



HAL
open science

**Valorisation de la biomasse algale du Maroc :
Potentialités pharmacologiques et Applications
environnementales, cas des algues brunes *Cystoseira
tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata***

Tarik Ainane

► **To cite this version:**

Tarik Ainane. Valorisation de la biomasse algale du Maroc : Potentialités pharmacologiques et Applications environnementales, cas des algues brunes *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata*. Autre. Faculté des Sciences Ben M'sik Université Hassan II Casablanca, 2011. Français. NNT : 213/11 . tel-00637002

HAL Id: tel-00637002

<https://theses.hal.science/tel-00637002>

Submitted on 2 Nov 2011

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



ROYAUME DU MAROC
Université Hassan II - Casablanca
Faculté des Science Ben M'sik Casablanca



N° d'ordre : 213/11
Année : 2011

UFR : Chimie Fine & Contrôle Qualité

Thèse Présentée à la Faculté des Sciences Ben M'Sik
Pour obtenir le diplôme de

DOCTORAT

Discipline : Chimie.
Spécialité : Chimie Analytique.

Par

Mr AINANE Tarik

Valorisation de la biomasse algale du Maroc :
Potentialités pharmacologiques et Applications environnementales,
cas des algues brunes *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata*

Soutenue le **28 mai 2011** devant le jury composé de :

CHARROUF M'hammed	Professeur à la Faculté des Sciences Ben M'Sik, Université Hassan II, Casablanca, Maroc	Président
BENAMARA Ahmed	Professeur à la Faculté des Sciences Ben M'Sik, Université Hassan II, Casablanca, Maroc	Rapporteur
TALBI Mohammed	Professeur à la Faculté des Sciences Ben M'Sik, Université Hassan II, Casablanca, Maroc	Rapporteur
ZAHOUILY Mohamed	Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques Mohammedia, Université Hassan II, Mohammedia, Maroc	Rapporteur
MARCHIONI Eric	Professeur à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg, Université de Louis Pasteur Strasbourg, France	Examineur
LEMIRANI Meriem	Docteur Responsable du Laboratoire d'étude des Leishmanioses, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca	Examinatrice
KABBAJ Mohammed	Professeur à la Faculté des Sciences Ben M'Sik, Université Hassan II, Casablanca, Maroc	Examineur
ABOURRICHE Abdelmjid	Professeur à la Faculté des Sciences Ben M'Sik, Université Hassan II, Casablanca, Maroc	Examineur

DEDICACES

Je dédie cette thèse :

A mes Parents.

A mes frères : Redouane, Youness et Ayoub.

A ma sœur Nadia.

A ma belle-sœur Bouchra

A mes nièces Fatima-zahraa et Zaineb.

A mes Amis.

A tous ceux qui me sont chers.

J'avais trois jours devant moi, je dis :

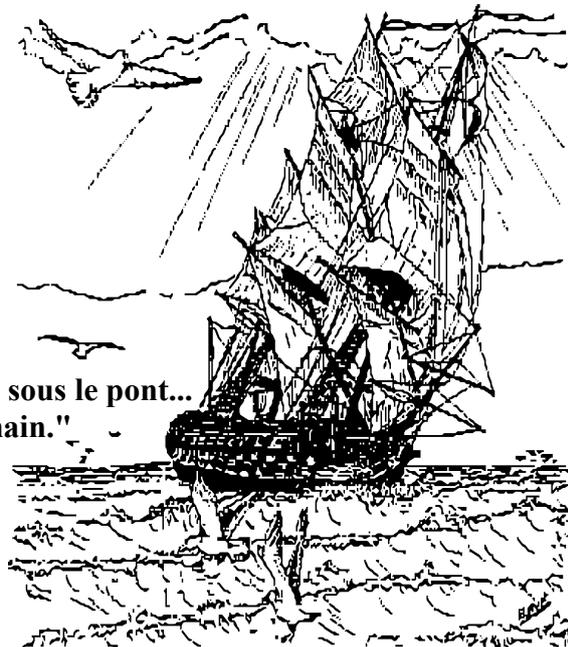
« Tiens, je vais aller voir la mer »

Je prends le train, j'arrive là-bas

Je vois le portier de l'hôtel, je lui dis :

- ✓ **Où est la mer ?**
- ✓ **La mer ... elle est démontée !**
- ✓ **Vous la remonter quand ?**
- ✓ **Question de temps.**
- ✓ **Moi, je suis ici pour trois jours...**
- ✓ **En trois jours, l'eau a le temps de couler sous le pont...**
- ✓ **Le pont ?... Merci... je vais attendre demain."**
- ✓ **...**

Raymond Devos



REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au Laboratoire Biomolécules et Synthèse Organique, sous la direction de Messieurs les Professeurs **Abourriche Abdelmjid** et **Kabbaj Mohamed**. Pendant ces cinq années de recherche, les travaux obtenus n'auraient pas pu aboutir sans la précieuse collaboration de toutes les personnes qui m'ont apporté leur aide tout au long de cette thèse, je tiens ici à les remercier.

Monsieur le Professeur **Kabbaj M'hamed Said**, Doyen de la Faculté des Sciences Ben M'Sik, pour son aide et son ouverture d'esprit pour tous les chercheurs. Qu'il veuille bien trouver, ici, l'expression de mon profond respect.

Monsieur le Professeur **Abourriche Abdelmjid**, qu'il trouve dans ce travail l'assurance de mon profond respect et le témoignage de ma sincère reconnaissance pour son accueil dans son équipe de « Valorisation des Substances Naturelles », ses encouragements incessants et pour tous les efforts qu'il n'a cessé d'employer pour notre bien. Je lui suis aussi reconnaissant pour son amabilité et pour tout l'intérêt dont il a fait témoignage au cours de ces années de recherche. Qu'il trouve ici l'expression de ma sincère et respectueuse gratitude.

Monsieur le Professeur **Kabbaj Mohamed**, qui tout au long de ces années a été d'une très grande disponibilité. Je le remercie pour son encadrement pendant l'obtention de Licence en 2004, son suivi, les idées scientifiques et les précieux conseils apportés tout au long de ces années de recherche. Je lui témoigne ma profonde reconnaissance.

Monsieur le Professeur **Charrouf M'hamed**, de m'avoir fait l'honneur de présider ce Jury de Thèse. J'ai toujours apprécié sa bonté et sa rigueur dans le travail. Qu'il trouve ici mes vives reconnaissances et mon profond respect pour son aide et ses conseils précieux, pour m'avoir guidé avec patience et m'avoir offert quelques ressources de sa large expérience.

Monsieur le Professeur **Bennamara Ahmed**, Directeur du Laboratoire Biomolécules et Synthèse Organique, qui me fait un réel plaisir de juger ma thèse. Je voudrais le remercier pour les conseils pratiques qu'il me donnait sans aucune réserve ni restriction. Qu'il trouve ici l'expression de ma plus grande estime et ma profonde reconnaissance.

Mes remerciements les plus respectueux vont à Monsieur le Professeur **Talbi Mohamed**, pour sa collaboration fructueuse, ses encouragements, ses conseils judicieux et surtout pour la confiance qu'il m'a accordée et qui m'a aidé à mener cette étude à terme.

Du point de vue enthousiasme et optimisme, Monsieur le Professeur **Elkouali M'hamed**, qu'il m'a bien aidé à voir le côté positif des choses et à persévérer quand tout me poussait à arrêter. Je le remercie pour le soutien qu'il m'a accordé tout au long de cette thèse.

Je tiens à remercier, Monsieur le Professeur **Zahouily Mohamed** de m'avoir fait l'honneur d'être parmi les honorables membres du Jury afin de juger et enrichir ce travail par ses conseils. Qu'il trouve ici le témoignage de mon profond respect et ma haute considération.

Monsieur le Professeur **Eric Marchioni** Directeur du Laboratoire de Chimie Analytique et Sciences d'Aliment de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg, qui m'a honoré en acceptant de siéger au jury de cette thèse en tant que examinateur. Je tiens à lui exprimer mes cordiaux remerciements.

Je remercie sincèrement Monsieur le Professeur **Phillipe André** de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg pour son amitié et pour son aide efficace et sans faille et pour sa contribution à la réalisation de ce travail.

Je tiens à remercier le Docteur **Lemrani Meriem** Docteur Responsable du Laboratoire d'études des Leishmanioses de l'Institut Pasteur de Casablanca, et son équipe, essentiellement Mademoiselle **Hamdi Salsabil** et Monsieur **Elfenne Abdellah Hamza** pour la réalisation des tests antileishmaniens, et pour leur aide efficace dans le domaine de microbiologie.

Je tiens aussi à remercier tous le personnel de l'institut de Pasteur Casablanca, particulièrement Monsieur le Docteur **Ghalim Nouridine** responsable du Laboratoire de Biochimie, le Docteur **Oukache Naoual** pour leur sympathie et leur aide.

Je tiens aussi à remercier le Professeur **Fatih Mustapha**, mon enseignant de lycée, pour les discussions scientifiques que j'ai eu la chance d'avoir avec lui, à maintes occasions.

Je tiens à remercier aussi tous les membres du Laboratoire Biomolécules et Synthèse Organique, les membres du Laboratoire de Chimie analytiques et physico-chimie des Matériaux et le personnel et les administratifs de la Faculté des sciences Ben M'sik pour leur amitié, leur soutien en particulier, Mlle **Waled Saida**, Monsieur le Professeur **Boriky Driss** et le Professeur **Sebban Abdelfatah**. Aussi, Messieurs les Professeurs **Seffaj Tawfik**, **Abboud Youness**, et **Ihssan Bouchaib** et les Docteurs **Bayoub Kaoutar**, **Dahbi Laila**, **Amegrissi Fatiha**, **Oumam Nezha**, **Bary Khadija** et **Saadoune Fatiha** pour leurs conseils, leurs suivis et les passionnantes discussions.

Je remercie grandement mes amis pour leur soutien qui fut très importante pour moi : **Obeid Mohammed**, **Fougadi Yassine** et **Zehri Sanaa**.

Que ceux qui ne sont pas nommés ici me pardonnent, s'ils ont été oubliés, ce n'est que par l'écrit ...

Merci à Tous.

RESUME

Le Maroc, avec sa double façade Atlantique et Méditerranéenne, longue de plus de 3500 Km, est un pays profondément influencé par la mer, ce qui implique l'existence de milliers d'espèces marines.

Ce mémoire est consacré à la valorisation de deux algues brunes *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata* de la côte atlantique marocaine (région du Casablanca). Deux applications ont été investiguées : les potentialités pharmacologiques et les applications environnementales.

L'étude des potentialités pharmacologiques de ces deux algues marines a été effectuée par le biais de l'étude des activités antibactériennes, antileishmaniens, antitumorales et cytotoxicité. Des métabolites secondaires ont été isolés au cours de cette étude par des techniques analytiques de biodirection, leurs identifications ont été effectuées par les techniques spectroscopiques : UV – visible, Infrarouge et Résonance Magnétique Nucléaire.

L'autre partie de ce mémoire, s'intéresse aux applications environnementales et concerne l'élimination du chrome par des supports préparés à partir de ces deux algues marines. Des études cinétiques et des isothermes d'adsorption ont été réalisées selon des modèles théoriques pour expliquer et mettre au point les processus d'adsorption. L'ensemble des résultats obtenus au cours de cette partie ont montré l'intérêt de l'utilisation de ces supports algaux dans le traitement des eaux polluées.

Mots clés : *Cystoseira tamariscifolia*, *Bifurcaria bifurcata*, potentialités pharmacologiques, applications environnementales, antibactérienne, antileishmanien, antitumorale, cytotoxicité, biodirection, isolement, identification, adsorption, chrome, étude cinétique, isothermes, modélisation.

TABLES DES MATIERES

Remerciements	i
Résumé	iii
Tables des matières.....	iv
Abréviations, symboles et conventions.....	viii
Liste des figures.....	x
Liste des tableaux.....	xii
Introduction générale.....	1
1^{ère} Partie : Synthèse bibliographique.....	5
Introduction	6
1. Données bibliographiques sur les algues marines	6
1.1. Définition	6
1.2. L'utilisation des algues	6
1.3. Les grands groupes des algues marines	7
1.3.1. Les Chlorophytes	7
1.3.2. Les Chromophytes	8
1.3.3. Les Rhodophytes	8
1.3.4. Les Cyanobactéries	8
1.4. Facteurs de répartition des algues	9
1.5. Enjeu économique des algues au Maroc	9
2. Biologie des algues brunes du genre <i>Cystoseira</i> et du genre <i>Bifurcaria</i>	10
2.1. Présentation de la famille des Cystoseiracées	10
2.2. Position systématique de la famille des <i>Cystoseiraceae</i>	10
2.3. Le genre <i>Cystoseira</i>	11
2.4. Le genre <i>Bifurcaria</i>	11
2.5. Biotope des Algues du genre <i>Cystoseira</i> et du genre <i>Bifurcaria</i>	12
2.6. Description, biologie et écologie des algues <i>Cystoseira tamariscifolia</i> et <i>Bifurcaria bifurcata</i>	14
2.6.1. <i>Cystosiera tamariscifolia</i>	14
2.6.2. <i>Bifurcaria bifurcata</i>	15
3. Etudes chimiques antérieures et potentialités pharmacologiques des organismes marins : Cas des algues brunes de la famille des Cystoseiracées	16
3.1. Intérêt pharmacologique des espèces marines	16
3.2. Résultats encourageant des substances marines	17
3.2.1. Les produits actuellement sur le marché	17
3.2.2. Les produits en essais cliniques phase III	17
3.2.3. Les produits en essais cliniques phase II	18
3.2.4. Les autres produits	19
3.3. Etudes chimique antérieures des algues brunes de la famille des Cystoseiracées	21
3.3.1. Généralités sur les terpènes	21
3.3.2. Diterpènes linéaires	24
3.3.3. Méroditerpènes	25
3.3.4. Stérois	28

3.4. Etudes chimique antérieures des algues brunes <i>Cystoseira tamariscifolia</i> et <i>bifurcaria bifurcata</i> ..	29
Conclusion	32
Références Bibliographiques.....	33

2^{ème} Partie : Potentialités pharmacologiques des deux algues marines : *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata*..... 37

