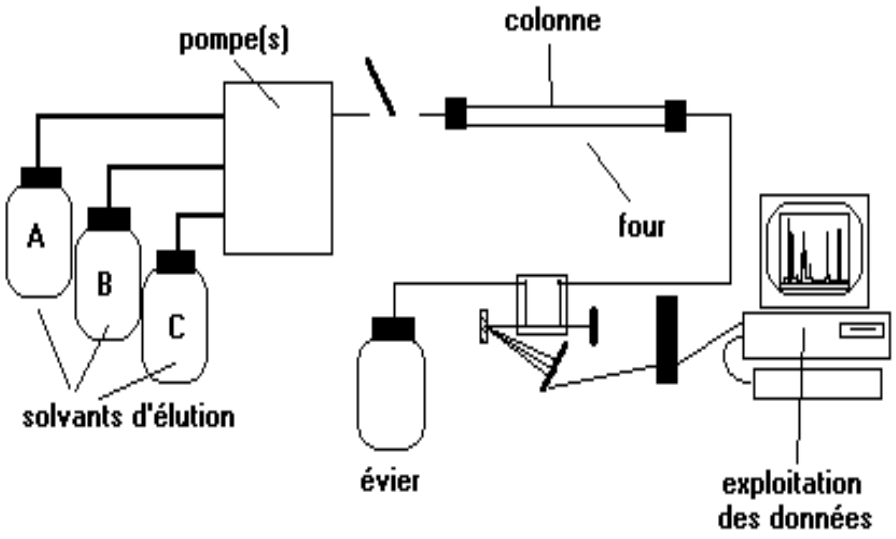


Figure III.4 : Appareillage de HPLC

Lorsque la phase mobile conserve la même composition au cours de l'analyse, elle est de ce fait préparée préalablement et mise dans un seul réservoir. Par contre, si la composition de la phase mobile varie en cours d'analyse, chaque solvant constituent cette phase est mis dans un réservoir à part.le choix convenable d'une phase mobile représente l'une des étapes les plus importantes dans la détermination des paramètres analytiquesainsi queles fractions volumiques des solvants sontmodifiées selon un programme préétabli.

III.2.2.2 Pompes

Les pompes ont constitué, au moment de la mise au point de la technique, la principale cause de difficulté des utilisateurs. Le débit de liquide qu'elles refoulaient étant fréquemment irrégulier, il en résultait, sur l'enregistrement, une ligne de base instable. Les problèmes semblent être résolus, car certaines pompes fournissent désormais un débit constant (pompes débimétriques) grâce à leur électronique. Elles demeurent tout de même la partie la plus délicate de l'appareillage.

III.2.2.3 Injecteur ou vanne d'injection

Elle possède deux positions. La première(Figure **III.5**) permet le remplissage de la boucle d'injection de volume fixe (load), la seconde(Figure **III.5**) permet la mise en circulation de l'échantillon dans le système chromatographique (inject). Le remplissage de la boucle d'injection se fait à l'aide d'une seringue.

Ce système, tout en évitant les brusques variations de pression dans l'appareil, permet une bonne reproductibilité des résultats. Notons que la quantité introduite est celle du volume de la boucle au maximum.

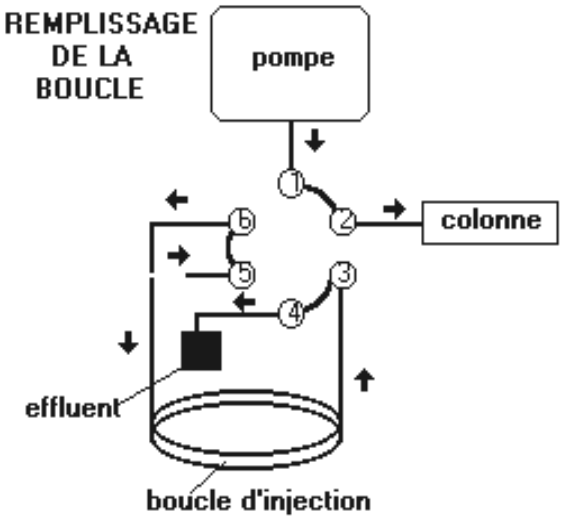


Figure III.5 : 1re étape de l'injection avec une vanne à six voies

III.2.2.4 Colonne

Les colonnes en HPLC se caractérisent par leur géométrie et par la nature des phases stationnaires qu'elles contiennent. En mode analytique, les colonnes en inox ont généralement un diamètre interne de 4,6mm. La longueur est de 5, 10, 15, ou 25cm. Le remplissage (en silice, silice greffée ou particules polymériques) a une granulométrie de 3, 5, ou 10µm. Actuellement, les produits de remplissage les plus couramment utilisés comportent une phase stationnaire greffées sur des particules de support.

La colonne peut être utilisée à température ambiante ou à une température plus élevée (jusqu'à 80°C). Ces températures sont surtout utilisées pour diverses raisons :

- Réduire la viscosité de la phase mobile pour augmenter le transfert de masse.
- Augmenter la solubilité de l'échantillon dans la phase greffée pour améliorer l'efficacité du système.
- Augmenter la solubilité de l'échantillon dans la phase mobile pour permettre d'injecter une quantité d'échantillon suffisamment importante.

III.2.2.5 Détecteurs

En CLHP,les détecteurs sont spécifiques a chaque application.Il existe des détecteurs de propriétés de la phase mobilequi dépendent de laprésence d'un soluté: indice de réfraction, densité.Et des détecteurs de propriétés du soluté, que ne possèdent pas la phasemobile: absorbance dans l'ultraviolet, fluorescence.

Le détecteur le plus utilisé en HPLC est un spectrophotomètre d'absorption UV relié à la sortie de colonne. Il est très sensible et sa réponse varie linéairement avec la concentration de l'échantillon. La détection de certaines molécules s'avère cependant impossible avec ce détecteur mais celles-ci sont en petit nombre, car en choisissant bien la longueur d'onde, presque tous les composés sont détectés, car même si l'absorption est très faible, elle peut être amplifiée.

Il existe d'autres détecteurs : réfractomètre différentiel, UV à barrette de diodes, électrochimique et fluorimétrique. Le détecteur à réfractomètre différentiel est basé sur la différence d'indice de réfraction entre la phase mobile et l'effluent à la sortie de la colonne. Son utilisation est moins répandue que celle du détecteur à UV à cause de sa plus faible sensibilité. De plus, il est très sensible à des variations de température.

III.2.2.6 Systèmes d'enregistrement et d'intégration

Les analyses chromatographiques aboutissent à l'obtention d'un chromatogramme qui représente l'évolution d'un paramètre (signal électrique provenant du détecteur) lié à la concentration instantanée du constituant élué (ou soluté), en fonction du temps. Le chromatogramme est une représentation graphique où des pics émergent de la ligne de base, tracé obtenu en l'absence de composés. Chaque soluté élué est représenté par un pic d'allure gaussienne dont la surface est proportionnelle à la quantité de substance présente.

L'intégrateur, quant à lui, s'occupe de différentes opérations, entre autres, le calcul du temps de rétention et la quantité (exprimée en %) de chaque substance contenue dans l'échantillon analysé.

III.2.3 FONDEMENTS THEORIQUES DE LA CLHP

III.2.3.1Processus de séparation

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est injecté par l'intermédiaire d'une vanne, puis transporté au travers du système

chromatographique par la phase mobileliquide (éluant). Cette dernière poussée par une pompesous haute pression,parcourt en permanence le système chromatographique.

Au niveau de la colonne, les composés en solution se répartissent suivant leur affinité, entre la phase mobile et la phase stationnaire. La théorie de la séparation montre que le signal enregistré à la sortie d'un détecteurapproprié, en fin de colonne a la forme d'un pic. Si la séparation est bonne, chaque pic représente un constituant du mélange à séparer. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme (Figure **III.6**).

Sur le chromatogramme donné en exemple ci dessous, on observe deux pics, le premier est celui du composé non retenu, le second est celui du soluté analysé. D'autre part, on dénombre trois types de temps :

Temps mort**(t_m)**

Temps mis par un composé non retenu par la phase stationnaire de la colonne, pour parcourir le trajet entre l'entrée et la sortie de la colonne (temps passé dans la phase mobile).

Temps de rétention**(t_r)**

Temps mis par les molécules d'un composé à analyser (soluté) pour parcourir le trajet entre l'entrée et la sortie de la colonne. C'est le temps passé dans la colonne et dans les volumes morts (temps total dans la colonne).

Temps de rétention réduit **(t'_r)**

Temps mis par les molécules d'un composé à analyser (soluté) pour parcourir le trajet entre l'entrée et la sortie de la colonne, représentant le temps passé dans la phase stationnaire.

$$t_r = t'_r + t_m$$

III.2.3.2 Coefficient de partage K

Le temps de rétention t_r d'un soluté est fonction de son affinité avec l'éluant d'une part, et avec la phase stationnaire, d'autre part. A un instant t, le soluté est à la concentration C_m dans la phase mobile et à la concentration C_s dans la phase stationnaire. Leur rapport à l'équilibre est appelé coefficient de partage K.

$$K = C_m / C_s$$

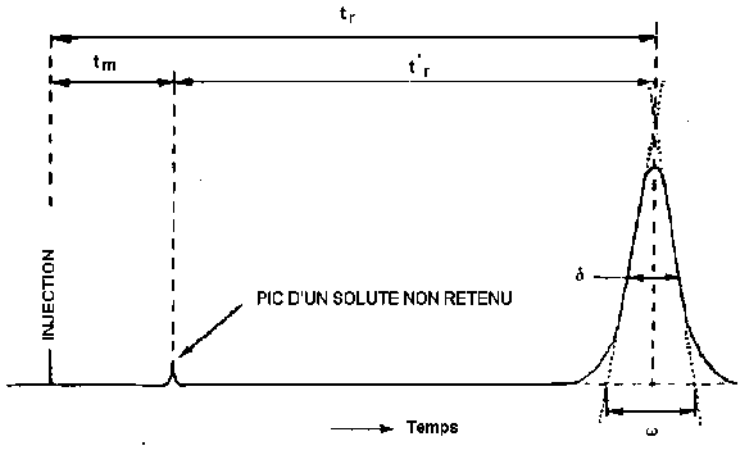


Figure III.6 : Exemple de chromatogramme

Le coefficient de partage est fonction de trois types d'affinités : celle entre le soluté et la phase mobile, celle entre le soluté et la phase stationnaire et celle entre les phases stationnaire et mobile.

III.2.3.3 Facteur de Capacité k

C'est le rapport de la quantité d' un même soluté, dans la phase stationnaire et dans la phase mobile.

$$k = \frac{C_s}{C_m} \cdot \frac{V_s}{V_m} = K \cdot \frac{V_s}{V_m}$$

Où :

V_s : volume de phase stationnaire

C_s : concentration dans la phase stationnaire

V_m : volume de phase mobile ou volume mort

C_m : concentration dans la phase mobile

III.2.3.4 Paramètres caractéristiques d'un pic

Un pic chromatographique est caractérisé par certains paramètres (Figure **III.7**) dont les plus importants et les plus utilisés sont : la largeur du pic et son aire.

Largeur du pic

Trois définitions sont utilisées pour définir la largeur d'un pic chromatographique : la largeur à la base du pic notée ″ω″, la largeur à mi-hauteur notée $\omega_{1/2}$ ou δ et la largeur au niveau des points d'inflexion notée ″ l_i ".

Toutes ces grandeurs peuvent être exprimées les unes en fonction des autres comme indiqué sur la figure

Aire du pic

C'est la mesure de la surface comprise entre le pic et la ligne de base. Elle est proportionnelle à la concentration (ou quantité) du soluté et c'est donc le paramètre utilisé pour effectuer des analyses quantitatives.

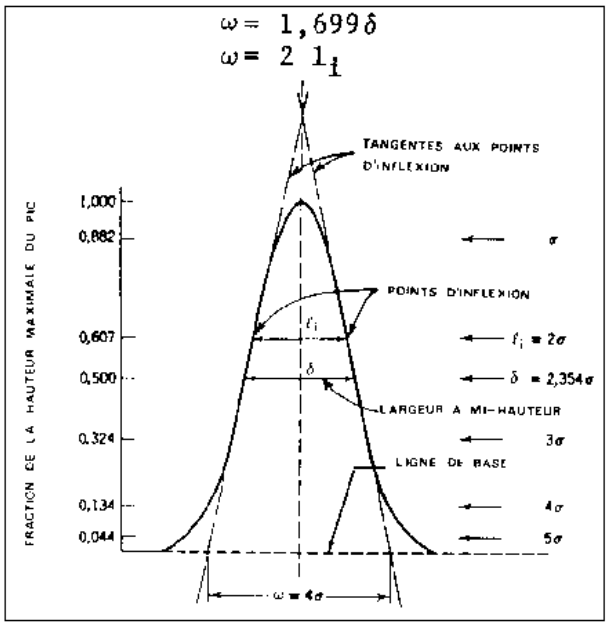


Figure III.7 : Largeurs caractéristiques d'un pic chromatographique

III.2.4 MODES DE SEPARATION EN HPLC

Différents modes de séparation existent en chromatographie en phase liquide :

* adsorption.

* partage(c'est le principal mode, il représente 80% des séparations),

* échange d'ions.

* exclusion.

Les trois premiers types utilisent la polarité des solutés pour les séparer.

III.2.4.1 Polarité d'une molécule

On entend généralement par polarité la présence d'un champ électrique produit par une molécule dans son propre voisinage.
Ce champ dépend:

- de l'arrangement des atomes
- du type de liaison
- des groupements fonctionnels

La polarité d'une molécule est une notion intrinsèque (propre à la molécule). Certaines molécules étant dissymétriques, les électrons ne sont pas uniformément répartis autour d'elles. De ce fait il existe un moment dipolaire permanent qui crée un champ électrique local. Ces molécules sont dites polaires.

Le moment dipolaire *p* s'exprime par la relation :

$$\vec{p} = q \cdot \vec{d}$$

Avec

q : la charge électrique en Coulomb (C)

d : la distance entre les 2 pôles en mètre (m)

p : le moment est exprimé en Coulomb. mètre (C.m). Les chimistes utilisent le Debye D : $1D = 3{,}3356.10^{-30}C.m$

III.2.4.2 Interactions entre les molécules

Dans la nature, les molécules ne sont pas isolées. Entre elles, il existe différents types d'interactions. Les forces qui sont mises en jeu dans les notions de polarité d'une molécule sont de cinq types. Ces cinq forcesjouent un rôle fondamental lors des interactions entre molécules. Plus la molécule est capable d'agir par l'intermédiaire de ces forces, plus la molécule est polaire.

III.2.4.3 Les interactions diélectriques ou ioniques

Ces interactions sont relativement fortes. Un ion induit un champ électrique. Ce champ oriente les molécules qui sont proches de l'ion et qui possèdent un moment dipolaire. Les forces entre les ions de même charge sont répulsives. Elles sont attractives entre les ions de charge opposée.

III.2.4.4 les liaisons "hydrogène"

L'hydrogène est le plus petit des atomes. Il peut être fortement attiré par des atomes attracteurs de protons (électronégatifs) petits eux aussi. Les interactions sont alors importantes. Parmi les forces liées à la polarité des molécules et présentées dans ce chapitre, les forces des liaisons "hydrogène" sont relativement fortes. Malgré ceci, comparée à la liaison covalente ou à la liaison ionique, la liaison hydrogène est faible. Elle peut se former entre une molécule qui possède un H lié à un atome électronégatif comme un oxygène, un fluor ou un azote.

Les molécules qui contiennent "H", et celles qui possèdent un atome électronégatif, sont alors associées :

R---O--H + NH2--R' <-----> R---O---H - - - NH2--R'

Dans cet exemple ci-dessus, le doublet de l'azote est accepteur de protons. Le groupement hydroxyle est donneur de proton. Il peut y avoir création d'une liaison Hydrogène.

III.2.4.5 Les forces de VAN DER WAALS

Trois autres types de forces interviennent dans la polarité d'une molécule. Elles sont connues sous le nom de forces de **VAN DER WAALS**. Ce sont les forces de LONDON, de DEBYE et de KEESOM. Ce sont des forces relativement faibles, comparées aux forces de la liaison hydrogène ou aux interactions diélectriques.

III.2.4.6 Polarité de phase

De manière pratique on utilise la notion de polarité comme une donnée comparative entre molécules. On dit que tel composé est plus polaire ou moins polaire qu'un autre. De même on

dit que la phase mobile et la phase stationnaire sont polaires, peu polaires ou apolaires. Pour qu'il y ait séparation chromatographiques de composés, il faut que leurs molécules interagissent de manières différentes avec au moins une des phases (stationnaire et mobile). Ces phases doivent avoir des polarités différentes.

A l'origine, les colonnes étaient remplies de silice (phase stationnaire polaire). Elle doit sa polarité aux groupements silanols Si-OH qui sont polaires. Pour que la séparation soit efficace, la phase mobile doit alors être peu polaire. L'ensemble "phase stationnaire polaire et phase mobile peu polaire" forme la chromatographie à **polarité de phase normale** (Figure **III.5**).

Par la suite, les particules de silice (support) ont été enrobées de paraffine en C18 pour faire une phase apolaire. Dans ce cas, pour que la séparation soit efficace, la phase mobile est polaire (généralement à base d'eau). L'ensemble "phase stationnaire apolaire et phase mobile polaire" forme la chromatographie à **polarité de phase inversée** (Figure**III.8**). Aujourd'hui, les phases stationnaires sont greffées chimiquement pour la plupart sur de la silice sphérique et calibrée.

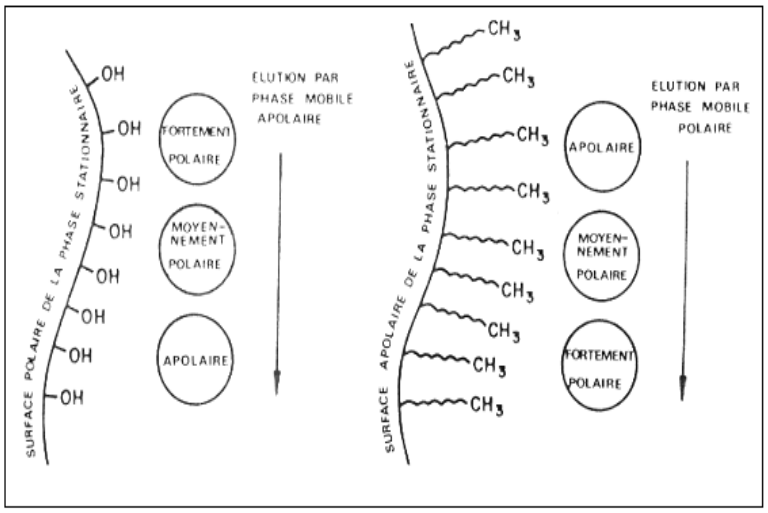


Figure III.8 : Chromatographies à phase normale et à phase inverse

III.2.5 LA CHROMATOGRAPHIE DE PARTAGE OU DE SEPARATION

Cette chromatographie liquide-liquide est fondée sur la (ré) partition différentielle de chacun des solutés entre deux liquides non miscibles, l'un constituant la phase stationnaire, l'autre la phase mobile. C'est une technique essentiellement qualitative.Il faut toutefois noter que ce

type de chromatographie classique présente de nombreux problèmes dont celui de la présence de phase stationnaire dans l'éluant. C'est ainsi que cette technique a été abandonnée au profit de celle des phases greffées. Dans ce dernier cas, la phase stationnaire est greffée de façon permanente sur le support par des liaisons chimiques. Si le groupement greffé est polaire, la phase est dite normale et si le groupement greffé est apolaire, la phase est dite inversée.

Dans ce cas, la colonne est remplie d'un support inerte imprégné du solvant fixe, le tout constituant la phase stationnaire. Or, les supports sont rarement totalement inertes (le taux de greffage se situe entre 25 et 40% selon les phases commercialisées), il est donc difficile de déterminer ce qui relève du partage et de l'adsorption. Autrement dit, les solutés vont être séparés selon deux mécanismes : le partage et de l'adsorption.

III.2.5.1 La chromatographie de partage à polarité de phases normale

C'est une chromatographie dans laquelle la phase stationnaire se distingue par sa polarité. Elle est constituée, la plupart du temps, par des silices polaires greffées. Il existe des greffons polaires comme les amines, les cyanures ou les hydroxyles.
La phase mobile est apolaire. Ainsi, plus un soluté est polaire, plus il sera retenu au niveau de la phase solide stationnaire. A l'inverse, plus un soluté est apolaire, plus il sera entraîné par la phase mobile liquide.

La figure **III.9,** ci contre montre la structure des différents types de phases greffées. Ces dernières sont préparées par action de différents réactifs sur les groupements « Si – OH » de la surface des particules du support.

III.2.5.2 La chromatographie de partage à polarité de phases inversée

La chromatographie en phase inverse s'applique quasiment à tous les types de molécules. C'est une méthode de chromatographie extrêmement efficace qui permet de séparer des échantillons complexes. Aujourd'hui, plus de 70% des analyses de chromatographie liquide se font avec des systèmes à polarité de phases inversée.

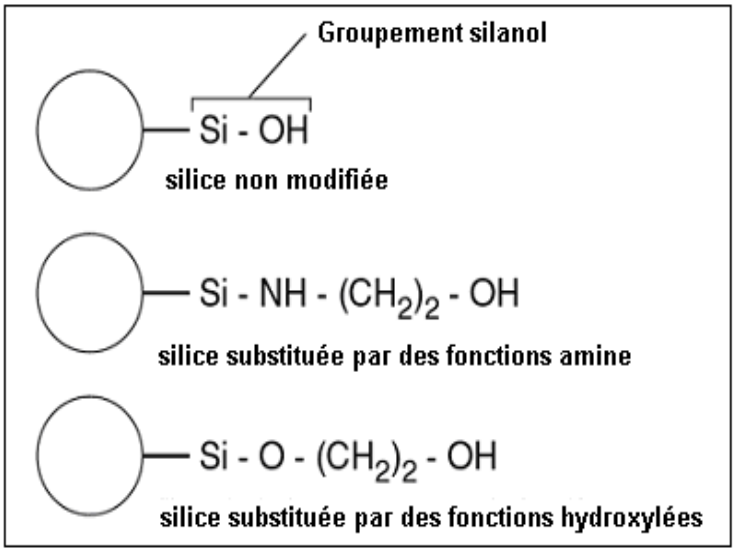


Figure III.9 : Phases greffées polaires

C'est une chromatographie dans laquelle la phase stationnaire se distingue par son caractère apolaire. Elle est constituée, la plupart du temps, par des silices apolaires greffées comme le montre la figure **III.10**. Il existe des greffons apolaires de taille différente, de 2 à 18 atomes de carbone (C2 à C18), donc de polarités différentes. La phase mobile est polaire. Ainsi, plus un soluté est apolaire, plus il sera retenu au niveau de la phase solide stationnaire. A l'inverse, plus un soluté est polaire, plus il sera entraîné par la phase mobile liquide.

Le mécanisme de séparation sur colonnes à polarité de phases inversée n'est pas encore bien connu. Plusieurs hypothèses ont été avancées pour l'expliquer. II semble évident que le mécanisme de la séparation n'est pas uniquement un mécanisme de partage et certains chercheurs pensent qu'il est la résultante de trois phénomènes simultanés : adsorption, partage et tension superficielle.

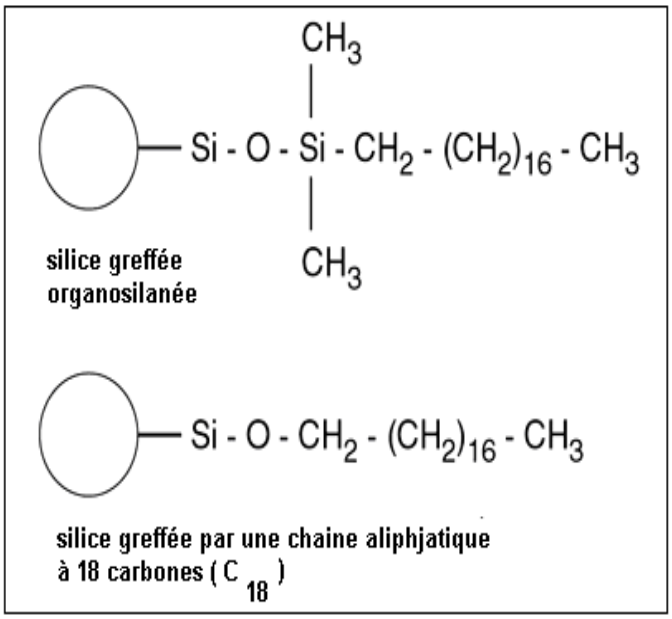


Figure III.10 : Phases greffées apolaires

III.2.5.3 Technique d'utilisation de la phase mobile

L'eau est le solvant le plus polaire. On y ajoute la plupart du temps un sel pour tamponner le milieu et ce pour éviter des changements brusques de pH, car la plupart des silices ne tolèrent pas un pH > 7,5. Fréquemment, on emploie souvent un acide fort (l'acide trifluoroacétique) et une amine quaternaire (la triéthylamine, par exemple) car ces deux composés ioniques forment des paires d'ions avec les molécules à séparer ionisables, neutralisant ainsi des charges portées par ces dernières. Cela a pour conséquence d'augmenter le caractère apolaire des molécules et ainsi elles s'adsorbent davantage sur la phase stationnaire.

Le choix du solvant le moins polaire de la phase mobile dépend d'un certain nombre de facteurs dont les plus importants sont la solubilité de l'échantillon et la compatibilité avec le détecteur. Il en existe un grand nombre que l'on peut utiliser puisque la silice leur résiste. Cependant, les plus employés sont l'acétonitrile et le méthanol.

Les solvants organiques ne doivent pas comporter d'impuretés ni avoir une forte absorbance aux faibles longueurs d'onde (ultra-violet) pour ne pas interférer avec les propriétés optiques des molécules à séparer. De plus selon sa qualité, on peut ou non utiliser un solvant organique pour un type d'analyse donnée. En conséquence, il faut prendre des solvants certifiés "ultra-

purs" qui coûtent chers. Le tableau **III.1** donne une liste de solvants les plus couramment utilisés.

Tableau III.1 : Solvants couramment utilisés en HPLC

Solvant	**UV cutoff * (nm)**	**Polarité**
Iso octane	215	0,1
Hexane	195	0,1
Toluène	284	2,4
Dichlorométhane	233	3,1
Propanol-1	210	4,0
Tétrahydrofurane	212	4,0
Chloroforme	245	4,1
Éthanol	210	4,3
Acétate d'éthyle	256	4,4
1,4-Dioxane	215	4,8
Acétone	330	5,1
Méthanol	205	5,1
Acétonitrile	190	5,8
Eau	190	10,20

* Le "cutoff " est la longueur d'onde en dessous de laquelle le solvant est opaque aux UV.

III.2.6 EXPLOITATION DE DONNEES

L'objectif de la plupart des séparations chromatographiques est de fournir une analyse de l'échantillon. Celle ci est dite qualitative si elle permet déterminer le nombre et la nature des composants de l'échantillon. Par contre, elle est dite quantitative si elle permet de déterminer la quantité d'un ou de plusieurs des composants présents.

III.2.6.1 Analyse qualitative

Le but d'une analyse chromatographique est de déterminer la composition d'un échantillon et l'on suppose toujours que les pics qui apparaissent sur le chromatogramme se rapportent à des composants de l'échantillon. Ce n'est pas toujours le cas, le chromatogramme contient parfois des pics qui n'ont aucun rapport avec l'échantillon analysé.

Ces pics parasites (artefacts) peuvent avoir plusieurs causes dont celles de la présence de substances adsorbées (retenues) dans la colonne ou l'injecteur lors de précédentes analyses. On reconnaît ces pics grâce à leur largesse, mais aussi à leur ressemblance à des dérives positives puis négatives de la ligne de base. Une autre source de ces pics parasites est celle inhérente à la présence d'impuretés dans les solvants utilisés.

Hormis ces problèmes, l'analyse qualitative des échantillons se base sur un certain nombre de procédés dont nous citerons :l'utilisation du temps de rétention**,** l'addition d'un composé supposé présent.

III.2.6.2 Analyse quantitative

Contrairement à l'analyse qualitative, l'analyse quantitative est très largement utilisée en chromatographie liquide. Elle consiste en la détermination de la quantité de chacun des composants ou de certains d'entre eux. Pour ce faire, on utilise l'aire du pic donnée par la relation suivante, laquelle est la plus utilisée et la plus précise :

$$\textbf{Aire} = \mathbf{h}_{max} \cdot \delta$$

Où : h_{max}.est la hauteur maximale du pic
δ est la largeur à mi-hauteur du pic

L'utilisation de l'aire du pic est basée sur le fait que sa valeur est proportionnelle à la concentration du composant donnant le pic considéré.

Autrefois mesurée manuellement, l'aire des pics est actuellement mesurée à l'aide d'un intégrateur numérique branché directement sur la sortie du détecteur et en parallèle avec l'enregistreur. En fin d'analyse, un rapport complet contenant le chromatogramme, les temps de rétention de chaque composé ainsi que l'aire de chaque pic est imprimé sur une bande de papier. Une fois que les aires des pics sont connues, l'analyste s'emploiera à la détermination de la concentration des composants de l'échantillon correspondant à chaque pic.

IV. 1 OBJECTIF

L'adsorption est un phénomène physico-chimique due aux interactions entre les particules de l'interface fluides et solides. Elle est utilisée dans de nombreux procédés tels que l'épuration et la dépollution des eaux. Nos expériences consistent à étudier l'adsorption en mode statique à partir d'un milieu complexe constitué de deux effluents pharmaceutiques (Amoxicilline et Ampicilline) à partir d'une solution aqueuse au moyen de tensioactifs (le Sodium dodécyl sulfate et le Cetyltrimethylammonium bromide).

L'objectif de notre étude est de tester l'efficacité de la rétention des effluents sur les tensio actifs, de mettre en évidence l'intérêt que présente chacun de ces adsorbants. La première étape de nos essais expérimentaux a eu pour but de suivre les cinétiques d'adsorption de des deux effluents pharmaceutiques. La seconde étape des essais a porté sur l'effet des paramètres réactionnels tels que le la masse d'adsorbant, l'influence de la concentration initiale en antibiotique, vitesse d'agitation.

IV.2 CARACTÉRISATION DES ANTIBIOTIQUES PAR SPECTROPHOTOMETRIE UV- VISIBLE

IV.2.1 Appareillage :

Dans le cadre de ce travail, nous avons utilisé un spectrophotomètre UV – Visible de type Shimadzu « UV mini 1240 ». L'analyse a été faite dans cuves en quartz de largeur 1cm.

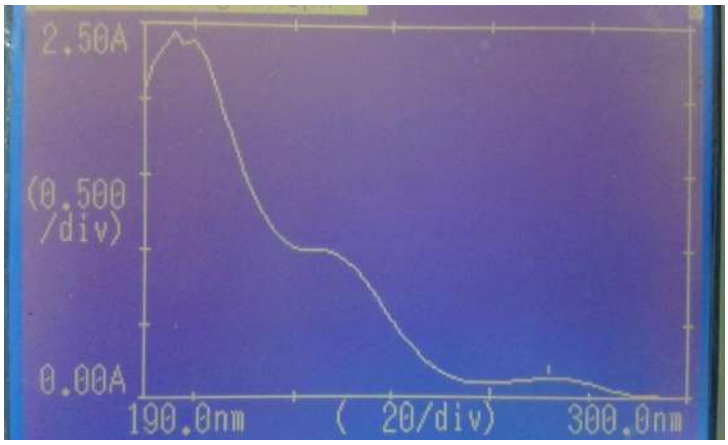
IV.2.2Antibiotiques :

- **Ampicilline sodique :** cet antibiotique provient de l'unité Antibiotical « Saidal » de Médéa. C'est une poudre blanche, obtenue par fermentation, de formule $C_{16}H_{18}N_3NaO_4S$ et de poids moléculaire 371.4 g /mole.
- **Amoxicilline sodique :** cet antibiotique provient de l'unité d'antibiotiques « Saidal » de Médéa. C'est une poudre fine blanche, obtenue par semi-synthése, de formule moléculaire $C_{16}H_{18}N_3NaO_5S$ et de poids 387,4 g/mole.

IV.2.3 Elaboration des spectres électroniques

L'amoxicilline sodique et l'ampicilline sodique sont deux antibiotiques facilement solubles dansl'eau. Pour chacun d'eux, on prépare une solution de 200mg/l en dissolvant 100mg de poudre dans 10ml d'eau distillée à un pH de 6.76 et une conductivité de 8.33µs.

Les solutions préparées étant incolores, leurs absorbances ont été déterminées dans un intervalle de longueur d'onde allant de 190 à 300 nm. Le maximum d'absorption est obtenue pour une valeur de longueur d'onde λ_{max} = 210 nm(figure **IV.1**)pour l'ampicilline, et une valeur de λ_{max}= 272 nm pour l'amoxicilline (figure**IV.2**). Notons queλ_{max} est lue directement sur l'appareil.



FigureIV.1: Spectre électronique de l'Ampicilline

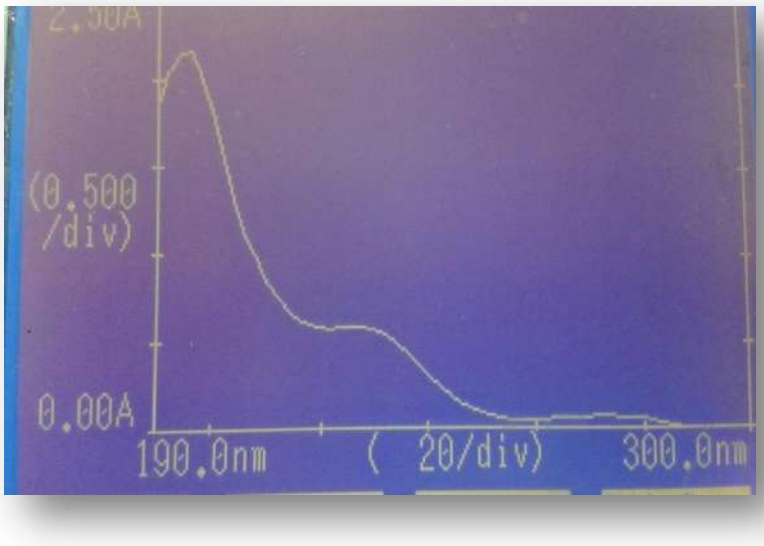


Figure IV.2: Spectre électronique de l'Amoxicilline

IV.2.4 Elaboration des courbes d'étalonnage

La détermination de la concentration des deux antibiotiques en fonction du temps, nécessite l'élaboration d'une courbe d étalonnage [A = f(C)] .

On prépare plusieurs dilutions à partir de la solution mère de 200mg/l pour obtenir des solutions qui ont des concentrations connues, et on mesure,par le spectrophotomètre **UV,**l'absorbancecorrespondante à chaque concentrationen fixant la longueur d'onde au maximum d'absorption déjà obtenue, les valeurs de la densité optique sont reportées sur le tableau**IV.1** et **IV.2** ci-dessous.

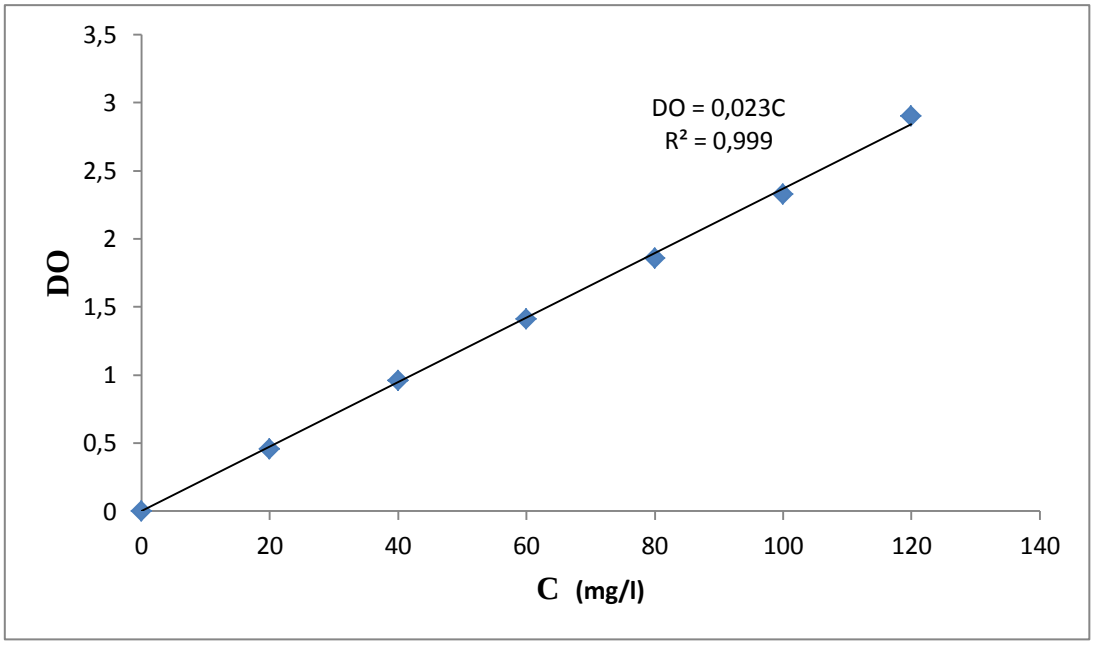
Tableau IV.1 : Absorbances de l'Ampicilline à λ = 210 nm.

Concentrations 10^{-3}(mg/ml)	20	40	60	80	100	120
Absorbances	0.46	0.96	1.41	1.86	2.33	2.9

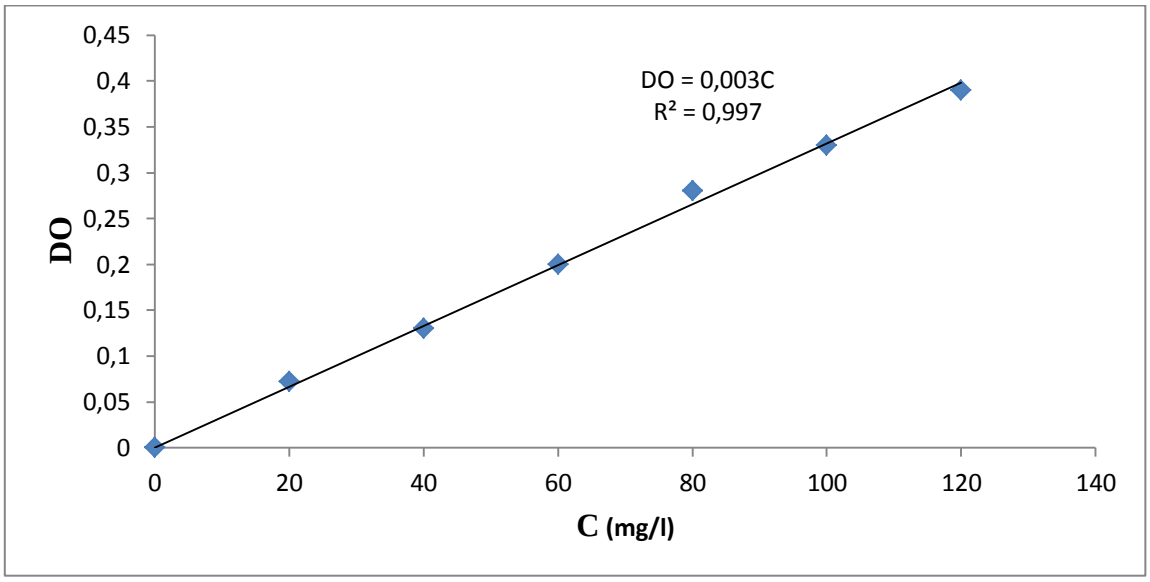
Tableau IV.2 : Absorbances de l'Amoxicilline à λ = 272 nm.

Concentrations 10^{-3} (mg/l)	20	40	60	80	100	120
Absorbances	0.072	0.13	0.20	0.28	0.33	0.39

Les figures **IV.3** et **IV.4,** représentent la variation de l'absorbance en fonction de la concentration [A = f(C)],.