Introduction	38
1. Critères de sélection	39
2. La récolte	39
3. Extraction	39
3.1. Extraction au Soxhlet	39
3.2. Rendement d'extraction	41
4. Activités d'orientation et Screening pharmacologique	42
4.1. Activités Antibactériennes	42
4.1.1. Les bactéries	42
4.1.2. Les antibiotiques	43
4.1.3. Les souches bactériennes utilisées	44
4.1.4. Principe de la méthode d'évaluation antibactérienne	45
4.1.5. Protocole expérimental	45
4.1.6. Résultats	46
4.2. Activités Antileishmaniens	48
4.2.1. Identification et taxonomie des parasites du genre <i>Leishmania</i>	48
4.2.2. Distribution des différentes espèces de <i>Leishmania</i>	50
4.2.3. Cycle de vie et morphologie de <i>Leishmania</i>	50
4.2.4. Les leishmanioses au Maroc	52
4.2.4.1. Leishmaniose viscérale	52
4.2.4.2. Leishmaniose cutanée	52
4.2.5. Traitements contre les leishmanioses	53
4.2.6. Principe de la méthode de test antileishmanien MTT	56
4.2.7. Protocole expérimental	57
4.2.8. Résultats	57
4.3. Activités antitumorales	62
4.3.1. Généralités et modes d'action des agents antitumoraux	62
4.3.2. Principe du test ADN par méthode HPLC	63
4.3.3. Protocole expérimental	65
4.3.4. Résultats	65
4.4. Activités Cytotoxiques « Brine Shrimp »	66
4.4.1. Le cycle vital d' <i>Artemia salina</i>	66
4.4.2. Principe du test Brine Shrimp	68
4.4.3. Protocole expérimental	68
4.4.3. Résultats	69
5. Screening et fractionnement biodirigé	73
5.1. <i>Bifurcaria bifurcata</i>	73
5.1.1. Analyse de l'extrait étheré par des techniques chromatographiques	73
5.1.2. Fractionnement biodirigé de l'extrait étheré	75
5.1.3. Etudes des fractions	77
5.2. <i>Cystoseira tamariscifolia</i>	79
6. Etude structurale des composés isolés	79
6.1. Spectrophotométrie UV-visible	79

6.2. Spectrométrie infrarouge	80
6.3. La résonance magnétique nucléaire RMN	80
6.3.1. RMN du ¹ H	80
6.3.2. RMN du ¹³ C	81
6.4. Etude structurale des produits <u>A</u> , <u>B</u> et <u>C</u>	82
6.4.1. Produit <u>A</u>	82
6.4.2. Produit <u>B</u>	86
6.4.3. Produit <u>C</u>	88
7. Activités antibactériennes des produits isolés	92
Conclusion	93
Références Bibliographiques	94

3^{ème} Partie : Elaboration de nouveaux matériaux adsorbants à partir de *Cystoseira tamariscifolia* et de *Bifurcaria bifurcata*. Application environnementale : utilisation des matériaux élaborés pour l'élimination du Chrome

Introduction	99
1. La pollution et les principaux types de polluants	100
1.1. La pollution	100
1.1.1. La pollution des eaux	100
1.1.2. La pollution naturelle	101
1.1.3. La pollution industrielle	101
1.2. Les principaux types de polluants	102
2. Les métaux lourds	103
2.1. Utilité des métaux lourds	103
2.1.1. Arsenic	103
2.1.2. Cadmium	104
2.1.3. Chrome	104
2.1.4. Mercure	104
2.1.5. Cuivre	105
2.1.6. Cobalt	105
2.1.7. Nickel	105
2.1.8. Zinc	105
2.2. Impact des métaux lourds sur les écosystèmes	105
2.2.1. Contamination des sols	106
2.2.2. Contamination de l'air	106
2.2.3. Contamination de l'eau	107
2.2.4. Impact sur l'homme	107
2.2.4.1. Absorption par voie respiratoire	107
2.2.4.2. Absorption par voie orale	108
2.2.5. Normes et réglementation	108
3. Généralités sur le chrome	111
3.1. Abondance naturelle du chrome et source de pollution	111
3.2. Chrome et l'industrie	111
3.3. Etats d'oxydation du chrome	112
3.3.1. Chrome hexavalent, chrome (VI)	112
3.3.2. Le chrome trivalent, chrome (III)	113
3.4. La toxicité du chrome	114
3.4.1. Chez les micro-organismes	114
3.4.2. Chez les végétaux	115

3.4.3. Chez les hommes et les animaux	115
3.5. Réduction du chrome (VI) en chrome (III) en solution aqueuse	116
3.6. Mobilité du chrome dans le sol	116
4. Elimination du chrome par <i>Cystoseira tamariscifolia</i> et <i>Bifurcaria bifurcata</i>	117
4.1. Mécanismes d'élimination des métaux lourds	117
4.1.1. L'adsorption	117
4.1.2. La précipitation	118
4.1.3. Substitution dans le réseau cristallin	119
4.1.4. Inclusion (piégeage mécanique)	119
4.2. Isothermes d'adsorption	119
4.3. Approche théorique de l'adsorption	122
4.3.1. Approche théorique de la cinétique d'adsorption	122
4.3.1.1. Modèle de puissance fractionnaire	123
4.3.1.2. Modèle de zéro ordre	123
4.3.1.3. Modèle de premier ordre	123
4.3.1.4. Modèle du pseudo premier ordre	124
4.3.1.5. Modèle d'Elovich	124
4.3.1.6. Modèle de deuxième ordre	125
4.3.1.8. Modèle de la diffusion intra-particule	126
4.3.2. Approche théorique d'isothermes d'adsorption	128
4.3.2.1. Modèle de Freundlich	128
4.3.2.2. Modèle de Langmuir	129
4.3.2.3. Modèle de Dubinin – Radushkevich	129
4.3.2.4. Modèle de Temkin	130
4.3.2.5. Modèle de Halsey	131
4. Analyse texturale des algues brunes <i>Cystoseira tamariscifolia</i> et <i>Bifurcaria bifurcata</i>	133
4.1. Analyse par la microscopie électronique à balayage couplée à la microanalyse dispersion des électrons des rayons X (MEB/EDX)	133
4.1.1. Principe	133
4.1.2. Résultats des analyses de MEB/EDX	135
4.2. Analyse par la spectroscopie infrarouge :	138
5. Etude de l'adsorption du chrome sur les algues marines <i>Cystoseira tamariscifolia</i> et <i>Bifurcaria bifurcata</i>	141
5.1. Conditions expérimentales	141
5.1.1. Préparation des échantillons	141
5.1.2. Etude de sorption	141
5.1.3. Préparation et dosage des solutions du Chrome	141
5.2. Cinétique d'élimination du chrome par les supports algaux	142
5.3. Isothermes d'adsorption du chrome par les supports algaux	150
5.4. Comparaison de nos résultats avec la littérature	160
Conclusion	161
Références Bibliographiques	163
Conclusion générale	169
Partie expérimentale	173
Annexes	179

ABBREVIATIONS, SYMBOLES & CONVENTIONS

AB	: Support activé de <i>Bifurcaria bifurcata</i> .
AC	: Support activé de <i>Cystoseira tamariscifolia</i> .
ADN	: Acide désoxyribonucléique.
ARN	: Acide ribonucléique.
B	: Constante de Dubinin-Radushkevich.
B₀	: Champ magnétique.
BB	: <i>Bifurcaria bifurcata</i> .
BS	: Brine Shrimp.
B_T	: Constante de Temkin.
C₀	: Concentration initiale de l'adsorbat.
CCM	: Chromatographie sur couche mince.
C_D	: Constante reliée à la courbe de tendance de la diffusion intra-particule.
CDCl₃	: Chloroforme deutéré.
CH₂Cl₂	: Dichlorométhane.
CI₅₀	: Concentration d'inhibition de 50%.
CT	: <i>Cystosiera tamariscifolia</i> .
C_t	: Concentration résiduelle à l'instant t de l'adsorbat.
D.O	: Densité Optique.
DEPT	: Distortionless Enhancement by Polarization Transfer.
DL₅₀	: Dose létale de 50%.
DMSO	: Diméthylsulfoxyde.
DPC	: 1,5-diphénylcarbazide.
E.P	: Ether de pétrole.
EDX	: Microanalyse Dispersion des Electrons des rayons X.
EMEA	: European Agency for the Evaluation of Medicinal Products.
FDA	: Food and Drug Administration.
H₂O	: Eau.
H₂SO₄	: Acide sulfurique.
HPLC	: Chromatographie Liquide à Haute Performance.
IR	: Infrarouge.
J	: Constante de couplage.
k₀	: Constante de vitesse pour une cinétique de zéro ordre.
k₁	: Constante de vitesse pour une cinétique du premier ordre.
k_{1p}	: Constante de vitesse pour une cinétique du pseudo premier ordre.
k₂	: Constante de vitesse pour une cinétique du deuxième ordre.
k_{2p}	: Constante de vitesse pour une cinétique du pseudo premier ordre.
k_D	: Constante de vitesse de la diffusion intra-particule.
K_F	: Constante de Freundlich.
K_H	: Constante d'Halsey.
K_L	: Constante de Langmuir.
k_p	: Constantes du modèle de puissance fractionnaire.
K_s	: Produits de solubilité.
K_T	: Constante de Temkin.
LC	: Leishmaniose cutanée.
LV	: Leishmaniose viscérale.
MAD	: Dirham marocain.

MEB	: Microscopie Electronique à Balayage.
MeOH	: Méthanol.
MH	: Müller Hinton.
MOF	: Matières organiques fermentescibles.
MTT	: 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide.
n.d	: Non détecté.
n_H	: Constante d'Halsey.
NLP	: Nombre de Larves Mortes en Présence du Produit à Tester.
NLT	: Nombre de Larves Mortes en Présence du Témoin.
P_f	: Point de fusion.
pH	: Potentiel Hydrogène.
PI	: Pourcentage d'inhibition.
PPF	: Pyrophosphate de farnésyle.
PPG	: Pyrophosphate de géranyl.
PPGG	: Pyrophosphate de géranylgeranyle.
PPI-2	: Pyrophosphate de 2-isoprényle.
PPI-3	: Pyrophosphate de 3-isoprényle.
q_{e,0}	: Capacité d'adsorption à l'équilibre du modèle de zéro ordre.
q_{e,1}	: Capacité d'adsorption à l'équilibre du modèle de premier ordre.
q_{e,1P}	: Capacité d'adsorption à l'équilibre du modèle de pseudo premier ordre.
q_{e,2}	: Capacité d'adsorption à l'équilibre du modèle de pseudo deuxième ordre.
q_{e,2P}	: Capacité d'adsorption à l'équilibre du modèle de pseudo deuxième ordre.
q_{m,DR}	: Capacité maximum d'adsorption du modèle de Dubinin-Radushkevich.
q_{m,F}	: Capacité maximum d'adsorption du modèle de Freundlich.
q_{m,H}	: Capacité maximum d'adsorption du modèle d'Halsey.
q_{m,L}	: Capacité maximum d'adsorption du modèle de Langmuir.
q_{m,T}	: Capacité maximum d'adsorption du modèle de Temkin.
q_t	: Capacité d'adsorption à l'instant t.
RB	: Support brut de <i>Bifurcaria bifurcata</i> .
RC	: Support brut de <i>Cystoseira tamariscifolia</i> .
Rdt	: Rendement.
R_L	: Paramètre de Langmuir.
RMN	: Résonance Magnétique Nucléaire.
RPMI	: Roswell Park Memorial Institute.
RX	: Rayons X.
SVF	: Sérum bovine fœtal.
UV	: Ultra – Violet.
w	: La masse de l'adsorbant sur le volume de l'adsorbat.
α_E	: Taux d'adsorption initiale du modèle d'Elovich.
β_E	: Constante pour une cinétique du d'Elovich.
δ	: Déplacement chimique.
ΔQ	: La variation d'énergie d'adsorption.
ε	: Potentiel de Polanyi.
λ_{max}	: Longueur d'onde d'absorption maximum.
v_p	: Constante du modèle de puissance fractionnaire.
% M	: Pourcentage de mortalité.
[C]	: Concentration.

LISTE DES FIGURES

- Figure I.1 :** Taxonomie de la famille des *Cystoseiraceae*.
- Figure I.2 :** Représentation schématique de *Cystoseira tamariscifolia*.
- Figure I.3 :** Thalle de *Bifurcaria bifurcata*.
- Figure I.4 :** Exemples des molécules marines à intérêt biologique.
- Figure I.5 :** Voie de biosynthèse des terpènes.
- Figure I.6 :** Les principaux diterpènes linéaires isolés d'algues brunes de la famille Cystoseiracée.
- Figure I.7 :** Biogenèse des méroditerpènes.
- Figure I.8 :** Quelques meroditerpènes isolés d'algues brunes de la famille Cystoseiracée.
- Figure I.9 :** Les stérols majoritaires isolés d'algues brunes de la famille Cystoseiracée.
- Figure I.10 :** Molécules isolées de l'algue brune « *Cystoseira tamariscifolia* ».
- Figure I.11 :** Molécules isolées de l'algue brune « *Bifurcaria bifurcata* ».
- Figure II.1 :** Station de récolte au sud de Casablanca de CT et BB.
- Figure II.2 :** Système d'extraction au Soxhlet.
- Figure II.3 :** Cycle de vie du parasite.
- Figure II.4 :** Structures des différents médicaments utilisés actuellement contre les leishmanioses.
- Figure II.5 :** Déshydrogénase de MTT en Formazan.
- Figure II.6 :** Courbes de viabilité en fonction de concentration.
- Figure II.7 :** Structures des agents antitumoraux.
- Figure II.8 :** Pic de chromatogramme de l'ADN.
- Figure II.9 :** Le cycle de développement d'*Artemia salina*.
- Figure II.10 :** Anatomie schématique d'un nauplius d'*Artemia*.
- Figure II.11 :** Courbe représentant le pourcentage de mortalité en fonction de la concentration.
- Figure II.12 :** Chromatogramme HPLC de l'extrait éthéré de *Bifurcaria bifurcata*.
- Figure II.13 :** Fractionnement de l'extrait éthéré de *Bifurcaria bifurcata*.
- Figure II.14 :** Chromatogramme HPLC des fractions isolées de l'extrait éthéré de BB.
- Figure II.15 :** Fucostérol (Produit A).
- Figure II.16 :** Bifurcane.
- Figure II.17 :** Produit C (Méthoxybifurcarénone).
- Figure III.1 :** Les principaux mécanismes de rétention.
- Figure III.2 :** Cinq types d'isothermes d'adsorption.
- Figure III.3 :** Station Principe de la microscopie électronique à balayage et microanalyse (EDX).
- Figure III.4 :** Structures des surfaces extérieures et intérieures de CT et de BB.