FigureIV.3 : Courbe d'étalonnage de l'Ampicilline



FigureIV.4: Courbe d'étalonnage de l'Amoxicilline

Les courbes A = f (C) ont été tracé avec les valeurs obtenues dans la dernière section (lelogiciel utilisé pour les graphes est Excel 2007). On remarque que la loi de Beer-Lamberg est vérifiée pour les deux courbes d'étalonnage obtenues.

La régression linéaire de ces résultats (Figure **IV.3**, **IV.4**) est une droite d'équation :

Amoxicilline (272 nm)	Ampicilline (210 nm)
La pente = 0.003	La pente = 0.023
R^2= 0.997	R^2= 0.999

Donc les équations s'écrivent comme suit :

- Pour l'amoxycilline : D.O = 0.003 C (mg/l).
- Pour l'ampicilline : D.O= 0.023 C(mg/l).

IV.3DETERMINATION DE LA CONCENTRATION MICELLAIRE CRITIQUE (CMC)

IV. 3.1 Tensioactifs

Les deux tensioactifs employés durant notre étude sont :

- Dodécylsulfate de sodium (**SDS) :** un tensioactif ioniquecommercial. Sa masse moléculaire est de 288,38g/mol. Sa formule chimique est $C_{12}H_{25}SO_4Na$.
- Cetyltrimethylammonium bromide (**CTAB) :** un tensioactif cationique, soluble dans l'eau a température ambiante ; Sa masse moléculaire est de 203,76 g/mol, sa formule chimique est :$C_{16}H_{33}N(CH_3)_3Br$.

IV.3.2 Principe

La concentration micellaire critique (CMC) est la concentration à partir de laquelle lesmolécules amphiphiles passent de l'état libre à l'état micellaire. La détermination des CMC est baséesur la mesure du suivi d'une des propriétés physiques (Conductimétrie, Viscosimétrie,Tensiométrie,etc...), toutes ces méthodes sont spécifiques à certains types de détergents utilisées et donc spécifiques aux types de micelles formées (ionique, non-ionique, micelle inverse,...)[25] . Elles nécessitent toutes, desconditions de mesures particulières. Nous avons choisi une méthode consistant à mesurer les conductivités en fonction de la concentration de tensioactif.

La conductimétrie est une technique relativement préciseparmi celles les plus utilisées pour déterminer laconcentration micellaire critique notée (CMC) [25].Cette méthode repose sur

le pouvoir conducteur des solutions ioniques (électrolytes). Une solution ionique conduit le courant électrique grâce aux porteurs de charges qui sont les ions.

IV.3.3Appareillage

Les mesures conductimétriques ont été effectuées à l'aide d'un conductimètre HANNA(EC 214-02). Les solutions étudiées sont contenues dans une cellule en plastique à double paroi, La valeur affichée directement sur l'appareil estcelle de la conductivité **(K_c)**de la solution.

IV.3.4Détermination de la (CMC)de chaque tensioactif à part

A. Préparation des solutions

On prépare pour chaque antibiotique à part une solutionmère de concentration de 0.02 M pour ledodécylsulfate de sodium(SDS), et de 0.002M pour le Cetyltrimethylammonium bromide(CTAB) en les mettant dans un bain ultrasons de type Fisher Scientific (FB 15052) afin de faciliter la solubilisation des deux tensioactifs , ensuite,on prépare, par dilution,quinze solutions filles dans des fioles de 50mlqu'on va mesurer leurs conductivités.

Remarque :

L'eau utilisée est une eau distilléeet la solution de dodécylsulfate desodiumse prépare un jour avant de faire nos mesures,afin qu'elle se stabilise, car elle mousse beaucoup.

Les résultats de cette étude sont reportés sur les tableaux ci-dessous (Tableau**IV.3** et Tableau**IV.4**)

TableauIV.3: Variationde la conductivité en fonction de la concentration en SDS à 25°C

C (mmol/l)	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
K_c(µS/cm)	250	340	400	440	510	535	583	610	625	642	679	700	718	735	762

Tableau IV.4 : Variationde la conductivité en fonction de la concentration en CTAB à25°C

C (mmol/l)	0.1	0.3	0.5	0.7	0.8	0.9	1.0	1.1	1.2	1.4	1.5	1.6	1.7	1.8
$\mathbf{K_c}$(µS/cm)	7.3	20.8	37.1	52.8	59.4	69.1	73.6	77.9	79.1	86.4	89.8	94.4	96.1	100.6

Nous avons ensuite tracer les courbes de variation de la conductivité en fonction de la concentration des deux tensioactifs en solution (Voir figure**IV.5** et **IV.6**).

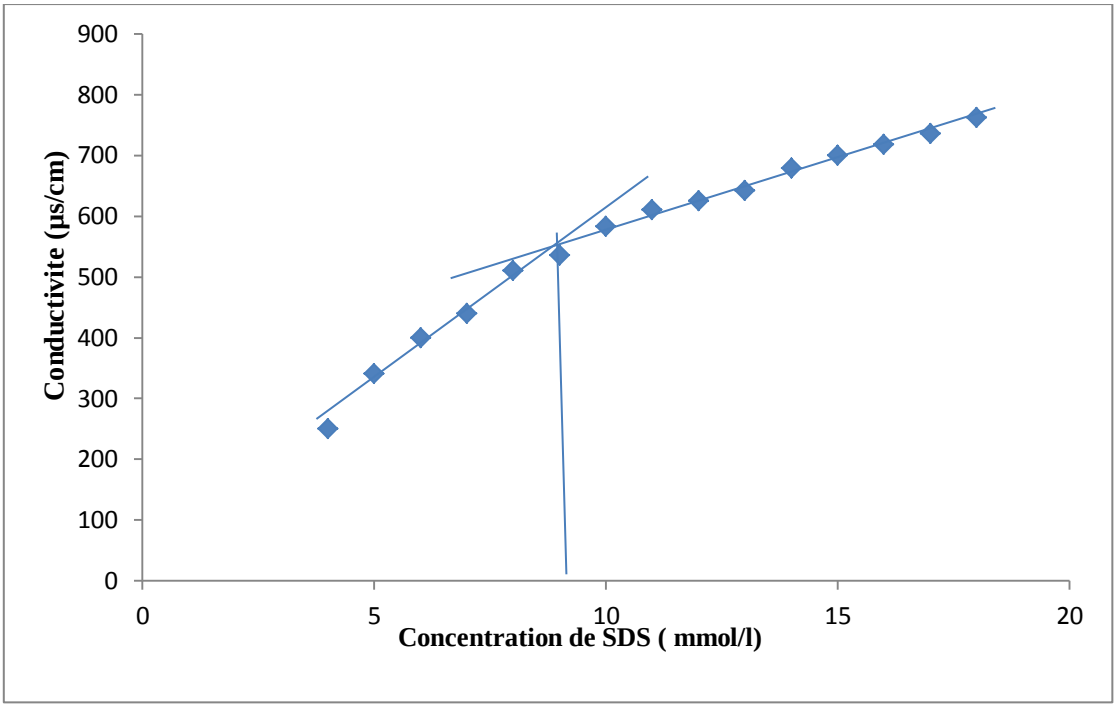


Figure IV.5 : variation de la conductivité du SDS en fonction de sa concentration à T = 25 °C.

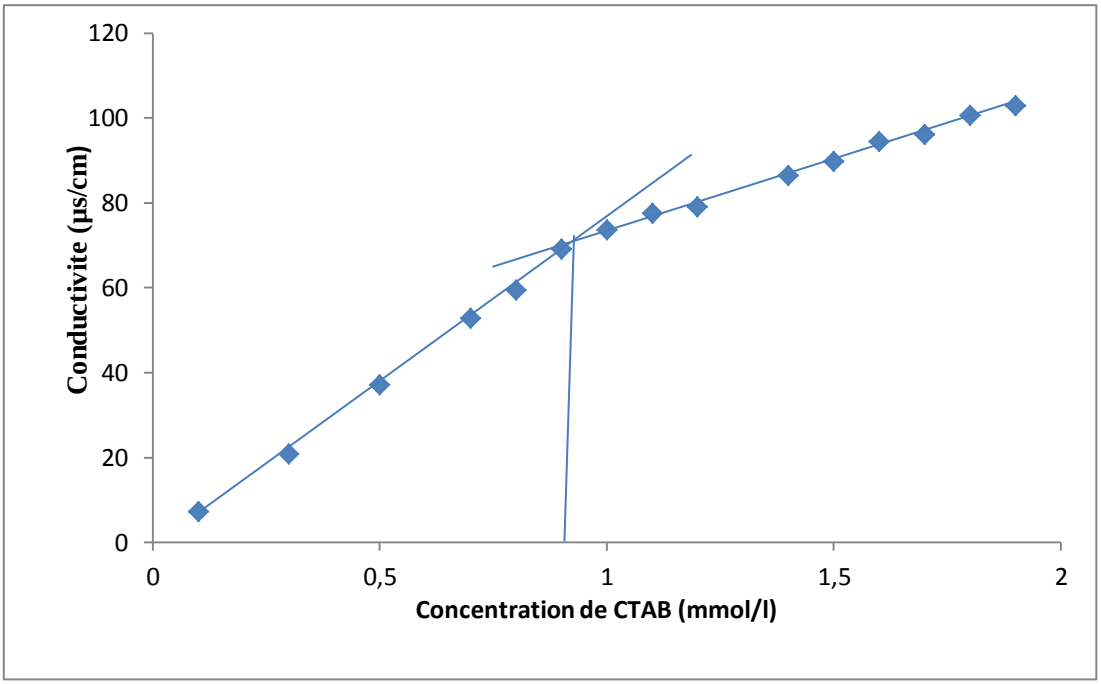


Figure IV.6: Variation de la conductivité du CTAB en fonction de sa concentration à T = 25 °C.

Les graphismes illustrant la conductivité enfonction de la concentration de nos solutions permettent de déterminer la concentration micellaire critiquepropre à chaque composé étudié grâce au point de rupture des droites.Ainsi, on estime la CMCdu SDSà 8.7mmol/l, et celle de CTAB à environ 0.9mmol/l.

B. Discussion :

A la lumière des résultats trouvés , nous remarquons que la conductivité de nos solutions augmente avec la concentration des deux tensioactifs, (la conductivité est proportionnelle à la concentration de chaque ion), après on observe un changement de pente cela est dû au fait que les premiers agrégats micellaires commencent à seformer spontanément à partir d'une certaine concentration : la concentration micellaire critique (CMC). En effet, lorsque l'on se trouve en dessous de la valeur de la CMC, les molécules monomériques de nos tensioactifs influencentdirectement la conductivitéalorsque cette dernière augmente d'une manière moins importante au dela de la CMC. Le tensioactif se comporte comme un électrolyte classique. Au dessus de la CMC,la conductivité croît plus lentement à cause de l'association partielle des contre – ions auxmicelles. Les micelles sont des transporteurs de charge moins efficaces que le même nombrede monomères totalement dissociés, ce qui explique la diminution de la pente.

Le tableau ci-dessous (Tableau **IV.5**) regroupe quelques valeurs théoriques des CMC mesurées où on remarque que les valeurs obtenues par nos soins sont proches de celles citées dans la littérature.

Tableau IV.5: Comparaison entre les valeurs expérimentales et théoriques des CMC à 20°C

Tensioactif	**CMC_{exp} (mmol/l)**	**CMC_{th1} (mmol/l)**	**CMC_{th2} (mmol/l)**
SDS	8.90	8.20	8.14
CTAB	0.90	0.915	0.933

CMC_{exp} : la concentration micellaire critique obtenue expérimentalement.

CMC_{th1} :la concentration micellaire critique obtenue par tensiométrie tirée de la littérature.**[26]**

CMC_{th2} :laconcentration micellaire critique obtenue par conductimétrie tirée de la littérature.[26]

IV.3.5Détermination de la CMC du mélange des tensioactifs

La CMC du tensioactif anionique (SDS) en présence du tensioactif cationique (CTAB) a été déterminée par variation de la conductivité du mélange en fonction de la concentration en SDS en présence du CTAB à deux fractions molaires (SDS : CTAB)de (**0.9:0.1)** et (**0.6:0.4**).

Les résultats sont présentés dans le tableau**IV.6**ci-dessous Les courbes de conductivité en fonction de la concentration en SDS sont illustrées par les figures**IV.7** et **IV.8**ci-après.

Tableau IV.6 : Variationde la conductivité en fonction de la concentration en SDS en présence du CTAB à 20°C.

C_{SDS}(mmol/l)	2	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
K_c(0.9:0.1) (µS/cm)	158	278	344	418	533	552	617	626	664	688	735	746	790	810
K_c(0.6:0.4) (µS/cm)	166	382	475	519	582	596	642	660	708	738	761	822	855	914

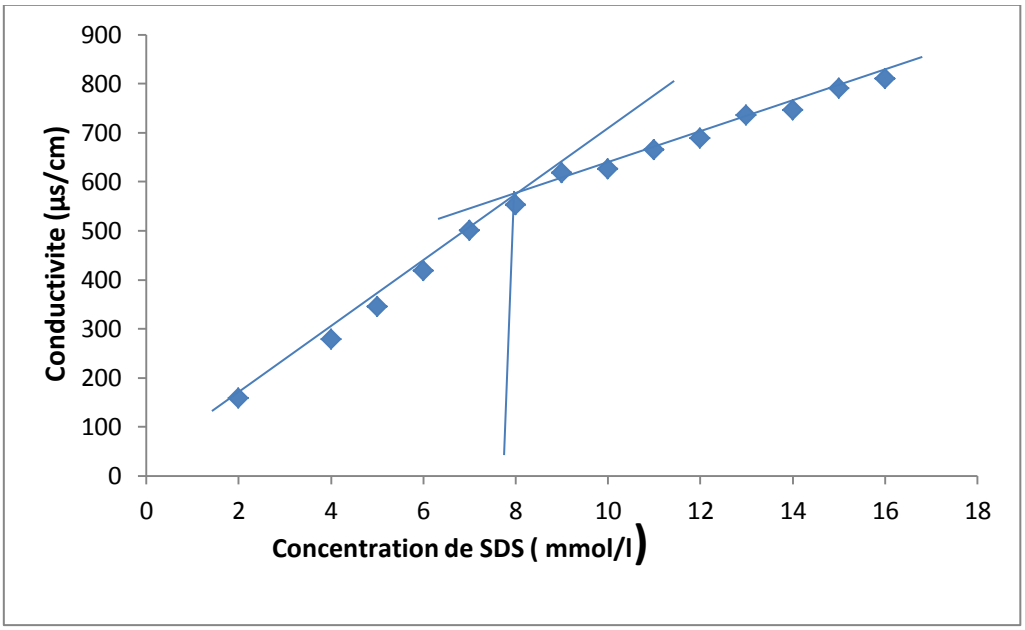
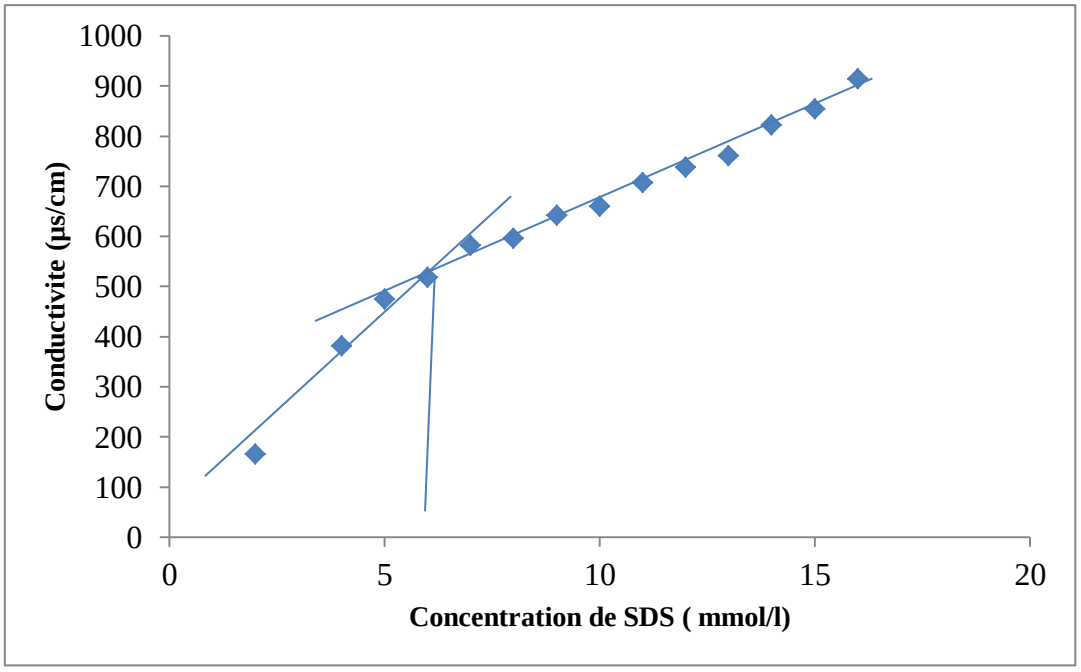


Figure IV.7: Courbe de la conductivité en fonction de la concentration en SDS en présence du CTAB(0,9/0,1)



FigureIV.8 : Courbe de la conductivité en fonction de la concentration en SDS en présence du CTAB(0.6/0.4)

Résultats et discussion :

La méthode graphique permet la détermination de la CMC du SDS en présence du CTAB, qui était de **8.1mmol/l** pour le rapport molaire (SDS : CTAB) de (09 : 0.1) et de **6mmol/l** lorsque le tensioactif cationique est ajouté à un rapport de (0.6 : 0.4).

On constate que le tensioactif cationique conduit à la diminution de la CMC du tensioactif anionique pure en facilitant sa micellisation.

VI.4 ETUDE DE L'ELIMINATION DES ANTIBIOTIQUES PRÉSENTS EN MILIEUX AQUEUX AU MOYEN DE TENSIOACTIFS

La chromatographie liquide à haute pression s'est révélée être une méthode indispensable pour caractériser et quantifier de manière précise des antibiotiques. Pour cela, nous l'avons choisiecomme moyen d'analyse durant toute notre étude. Les concentrations d'ampicilline et l'amoxicilline adsorbées par le SDS ont été déterminées par HPLC(chromatographie en phase liquide à haute performance) couplée à un détecteur UV (ultraviolet). Les analyses ont été effectuées par un système comprenant une pompe isocratique, et un détecteur UV. Les données ont été acquises et traitées par le logiciel CLASS VP. La phase mobile était constituée d'un mélange d'acétonitrile et tampon (1:99, v/v), pompée à 1.5ml/min au

travers d'une colonne (C18, 125 x 4.6 mm).Les picsétaient visibles par absorbance UV à 230 nm de longueur d'onde.

IV.4.1 Matériel

A. Description de l'HPLC

L'appareil est composé de :

- **Détecteur** :

modèle SPD-10AVvpmuni d'une lampe Deutérium (spectre d'absorption 190 à 350 nm) (ShimadzuCorporation 2002).

- **Pompe :**

C'est l'unité dissolvante de la livraison de la HPLC, elle est de type LC-10 ADVP (Shimadzu Corporation, 2002),Ce type de pompe maintient et protège facilement les échantillons à analyser contre l'interaction et la contamination.

- **Dégazeur**:

De modèle DGU-12A(Shimadzu Corporation, 2006), est un dégazeur en ligne qui utilise la membrane de fluoro-éthylene, sa capacité interne représente 1/25 de la valeur des autres modèles des dégazeurs, et le tempsd'attente ou replacement et la stabilisation de phase mobile peuvent être sensiblement réduit.

- **Intégrateur :**

C'est le contrôleur du système utilisé au niveau de laboratoire désigné sous le nom deSCL-10Vvp, il commande directement tous les composants de série VP, son menud'affichage est simplifié et facile à utiliser.

Une interface facultative permet au système multiple du HPLC d'être relié a un ordinateurmuni d'un logiciel puissant de chromatographie (CLASS-VPTM) pour mieux analyser lesgraphes.

- **Logiciel** :

Le logiciel (CLASS-VP) est conçu pour piloter les systèmes HPLC Shimadzu de type(LC-10A). Il estconnecté au contrôleur de système SCL-10 Avp,ce dernier contrôle tous les modules de l'appareil (HPLC) et transmet lechromatogramme au logiciel (CLASS-VP).

- **Four de la colonne** :

Le four contient l'élément clé de la séparation chromatographique c'est la colonneanalytique,de type (CTO-10 Avp).La colonne utiliséeest de typeen phase inverseC_{18}(125 x 4.6 mm), c'est une colonne remplie de gel de silice greffé .

- **Boucle d'injection** :

Le volume maximum qu'on peut injecter dans cette vanne est de 20 µl et pour cela on utiliseune seringue bien adaptée.

- **Flacons** :

Ce sont deux flacons en verre, le premier contient le solvant dans lequel plonge deuxfiltres reliés aux pompes par des tuyaux et le deuxième sert à recueillir le solvantaprès purgation.

- **Ordinateur** :

L'ordinateur joue un rôle d'intégrateur, grâce au logiciel intégré (CLASS VP) il nous permet de manipuler et d'analyser d'une manière très aisée le graphe obtenu.

La figure **IV.9** représente l'HPLC que nous avons utilisé durant notre travail.



Figure IV.9: HPLC utilisée durant l'étude

B. Dispositif de filtration

Le dispositif de filtration utilisé est de type SUPELCO(figure **IV.10)**. Tous les liquides utilisés dans l'HPLC doivent passer par ce dispositif. L'emploi de ce derniernous permet de prévenir les artéfactsou les pics parasites.



Figure IV.10: dispositif de filtration

C. Balance analytique

Les masses utilisées ont été pesées à l'aide d'une balance analytique de type balance électronique KERN ALS 220-4N.

D. Agitateur magnétique

L'agitation a été assurée par un agitateur magnétique de type OVAN model MCG15E.

E. Bain à ultrason :

De type Fisher Scientific (FB 15052). Ce dispositif schémétisé ci-dessous (figure VI.11), qui a été utilisé pour assurer la dissolution des poudres et des cristaux lors de la préparation des différentes solutions, ainsi que pour l'opération de dégazage.



Figure IV.11 :lebainultrason

F. PH-métre :

La mesure et l'ajustement du pH est effectuée avec un pH-mètre de type METROHM (827 pH lab). Le pH-mètre est préalablement étalonné avec des solutions tampons (pH entre 4-7 ou 7-10).

G. Papiers filtres :

De type SUPELCO (0.45µm x 4.7mm),Ces papiers filtres (Figure IV.12) sont utilisés pour filtrer la phase mobile après chaque usage et même nous avons utilisée des filtres seringuecertifiés avec membrane hydrophile en PVDF de porosité 0.45 µm pour filtrer nos solutions avant les injecter.



FigureIV.12: papiers filtres.

IV.4.2 Produits chimiques

Tous les solvants utilisés sont spécifiques à la chromatographie liquide à haute performanceet les réactifs utilisés sont de type analytique.L'acétonitrile et le méthanol sont les produits chimiques le plus souvent utilisés. Tous lesdissolvants et solutions ont été filtrés à l'aide de la membrane filtre et dégazés avant emploi.

A. Antibiotiques

L'amoxicillinesodique et l'ampicilline sodique sont deux antibiotiques sous forme de poudre provenant du complexe SAIDAL Antibiotical de MEDEA.

B. Standards d'antibiotiques : deux types de standards purs ont été utilisés :

- **Amoxicilline tryhydratée** : poudre blanche, peu soluble dans l'eau,provenant du complexe SAIDAL Antibiotical de MEDEA de référence 12AP197comme le montre la figure**IV.13**,de formule chimique $C_{16}H_{19}N_3O_5S,3H_2O$, de poids moléculaire 419,4g/mol,et depureté 851.79µg/mg.



FigureIV.13: le standard de l'amoxicilline tryhydratée

- **Ampicilline tryhydratée** :poudre fine blanche peu soluble dans l'eau provenant du complexe SAIDAL Antibiotical de MEDEAde référence 13AP137, de formule chimique : $C_{16}H_{19}N_3O_4S,3H_2O$, de poidsmoléculaire 403.5 g/mol, et de pureté 832.11 µg/mg. voir figure **IV.14.**



Figure IV.14: le standard del'ampicilline tryhydratée

C.Solvants et réactifs :

- **Acétonitrile :** (CH_3CN) de marque Panreac, Grade-HPLC, liquide à 99.9% de pureté, sa constante diélectrique est de 37.7 et son moment dipolaire de 3.45.
- **Dihydrogénophosphate de potassium** ;(KH_2PO_4)de chez Riedel-deHaèn dont le degré de la pureté est de 99-100%.
- **Isooctane :** (2, 2,4-trimethylpentane) Grade -HPLC, liquide à 99% de pureté, marque Fluka Chemica.
- **Acide phosphorique :** H_3PO_4dechez Fluka.
- **Méthanol(MeOH) :**(CH_3OH)pur pour HPLC de chez Fluka, sa constante diélectrique est de 32.7 et son moment dipolaire de 1.71.

IV.4.3Etude de l'élimination des antibiotiques

Les études ont été effectuées sur deux antibiotiques : l'amoxicilline sodique et l'ampicilline sodique. Le choix de ces molécules résulte de leur présence fréquente dans les eaux résiduaires issues d'industries pharmaceutiques.

Les analyses ont été réalisées au laboratoire de contrôle de qualité à Saidal Antibiotical Médéa.

IV.4.3.1 Préparation des échantillons

La méthode retenue pour l'étude de l'élimination des antibiotiques au moyen du tensioactif comporte les étapes suivantes :

- deux solutions mères ont été préparées de la manière suivante :

Nous avons mélangé 60 mg du standard pur (l'amoxicilline trihydratée) ainsi que pour le standard pur (l'ampicilline trihydratée) dans un litre d'eau distillée afin d'obtenir une solution mère d'une concentration de 0.06mg/ml de diluant, Par la suite nous avons préparé deux solutions mères de concentration 0.04mg/ml de chaque antibiotique (témoin) afin de quantifier le titre par rapport au standard.

- Un volume de 10 ml de la solution d'antibiotiques est mise en contact avec unequantité de tensioactif (SDS) correspondant à une concentration bien déterminée ($\mathbf{C_{SDS}}$) dans un bécher de 100 ml.
- Le mélange est mis dans un bain ultrason pour assurer la dissolution du SDS.
- Le milieu est soumis sous agitation à une vitesse connue pour un temps de contact donné au bout duquel il y aura formation de deux phases : une phase constituée par la mousse formée par le SDS et chargée par les antibiotiques et une phase résiduelle contenant la quantité restante des antibiotiques qui n'a pas été captée par le tensioactif.

- un échantillon de la solution résiduelle est pris au moyen d'une seringue , filtré sur un filtre à seringue, les filtrats sont transférés dans des flacons HPLC en verre (vials) pour être analysé par la suite.

IV.4.3.2 Préparation de la phase mobile

La phase mobile a été préparée en mélangeant : 10ml d'acétonitrile est ajouté au 90 ml de la solution tompon préparée par la dissolution de 13.6 g de KH_2PO_4 dans 1000 ml d'eau distillée aqueux, ce tampon est une solution aqueuse de dihydrogénophosphate de potassium 0.1 M, dont le rôle est d'éviter que les pics présentent des trainées importantes ; L'ajustement du pH a été effectué par utilisation de solution aqueuse de KOH(45%) sous agitation jusqu'à avoir un pH égal à 5, **(**le pH a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre) de type METROHM (827 pH lab).Il est impératif de passer la phase mobile dans le dispositif de filtration en utilisant des filtres de 0.45 µm puis dans le bain à ultrason afin d'éviter les pics parasites de l'eau distillée.

Les dosages des antibiotiques ont été réalisés par uneméthode HPLC/UV. La méthode a été validée pour desconcentrations allant de 0.15 µg/ml à 20 µg/ml

IV.4.3.3 le calcul de titre en HPLC

La quantification des deux antibiotiques a été réalisée à l'aide de deux calibrations, une avecun standard d'ampicilline trihydratée, et l'autre avec un standard d'amoxcilline trihydratée.

Le titre de nos produits est calculé selon la formule ci-dessous retenue à partir de l'USP [1988]

$$\mathbf{T= P_s/P_e*A_e/A_s*P}$$

Ps= pesée du standard en mg.
Pe= pesée d'échantillon en mg.
Ae= l'air de l'échantillon.
As= l'air du standard.
P= pureté du standard en µg/mg ou en %.
T= Titre en %.

A. Calcul du titre de l'amoxicilline

$$T = \frac{1123380}{14270164} \text{ x} \frac{30/50}{40/1000} \text{ x } 85.17 = 99.97\%$$

On constate que le titre del'amoxicillinerépond à lanorme exigée [89% à 105 %] . Cela est du à la présence des impuretés à faible concentrations.

TableauIV.7 : comparaison de titre de l'amoxicilline par apport à la norme

Echantillon	Référence	Résultat
99.97%	89 à 105 %	conforme

B. Calcul du titre de l'ampicilline

$$T = \frac{386528}{5151464} \text{ x} \frac{30/50}{40/1000} \text{ x } 83.21 = 93.04\%$$

On constate aussi que le titre de l'ampicilline répond à la norme exigée [89% à 105 %] **.** Cela est du à la présence des impuretés a petites concentrations.

TableauIV.8 :comparaison de titre de l'ampicilline par apport à la norme

Echantillon	Référence	Résultat
93.04%	89 à 105 %	conforme

IV.5DETERMINATION DES CONDITIONS OPTIMALES

Avant d'entamer les essais de traitement de notre milieu complexe constitué par les deux antibiotiques, il était nécessaire d'optimiser les paramètres d'analyse HPLC, à savoir :

- ✓ La composition de la phase mobile.
- ✓ Le débit de la phase mobile.
- ✓ longueur d'onde.
- ✓ Débit.

IV.5.1 Optimisation de la composition de la phase mobile pour l'ampicilline et l'amoxicilline :

Pour l'optimisation de ce paramètre, cinq essais ont été effectués :

Pour ce faire, nous avons opté pour une chromatographie à polarité de phase inverses (actuellement la plus utilisée), deux types de phases mobiles: un mélange « Acétonitril (ACN) / Eau » ou un mélange « Acétonitril (ACN) / Eau / Acide acétique », Le pH choisi est 5.3

Nous avons utilisé les paramètres d'analyse suivants :

- Colonne : C_{18}.
- Détection : 230 nm
- Débit : 1.5 ml/mn
- Volume injecté : 20 µl
- Température de travail : 25°C

Les résultats trouvés sont donnés dans le tableau **IV.9** ci dessous.

Tableau IV.9 : Effet de la composition de la phase mobile sur les temps de rétention et les surfaces des pics.

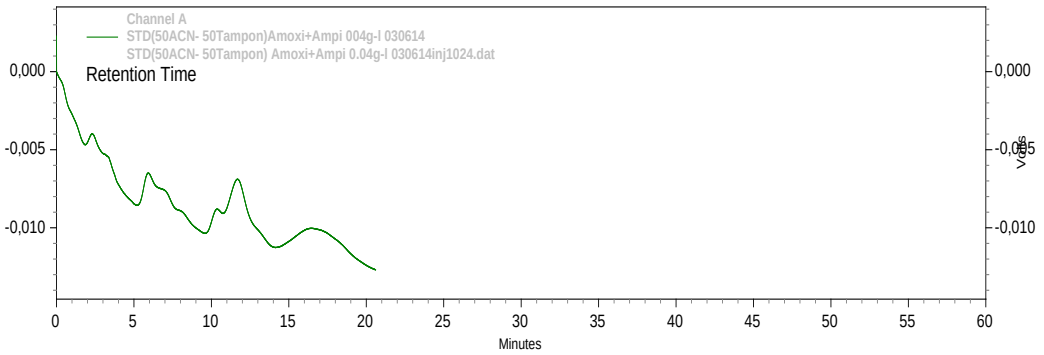
Colonne : C_{18} λ = 230 nm

T = 25°CDébit : 1.5ml/mn

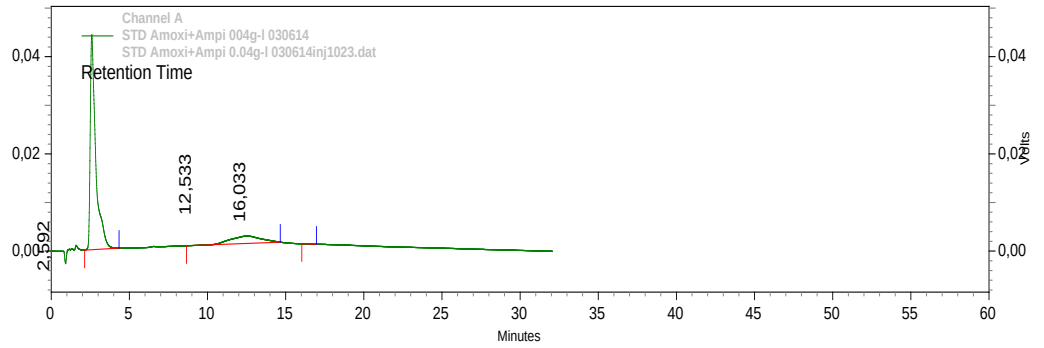
pH = 5.3volume injecté : 20 µl

Composition de la phase mobile	**Temps de rétention t_R (mn) pour l'amoxicilline**	**Temps de rétention t_R (mn) pour l'ampicilline**	**Surface du pic pour l'amoxicilline**	**Surface du pic pour l'ampicilline**
100% tampon aqueux	3,708 4.250 3.710	28,600 28.700 29.021	122888 102756 120896	365053 349576 347965
50(ACN)/50(Tampon)	----	----	----	----
75(ACN)/25(Tampon)	2.592 2.651 2.701	12.533 12.601 12.702	1085572 1092410 1084921	306573 321287 331452
80(ACN)/19(Tampon)/1(A.acétique)	3.575 3.650 3.595	16.558 17.213 16.824	805983 825412 813697	367190 368925 359978
10(ACN)/90(Tampon)	1.408 1.425 1.491	2.917 3.853 3.912	1123380 1103659 1094387	386528 371289 359871

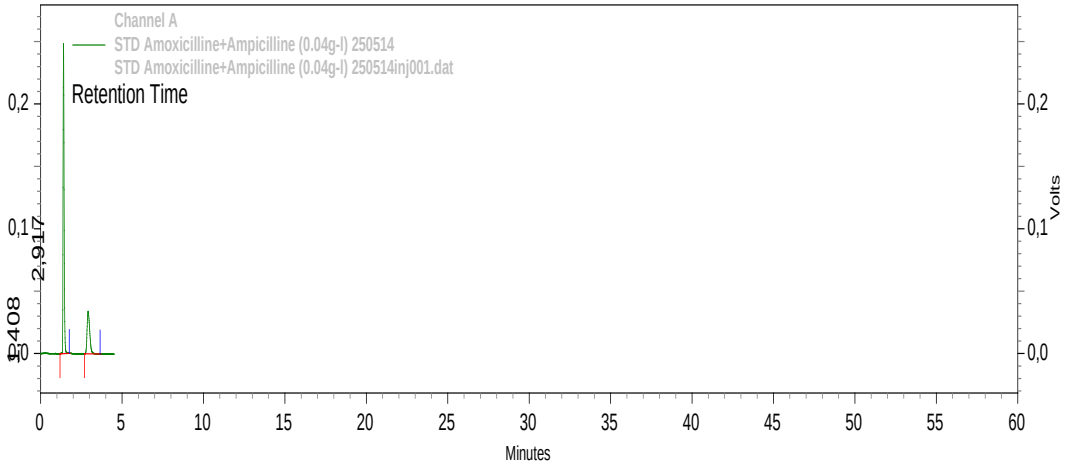
---- : ND (difficulté de faire intégrer le chromatogramme).



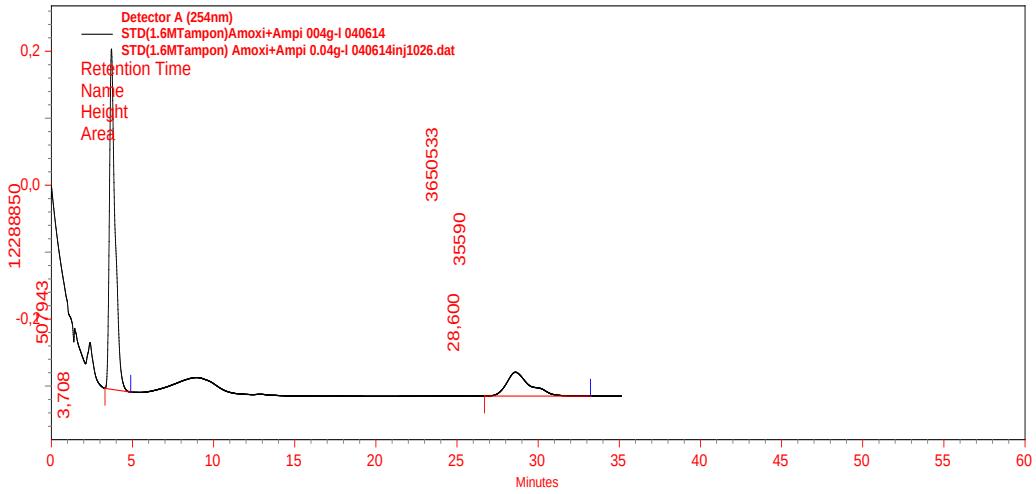
(a)



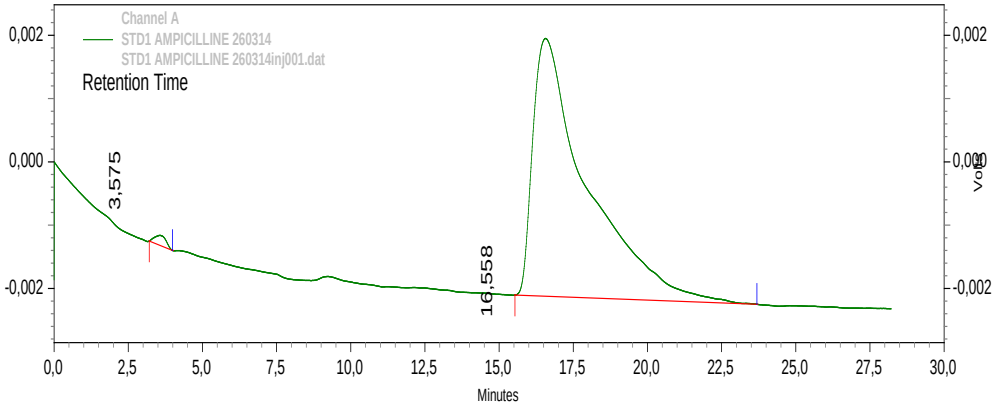
(b)



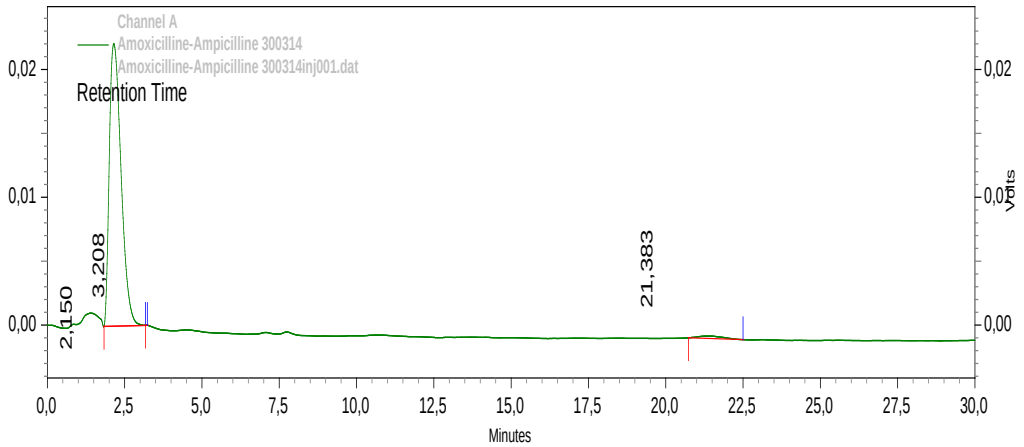
(C)



(d)



(e)



(f)

FigureIV.15 : Effet de la composition de la phase mobilesur les chromatogrammes del'ampicilline et de l'amoxicilline

Colonne : C_{18} ; Débit : 1.5ml/mn ;λ = 230 nm ; PH = 5.3 ; T = 25°C ; [ATB] = 40 mg/L ; Volume injecté : 20 µl

Phase mobile : ACN/Tampon aqueux (**a):** 50 /50 (**b):** 25/75(eau bi distillé)

(c) : 10/90 (**d) :** 100% Tampon aqueux(**e) :**ACN/TAMPON/A Acétique

(f)la phase mobile de l'amoxicilline

Discussion :

Au vu des résultats trouvés , on remarque qu'au fur et à mesure que la teneur en tampon augmente, les temps de rétention diminuent de plus en plus jusqu'à atteindre un temps minimum et ce pour une composition de 10/90. De plus, une bonne reproduction en temps et en surface a été observée pour une composition de 10/90, contrairement aux autres mélanges. Nous avons choisile temps de rétention le plus réduitqui est celui de la composition 10/90 à cause des conditions de travail que nous avons eu durant notre stage.