- Figure III.5 :** Spectres infrarouge de *Cystoseira tamariscifolia* et de *Bifurcaria bifurcata*.
- Figure III.6 :** Cinétique de biosorption du chrome par les supports de CT et de BB : $C_{res} = f(\text{temps})$.
- Figure III.7 :** Cinétique de biosorption du chrome par les supports de CT et de BB : $q_t = f(\text{temps})$.
- Figure III.8 :** Modélisation de la cinétique selon le modèle de puissance fractionnaire.
- Figure III.9 :** Modélisation de la cinétique selon le modèle d'Elovich.
- Figure III.10 :** Isothermes d'équilibre de biosorption du chrome par les supports de CT et de BB.
- Figure III.11 :** Modélisation des isothermes d'adsorption selon le modèle de Freundlich.
- Figure III.12 :** Modélisation des isothermes d'adsorption selon le modèle de Langmuir.
- Figure III.13 :** Modélisation des isothermes d'adsorption selon le modèle de Dubinin – Radushkevich.
- Figure III.14 :** Modélisation des isothermes d'adsorption selon le modèle de Temkin.
- Figure III.15 :** Modélisation des isothermes d'adsorption selon le modèle de Halsey.

LISTE DES TABLEAUX

- Tableau II.1 :** Les différents extraits de *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata*.
- Tableau II.2 :** Evaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits d'algues.
- Tableau II.3 :** Position systématique du genre *Leishmania*.
- Tableau II.4 :** Espèces et sous-espèces du genre *Leishmania*.
- Tableau II.5 :** Distribution géographique des différentes espèces de *Leishmania*.
- Tableau II.6 :** Résultats de l'activité antileishmanien.
- Tableau II.7 :** Valeurs de CI_{50} des extraits de *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata*.
- Tableau II.8 :** Valeurs de CI_{50} des extraits organiques de quelques algues marines.
- Tableau II.9 :** Résultats de l'activité de toxicité BS.
- Tableau II.10 :** Valeurs DL_{50} des extraits de *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata*.
- Tableau II.11 :** Masses et couleurs des différentes fractions issues de l'extrait éthéré de BB.
- Tableau II.12 :** Test antibactérien vis-à-vis de *Klebsiella pneumoniae* et d'*Enterobacter cloacae* des différentes fractions issues de l'extrait éthéré de *Bifurcaria bifurcata*.
- Tableau II.13 :** Valeurs de RMN 1H et ^{13}C pour produit A.
- Tableau II.14 :** Déplacement chimiques de RMN 1H du Bifurcane.
- Tableau II.15 :** Valeurs de RMN 1H et ^{13}C pour produit C.
- Tableau II.16 :** Test antibactérien vis-à-vis de *Klebsiella pneumoniae* et d'*Enterobacter cloacae* des produits A, B et C.
- Tableau III.1 :** Normes de qualité des eaux destinées à l'irrigation.
- Tableau III.2 :** Normes de qualité des eaux de surface.
- Tableau III.3 :** Concentrations moyennes en chrome dans différents Minéraux.
- Tableau III.4 :** Principaux modèles cinétiques.
- Tableau III.5 :** Principaux modèles des isothermes d'adsorption.
- Tableau III.6 :** Microanalyse par EDX en fonction des pourcentages massiques des éléments présents dans CT et de BB.
- Tableau III.7 :** L'attribution des bandes d'absorption des spectres infrarouge de CT et de BB
- Tableau III.8 :** Paramètres des modèles de la cinétique de biosorption du chrome par le support brut RC de *Cystoseira tamariscifolia*.
- Tableau III.9 :** Paramètres des modèles de la cinétique de biosorption du chrome par le support brut RB de *Bifurcaria bifurcata*.
- Tableau III.10 :** Paramètres des modèles de la cinétique de biosorption du chrome par le support activé AC de *Cystoseira tamariscifolia*.

- Tableau III.11 :** Paramètres des modèles de la cinétique de biosorption du chrome par le support activé AB de *Bifurcaria bifurcata*.
- Tableau III.12 :** Paramètres des modèles des isothermes d'équilibre de biosorption du chrome par le support brut RC de *Cystoseira tamariscifolia*.
- Tableau III.13 :** Paramètres des modèles des isothermes d'équilibre de biosorption du chrome par le support brut RB de *Bifurcaria bifurcata*.
- Tableau III.14 :** Paramètres des modèles des isothermes d'équilibre de biosorption du chrome par le support activé AC de *Cystoseira tamariscifolia*.
- Tableau III.15 :** Paramètres des modèles des Isothermes d'équilibre de biosorption du chrome par le support activé AB de *Bifurcaria bifurcata*.
- Tableau III.16 :** Comparaison des résultats avec la littérature pour l'adsorption du chrome sur des algues brunes.

Introduction Générale

Les océans et les mers représentent près des trois-quarts de la surface du globe. La vie sur Terre est apparue dans le milieu marin il y a environ 3,8 milliards d'années alors que les premières espèces terrestres remontent, quant à elles, à 400 millions d'années. Cette différence se traduit aujourd'hui par une plus grande diversité des espèces dans le milieu marin. Cette biodiversité que l'on retrouve dans les mers et les océans se traduit naturellement par une chimiodiversité tout aussi importante. Celle-ci est d'ailleurs très spécifique en raison des particularités physico-chimiques du milieu marin. Néanmoins, sur près de 220 000 substances naturelles répertoriées, seules 10 % sont d'origine marine. Ceci peut s'expliquer par le fait que les organismes marins ont été beaucoup moins étudiés que leurs analogues terrestres, et ce principalement à cause du manque de connaissance du milieu marin et des difficultés liées à la récolte des échantillons. Ainsi, les premières recherches sur les produits naturels marins datent seulement de la fin des années 60 alors que les substances d'origine terrestre sont étudiées intensivement depuis déjà plus d'un siècle ^[1].

Près de 80 % des produits naturels marins ont été décrits à partir d'algues (*Chlorophycota*, *Rhodophycota*, *Chromophycota* et *Cyanophycota*), d'éponges (*Porifera*) et de cnidaires (coraux, gorgones, méduses, ...). Ces organismes étant majoritairement sessiles, leur stratégie de défense s'est donc plus particulièrement orientée vers la défense chimique. Ceci peut permettre d'expliquer l'abondance des métabolites isolés à partir de ces organismes par rapport à ceux appartenant au monde pélagique. Actuellement, une attention toute particulière est portée sur les microorganismes qui, seuls ou en symbiose, seraient responsables de la production d'un grand nombre de métabolites secondaires marins. Les métabolites isolés à partir d'algues représentent près de 22% des produits naturels marins décrits à ce jour ^[2].

Le Maroc, avec sa double façade Atlantique et Méditerranéenne, longue de plus de 3500 Km, est un pays profondément influencé par la mer, ce qui implique l'existence de milliers d'espèces marines particulièrement les algues qui présentent une biomasse très importantes par rapports à d'autres pays ^[3].

La valorisation de la biomasse algale est considérée parmi les programmes internationaux les plus intéressants dans l'exploitation du milieu marin. On effet, les algues ont constitué pour longtemps un grand espoir économique, pour les pays qui en possèdent d'importants littorales. Les algues ont déjà une valeur commerciale reconnue dans des domaines variés, tels que : l'alimentation, la cosmétique, le textile, la papeterie, le pharmaceutique et la médecine. Elles sont une source importante de polysaccharides (agars, carraghénines, alginates) utilisés

comme agents émulsifiants, épaississants et stabilisateurs dans les industries alimentaires. Leurs propriétés antibiotiques, antivirales et anti-inflammatoires leur confèrent une valeur appréciée en pharmacie et en médecine ^[4-6].

L'utilisation des algues marines en médecine et en pharmacie est connue depuis la plus haute antiquité mais reste limitée, ^[7,8] d'où l'étude systématique des algues marine à des fins thérapeutiques n'a véritablement commencé que dans la seconde partie du vingtième siècle et a tout de suite suscité de grands espoirs grâce à la découverte des molécules rares et actives.

D'autre part, la qualité de l'eau et des milieux aquatiques est au cœur des enjeux sanitaires et environnementaux actuels. La pollution de l'eau et des milieux aquatiques constitue un problème majeur tant pour la population, utilisatrice des ressources en eau, que pour la faune et la flore pour lesquelles l'eau représente le milieu de vie ^[9].

Depuis quelques années, les scientifiques se penchent sur un certain type de pollution : les polluants émergents. Ce sont des substances d'origine chimique ou biologique qui n'ont souvent pas encore de statut réglementaire : Antibiotiques, détergents, produits phytosanitaires, cosmétiques ... Ils peuvent être d'origine industrielle, agricole, domestique ou naturelle. Deux grandes voies d'entrées dans l'environnement ont été identifiées par la recherche : les sources ponctuelles (rejets de stations d'épuration, d'assainissement non collectif, d'hôpitaux, d'industries) ou diffuses (épandage de fumier, de lisier, de boues...) ^[9].

Dans ce contexte, le présent travail, développé entre le Laboratoire Biomolécules et Synthèse Organique (BIOSYNTHO) et le Laboratoire de Chimie Analytique et Physico – Chimie des Matériaux (LCAPCM), s'est fixé comme objectif la valorisation de la biomasse algale du Maroc, dont le travail est ciblé sur deux algues brunes de la côte atlantique marocaine du genre *Cystoseira* et il est réalisé suivant deux axes majeurs : potentialités pharmacologiques et applications environnementales.

Le compte rendu de l'ensemble des travaux est chapeauté par une synthèse bibliographique qui fait l'objet de la première partie de ce mémoire. Cette partie assemble plusieurs données sur les algues marines. Aussi, elle rassemble les études antérieures sur la chimie et les potentialités pharmacologiques des organismes marins et particulièrement des algues du genre *Cystoseira* : *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata*.

La deuxième partie de ce mémoire a pour objet l'étude des potentialités pharmacologiques de ces deux algues marines, constitue la continuité des travaux de nos laboratoires commencés pendant une dizaine d'années. Ces travaux ont porté sur l'extraction, l'étude des potentialités pharmacologiques des extraits obtenus, le fractionnement et la purification. Différentes méthodes biologiques et chimiques sont utilisées pour mener à bien ces études.

La troisième partie est consacrée à l'étude de l'élimination du chrome par des matériaux adsorbants préparés à partir des deux algues brunes. Cette étude aborde une nouvelle voie de valorisation de cette richesse dans les applications environnementales. Après la préparation et la caractérisation structurale des adsorbants, ils ont été utilisés dans l'élimination du chrome contenus dans des effluents liquides. Divers données numériques de l'adsorption ont été traitées et modélisées par des modèles classiques de la cinétique et d'isothermes pour bien expliquer les processus de l'adsorption.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

[1] J.M. Kornprobst.

‘‘Substances naturelles d’origine marine: chimiodiversité, pharmacodiversité, biotechnologie’’, Edition technique & documentation, Paris, pp 1800. (2005)

[2] Y. Viano

‘‘Recherche de molécules non-toxiques actives en antifouling à partir d’organismes marins de Méditerranée’’, Thèse Doctorat, Université du Sud Toulon-Var, France, pp 254. (2010)

[3] S. Benhissoune, C.F. Boudouresque, M. Verlaque.

‘‘A checklist of the seaweeds of the Mediterranean and Atlantic coasts of morocco. II. *Phaeophyceae*’’, Botanica marina, Vol 45, pp 217-230. (2002)

[4] E. Tarlan, F.B. Dilek, U. Yetis.

‘‘Effectiveness of algae in the treatment of a wood-based pulp and paper industry wastewater’’, Bioresource Technology, Vol 84, pp 1-5. (2002)

[5] H. Li, X. Yu, Y. Jin, W. Zhang, Y. Liu.

‘‘Development of an eco-friendly agar extraction technique from the red seaweed *Gracilaria lemaneiformis*’’, Bioresource Technology, Vol 99, pp 3301-3305. (2008)

[6] K.H.M. Cardozo, T. Guaratini, M.P. Barros, V.R. Falcão, A.P. Tonon, N.P. Lopes, S.Campos, M.A. Torres, A.O. Souza, P.Colepicolo, E. Pinto.

‘‘Metabolites from algae with economical impact’’ Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, Vol 146, pp 60-78. (2007)

[7] M.R. Torresa, A.P.A. Sousaa, E.A.T. Silva Filhoa, D.F. Melo, J.P.A. Feitosab, R.C.M. de Paulab, M.G.S. Limaa.

‘‘Extraction and physicochemical characterization of Sargassum vulgare alginate from Brazil’’, Carbohydrate Research, Vol 342, pp 2067-2074. (2007)

[8] V. Kosovel, A. Avanzini, V. Scarcia, A. Furlani

‘‘Algae as possible sources of antitumoural agents. Preliminary evaluation of the ‘‘in vitro’’ cytostatic activity of crude extracts’’, Pharmacological Research Communications, Vol 20, pp 27-31. (1988)

[9] W. Viessman, M.J. Hammer, E.M. Perez, P.A. Chadik.

‘‘Water Supply and Pollution Control’’, Edition Prentice Hall, 8th Edition, pp 864. (2008)

1^{ÈRE} PARTIE :

Synthèse bibliographique

Introduction :

Dans cette partie bibliographique, nous aborderons trois axes principaux :

- Données bibliographiques sur les algues marines.
- La biologie des algues brunes du genre *Cystoseira* et du genre *Bifurcaria*.
- Etudes chimiques antérieures et potentialités pharmacologiques des organismes marins, essentiellement les algues brunes de la famille des Cystoseiracées.

1. Données bibliographiques sur les algues marines :

1.1. Définition :

Les algues regroupent un ensemble de végétaux photosynthétiques très divers et dont l'appareil végétatif relativement simple est appelé « thalle », elles ont des formes et des dimensions très variables. Certaines sont microscopiques et d'autres mesurent plusieurs mètres de longueur, mais elles ont toutes des caractères communs. Elles sont essentiellement aquatiques dans les eaux douces ou marines, et certaines vivent sur la neige ou la glace des régions polaires et des hautes montagnes. D'autres au contraire supportent dans les eaux des sources thermales des températures élevées (algues thermophiles). Elles comprennent 20 000 à 30 000 espèces dans le monde, soit 18% du règne végétal ^[1].

1.2. L'utilisation des algues :

Les algues ont été utilisées depuis longtemps : au début dans l'alimentation des populations des rivages asiatiques, ou comme engrais en Europe ou encore pour le bétail. Depuis le XVIII^{ème} siècle l'iode est extrait industriellement des algues au Japon.

Au XX^{ème} siècle la production industrielle de phycocolloïdes est en plein essor eu égard à la diversification de leur utilisation. Le besoin de récoltes de plus en plus importantes a développé la culture d'espèces plus productives.

A cause des propriétés de plusieurs de leurs éléments, les algues ont été et sont encore utilisées à de nombreuses fins :

- Agro-alimentaire : Gélose et alginates utilisées comme agents émulsifiants, épaississants, stabilisants, gélifiants (additifs de E400 à E408), excipients ^[2].
- Agriculture : utilisées comme engrais (goémon) ou amendement (maërl).
- Dentisterie : pâtes pour les empreintes dentaires.
- Industries chimiques : les frustules (enveloppes externes des diatomées) siliceux, sont utilisés comme abrasifs, ou isolants phoniques ou thermiques. Les colles, peintures, résines, caoutchoucs, savons utilisent des produits d'algues ^[3].
- Médecine : en thalassothérapie on utilise les bains d'algue (algotérapie) pour traiter les rhumatismes ou certaines affections de l'appareil locomoteur, en chirurgie ou en gynécologie on utilise des stipes de laminaires (pour leur propriétés à retenir l'eau tout en se dilatant) pour débrider une plaie ou dilater une voie naturelle ^[4].
- Pharmacie : on utilise les propriétés laxatives ou vermifuges (Hypnea Carragheen), anticoagulantes (Phyllophora) ^[4-5].

1.3. Les grands groupes des algues marines :

En général, les algues regroupent quatre groupes qui sont différenciées par rapport à la couleur ^[6]. Chaque groupe contient des classes, et chaque classe contient des centaines d'espèces.

1.3.1. Les Chlorophytes :

Les Chlorophytes sont des algues vertes dont le thalle est de couleur typiquement vert en raison des chlorophylles a et b dominant dans les chloroplastes. Toutefois, l'exposition prolongée aux fortes intensités lumineuses provoque la synthèse de pigments photoprotectants (caroténoïdes), qui confèrent aux thalles de couleurs orangées à jaunâtres. Ce groupe d'algues peu diversifié dans les eaux tempérées est au contraire riche en espèces et en formes dans les eaux tropicales. Les algues vertes sont présentes dans tous les systèmes aquatiques depuis les milieux marins jusqu'aux eaux douces.

1.3.2. Les Chromophytes :

Au sein des Chromophytes, les algues brunes sont regroupées dans la classe des Fucophycées appelées autrefois les Péophycées. Ce sont des algues presque exclusivement marines. Leur couleur est due à l'abondance des pigments bruns, la fucoxanthine, qui masque les chlorophylles a et c. Les Phéophycées montrent une grande diversité morphologique depuis les formes filamenteuses relativement simples aux grandes algues brunes dont l'organisation morphologique complexe évoque les tiges feuillées des végétaux supérieurs. Les algues brunes se sont principalement diversifiées dans les mers froides et tempérées où elles forment les grandes forêts sous marines. Dans les eaux tropicales, elles sont moins nombreuses en espèces, mais représentent les plus grands thalles et forment les populations les plus denses.

1.3.3. Les Rhodophytes :

Les Rhodophytes ce sont des algues rouges, elles montrent une originalité particulière avec leur pigments surnuméraires rouges (Phycoérythrines) et bleus (Phycocyanines) qui viennent masquer la chlorophylle. Les proportions relatives entre les différents pigments, conjuguées avec la forme du thalle, donnent à la lumière du jour toutes les couleurs imaginables depuis le brun noirâtre jusqu'au rose très clair en passant par les rouges pourpres et les orangés. De plus, pour une même espèce, la couleur varie en fonction de l'exposition aux rayons lumineux : souvent les individus qui se développent aux forts éclaircissements montrent des couleurs délavées, où dominant les jaunes orangés en raison de la forte concentration en pigments caroténoïdes photoprotectants.

1.3.4. Les Cyanobactéries :

Les cyanobactéries ou les algues bleues sont constituées des colonies de taille, de forme et de couleur très variables. Comme les algues rouges, elles possèdent des pigments surnuméraires bleus (Phycocyanines) et rouges (Phycoérythrines) qui masquent la chlorophylle a. En dépit de leur nom ancien d'algues bleues, elles sont rarement bleues mais plus souvent rouges, vertes avec des reflets bleutés, violets, bruns, jaunes ou orangés. La plupart d'entre elles ont une consistance gélatineuse voire gluante en raison des mucilages qu'elles sécrètent.

1.4. Facteurs de répartition des algues :

Les algues sont liées à l'eau et peuvent dès lors s'installer dans tous les types d'habitat suffisamment humides et éclairés. On peut les retrouver en eau douce, en mer, sur sol humide et même sur la neige. Les algues étant photosynthétiques, elles sont dépendantes de la présence de la lumière. Aussi, Les algues nécessitent d'être fixées à un substrat, par conséquent, la texture, le degré de cohésion et la nature chimique du substrat ont une importance sur la répartition spatiale des espèces ^[7].

1.5. Enjeu économique des algues au Maroc :

Au Maroc, la particularité des courants marins, la salinité et les conditions hydro – climatiques particulières favorisent le développement des algues marines ^[8]. L'abondance de cette ressource a permis d'installer dès les années 50 une industrie de valorisation des algues . En effet ce secteur emploie plus de 500 personnes à plein temps, fournit un travail saisonnier à 9000 personnes et réalise un chiffre d'affaires de près de 170 millions de MAD. Les algues sont surtout récoltées pour l'exploitation vu le prix élevé auquel les acheteurs étrangers les procurent 15 MAD/Kg alors que les industries de transformation locales proposent 8 MAD le kilogramme. La principale espèce d'algue marine exploitée localement est le *Gelidium sesquipedale*, une algue rouge, qui se trouve sur les côtes atlantiques marocaines, un biotope idéal pour son développement. Elle est considérée comme l'une des meilleures matières premières pour l'extraction de l'agar – agar. On trouve aussi d'autres espèces telles que : *Gigartina* qui représente 5 %, *Pterocladia* 0,5% et *Gracilaria* qui représente 0,5 % également.

2. Biologie des algues brunes du genre *Cystoseira* et du genre *Bifurcaria* :

2.1. Présentation de la famille des Cystoseiracées :

La famille des Cystoseiracées sont des algues brunes faisant partie de la classe des péophycées. Elle a été établie par Kützinger en 1843 et comprenait alors plusieurs genres : *Cystoseira*, *Halerica*, *Halidrys*, *Hormophysa*, *Phyllacantha*, *Pycnophycus* (*Bifurcaria*) et *Treptacantha*. Les trois genres *Halerica*, *Phyllacantha* et *Treptacantha* sont actuellement rattachés au genre *Cystoseira* (sauf pour de rares espèces). Les phycologues n'ont pas toujours admis l'existence de cette famille. Ainsi DeToni la considérait comme une entité en 1891 mais la fusionnait aux sargassacées en 1895. En 1962, Nizamuddin a regroupé le plus grand nombre de genres de la famille *Cystoseiraceae*, d'où il a déterminé 21 genres, chacun contient un nombre variable d'espèces.

A la fin du 20^{ème} siècle R.Valls et V.Amico ont apporté de nouveaux éclaircissements grâce à leurs études sur les dosages, les variations et les chimiotaxonomies des Cystoseiracées.^[9-10] Ces travaux ont été complétés par plusieurs chercheurs : B. Banaigs^[11], C. Francisco^[12], M. Fadli^[13], A. Bennamara^[14], A. Abourriche^[15], G. Culioli^[16], M. Daoudi^[17], J.P. Maréchal^[18], A. Ortalo-Magné^[19], ..., Ainsi, une centaine de molécules bioactives ont été isolées. Malgré tous ces efforts, la famille des Cystoseiracées demeure imparfaitement connue, les algologues éprouvent encore des difficultés dans la sélection de critères sûrs pour l'identification de certaines espèces.

2.2. Position systématiques de la famille des *Cystoseiraceae* :

De nos jours, tous les systématiciens admettent l'individualité des Cystoseiracées, toutes ces macro-algues sont des Fucales possédant les particularités qui permettent de les distinguer sans ambiguïté. Les Cystoseiracées sont des algues brunes de l'embranchement de Chromophytes, de la division des Péophycées et de l'ordre des Fucales. D'autre part, cette famille constitue plusieurs genres comme nous avons décrit précédemment, et parmi ces genres on trouve : *Bifurcaria* et *Cystoseira*^[20].

2.3. Le genre *Cystoseira* :

Les *Cystoseira* sont des algues buissonnantes, arborescentes, très ramifiées, très touffues, souvent de grande taille (30 cm à 1 m ou 2 m) d'un aspect particulier et facilement reconnaissable, mais l'attribution de l'espèce est particulièrement difficile ^[20]

Les thalles des *Cystoseira* se composent de 3 parties :

- Un disque basal : plus au moins trapu peut donner naissance soit à une seule tige lisse soit à plusieurs (plante cespiteuse). Il est fixé sur les fonds stables généralement rocheux.
- Une tige : partie du thalle comprise entre le disque basal et les rameaux primaires, généralement elle est cylindrique, la tige persiste durant toute la vie des *Cystoseira*, elle est dite pérennante.
- Des rameaux primaires : Ils croisent au sommet de la tige et se présentent comme de petites proliférations sur le bord ou un peu en dessus du sommet de la tige.

Certains *Cystoseira* sont remarquables par leur iridescente c'est à dire la belle coloration verdâtre ou bleuâtre qui teinte les rameaux immergés ^[20]. Les *Cystoseira* sont vivaces mais la plus part présentent un temps de repos partiel et perdent leurs rameaux, généralement en hiver.

2.4. Le genre *Bifurcaria* :

Le genre *Bifurcaria* est particulier parmi les Cystoseiracées car son rhizome de fixation est pérenne et adhère aux rochers par de petits disques. De ce rhizome basal partent des rameaux dressés, cylindriques et au mode de ramification caractéristique. Tous les autres genres à axe végétatif dressé ont perdu, au cours de leur évolution, leur rhizome (*Cystoseira*) et les genres rhizome (*Acystis*, *Platithalia*, *Stolonophora*) ont des ramifications fortement compressées.

Le genre *Bifurcaria* comprend trois espèces :

- *Bifurcaria bifurcata*, présente en Atlantique nord.
- *Bifurcaria brassicaeformis*, qui est endémique d'Afrique du sud.
- *Bifurcaria galapagensis*, qui est endémique des îles Galapagos.

Ces espèces se distinguent par la forme de leurs ramifications, mais toutes ont une organisation radiale. Elles se développent dans la zone littorale inférieure^[20].

2.5. Biotope des Algues du genre *Cystoseira* et du genre *Bifurcaria* :

Le genre *Cystoseira* vit dans l'étage littoral situé entre le niveau moyen des hautes mers d'eaux vives et le niveau moyen des basses mers de vives eaux. Il correspond à la zone de balancement des marées. Cette zone est facile à exploiter lorsqu'il y a un platier qui est un plateau quasi-horizontal. A marée basse la zone découverte est très étendue. Ce type de station est varié, car il comprend des cuvettes plates très peu profondes, jusqu'aux grandes crevasses de plus d'un mètre de profondeur qui peuvent retenir un volume d'eau très important. Elles sont l'habitat préféré des algues brunes des genres *Cystoseira* et *Bifurcaria* car elles peuvent être ombragées et la température de l'eau reste stable^[20].

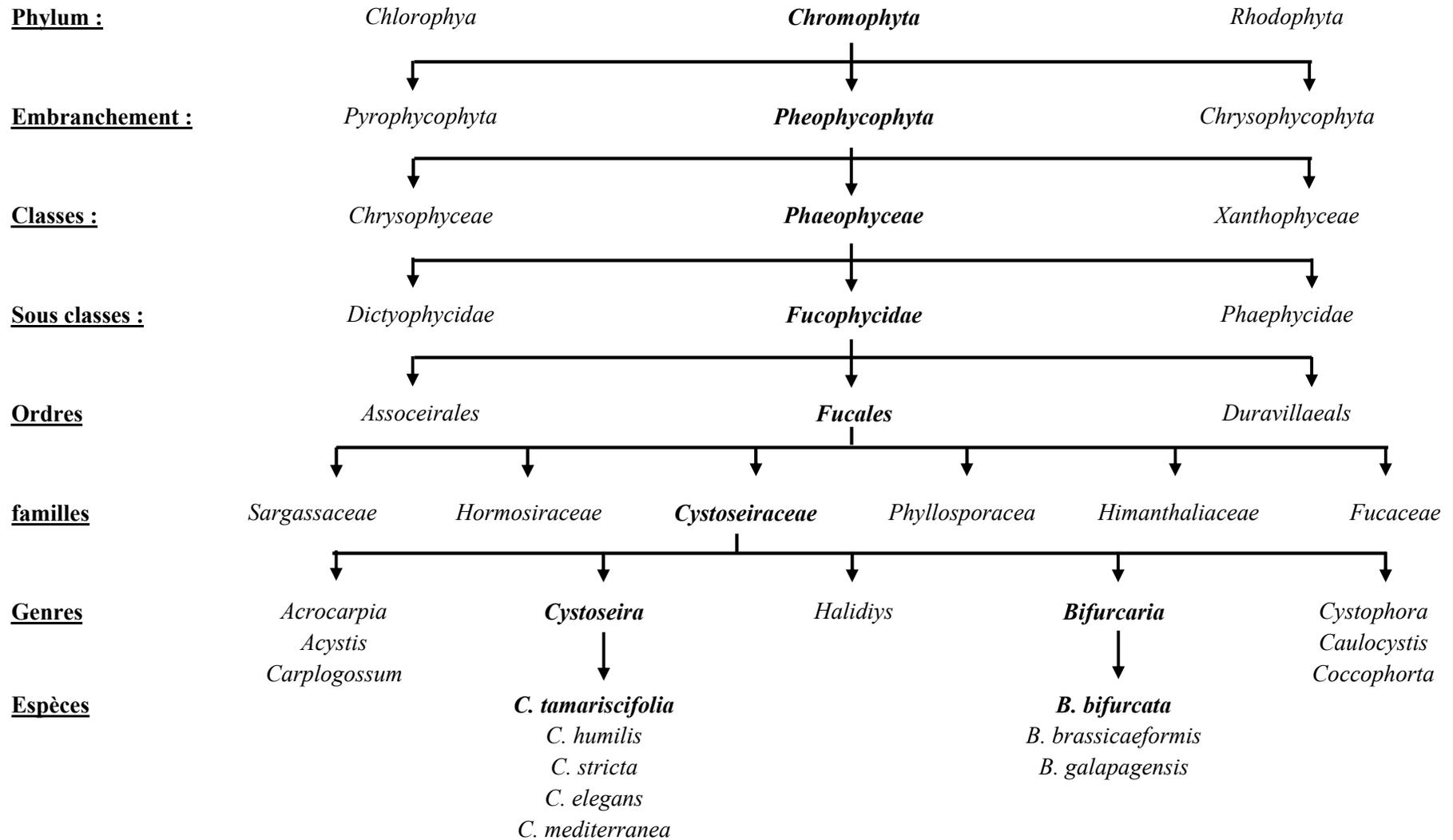


Figure I.1 : Taxonomie et position systématique de la famille des *Cystoseiraceae*.