Par ailleurs, les pics obtenus sur les chromatogrammes (figure **IV.15**)montrent une instabilité par rapport aux autres compositions. Pour toutes les considérations décrites ci-dessus, on a opté pour une composition ACN/Tampon aqueux de 10/90 pour la suite de notre étude.

IV.5.2 Choix du débit de la phase mobile

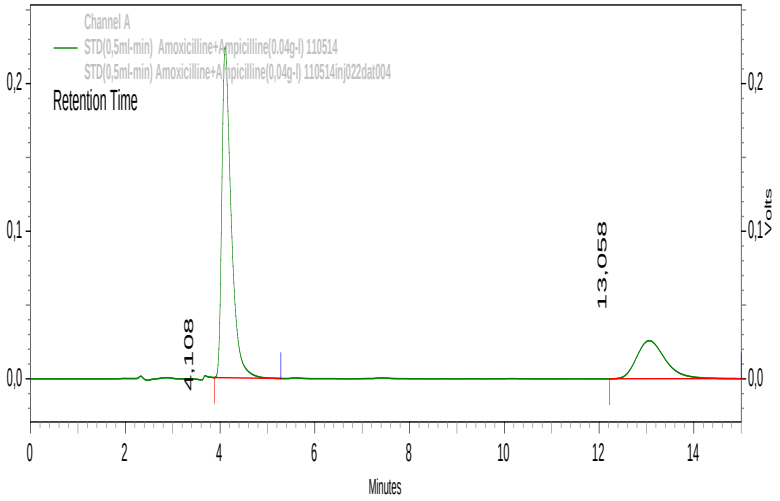
L'objectif de cette étude est d'évaluer l'influence du débit de la phase mobile sur les temps de rétention des deux antibiotiques. Pour cela, nous avons testés trois débit (de 0.5 à 1.5ml/min). Les résultats trouvés sont reproduits sur le tableau **IV.10.**

Tableau I.V.10 : Effet du débit de la phase mobile sur le temps de rétention de l'ampicilline et l'amoxicilline.

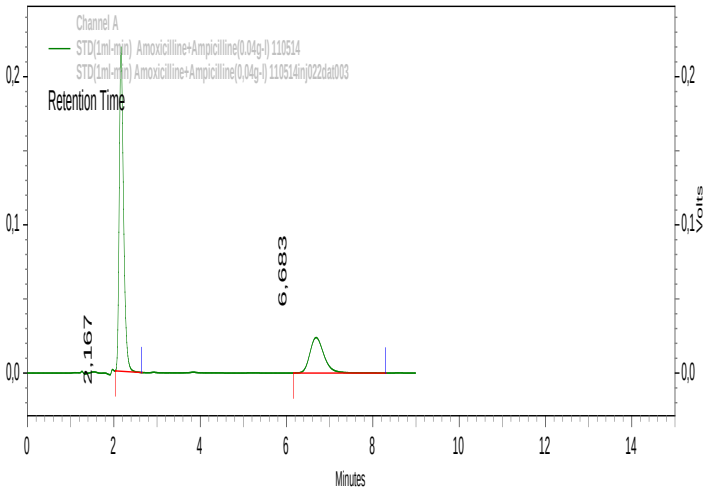
Colonne : C_{18} Débit : 1.5ml/mn Phase mobile :ACN / Tampon aqueux Composition : 10/90 Volume injecté : 20 µl ,λ = 230 nm pH = 5.3 , T = 25°C			
Débit de la phase mobile (ml/mn)	0.5	1	1.5
Temps de rétention de l'amoxicilline (mn)	4.108 3.980 4.210	2.167 2.059 2.126	1.40 1.39 1.42
Temps de rétention de l'ampicilline (mn)	13.058 12.894 13.102	6.683 6.700 6.667	2.91 2.81 2.85

Résultats

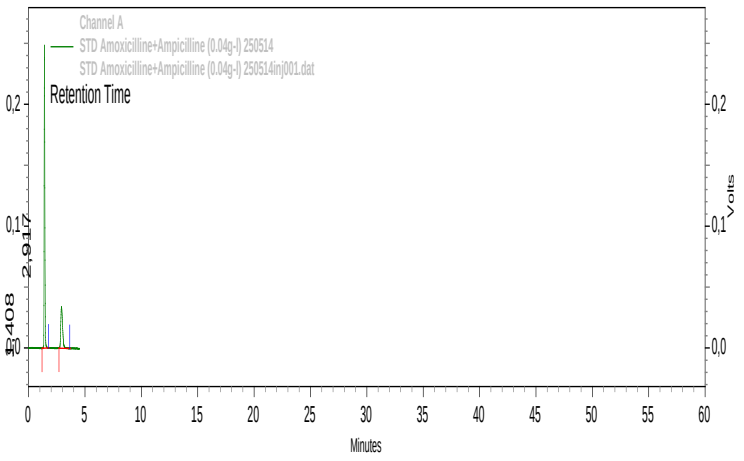
L'analyse des résultats obtenus, on s'aperçoit que le tempsde rétention diminue quand le débit de la phase mobile augmente. Notre choix s'est porté sur le débit de 1.5ml/mn qui donne un meilleur chromatogramme (des pics moins large et plus fins) que celles obtenus avec les débits de1 ml/min et 0.5 ml/min et donne des temps de rétentions plus courts (figure **IV.16**).



(a)



(b)



(c)

Figure IV.16 : Effet du débit de la phase mobile sur les temps de rétentions

de l'amoxicilline et l'ampicilline

Colonne : C_{18} Phase mobile : (ACN)/(Tampon)(10/90) ; pH = 5.3 ;λ = 230 nm ;

T = 25°C ; Volume injecté : 20 µl ; Concentration : 40 mg

Débit (ml/mn) : 0.5 ml/mn **(a) /** 1.0 ml/mn **(b) /** 1.5 ml/mn **(c)**

IV.5.3 Choix de la phase stationnaire

Une seule phase stationnaire a été utilisée, il s'agit de la phase inverse C18, qui est constituéede molécules hydrophobes greffées sur de la silice.La colonne utilisée est de type VP-ODS 125 x 4,6 mm,Ce type de colonne a été développé pour répondre aux exigences des laboratoirespharmaceutiques et de contrôle de qualité.

IV.5.4 Choix du pH de la phase mobile

Le pH de la phase mobile est un paramètreimportant dans l'analyse chromatographique. Sa valeur doit être entre 2 et 7.5 afin de ne pas altérer le greffage. Pour ce faire, on a choisi trois (3) valeurs de pH comprises entre 3 et 5.3.

Les autres paramètres chromatographiques utilisés sont les suivants :

- Colonne : C_{18}.
- Phase mobile : Acétonitril / Tampon aqueux (10/90)
- Détection : 230 nm
- Débit : 1.5 ml /mn
- Volume injecté : 20 µl
- Température de travail : 25°C

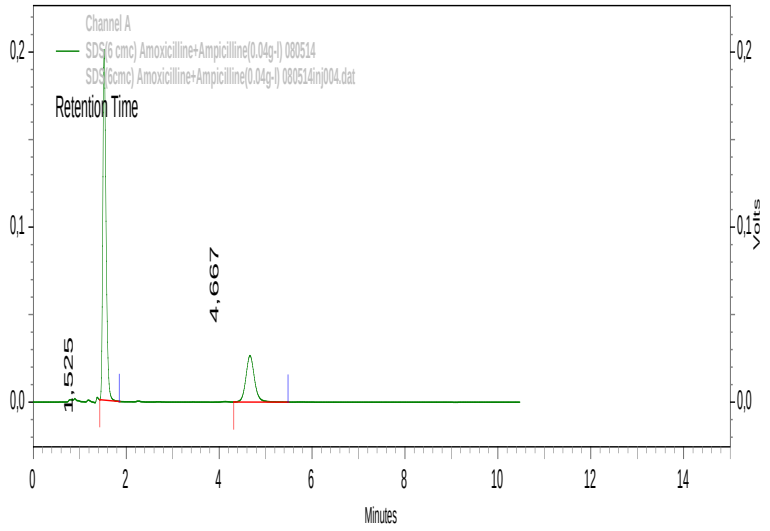
Les résultats de cette étude sont reportés sur le tableau **IV.11** et la figure**IV.17** ci-après. On remarque que plus le pH augmente, les temps de rétentions des antibiotiques diminuent dans l'ensemble. De plus, pour la valeur de pH = 5.3, nous avons noté une bonne reproductibilité des résultats, que ce soit pour le temps de rétention ou pour la surface des pics.

TableauIV.11 : Effet du pH de la phase mobile sur le temps de rétention et les surfaces des pics

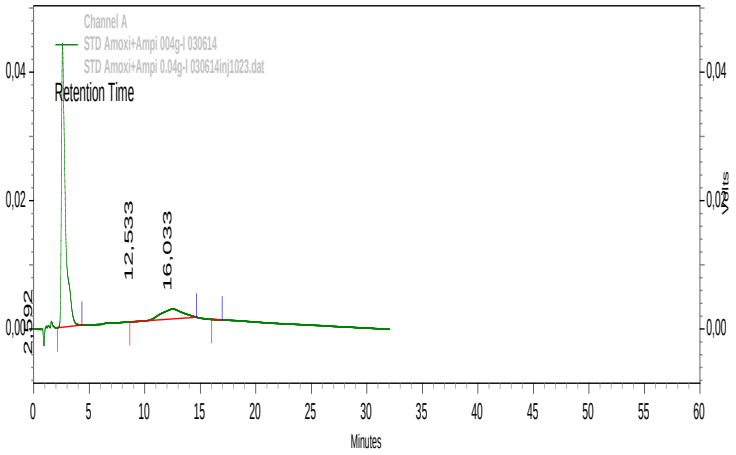
Colonne : C_{18} Débit : 1.5ml/mn
Phase mobile :ACN/Tampon aqueux (10 /90)
Volume injecté : 20 µl λ = 230 nm T = 25°C

pH de la phase mobile	Essais	Temps de Rétention t_R (mn) pourl'amoxicilline	Temps de rétention t_R(mn) pour l'ampicilline	Surface du pic pour l'amoxicilline	Surface du pic pour l'ampicilline
3	Essai 1	13.008	17.450	196351	4355
	Essai 2	14.250	17.554	215123	4623
	Essai 3	14.905	18.208	201340	4378
4.5	Essai 1	2.592	12.533	1085572	206573
	Essai 2	3.203	14.240	1102135	252314
	Essai 3	3.305	14.253	1105781	217895
5.3	Essai 1	1.408	2.917	1123380	386528
	Essai 2	1.415	3.853	1103659	371289
	Essai 3	1.401	3.912	1004387	379871
6.8	Essai 1	1.525	4.667	1105996	368999
	Essai 2	1.667	4.694	1127548	388425
	Essai 3	1.584	4.673	1127845	375121

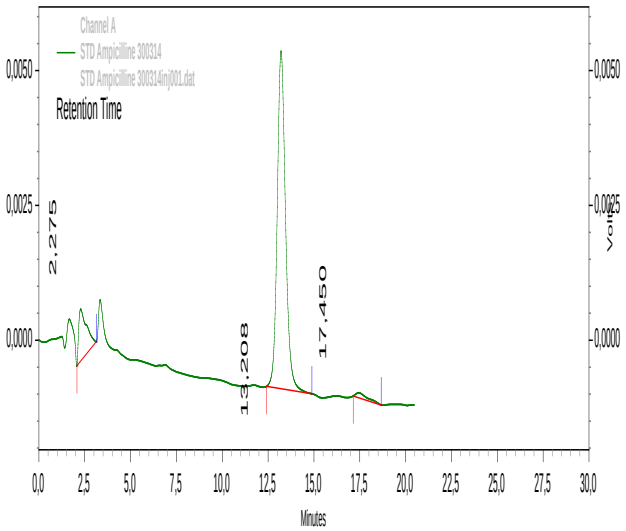
Les chromatogrammes obtenus sont schématisés ci-dessous :


Channel A
SDS(6 cmc) Amoxicilline+Ampicilline(0.04g-l) 080514
SDS(6cmc) Amoxicilline+Ampicilline(0.04g-l) 080514inj004.dat
Retention Time
1,525
4,667
Volts
Minutes

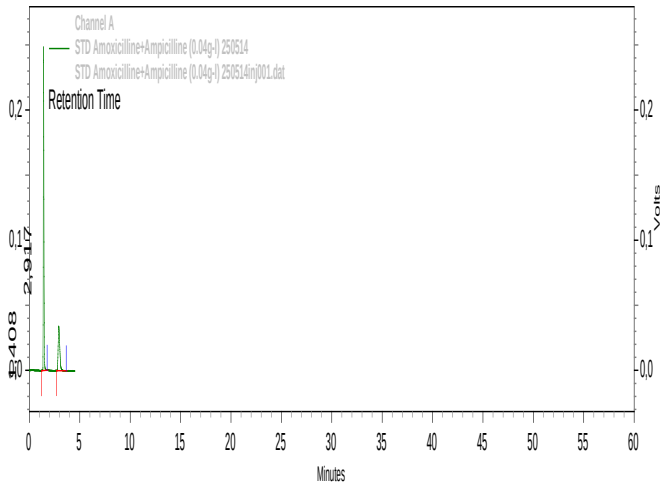
(a)


Channel A
STD Amoxi+Ampi 004g-l 030614
STD Amoxi+Ampi 0.04g-l 030614inj1023.dat
Retention Time
2,392
12,533
16,033
Volts
Minutes

(b)


Channel A
STD Ampicilline 300314
STD Ampicilline 300314inj001.dat
Retention Time
2,275
13,208
17,450
Volts
Minutes

(c)



(d)

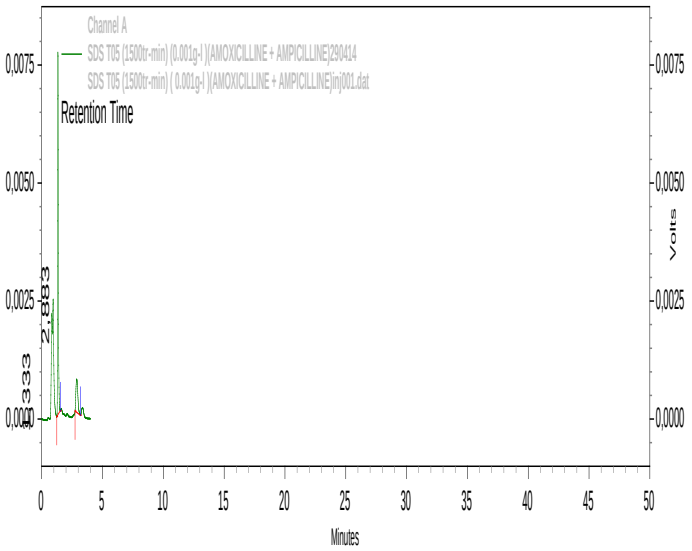
Figure IV.17 : Choix du pH de la phase mobile

Phase mobile : ACN/Tampon aqueux 10/90 ; Colonne : C_{18} ; Débit : 1.5ml/mn ; λ = 230 nm ; T = 25°C ; Concentration : 40 mg/L ; Volume injecté : 20 µl

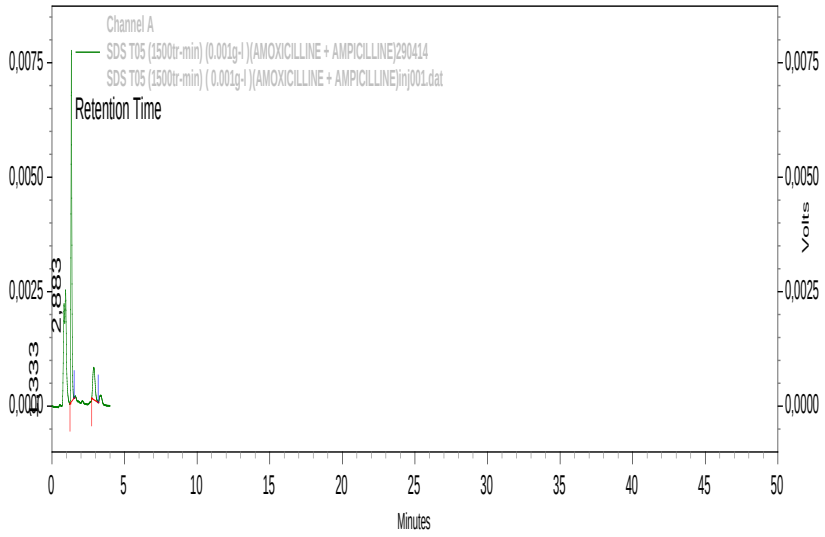
(a) PH = 6 **(b)** PH = 4.6 **(c)** PH = 3**(d)** PH = 5.3

IV.5.5 Optimisation de la longueur d'ondedu mélange

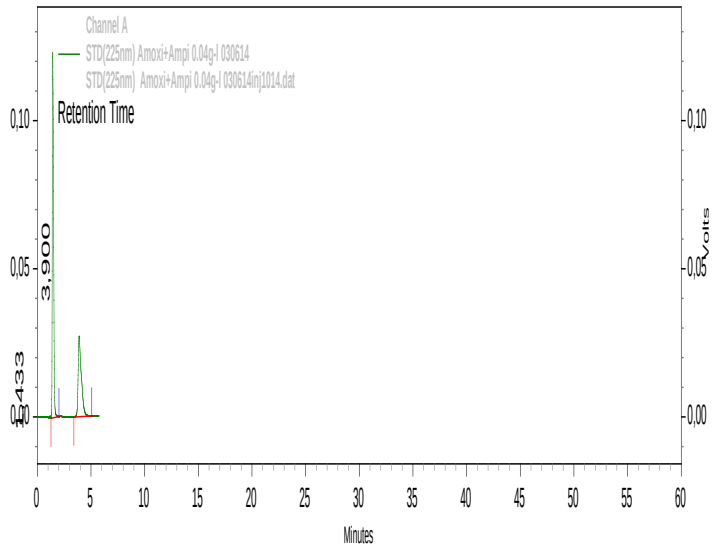
Un balayage du spectre a été effectué pour déterminer la longueur d'onde d'adsorption maximale du mélange d'antibiotique (l'amoxicilline et l'ampicilline). L'absorbance à été déterminée dans un intervalle de longueur d'onde allant de 190 à 330 nmet les autres paramètres ont été fixés (figure **IV.18)**. Le maximum d'absorption est obtenu pour une valeur de longueur d'onde λ_{max} = 230 nm.


Channel A
SDS T05 (1500tr-min) (0.001g-l)(AMOXICILLINE + AMPICILLINE)290414
SDS T05 (1500tr-min) (0.001g-l)(AMOXICILLINE + AMPICILLINE)inj001.dat
Retention Time
2.883
0,333
0,0075
0,0050
0,0025
0,0000
Volts
0 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50
Minutes

(a)


Channel A
SDS T05 (1500tr-min) (0.001g-l)(AMOXICILLINE + AMPICILLINE)290414
SDS T05 (1500tr-min) (0.001g-l)(AMOXICILLINE + AMPICILLINE)inj001.dat
Retention Time
2.883
0,333
0,0075
0,0050
0,0025
0,0000
Volts
0 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50
Minutes

(b)



(c)

Figure IV.18 : Optimisation de la longueur d'onde

Phase mobile : ACN/Tampon aqueux 10/90
Colonne : C_{18} Débit : 1.5ml/mn T = 25°C
Concentration : 40 mg/L Volume injecté : 20 µl

(a)λ = 330 nm **(b)** λ =300 nm **(c)** λ = 230 nm

Discussion:

D'après les essais effectués pour optimiser la longueur d'onde, nous avons constaté que les antibiotiques absorbentmieux à 230 nm (les surfaces sont plus grandes) c'est la raison pour laquelle nousavons gardé cette dernière pour la suite de nos analyses.