2.6. Description, biologie et écologie des algues *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata* :

2.6.1. *Cystosiera tamariscifolia* :

2.6.1.1. Synonymies :

Fucus ericoides, *Cystoseira ericoides*, *Cystoseira selaginoides*, *Fucus selaginoides*, *Fucus tamariscifolius*.

2.6.1.2. Description :

C'est une algue robuste de 10 à 50 cm, de couleur vert olive, iridescente dans l'eau, produisant une sensation rude au toucher. Le thalle est fixé par un disque très solide et comprend un axe principal dont les ramifications portent de nombreux rameaux secondaires plusieurs fois divisés et recouverts de petits ramules épineux appelés " feuilles " (Figure I.2). Elle présente une période de repos l'hiver, elle est alors rude au toucher et réduite (A). Dès le printemps, elle croît et peut présenter des ramules non feuillés (B) et souples, elle est beaucoup moins rude au toucher. Par la suite elle devient très touffue (C) [21].

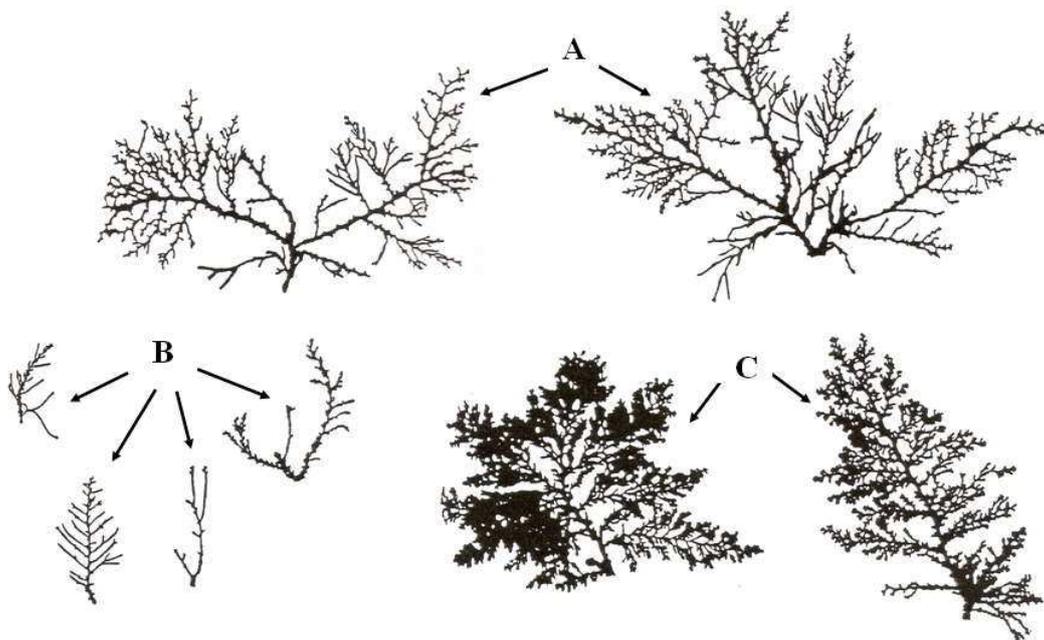


Figure I.2 : Représentation schématique de *Cystoseira tamariscifolia*.

2.6.2. *Bifurcaria bifurcata* :

2.6.2.1. Synonymies :

Fucus tuberculatus, *Fucus bifurcatus*, *Pycnophorus tuberculatus*, *Cymaduse tuberculata*, *Fucodium tuberculatum*, *Bifurcaria tuberculata* et *Bifurcaria rotunda*.

2.6.2.2. Description :

Les thalles cylindriques, de couleur verdâtre à brune, non iridescents et pouvant atteindre 45 cm de long (Figure I.3) s'élèvent à partir d'un rhizome rampant tuberculeux fixé par des disques circulaires de petite taille. Simples dans leur partie inférieure, ils se ramifient vers le haut. Les rameaux ainsi formés apparaissent subdichotomes ou alternés distiques. Ils se terminent en général par des réceptacles cylindriques et boursouflés.

C'est une algue vivace qui fructifie en général de novembre à janvier.

Toutes ces caractéristiques sont sujettes à variations car le développement de *Bifurcaria bifurcata* est influencé par divers facteurs. La saison est le facteur le plus déterminant, mais la position bathymétrique et géographique interviennent également, provoquant des décalages dans les différents stades ^[22].

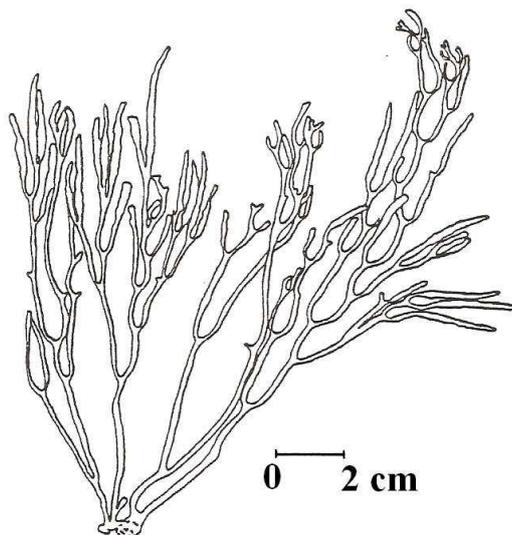


Figure I.3 : Thalle de *Bifurcaria bifurcata*.

3. Etudes chimiques antérieures et potentialités pharmacologiques des organismes marins : Cas des algues brunes de la famille des Cystoseiracées :

3.1. Intérêt pharmacologique des espèces marines :

Actuellement le besoin de nouveaux médicaments est grand, du fait de l'évolution des populations et des pathologies. Une des voies d'innovation repose sur la découverte de principes actifs originaux, qui peuvent provenir de la chimie de synthèse, de l'extraction à partir de sources biologiques, enfin, plus récemment, des biotechnologies fondées sur le génie génétique. En ce qui concerne l'extraction, les végétaux ont été et sont encore largement exploités, mais la tendance actuelle est d'évaluer la pertinence d'autres groupes du vivant, tels les insectes, les micro-organismes ou les organismes marins, comme source de molécules actives, avec pour idée que de nouveaux groupes livreront des contenus chimiques différents, et donc une plus grande variété exploitable.

Les macro- et micro-organismes marins occupent une place de choix dans ce domaine : très nombreux en terme d'espèces, soumis à un environnement spécifique très différent de celui des organismes terrestres, ils sont aussi facilement accessibles qu'au début de ces recherches, dans les années 1950. L'attention de la communauté scientifique avait en effet, été attiré par les produits marins en 1951, lors de la découverte de nucléosides dans un spongiaire, puis, en 1969, quand la très forte teneur en prostaglandines d'une Gorgone des Caraïbes a été révélée : un organisme marin fabriquait en grande quantité des produits que la chimie de synthèse peinait alors à élaborer. Ce fût le point de départ d'une aventure qui a livré jusqu'à ce jour plus de 15 000 produits originaux d'origine marine.

La place des molécules d'origine marine dans l'arsenal thérapeutique est encore modeste, un fait qui doit être relativisé du fait de la courte période de recherche correspondante, et des difficultés de la mise au point, actuellement, d'un nouveau médicament. Pour l'industriel, ces produits n'ont pas un statut différent de ceux obtenus à partir d'autres procédés, seuls comptent l'efficacité et le caractère novateur. C'est précisément sur ce point que les molécules d'origine marine, issues de métabolismes originaux et encore largement inexploitées, se singularisent et montrent tout leur intérêt ^[23-24].

3.2. Résultats encourageant des substances marines :

Une dizaine de produits sont actuellement soit en usage thérapeutique, soit suffisamment avancés en phase II et III des essais cliniques pour espérer une commercialisation prochaine. Les sources biologiques de ces molécules sont majoritairement les algues, les spongiaires, les ascidies ou les mollusques ^[24].

3.2.1. Les produits actuellement sur le marché :

Outre les polyholosides, utilisés depuis longtemps en gastro-entérologie, et les céphalosporines (découvertes à l'origine dans un microchampignon marin), nous disposons de plusieurs molécules marines :

Les nucléosides : ara-A (vidarabine) et ara-C (cytarabine, aracytidine) ont été synthétisés (1969 et 1963) sur le modèle de la spongothymidine isolée à partir du spongiaire *Cryptotethya crypta*. L'ara-A (Vira-A®, Jouveinal) et l'ara-C (Aracytine® Upjohn, et Cytabel® Bellon) sont utilisés depuis cette date respectivement comme antiviral et antitumoral ^[25].

L'immunocyanine (Immucothel® Biosyn Arzneimittel) est préparée à partir de la glycoprotéine KLH (Keyhole L impet Hemocyanin) de l'hémolymphe du mollusque *Megathura crenulata* de Californie. Elle est utilisée depuis 1960 pour le diagnostic et le traitement de certains carcinomes vésicaux chez des patients réfractaires ou intolérants au BCG ^[25].

Le ziconotide (SNX-111) est un peptide (x-conotoxine) isolé en 1979 du venin d'un cône carnivore des mers tropicales. Il bloque les canaux calciques de type N, et a un effet antalgique 100 à 1000 fois supérieur de celui de la morphine. Le produit arrive actuellement sur le marché (Prialt® Pfizer Inc) pour l'analgésie intraspinale des douleurs chroniques ^[25].

3.2.2. Les produits en essais cliniques phase III :

Deux produits sont des anti-angiogéniques à visée antitumorale issus de squales :

L'AE-941 (Néovastat® Aeterna Lab.) : il s'agit d'une préparation ultrafiltrée de cartilages, testée sur des carcinomes rénaux et pulmonaires en oncologie pédiatrique, et qui bénéficie du statut de « médicament orphelin » accordé par la Food and Drug Administration (FDA) ^[26].

La squalamine (Genaera/Zentaris), un aminostérol hydrosoluble maintenant produit par synthèse, qui a montré son efficacité en phase II sur des carcinomes pulmonaires, est actuellement en phase III (en association avec d'autres antitumoraux). Son développement bénéficie également du statut de médicament orphelin ^[26].

Deux autres substances, produites par aquaculture des organismes sources, ont été également en phase III :

La bryostatine-1 : issue du bryozoaire *Bugula neritina* des côtes de Floride, cette molécule (GPC Biotech) est un antitumoral sans effets sur les lignées sanguines. Associée au taxol, elle a reçu en 2001 l'approbation de la FDA et de l'EMA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products) comme médicament orphelin pour le traitement du cancer de l'œsophage ^[26].

L'ecteinascidine-743 (ET-743) : cet alcaloïde proche des alkylants, issu de l'ascidie *Ecteinascidia turbinata*, est actuellement développé par la firme Zeltia/PharmaMar sous l'appellation de Yondelis®. Il a été récemment inscrit sur la liste des médicaments orphelins par l'EMA pour le traitement des sarcomes des tissus mous ^[26].

3.2.3. Les produits en essais cliniques phase II :

Deux peptides complexes issus de mollusques (dolastatines) ou d'ascidies (didemnines) ont été sélectionnés parmi un grand nombre d'homologues issus des organismes naturels ou produits par synthèse, pour leur activité antitumorale :

Les dolastatines 10 et 15, qui interagissent avec la tubuline, ont fait l'objet d'études cliniques, mais divers problèmes de développement leur font préférer actuellement un dérivé de synthèse, le LU-103793 ou cématodine, dérivé hydrosoluble de D15. La phase II a commencé en Europe sous l'égide de la firme Knoll A.G. Un second dérivé pourrait se révéler intéressant : l'auristatine-PE ou TZT-1027 ^[27].

Les didemnines : ces produits interfèrent avec la synthèse des protéines. La didemnine B, premier produit testé en essais cliniques, s'étant révélé trop toxique, c'est un dérivé, la déhydrodidemnine B ou Aplidin® (PharmaMar), isolée d'*Aplidium albicans*, qui est en phase II des essais cliniques [28].

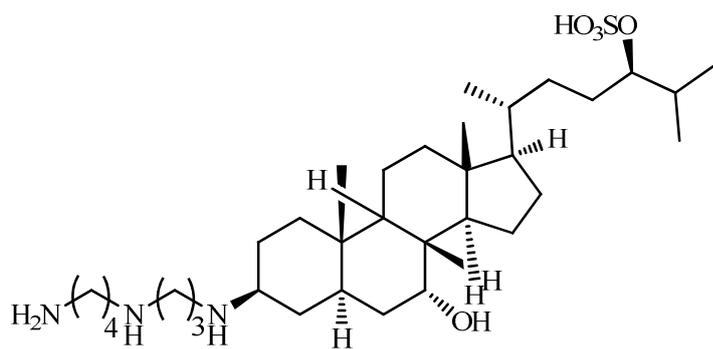
3.2.4. Les autres produits :

De multiples molécules sont actuellement en développement préclinique ou clinique de phase I et II. Citons parmi celles-ci :

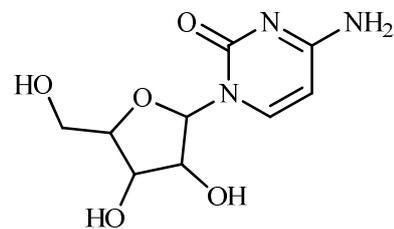
Un dérivé des pseudoptérosines issus d'une Gorgone, la methopterosin, employée dans une formulation cosmétologique (Résilience® Estée Lauder), et en phase II comme anti-inflammatoire (Sea Grant Lab.).

Le Kahalalide F : un autre peptide du mollusque *Elysia rufescens*, actuellement en phase I. Avec le Yondelis® et l'Aplidin®, c'est le troisième antitumoral développé par la firme PharmaMar [29].

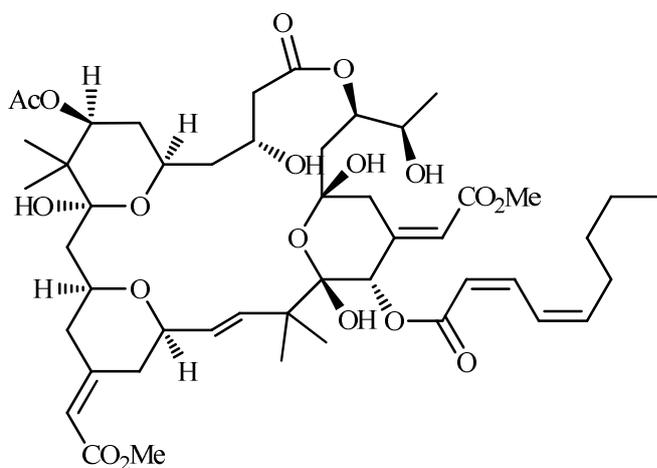
Le KRN-7000 : un dérivé de synthèse des agélasphines isolées du spongiaire *Agelas mauritanus*. En phase I, il se distingue par sa faible toxicité et par sa capacité à éradiquer les métastases hépatiques par exaltation des réactions immunitaires (Kirin Pharmaceuticals) [24].



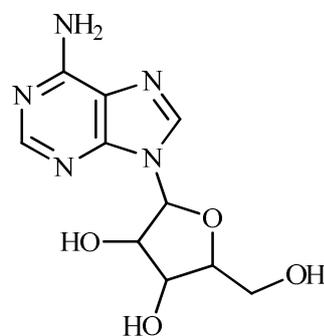
Squalamine



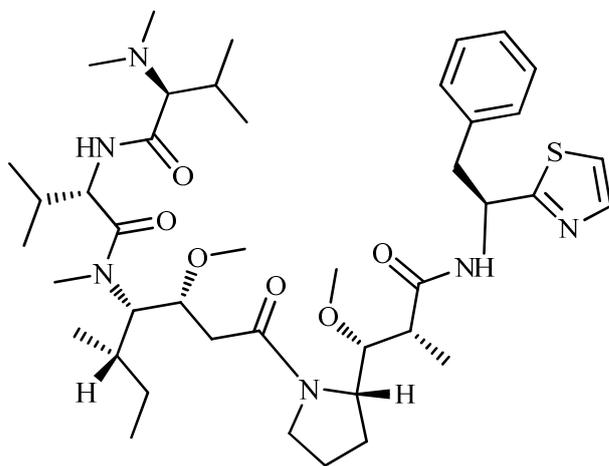
Cytarabine (ara-C)



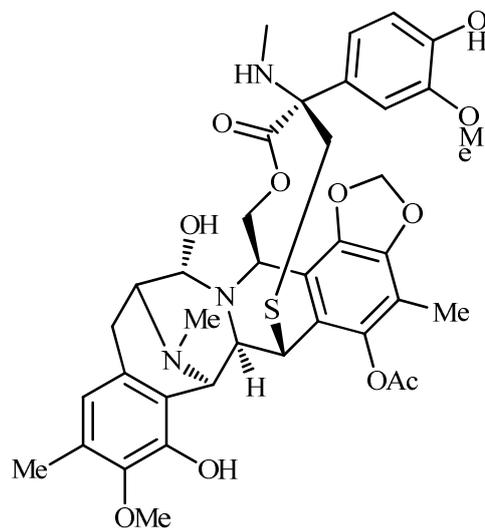
Bryostatine-1



Vidarabine (ara-A)



Dolastatins 10



Ecteinascidine-743

Figure I.4 : Exemples des molécules marines à intérêt biologique.

3.3. Etudes chimique antérieures des algues brunes de la famille des Cystoseiracées :

La famille des cystoseiracées se compose de plusieurs genres dont certains ont des distributions très limitées (*Acystis*, *Bifurcariopsis*, *Stolonophora* ...) ou sont présentes seulement sur le continent australien par exemple (*Acrocarpia*, *Carpoglossum*, *Caulocystis*...) par contre d'autres sont largement répandus (*Bifurcaria*, *Cystoseira*, *Halidrys*...). Parmi ces derniers, la famille Cystoseiracée a fait l'objet de plusieurs études chimiques qui ont débuté vers les années 76. Ces études ont abouti à la découverte de plusieurs nouvelles molécules ^[21].

D'un point de vue chimique, les algues brunes sont caractérisées généralement, par la présence d'un pourcentage (en masse) modéré de stérols et de composés terpéniques. Ces derniers peuvent être regroupés en deux classes : les terpènes "sensu stricto" et les terpènes à biogénèse mixte dits "méroditerpènes" qui comprennent un noyau méthyl-hydroquinonique sur lequel est fixé un enchaînement diterpénique. ^[20] Chaque classe peut être subdivisée en plusieurs groupes : chez les diterpènes, on distingue les linéaires et les cyclisés, chez les méroditerpènes, ce sont les linéaires, les monocyclisés, les bicyclisés et les réarrangés. Notons que les algues brunes contrairement aux algues rouges ne contiennent pas de structure terpénique halogénée (chlore, brome ou iode) car elles sont dépourvues de l'enzyme responsable des réactions d'halogénéation : l'haloperoxydase ^[20].

3.3.1. Généralités sur les terpènes :

Les terpènes appartiennent à la vaste famille des isoprénoïdes. Ils possèdent des structures, des propriétés physiques et chimiques et des activités biologiques très diverses. Plusieurs d'entre eux sont exploités à l'échelle industrielle. Le mot « terpène » tire son origine du mot de huile de térébenthine, cet huile a été découverte en 1818 comme étant un mélange d'hydrocarbures avec un ratio carbone-hydrogène de 5:8.

En 1959 le chimiste Ruzicka proposa une nomenclature pour les dérivés isopréniques en fonction du nombre d'unités d'isoprène qui les constitue ^[30] : monoterpènes (C₁₀), sesquiterpènes (C₁₅), diterpènes (C₂₀), sesterpènes (C₂₅), triterpènes et terpénoïdes (C₃₀) et caroténoïdes (C₄₀).

Biogénétiquement, les terpènes ont pour précurseur l'acide mévalonique, obtenu par activation enzymatique d'une molécule d'acide acétique. La phosphorylation et la

décarboxylation qui suivent aboutissent à une unité isoprénique de base : le pyrophosphate de 3-isoprényle (PPI-3). Cette unité est isomérisée en pyrophosphate de 2-isoprényle (PPI-2) qui joue le rôle d'agent alkylant envers d'autres groupes PPI-3 (Figure I.5). Selon le nombre d'unités isopréniques fixées, on obtient :

- Par le pyrophosphate de géranyl (PPG), les monoterpènes.
- Par le pyrophosphate de farnésyle (PPF), les sesquiterpènes.
- Par le pyrophosphate de géranylgéranyl (PPGG), les diterpènes.

Ces enchainements peuvent se poursuivre jusqu'à des substances comme le coenzyme Q10 qui contient dix unités isopréniques. Les composés issus de chacune de ces sous – classes peuvent, par diverses réactions enzymatiques (cyclisation, oxydation, ...) aboutir à un très grand nombre de produits naturels : stérols, chlorophylle, ubiquinones, ... ^[20]

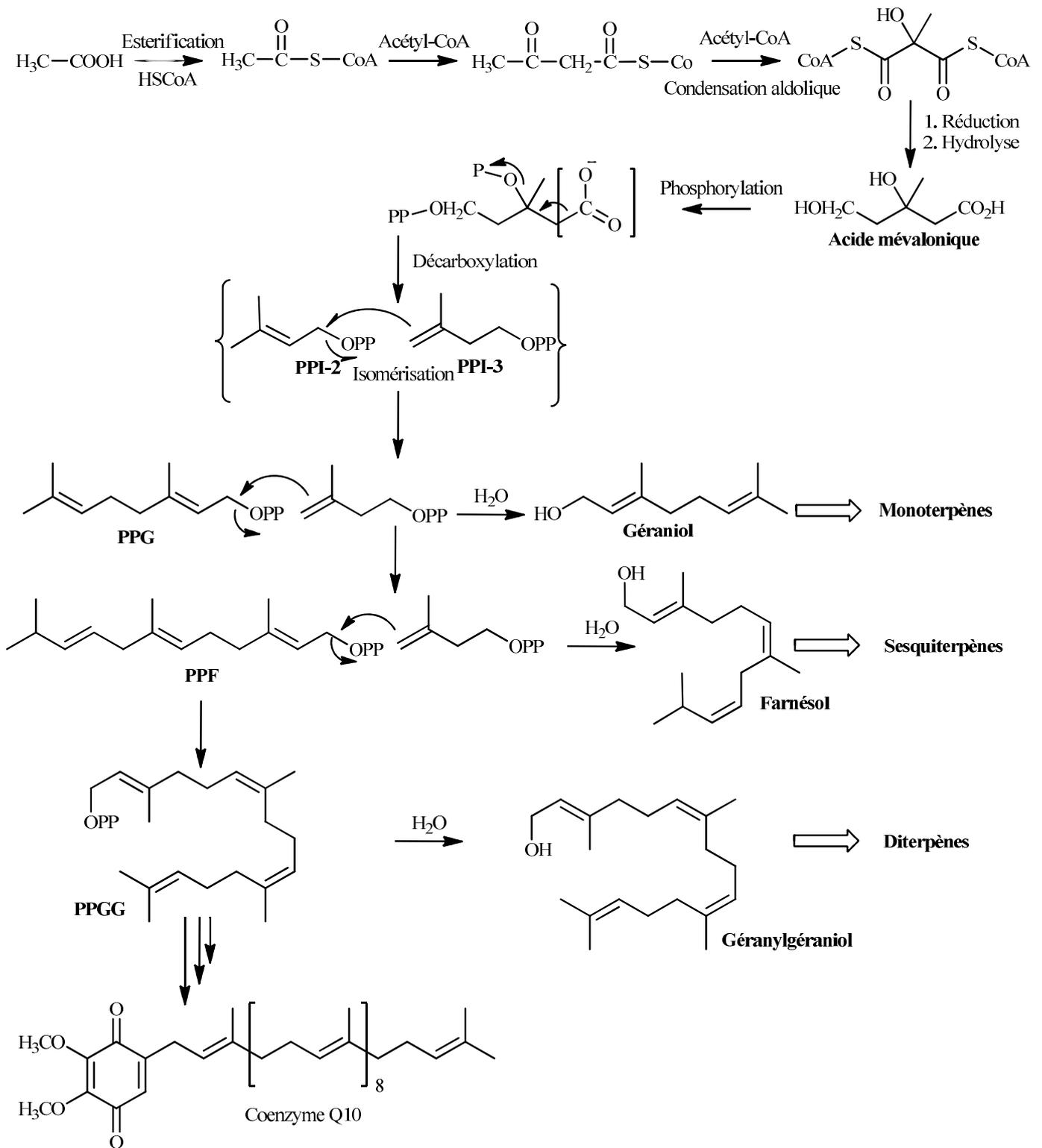


Figure I.5 : Voie de biosynthèse des terpènes.

3.3.2. Diterpènes linéaires :

Les diterpènes linéaires sont rarement extraits dans les organismes marins. Ils ont pour chef de file le géranylgeraniol. Celui-ci conduit à de nombreuses molécules par la fixation de diverses fonctions ^[20].

Historiquement, les deux premiers diterpènes linéaires isolés à partir d'algues brunes de la famille Cystoseiracée sont le crinitol qui inhibe la croissance des insectes et l'oxocrinitol. Le crinitol et l'oxocrinitol ont été isolés par E. Fattorusso à partir de *Cystoseira crinita*. De la même algue V. Amico a isolé plusieurs diterpènes acycliques ainsi que l'éléanolone. Ce sétol, commun chez *Cystoseira elegans* et chez *Bifurcaria bifurcata*, a été décrit pour la première fois par C. Francisco, et présente une activité antimicrobienne notable ^[21].

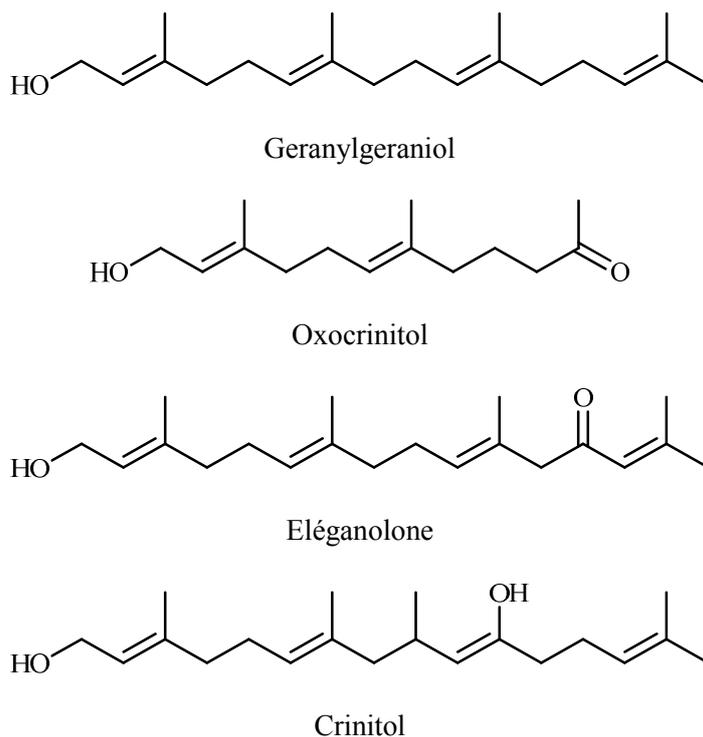


Figure I.6 : Les principaux diterpènes linéaires isolés d'algues brunes de la famille Cystoseiracée.