I .5.6Effet de l'isooctane

L'influence d'un solvant organique (l'isooctane) sur l'efficacité d'élimination des effluents pharmaceutiques au moyen de tensioactifs a été envisagéedans le but d'améliorer le procédé d'adsorption. Pour ce faire, nous avons effectué plusieurs expériences avec et sans l'ajout d'isooctane . Les résultats sont récapitulés dans le tableau**IV.12** ci-dessous :

Tableau IV.12 : Effet de l'isooctanesur le rendement d'adsorption

	Amoxicilline		**Ampicilline**	
	R (%)	**C(mg/ml)**	**R (%)**	**C(mg/ml)**
Sans isooctane	13.77	5.50×10^{-3}	10.25	4.1×10^{-3}
Avec isooctane	35.85	1.44×10^{-2}	27.56	1.12×10^{-2}

IV.6 ETUDE PARAMETRIQUES

Pour mettre en évidence l'influence de certains paramètres susceptibles d'affecter le processus d'adsorption, nous avons fait varier successivement le temps de contact, la vitesse d'agitation, la concentration initiale de l'antibiotique et celle du tensio actif et la température. Toutes les analyses ont été réalisées à une longueur d'onde λ= 230 nm.

Pour tous les paramètres étudiés, les chromatogrammes sont représentés en annexe.

IV.6.1Détermination du temps de contact

La cinétique d'adsorption sert à la description du processus d'adsorption jusqu'à ce que l'équilibre d'adsorption soit atteint. Cet équilibre est caractérisé par une concentration du soluté en solution au cours du temps.

Dans le but de déterminer le temps de contact nécessaire à l'établissement de cet équilibre, on mesure la quantité de soluté adsorbé en fonction du temps de contact correspondant à l'équilibre de l'adsorption. Ce temps servira à la planification temporaire des expériences d'adsorption. Il constitue par ailleurs, un paramètre caractéristique de l'absorption sur notre adsorbant utilisé.Pour cela, nous avons suivi la cinétique d'adsorption des antibiotiques de concentration initiale de 0.04mg/ml en contact avec une concentration en SDS 6xCMC.

Les autres paramètres sont maintenus constants : une température de 25°C,la vitesse d'agitation est égale à 500 tours/min,les valeurs des concentrations déterminées par le SDS et le titre de chaque antibiotique sont regroupées sur le tableau **IV.13** .

TableauIV.13 : l'étude de l'influence du temps de contactsur l'adsorption.

	Amoxicilline		**Ampicilline**	
t (min)	**R (%)**	**C×10^{-3}(mg/ml)**	**R (%)**	**C×10^{-3}(mg/ml)**
0	8.76	3.50	10	4.22
1	9	3.6	9.74	4
2	10.02	4	12.3	4.95
3	9.90	4	12.68	5.07
4	10.07	4.02	15.06	6.02
5	24.70	9.88	23.6	9.50
6	20.40	9.65	23.20	9.30
7	19.5	7.81	20.60	8.24
10	17.90	7.30	14.70	6
20	17.6	7.07	14.56	5.85

La figure **IV.19** montre lavariation de la concentration captéede chaque antibiotique au cours du temps.

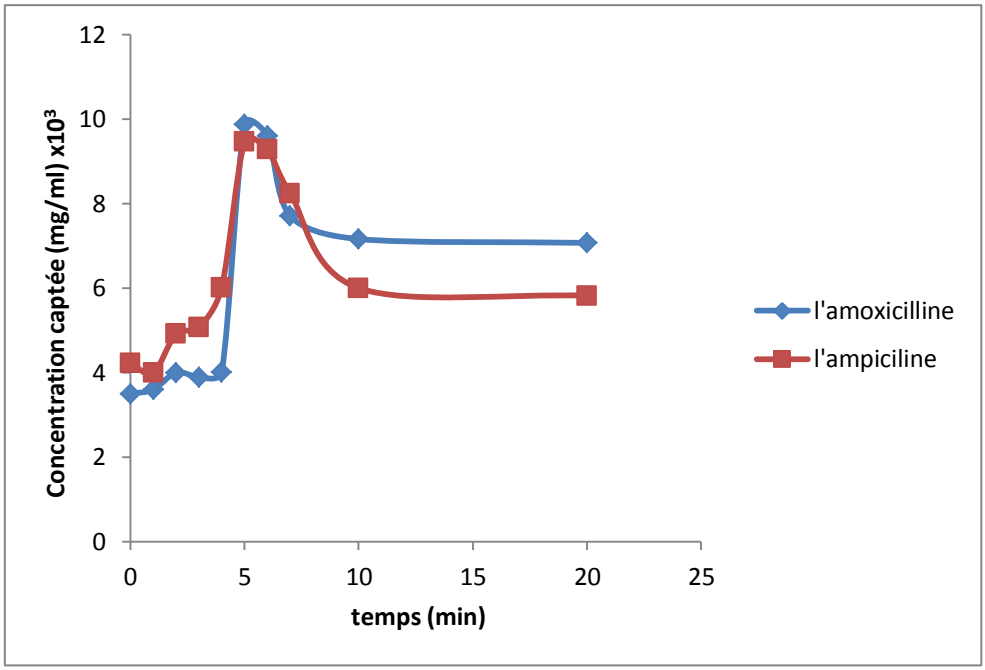


Figure IV.19 : Influence du temps de contact sur l'adsorption

L'analyse de la courbe montre que la vitesse d'adsorption des antibiotiques par le tensio actif évolue rapidement au cours du temps jusqu'à atteindre la saturation.

On remarque que l'équilibre est atteint au bout de cinq minutes de contact au delà de cette durée, la concentration demeure constante 7.07 $\times 10^{-3}$(mg/ml) pour l'amoxicilline et 14.56 $\times 10^{-3}$(mg/ml) pour l'ampicilline . Ce temps de contact entre antibiotiques adsorbant- tensio actif a été fixé pour le reste de nos expériences**.**

IV.6.2 Influence de la vitesse d'agitation

L'agitation est un paramètre très important dans tout processus d'adsorption qui met en jeu un transfert de matière, car elle permet d'homogénéiser la solution et favorisant la fixation de l'adsorbat. Dans les mêmes conditions de l'expérience précédente sauf que cette fois on fixe le temps de contact à 5min, et la vitesse d'agitation a été variée de 500 à 1500 tr/mn. On suit ensuite la variationde la concentration adsorbée en fonction des différentes vitesses choisis.,

Les résultats trouvés sont donnés dans le tableau **IV.14**

TableauIV.14 : Etude de l'influencede la vitesse d'agitation sur l'adsorption

	Amoxicilline		**Ampicilline**	
Les tours d'agitation (tr/min)	**R (%)**	**C×10^{-3}(mg/ml)**	**R (%)**	**C×10^{-3}(mg/ml)**
500	9.74	3.89	10.41	4.16
800	22.30	8.95	17.67	7.07
1000	23.91	9.56	21.54	8.61
1200	37.48	15	31	12.40
1500	45.80	18.32	43.62	17.44

La figure**IV.20** montre la variation de la concentration captée des antibiotiques en fonction de la vitesse d'agitation:

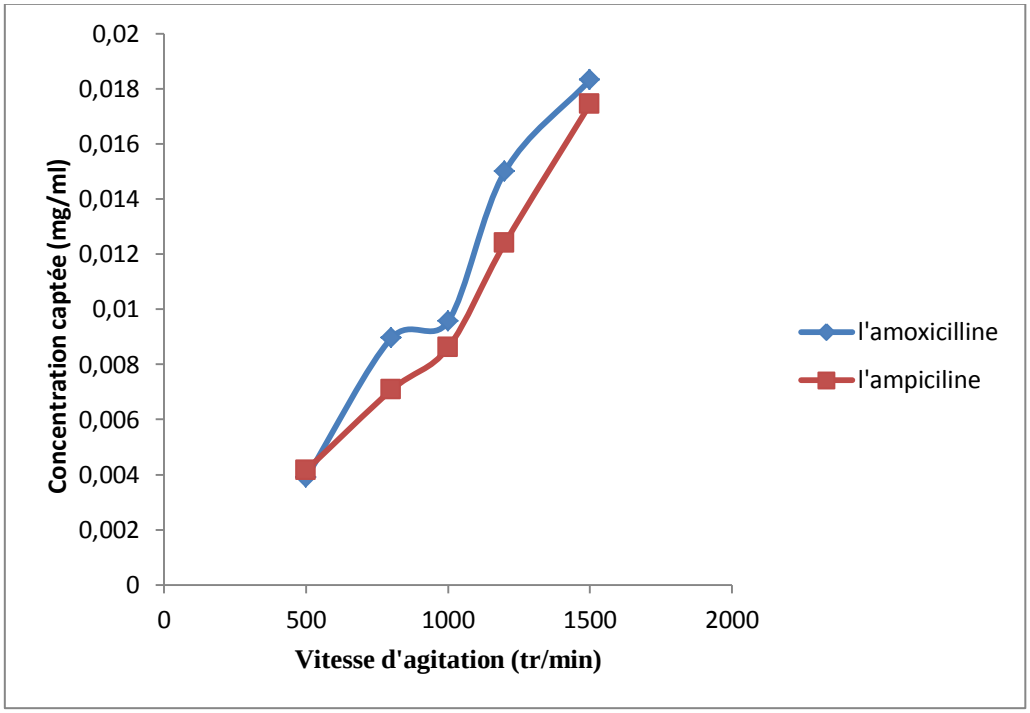


Figure IV.20 : Influence de la vitesse d'agitation sur l'adsorption

L'analyse de cette courbe, nous a permis de dire que la concentration captée de chaque antibiotique augmente graduellement avec la vitesse d'agitation jusqu'à 1500 tr/mn, Les grandes quantités adsorbées pour des vitesses d'agitations supérieures à 1500 tr/min sont dues à une grande dispersion des particules de l'adsorbant qui a pour conséquence une augmentation de la surface de contact entre l'adsorbant et l'adsorbat**. Une vitesse d'agitation de 1500 tr/min a été retenue pour le reste de notre étude** .

IV.6.3Effet de la concentration en antibiotiques

L'étude de l'effet de la concentration initiale en antibiotiques sur l'adsorption a été réalisée pour les différentes concentrationsen antibiotiques (mg/ml) sont : 0,001 ; 0,01 ; 0,04 ; 0,08 ; et 0,2.

Les résultats obtenus sont représentées dans le tableau **IV.15** ci-dessous :

TableauIV.15 : Effet de la concentration en antibiotiques

	Amoxicilline		**Ampicilline**	
$C_0\times10^{-3}$(mg/ml)	**R (%)**	**$C\times10^{-3}$(mg/ml)**	**R (%)**	**$C\times10^{-3}$(mg/ml)**
1	51	0.51	48	0.48
10	28	2.82	33	3.30
40	45.80	18.32	43.62	17.44
80	23	18.17	23	18.40
200	16.83	33.07	20	40

La figure **IV.21re**présente l'effet de la concentration initiale des antibiotiques en fonction du rendement :

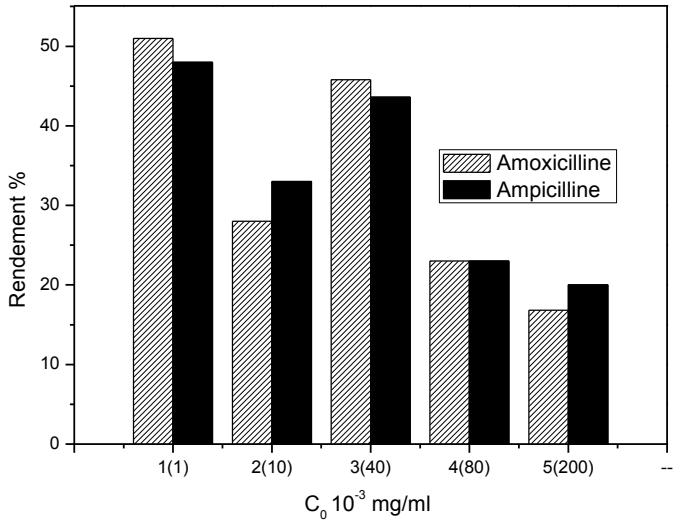


Figure IV.21 : Effet de la concentration en antibiotiques

Discussion

L'influence de la concentration en effluent aqueux sur la quantité du tensio actif adsorbée, a été étudiée par la mise en contact des deux supports.

L'analyse de la figure**IV.21** montre qu'un rendement maximum d'adsorption de la quantité d'amoxicilline (51%) et d'ampicilline (48%) sur le tensio actif a été obtenu pour une concentration en antibiotique égale à 10^{-3} mg/ml.

L'augmentation de la quantité des antibiotiques éliminés par les tensioactifs est due principalement à l'augmentation de la surface d'échange et à la disponibilité d'un nombre importants de sites d'adsorption.

IV.6.4Effet de la concentration en SDS

L'étude de l'effet de la concentration en SDS sur l'adsorption a été réalisée pour les différentes concentrations en SDS (mmol/l), on tenant compte que la CMC de SDS obtenue dans la partie**B**est environ 9(mmol/l), donc les concentrations en SDS sont : 6 ; 18 ; 54 ; 81 ;et 108.

Les résultats obtenus sont représentées dans le tableau **IV.16** ci-dessous :

TableauIV.16 : Effet de la concentration en SDS

	Amoxicilline		**Ampicilline**	
C_{SDS} (mmol/l)	**R (%)**	**C×10^{-3}(mg/ml)**	**R (%)**	**C×10^{-3}(mg/ml)**
< CMC(6)	6.43	2.5	6.80	2.71
2 CMC, (18)	9.9	3.80	10	4
6 CMC (54)	13.65	5.46	11.45	4.6
9 CMC (81)	23.56	9.42	24.15	9.6
12 CMC (108)	45.80	18.32	43.62	17.44

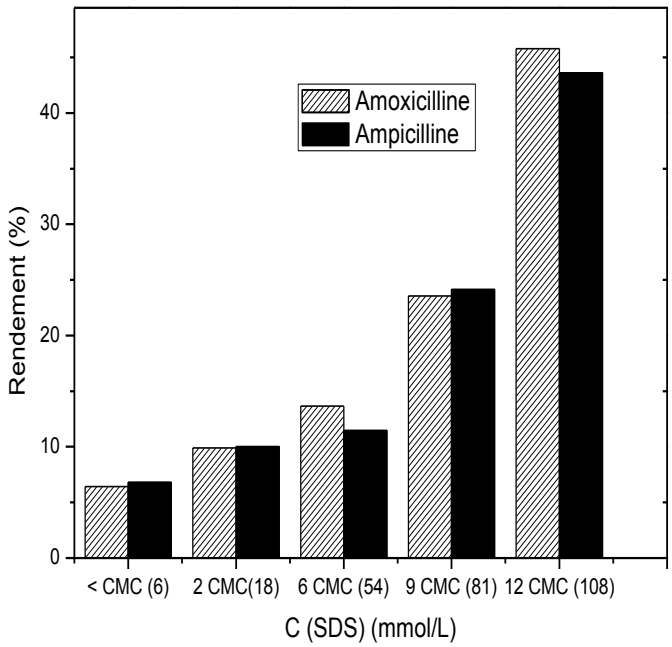


Figure IV.22 : Effet de la concentration en SDS

Discussion

A la lumière des résultats trouvés (voir figure **IV.22**) , on remarque que la quantité des antibiotiques adsorbée par le tensio actif augmente avec l'augmentation de la concentration initiale de l'adsorbat. Ceci est dû à la présence d'un fort gradient de concentration en soluté entre la solution et la surface du solide.

Un bon rendement a été obtenu de l'ordre de 45,80% pour l'amoxicilline et de 43,62% pour l'ampicilline et ce pour une concentration en SDS égal à 12 fois la CMC.

IV.6.5Effet de la température

Dans les mêmes conditions des expériences précédentes, on fixe tous les paramètresdéjà optimisés et on change la température (C°) allant de 5 à 45, On suit ensuite la variationde l'adsorption en concentration captée en fonction de différentes température. Les résultats illustrées dans le tableau **IV.17** ci-dessous :

TableauIV.17 :l'étude de l'influence de la températuresur l'adsorption.

	Amoxicilline		**Ampicilline**	
T(C°)	**R (%)**	**C×10^{-3}(mg/ml)**	**R (%)**	**C×10^{-3}(mg/ml)**
5	8.91	3.56	10.60	4.24
15	19.76	7.90	21.13	8.45
25	45.80	18.32	43.62	17.44
35	22	8.8	22.57	9.02
45	15.31	6.12	16.34	6.5

Pour visualiser l'effet de la température on trace la quantité adsorbée en antibiotiqueen fonction de la température pendant 5 mn pour chaqueopération, on obtient la courbe suivante :

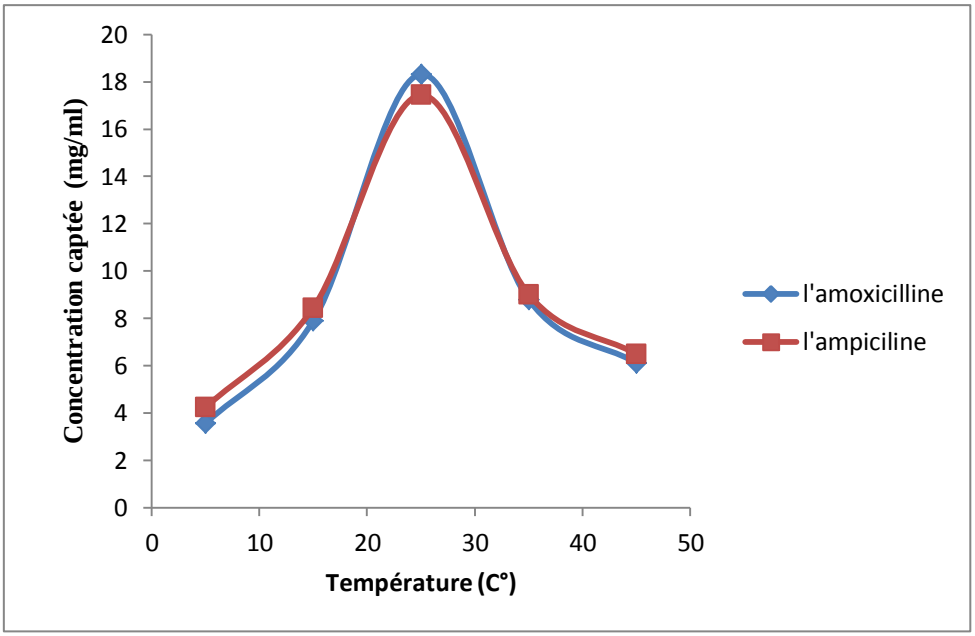


Figure IV.23 : Variation de la quantité adsorbée en fonction de la température.

Interprétation :

L'analyse de la figure**IV.23 ,**montre que la quantité adsorbée des deux antibiotiques augmente avec la température du mélange jusqu'à une valeur de 18.32×10^{-3}(mg/ml) concernant l'amoxicilline, et 17.44×10^{-3}(mg/ml) d'ampicilline qui correspond à la température de 25°C. Au dela de cette température, quantité adsorbée en antibiotique décroit avec l'augmentation de la température jusqu'à une valeur de 6.12×10^{-3}(mg/ml) concernant l'amoxicilline, et 6.5×10^{-3}(mg/ml) d'ampicilline à la température de 45°C. Ceci signifie qu'aux faibles et hautestempératures l'adsorption des molécules sur le tensioactif n'est pas significative. Une température optimale de 25°C est recommandée pour ce type d'adsorption des effluents.