3.3.3. Méroditerpènes :

Ces phytoconstituants à biogenèse mixte comprennent un noyau hydroquinonique plus ou moins substitué fixé à un enchaînement terpénique, souvent oxygéné qui peut être linéaire, monocyclisé, bicyclisé ou réarrangé.

La première unité isoprénique peut aussi se cycliser avec le groupement phénolique en ortho formant ainsi un noyau chromane ^[31].

Les méroditerpènes issus d'algues brunes de la famille Cystoseiracée peuvent être subdivisés en deux séries :

- Une série à noyau chromanol.
- Une série linéaire à noyau hydroquinonique.

La partie originale (partie B) de ces molécules représente l'essentiel des travaux d'identification structurale.

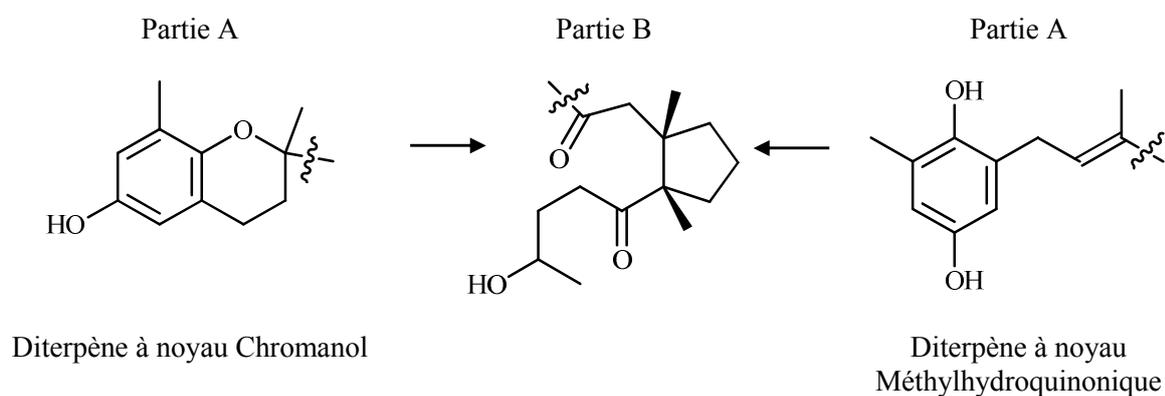


Figure I.7 : Biogenèse des méroditerpènes.

- **Les méroditerpènes linéaires :**

C'est en 1933 qu'il a été démontré la présence dans *Cystoseira elegans* de plusieurs méroditerpènes linéaires. De même, un bon nombre de ces méroditerpènes ont été extraits à partir de *Cystoseira stricta*. D'autres travaux ont entrepris l'étude de l'algue brune *Halidrys siliquosa* et ont permis d'isoler six monométhyl-hydroquinols ayant une chaîne latérale diterpénique oxygénée. Un peu plus tard, d'autres méroditerpènes linéaires ont été identifiés dans *Cystoseira stricta*, *Cystoseira spinosa* et *Cystoseira zosteroides* ^[21,31].

- **Les méroditerpènes monocycliques :**

C'est en 1977 que les premiers dérivés chromaniques ont été isolés à partir de l'algue *Cystophora torulosa* récoltée sur la côte Australienne. Les premiers dérivés chromènes ont été identifiés chez *Cystosiera caespitosa* et *Cystosiera elegans*. Une autre famille structurale de diterpènes monocycliques est apparue avec la bifurcarénone, isolée de *Bifurcaria galapagensis* et le strictaépoxyde isolé de *Cystoseira stricta* ^[21,31].

- **Les méroditerpènes bi, tri et tétracycliques :**

Ce sont les plus prestigieux représentants des composés issus des Cystoseiracées. On y rencontre des substances originales avec des structures complexes comme les Méditerranéols, les Cystoseirols, le Cystokétal, l'Amentol et la Cystalgérone isolés de *Cystoseira mediterranea*, *Cystoseira stricta*, *Cystoseira algeriensis*, *Cystoseira balearica* et *Cystophora fibrosa* ^[21,31].

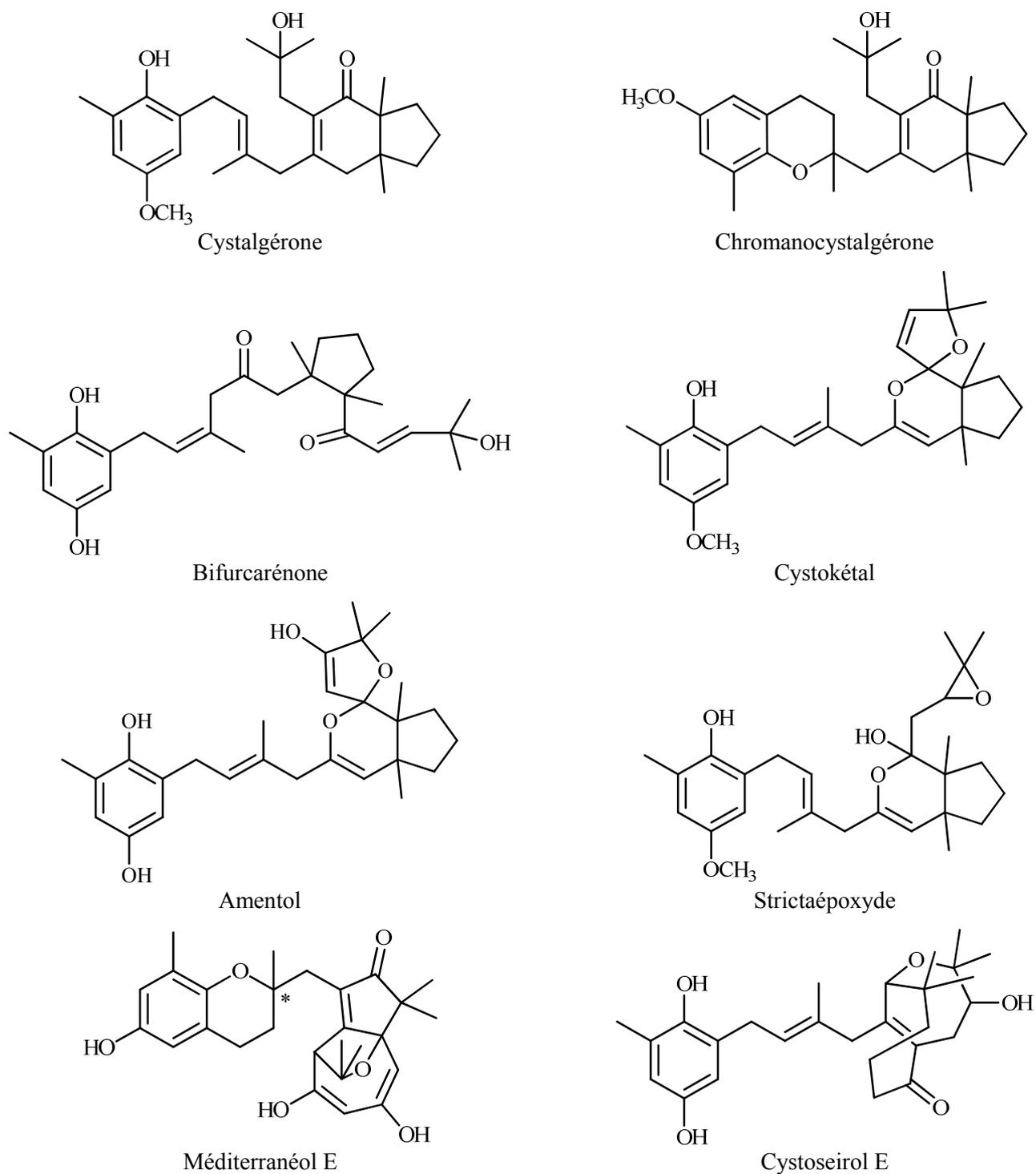


Figure I.8 : Quelques meroditerpènes isolés d'algues brunes de la famille Cystoseiracée.

3.3.4. Stérols :

Les stérols sont des alcools polycycliques partiellement insaturés universellement répandus dans les cellules vivantes animales et végétales. Ils ont eu plusieurs rôles, et en particulier ceux des composants de membrane cellulaire, d'hormones et de précurseurs d'hormones, de précurseurs de stéroïdes, d'agent de croissance, d'inhibiteur ou activateur de la croissance des plantes ^[20].

Les études antérieures sur les stérols des algues ont montré que tous les lots d'algues brunes de la famille des cystoseiracées étudiés présentent qualitativement les mêmes stérols, à savoir, le cholestérol, le fucostérol, le Δ^5 -avénastérol, le β -sitostérol, le 24-méthylènecholestérol et le brassicastérol ^[32].

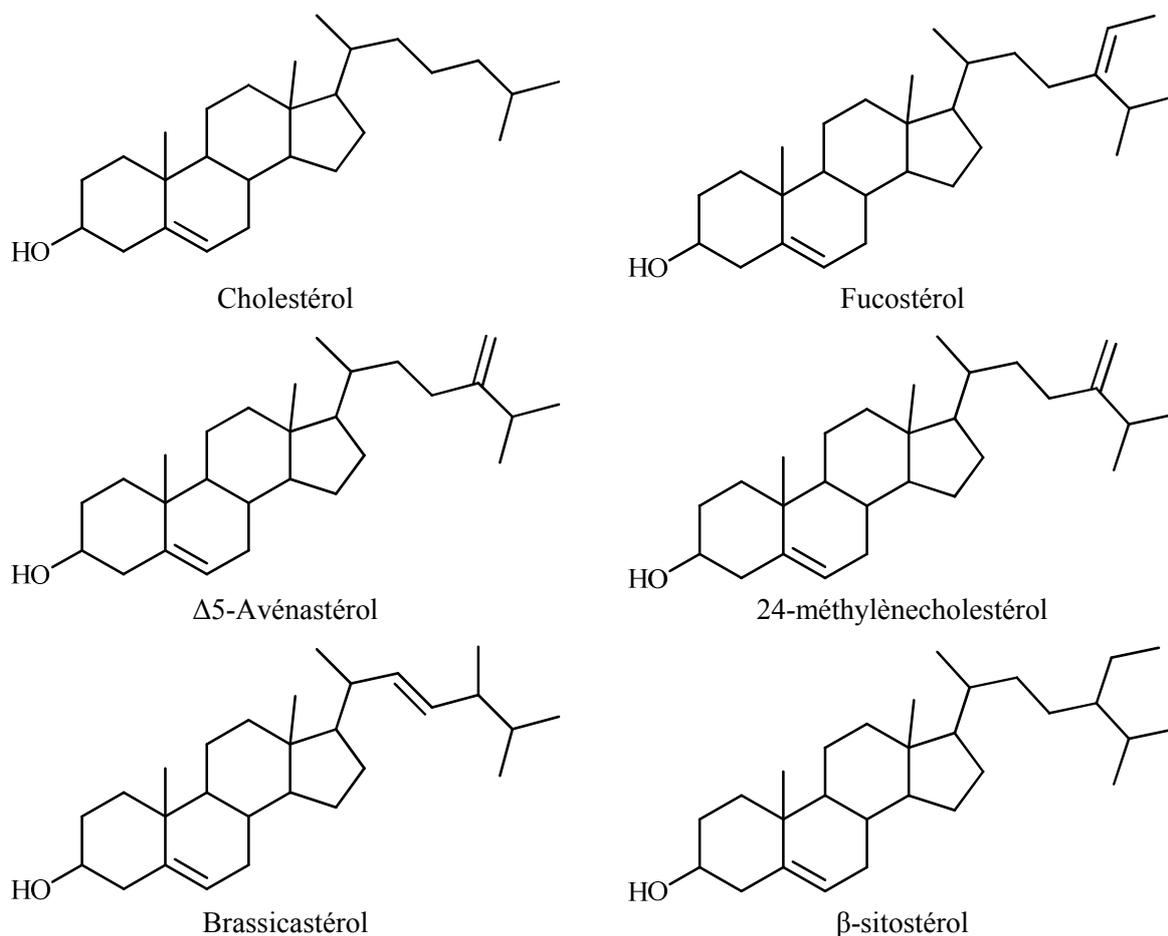


Figure I.9 : Les stérols majoritaires isolés d'algues brunes de la famille Cystoseiracée.

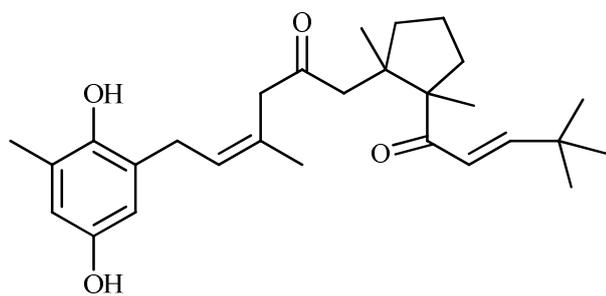
3.4. Etudes chimiques antérieures des algues brunes *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata* :

Au début des années soixante dix, Les travaux d'extraction et de purification ont commencé sur *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata* par K.W.Glombitza. Ce dernier a isolé en 1974 le bifuhalol et le diphlorethol de *Cystoseira tamariscifolia*, et en 1976 le tetrafuhalol undecaacetate et le pentafuhalol tridecaacetate de *Bifurcaria bifurcata* ^[33-35].

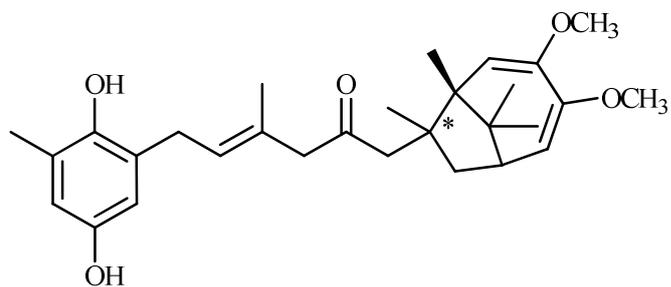
Les études chimiques antérieures sur *Cystoseira tamariscifolia* ont montré la présence de molécules majoritaires méroditerpéniques. C. Francisco, B. Banaigs et V. Amico ont isolé pendant les années quatre-vingt plusieurs molécules communes entre *Cystoseira tamariscifolia* et les autres genres de *Cystoseira*, certaines présentent un intérêt biologique, on cite : le bifurcarénone, les méditerranéols A, B, C, D, les cystoseiols A, B et C ^[36-37]. En 1993 R. Valls a découvert d'autres méroditerpènes, parmi ces molécules on trouve : le strictakétal, la baléarone, la néobaléarone et l'épinéobaléarone ^[38]. Ensuite, en 1999, un autre méroditerpène a été isolé par A. Bennamara, le méthoxybifurcarenone ^[14] qui présente des activités antifongiques et antibactériennes intéressantes.