IV.6.6L'effet de tensioactif cationique

Dans le but d'améliorer le rendement d'élimination des antibiotiques, l'effet du mélange de tensio actifs cationique (CTAB) et anionique (SDS) en 6CMCa été étudié. Sachant que la CMC d'un tensioactif anionique diminue en présence d'un tensioactif cationique. Les résultats sont consignés dans le tableau**IV.18**.

Tableau IV.18 : Effet de l'ajout du CTAB su l'adsorption

	Amoxicilline		**Ampicilline**	
	R (%)	**C×10^{-3}(mg/ml)**	**R (%)**	**C×10^{-3}(mg/ml)**
Sans CTAB	13.65	5.46	11.45	4.6
Avec CTAB	22.2	8.88	24.04	9.61

L'utilisation du CTAB a permet d'augmenter considérablement le rendement d'élimination des antibiotiques de 13.65%à 22.2% pour l'amoxicilline et de 11.45%à 24.04% pour l'ampicilline. Ce tensioactif cationique à un effet positif sur le traitement du milieu complexe étudié à moins qu'il doit être introduit à des concentrations bien contrôlées.

CONCLUSION GENERALE

Les études récentes ont montré que les antibiotiques peuvent être trouvés dans les eaux de surface et dans les rejets pharmaceutiques ce qui contribue à la pollution de l'environnement. Les techniques traditionnelles (traitement biologique, adsorption sélective, rétention membranaire) utilisées pour l'élimination complète de ces polluants sont insuffisantes.

L'objectif assigné à ce travail consiste à chercher des solutions pratiques pour remédier le problème de contamination de l'environnement. En effet, le mémoire présenté consiste en l'élimination de deux antibiotiques (Ampicilline et Amoxicilline) présents en milieux aqueux au moyen de tensioactifs (le dodécylsulfate de sodium (SDS) et le Cetyltrimethylammonium bromide (CTAB)).

L'étude menée, nous a permis de tirer les conclusions suivantes:

- ✓ La détermination de la concentration micellaire critique de chaque tensioactif par conductimétrie a donnée des valeurs proches de celles citées dans la littérature (8.9 mmol/l pour le SDS et 0.9 mmol/l pour le CTAB).

- ✓ Les résultats montrent que la CMC du SDS diminue en présence du CTAB et que cette diminution est plus prononcée lorsque le tensioactif cationique est présent à une teneur plus importante. En effet, la CMC du SDS qui était de 8.9 mmol/l en absence du CTAB à diminuer à 8.1 mmol/l lorsque le tensioactif cationique est ajouté à un rapport molaire (SDS : CTAB) de (09 : 0.1) et à 6 mmol/l pour le rapport (0.6 : 0.4).

- ✓ L'optimisation des paramètres d'analyse HPLC permettant d'avoir des chromatogrammes de bonne qualité tout en minimisant le temps de rétention des antibiotiques analysés a conduit à l'application des conditions suivantes :
    - Composition de la phase mobile : acétonitrile/Tampon aqueux à un rapport volumique 10/90.
    - Débit de la phase mobile : 1.5 ml/mn.
    - pH de la phase mobile : 5.3

- longueur d'onde du détecteur UV : 230 nm.

✓ L'étude de l'influence de quelques paramètres opératoires sur l'efficacité du traitement de notre milieu complexe au moyen de tensioactifs nous a permis de tirer les informations suivantes :

- L'utilisation d'un solvant organique (l'isooctane) a permis de renforcer la capacité du tensioactif à retenir les effluents pharmaceutiques étudiés.
- Le temps de contact optimal permettant l'élimination des antibiotiques par le SDS est de 5 mn.
- L'efficacité du traitement est proportionnelle à la vitesse d'agitation du milieu. Le meilleur rendement est obtenu pour une vitesse d'agitation de 1500 tr/min.
- Une température de 25°C s'avère l'optimale pour l'adsorption des effluents par le tensioactif.
- la concentration en antibiotiques qui correspond au maximum d'élimination est de 1 mg/ml qui correspond à la plus faible concentration étudiée.
- la concentration en SDS permettant d'éliminer le maximum des antibiotiques est égale à 12CMC
- L'ajout du tensioactif cationique (CTAB) a permis d'améliorer l'efficacité du traitement.

Les résultats obtenus lors de cette étude à l'échelle de laboratoire confirment l'intérêt du procédé de traitement des effluents pharmaceutiques liquides par adsorption au moyen de tensioactif.

En perspective, il sera très intéressant de compléter cette étude par l'étude de l'influence d'autres paramètres tels que le pH et la force ionique ainsi que par l'utilisation d'autres tensioactifs.

BIBLIOGRAPHIE

[1] Dirany Ahmad, « Études cinétique et mécanistique d'oxydation/minéralisation des antibiotiques sulfaméthoxazole (SMX), amoxicilline (AMX) et sulfachloropyridazine (SPC) en milieux aqueux par procédés électrochimiques d'oxydation avancée. Mesure et suivi d'évolution de la toxicité lors du traitement », Thèse de doctorat, Universite Paris-Est, (2010).

[2] Alikacem Amina et Fechit Abdenour , « contribution à l'étude de mise au point d'encapsulation d'un antibiotique », Thèse d'ingéniorat, Médéa (2005).

[3] K-Kezzal, "Les Antibiotiques". OPU .Alger, (1988).

[4] M. Quoc-Tuc DINH, « Transferts et comportements d'antibiotiques à l'échelle du bassin versant élémentaire », Thèse de doctorat , France 2012

[5] Manuel de formation (Vrac) tome 1Chimistrse, Bulgarie (1990).

[6] Bull World Health Organzation, « Nature and extent of penicillin side-reactions, with particular reference to fatalities from anaphylactic shock », n° 38 , (1968)

[7] schored Michel et et col, "Pharmacologie des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques". Édition Frichon-Roche, Paris, (1989).

[8] Pharmacopée Européenne (2005)

[9] Sidiri Meriem, « Etude physico-chimiques de la synthése de l'amoxicilline sodique a partir de l'amoxicilline triyidratée », Thèse d'ingéniorat, Medea (2009).

[10] Noiret N., Benvegnu T. et Plusquellec D., « Tensioactifs à base de substances renouvelables », Actualité Chimique, (2002).

[11] Rondel Caroline, « Synthèses et propriétés de mélanges de nouvelles molécules polyfonctionnelles lipopeptidiques tensioactives », thèse de Doctorat, Université de Toulouse, (2009).

[12] Mameri Yazid, « Photo transformation de tensioactif anionique induite par un oxyhydroxyde de fer(III) (goethite) en solution aqueuse », Mémoire de Magister, Université de Constantine, (2010).

[13] – Nogheira Duarte, « Extraction a deux phases aqueuses a l'aide d'alcools polyethoxyles en vue de l'élimination de polluants organiques et d'ions métalliques », thèse de Doctorat, INP de Toulouse, (2005).

- Damez Céline, « Transformation d'agro-ressources régionales et étude de leurs propriétés amphiphiles », thèse de Doctorat, Université de Reims Champagne-Ardenne, (2006)

[14] Onesippe Cristel, « Etude des systèmes polyélectrolyte / Tensioactif en phase aqueuse et a l'interface Liquide / gaz », thèse de Doctorat, Université Montpellier II, (2005).

[15] Teixeira da Silva, « Approche thermodynamique et cinétique de l'extraction à deux phases aqueuses à l'aide de tensioactifs non ioniques », thèse de Doctorat, INP de Toulouse, (2004).

[16] Chaterbache Abdelghani, « Etude et synthèse de composés tensioactifs a base de souches naturelles et obtention de détergents industriels biodégradables », mémoire de Magister, Université de Constantine, (2007).

[17] Chaghi Radhouane, « Etude de la solubilisation des produits organiques à faible masse molaire dans un système micellaire », thèse de Doctorat, Université de Montpellier II, 2007.

[18] Nemiche Nardjesse, « Synthèse et caractérisation de copolymères amphiphiles à blocs », thèse de Doctorat, Université d'Oran, (2013).

[19] Epoune Lingome Cédric, « Nouveaux agrotensioactifs glycolipidiques: synthèse, propriétés physico-chimiques et application en polymérisation », thèse de Doctorat, Institut national des sciences appliquées de Lyon, (2011).

[20] « Guide pratique du laboratoire de chimie », Tome 4 : Méthodes d'analyse, Editions Delta et SPES, 1983.

[21] R.W.Yost, L.S.Ettre , R.D.Conlon, « Pratique de la chromatographie liquide Technique et documentation » , 1981.

[22] M.Hamedache, « Cours des méthodes d'analyses », université de Médéa, (2013).

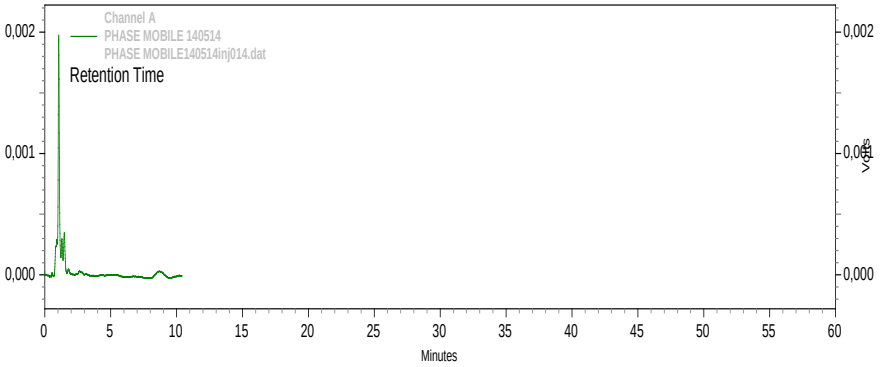
[23] M.Caude, A.Jardy, « Methodes chromatographiques », Techniques de l'ingénieur, P1445.

[24] Melle Boultif Latifa , « Optimisation des paramètres de détection et de quantification des résidus d'antibiotiques dans le lait par chromatographie liquide haute performance (HPLC) , université de Tlemcen, (2008-2009).

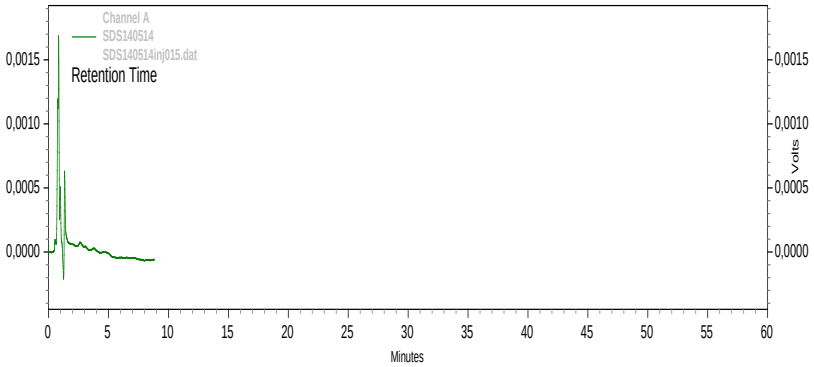
[25] Bouchikhi Nouria, « Comportement en solutions aqueuses du système copolymère cationique / SDS (P4VP modifiés/SDS) influence du degré de neutralisation », mémoire de magister, université de Tlemcen, (2010).

[26] Anna Zdziennicka, Katarzyna Szymczyk, Joanna Krawczyk, Bronislaw Janczuk, "Critical micelle concentration of some surfactants and thermodynamic parameters of their micellization, Fluid Phase Equilibria" P322– 3P23, P126– P134 , (2012).

ANNEXE



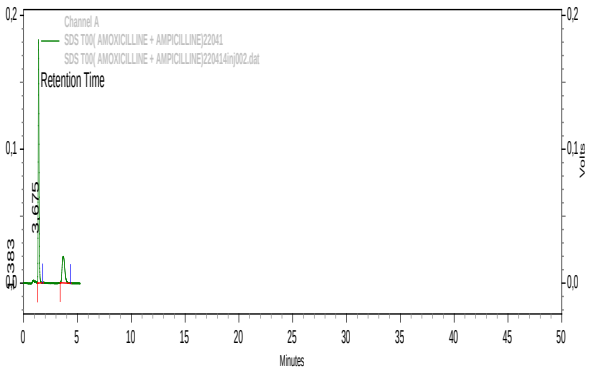
Le chromatograme de la phase mobile



Le chromatograme de SDS

Les chromatogrames concernant l'effet de temps de contact :

Data Name: C:\CLASS-VP\DATA\géni des pros\220414\SDS T00(AMOXICILLINE + AMPICILLINE)=

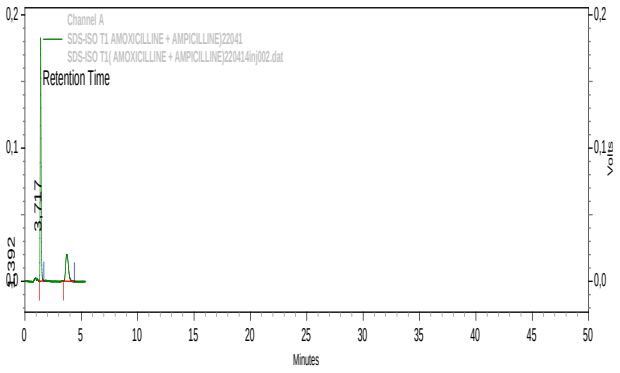


Detector A (230nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1	1,383	1024761	74,942	181631	90,243
2	3,675	342636	25,058	19637	9,757

Totals		1367397	100,000	201268	100,000

Data Name: **C:\CLASS-VP\DATA\géni des pros\220414\SDS- T1t**

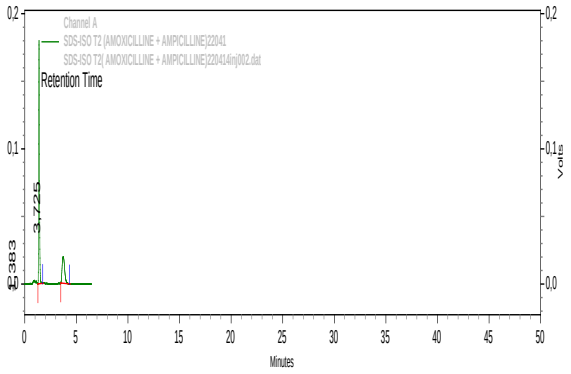


Detector A (230nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1	1,392	1022303	74,917	182473	90,181
2	3,717	346032	25,083	19867	9,819

Totals		1368335	100,000	202340	100,000

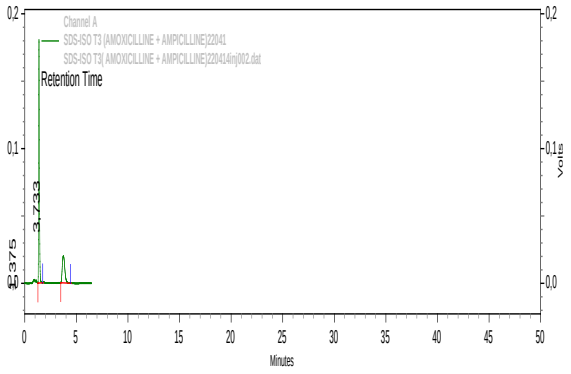
Data Name: **C:\CLASS-VP\DATA\géni des pros\220414\SDS- T2**



Detector A (230nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1	1,383	1010747	75,449	179766	90,226
2	3,725	335412	24,551	19474	9,774
Totals		1346159	100,000	199240	100,000

Data Name: **C:\CLASS-VP\DATA\géni des pros\220414\SDS- T3(AMOXICILLINE + AMPICILLINE)**

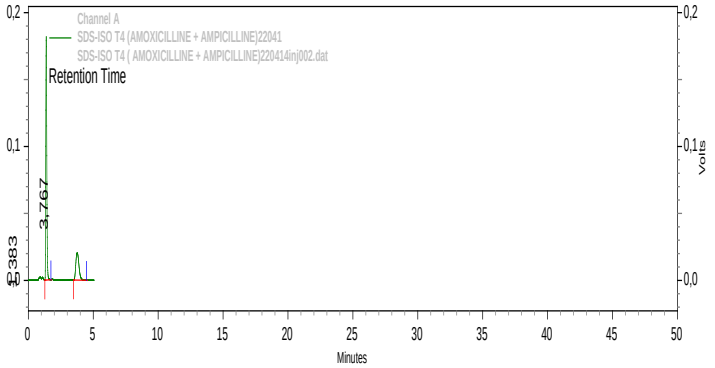


Detector A (230nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1	1,375	1011112	75,045	180403	90,053
2	3,733	333843	24,955	19927	9,947

Totals		1344955	100,000	200330	100,000

Data Name: C:\CLASS-VP\DATA\géni des pros\220414\SDS T4 (AMOXICILLINE + AMPICILLINE)220414inj002.dat

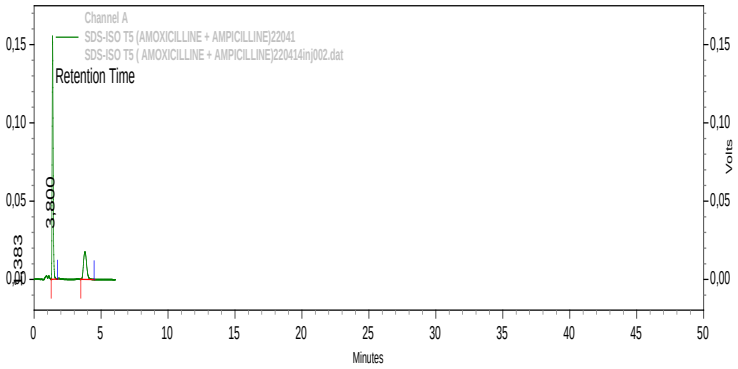


Detector A (230nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1	1,383	1010102	74,645	181661	89,972
2	3,767	323925	25,355	20247	10,028

Totals		1334027	100,000	201908	100,000

Data Name: C:\CLASS-VP\DATA\géni des pros\220414\SDS-ISO T5 (AMOXICILLINE + AMPICILLINE)220414inj002.dat

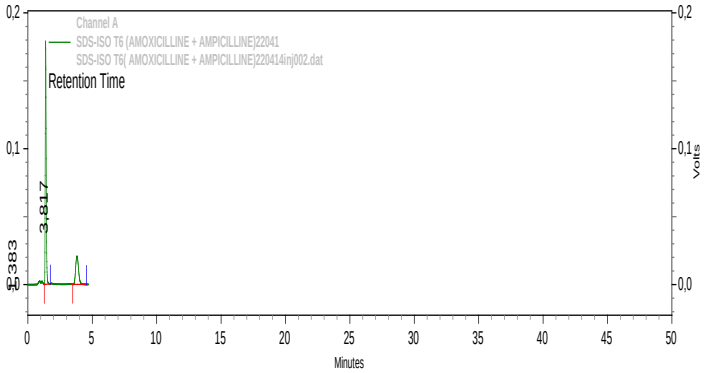


Detector A (230nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1	1,383	845694	74,583	155322	89,846
2	3,800	288201	25,417	17554	10,154

Totals		1133895	100,000	172876	100,000

Data Name: C:\CLASS-VP\DATA\géni des pros\220414\SDS-ISO T6(AMOXICILLINE + AMPICILLINE)220414inj002.dat

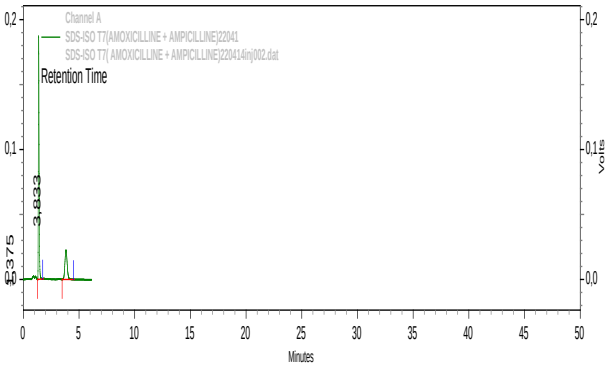


Detector A (230nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1	1,383	853152	74,415	178941	89,630
2	3,817	290123	25,585	20704	10,370

Totals		1143275	100,000	199645	100,000

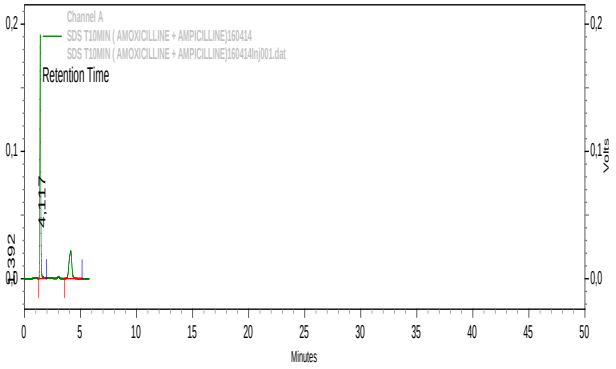
Data Name: C:\CLASS-VP\DATA\géni des pros\220414\SDS-ISO T7(AMOXICILLINE + AMPICILLINE)220414inj002.dat



Pk #	Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1	1,375	903872	74,426	187226	89,246
2	3,833	300898	25,574	22561	10,754

Totals		1204770	100,000	209787	100,000

Data Name: **C:\CLASS-VP\DATA\géni des pros\160414\SDS T10MIN (AMOXICILLINE + AMPICILLINE)160414Inj001.dat**

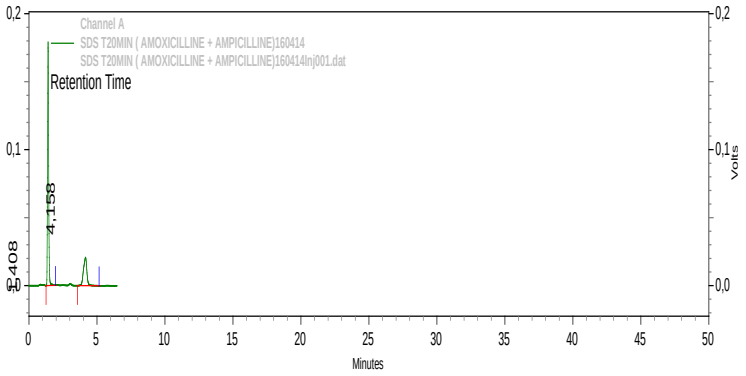


Detector A (230nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1	1,392	922108	74,259	191224	89,797
2	4,117	325097	25,741	21727	10,203

Totals		1247205	100,000	212951	100,000

Data Name: **C:\CLASS-VP\DATA\géni des pros\160414\SDS T20MIN (AMOXICILLINE + AMPICILLINE)160414Inj001.dat**



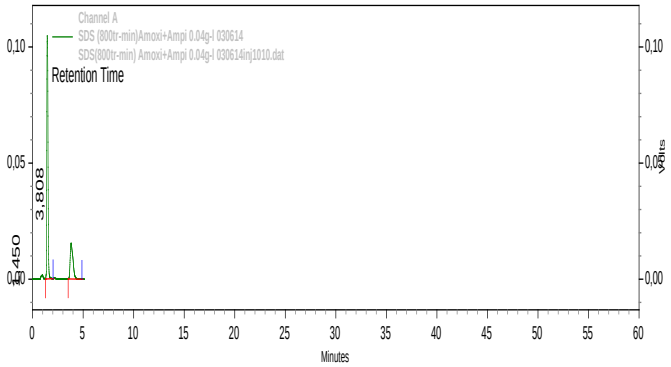
Detector A (230nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1	1,408	924630	74,264	178991	89,636
2	4,158	326018	25,736	20695	10,364

Totals		1250648	100,000	199686	100,000

L’étude de l’inflence de vitesse d’agitation

Data Name: **C:\CLASS-VP\DATA\géni des pros 030614\SDS(800tr-min) Amoxi+Ampi 0.04g-l 030614inj1010.dat**

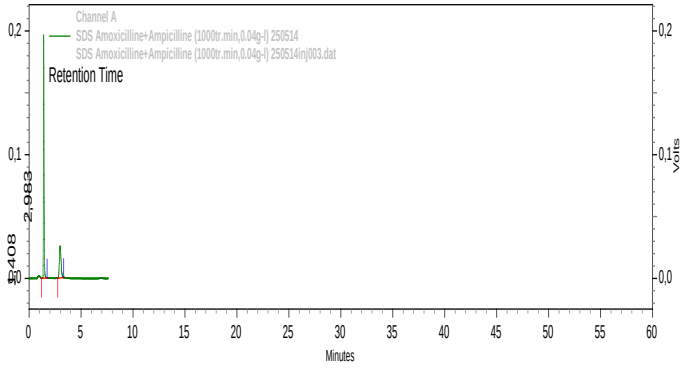


Detector A (230nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1	1,450	872704	74,860	104690	87,208
2	3,808	313077	25,140	15357	12,792

Totals		1185781	100,000	120047	100,000

Data Name: **C:\CLASS-VP\DATA\géni des pros 250514\SDS Amoxicilline+Ampicilline (1000tr.min,0.04g-l) 250514inj003.dat**

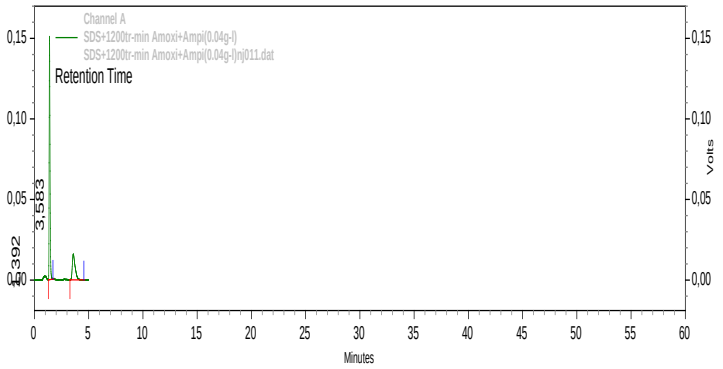


Detector A (230nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1	1,408	854626	75,282	196452	88,421
2	2,983	297028	24,718	25726	11,579

Totals		1151654	100,000	222178	100,000

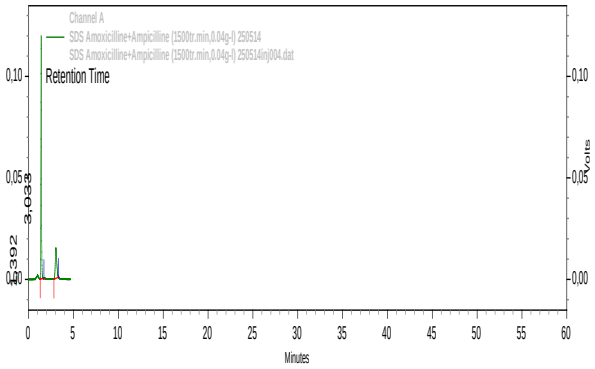
Data Name: **C:\CLASS-VP\DATA\géni des pros 250514\SDS+1200tr-min Amoxi+Ampi(0.04g-l)nj011.dat**



Detector A (230nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1	1,392	702114	74,750	150891	90,452
2	3,583	257843	25,250	15927	9,548
Totals		959957	100,000	166818	100,000

Data Name: **C:\CLASS-VP\DATA\géni des pros 250514\SDS Amoxicilline+Ampicilline (1500tr.min,0.04g-l) 250514inj004.dat**



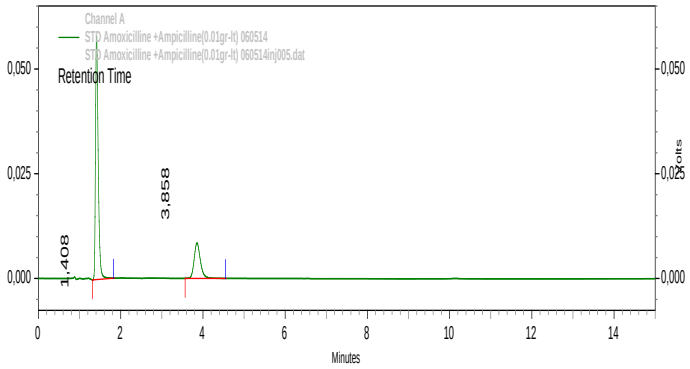
Detector A (230nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1	1,392	608613	76,114	119552	88,899
2	3,033	205300	23,886	14929	11,101

Totals		813913	100,000	134481	100,000

L'effet de concentration en antibiotiques

Data Name: C:\CLASS-VP\DATA\géni des pros\060514\STD Amoxicilline +Ampicilline(0.01gr-lt) 060514inj005.dat

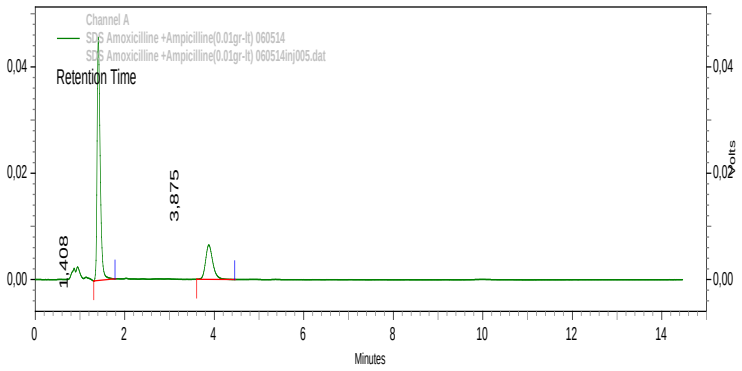


Detector A (230nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1	1,408	267435	74,964	58041	87,278
2	3,858	89315	25,036	8460	12,722

Totals		356750	100,000	66501	100,000

Data Name: **C:\CLASS-VP\DATA\géni des pros\060514\SDS Amoxicilline +Ampicilline(0.01gr-lt) 060514inj005.dat**



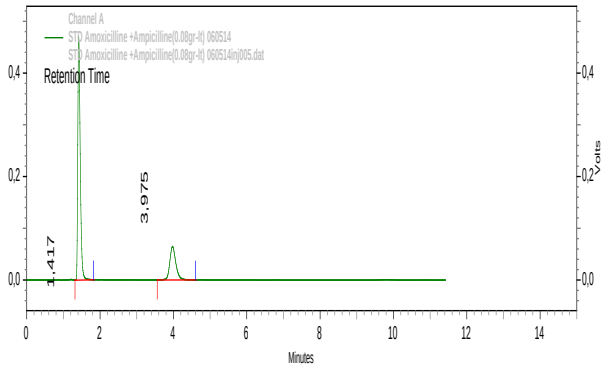
Detector A (230nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1	1,408	218534	75,194	45719	87,599
2	3,875	72092	24,806	6472	12,401

Totals					

		290626	100,000	52191	100,000

Data Name: **C:\CLASS-VP\DATA\géni des pros\060514\STD Amoxicilline +Ampicilline(0.08gr-lt) 060514inj005.dat**

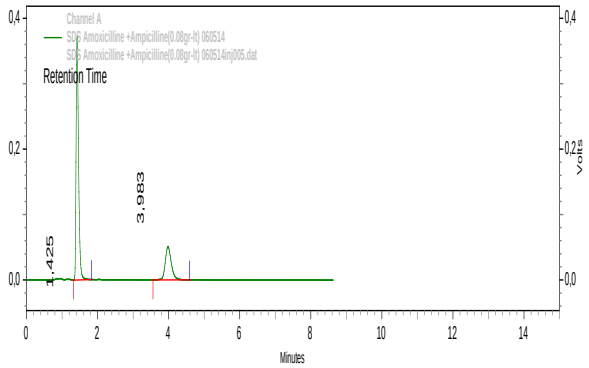


Detector A (230nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1	1,417	2196586	74,794	470511	87,920
2	3,975	740269	25,206	64645	12,080

Totals		2936855	100,000	535156	100,000

Data Name: **C:\CLASS-VP\DATA\géni des pros\060514\SDS Amoxicilline +Ampicilline(0.08gr-lt) 060514inj005.dat**

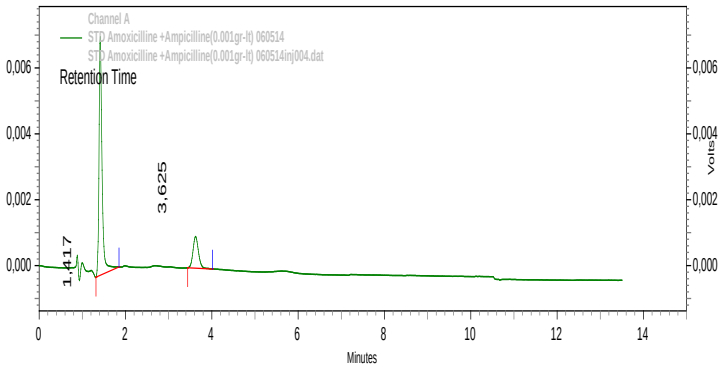


Detector A (230nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1	1,425	1688873	74,864	372077	87,968
2	3,983	550622	25,136	50893	12,032

Totals		2389495	100,000	422970	100,000

Data Name: **C:\CLASS-VP\DATA\géni des pros\040514\STD Amoxicilline +Ampicilline(0.001gr-lt) 060514inj004.dat**

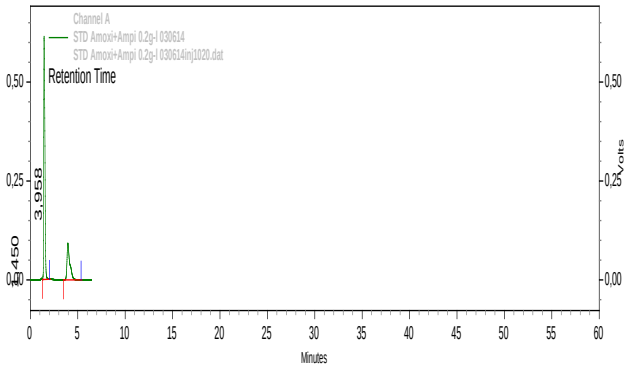


Detector A (230nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1	1,417	35524	80,828	7239	88,291
2	3,625	8426	19,172	960	11,709

Totals		43950	100,000	8199	100,000

Data Name: **C:\CLASS-VP\DATA\géni des pros 030614\STD Amoxi+Ampi 0.2g-l 030614inj1020.dat**



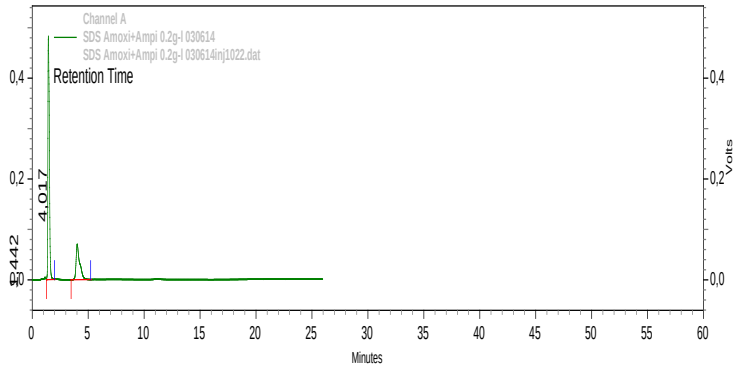
Detector A (230nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1	1,450	5394292	73,697	613887	86,920
2	3,958	1925249	26,303	92377	13,080

Totals					

		7319541	100,000	706264	100,000

Data Name: **C:\CLASS-VP\DATA\géni des pros 030614\SDS Amoxi+Ampi 0.2g-l 030614inj1022.dat**



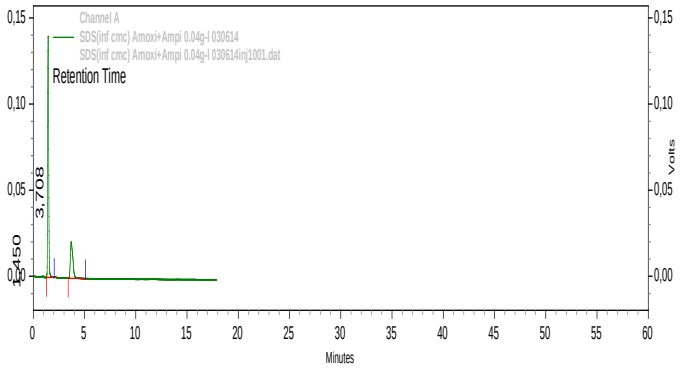
Detector A (230nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1	1,442	4446707	73,887	482548	87,292
2	4,017	1571565	26,113	70251	12,708

Totals		6018272	100,000	552799	100,000

Effet de la concentration en SDS

Data Name: **C:\CLASS-VP\DATA\géni des pros\SDS(inf cmc) Amoxi+Ampi 0.04g-l 030614inj1001.dat**

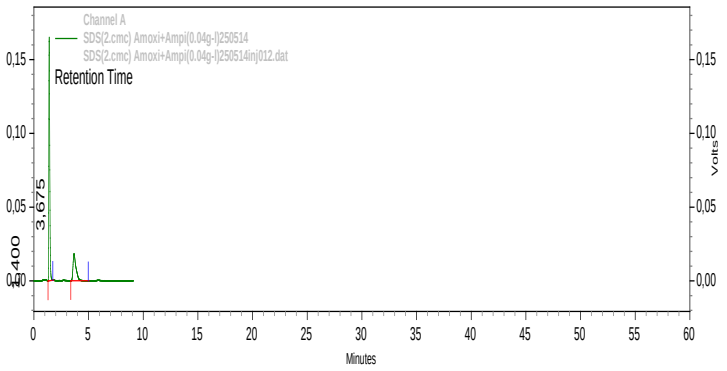


Detector A (230nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1	1,450	1050940	74,575	140052	86,940
2	3,708	358305	25,425	21038	13,060

Totals		1409245	100,000	161090	100,000

Data Name: **C:\CLASS-VP\DATA\géni des pros 250514\SDS(2.cmc) Amoxi+Ampi(0.04g-l)250514inj012.dat**

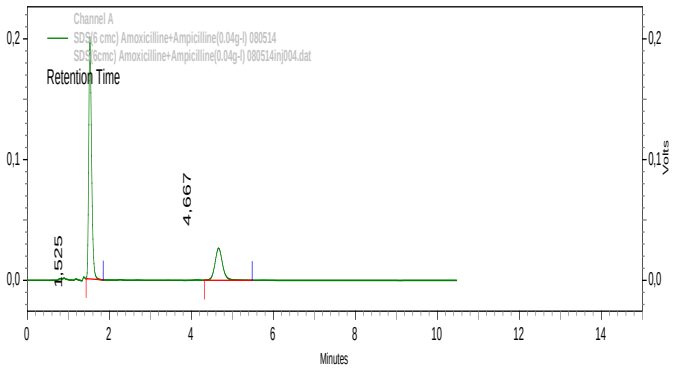


Detector A (230nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1	1,400	1011578	74,579	164944	90,035
2	3,675	344798	25,421	18256	9,965

Totals		1356376	100,000	183200	100,000

Data Name: **C:\CLASS-VP\DATA\géni des pros\080514\SDS(6cmc) Amoxicilline+Ampicilline(0.04g-l) 080514inj004.dat**

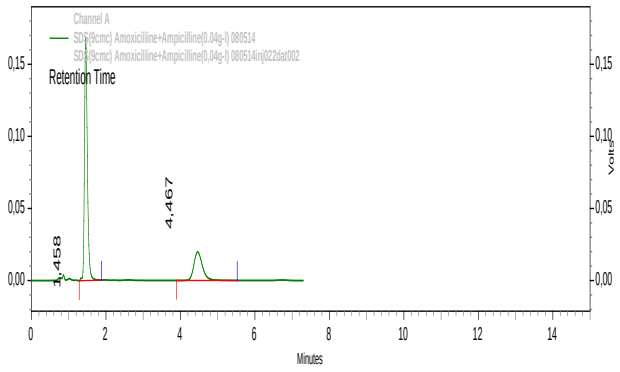


Detector A (230nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1	1,525	969960	74,102	200213	88,296
2	4,667	338999	25,898	26540	11,704

Totals		1308959	100,000	226753	100,000

Data Name: **C:\CLASS-VP\DATA\géni des pros\080514\SDS(9cmc) Amoxicilline+Ampicilline(0,04g-l) 080514inj022dat002**



Detector A (230nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1	1,458	858484	74,181	168766	89,522
2	4,467	286197	25,819	19752	10,478
Totals		1144681	100,000	188518	100,000