Par contre, les diterpènes sont les composés majoritaires de *Bifurcaria bifurcata*. En 1980, J.F. Biard a isolé les premiers diterpènes linéaires tels que : epoxyelegantolone et elegantediol^[39]. Ensuite, des travaux intéressants d'extraction et purification des diterpènes linéaires ont été réalisés par plusieurs chercheurs : G. Combaut en 1983 ^[40], R. Valls en 1986 ^[41] et L. Semmak en 1988 ^[42]. Aussi, L. Hougaard a réussi en 1991 ^[43] d'isoler deux diterpènes linéaires et pour la première fois des diterpènes cycliques de *Bifurcaria bifurcata* dérivés de l'elegantolone.

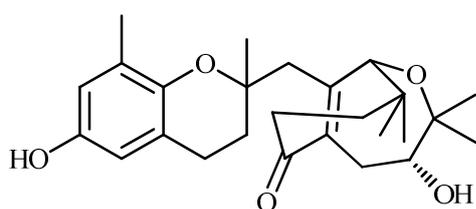
D'autres travaux ont été réalisés par G. Culioli en 1999 ^[16] sur *Bifurcaria bifurcata*, ce qui a permis d'isoler des diterpènes linéaires et cycliques dérivés du Géranylgeraniol. Les travaux de G. Culioli ont été complétés par son équipe : M. Daoudi en 2001 ^[17], A. Ortalo-Magne en 2002 ^[18], J.P. Maréchal en 2004 ^[19] et M. Elhattab en 2008 ^[44] ces travaux ont permis d'isoler plusieurs molécules diterpéniques.



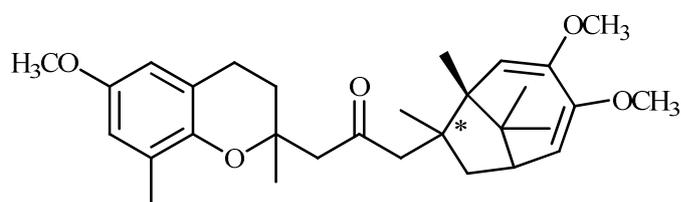
Bifurcarénone



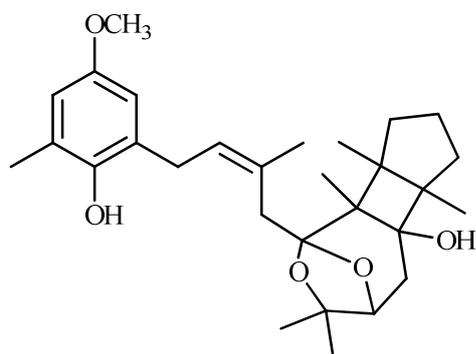
Méditerranéols A et B



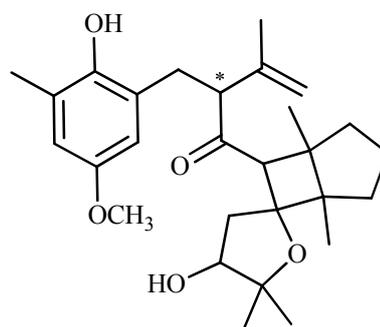
Cystoseirol A



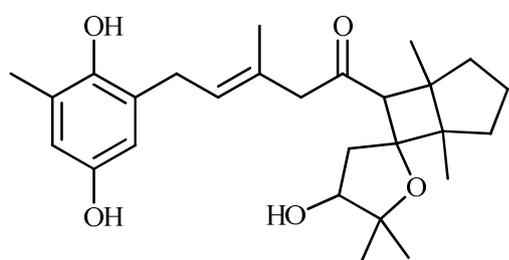
Méditerranéols C et D



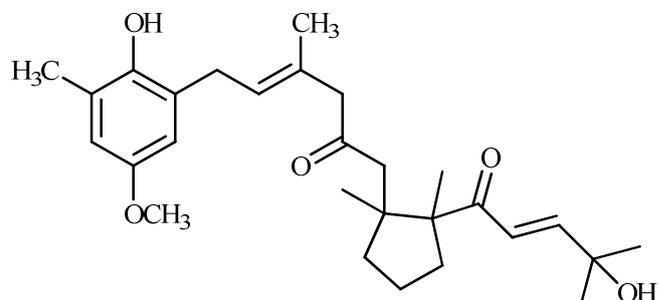
Strictakétal



Néobaléarone et épinéobaléarone

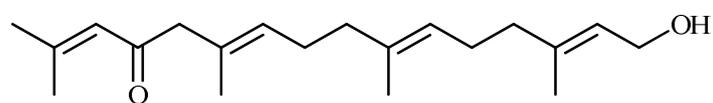


Baléarone

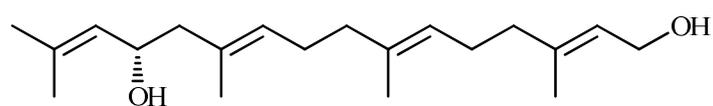


Méthoxybifurcarénone

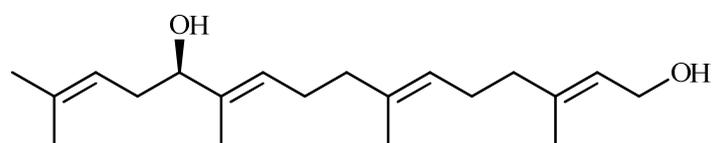
Figure I.10 : Molécules isolées de l'algue brune « *Cystoseira tamariscifolia* ».



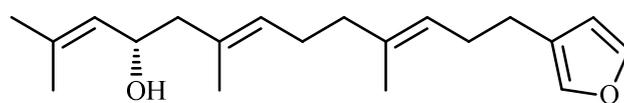
13-cétogeranylgeraniol



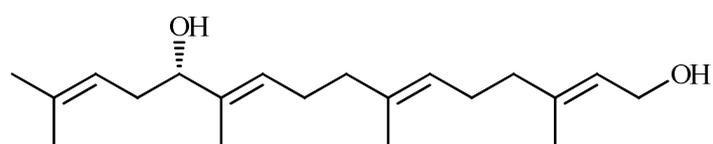
(S)-hydroxygeranylgeraniol



Bifurcadiol



(S)-13-hydroxyfuranoditerpene (Bifurcane)



(S)-12-hydroxygeranylgeraniol

Figure I.11 : Molécules isolées de l'algue brune « *Bifurcaria bifurcata* ».

Conclusion :

Dans cette première partie, on a essayé de donner d'une part, une idée générale sur les algues marines, notamment les algues brunes de la famille des cystoseiracées, particulièrement : *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata*. Nous avons également détaillé leurs biologies : biotope, taxonomie et écologie.

D'autre part, on a cité les principales études chimiques antérieures et les potentialités pharmacologiques des organismes marins. A propos de ces études, on a décrit plusieurs principes actifs actuellement sur le marché et d'autres produits en essais cliniques phases II et III.

En dernier lieu, nous avons cité l'étude chimique antérieure de la famille des cystoseiracées pour connaître les types des molécules extraites qui ont fait l'objet de notre étude.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

[1] J.L. Morère, R. Pujol.

‘‘Dictionnaire raisonné de biologie’’, Editions Frison-Roche, pp 1222. (2002)

[2] K. Hillier, M. Rakkar.

‘‘Alginic Acid’’, xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference, pp1-3. (2008)

[3] J.M. Kornprobst.

‘‘Substances naturelles d'origine marine: chimiodiversité, pharmacodiversité, biotechnologie’’, Lavoisier Librairie, pp 1800. (2005)

[4] A.A. El Gamal.

‘‘Biological importance of marine algae’’, Saudi Pharmaceutical Journal, Vol 18, pp 1–25. (2010)

[5] R. Falshaw, R.H. Furneaux, E.D. Stevenson.

‘‘Structural analysis of carrageenans from the red alga, *Callophyllis hombroniana* Mont. Kütz (Kallymeniaceae, Rhodophyta)’’, Carbohydrate Research, Vol 34, pp 1149-1158. (2005)

[6] B. De Reviere.

‘‘ Biologie et phylogénie des algues, tome 1’’, Edition Belin, pp 351. (2002)

[7] F. Gévaert.

‘‘ Importance des facteurs de l’environnement et du phénomène de photoinhibition sur la production des grandes algues marines ’’, Thèse de Doctorat, Université des sciences et technologies de Lille, France. (2001)

[8] H. Riadi.

‘‘Biodiversité des algues marines’’, Rapport étude nationale de biodiversité, Faculté des sciences Tetouan Maroc, Projet GEF/6105 – 92, pp 96. (1998)

[9] R. Valls, L. Piovetti.

‘‘The chemistry of the cystoseiraceae (Fucales: Pheophyceae): Chemotaxonomic relationships’’, Biochemical Systematics and Ecology, Vol 23, pp 723-745. (1995)

[10] V. Amico.

‘‘Marine brown algae of family Cystoseiraceae : Chemistry and chemotaxonomy’’, Phytochemistry, Vol 39, pp 1257-1279. (1995)

[11] B. Banaigs, C. Francisco and E. Gonzalez, W. Fenical.

‘‘Diterpenoid metabolites from the marine alga *Cystoseira elegans*’’, Tetrahedron, Vol 39, pp 629-638. (1983)

[12] C. Francisco, B. Banaigs, L. Codomier, A. Cave.

‘‘Cystoseirol A.A novel rearranged diterpene of mixed biosynthesis from the brown alga *Cystoseira mediterranea*’’, Tetrahedron Letters, Vol 26, pp 4919-4922. (1985)

[13] **M. Fadli, J.M. Aracil, G. Jeanty, B. Banaigs, C. Francisco, S. Moreau.**

‘‘Méditerranéol E : Proposition de Structure pour un méroditerpène Transposé de l'algue brune *Cystoseira mediterranea*’’, Tetrahedron Letters, Vol 32, pp 2477-2480. (1991)

[14] **A. Bennamara, A. Abourriche, M. Berrada, M. Charrouf, N. Chaib, M. Boudouma, F.X. Garneau.**

‘‘Methoxybifurcarenone: an antifungal and antibacterial meroditerpenoid from the brown alga *Cystoseira tamariscifolia*’’, Phytochemistry, Vol 52, pp 37-40. (1999)

[15] **A. Abourriche, M. Charrouf, M. Berrada, A. Bennamara, N. Chaib, C. Francisco.**

‘‘Antimicrobial activities and cytotoxicity of the brown alga *Cystoseira tamariscifolia*’’, Fitoterapia, Vol 70, pp 611-614. (1999)

[16] **G. Culioli, M. Daoudi, V. Mesguiche, R. Valls, L. Piovetti.**

‘‘Geranylgeraniol-derived diterpenoids from the brown alga *Bifurcaria bifurcata*’’, Phytochemistry, Vol 52, pp 1447-1454. (1999)

[17] **M. Daoudi, S. Bakkas, G. Culioli, A. Ortalo-Magné, L. Piovetti, M.D. Guiry.**

‘‘Acyclic diterpenes and sterols from the genera *Bifurcaria* and *Bifurcariopsis* (Cystoseiraceae, Phaeophyceae)’’, Biochemical Systematics and Ecology, Vol 29, pp 973-978. (2000)

[18] **J.P. Maréchal, G. Culioli, C. Hellio, H. Guyon, M.E. Callow, A.S. Clare, A. Ortalo-Magne.**

‘‘Seasonal variation in antifouling activity of crude extracts of the brown alga *Bifurcaria bifurcata* (Cystoseiraceae) against cyprids of *Balanus amphitrite* and the marine bacteria *Cobetia marina* and *Pseudoalteromonas haloplanktis*’’, Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, Vol 313, pp 47-62. (2004)

[19] **A. Ortalo-Magné, G. Culioli, R. Valls, B. Pucci, L. Piovetti.**

‘‘Polar acyclic diterpenoids from *Bifurcaria bifurcata* (Fucales, Phaeophyta)’’, Phytochemistry, Vol 66, pp 2316-2322. (2005)

[20] **R. Valls.**

‘‘Séparation, identification, étude spectroscopique de métabolites secondaires d'algues brunes (Cystoseiracées). Dosage-Variations-Chimiotaxonomie’’, Thèse d'Etat, Tome 1, Université d'Aix-Marseille 3, Aix-en-Provence, France. (1993)

[21] **A. Abourriche.**

‘‘Etude chimique et potentialités pharmacologiques de l'ascidie simple *Cynthia savigni* et de l'algue brune *Cystoseira tamariscifolia* de la cote atlantique Marocaine. Synthèse et valorisation biologique de nouveaux alcaloïdes à base de la 8-hydroxyquinoléine’’, Thèse d'Etat, Université Hassan II, Casablanca, Maroc. (1999)

[22] **G. Culioli.**

‘‘Isolement et détermination structurale de nouveaux diterpènes linéaires de l'algue brune *Bifurcaria bifurcata* (Vellay) Ross, Chimiotaxonomie du genre *Bifurcaria Stackhouse*’’, Thèse Doctorat, Université de Toulon, La Garde, France. (1999)

[23] L. Ktari.

“Recherche de composés actifs dans les algues marines : propriétés pharmacologiques simulation de cycle biologique de l'algue et de la biosynthèse d'un métabolite”, Thèse Doctorat, Université de Paris VI, Paris, France. (2000)

[24] J. F. Biard.

“Les médicaments de la mer: l'actualité”, Pathologie Biologie, Vol 52, pp 1-3. (2004)

[25] J. Guezennec, C. Debitus.

“Les ressources marines de la Polynésie française : applications en matière de biotechnologie”, Substances naturelles en Polynésie française, IRD éditions, pp 39. (2005)

[26] N. Desroy.

“Synthèse de β -lactames polycycliques et du fragment C₁₅-C₃₀ des dolabélides, macrolides cytotoxiques d'origine marine, par catalyse organométallique”, Thèse de Doctorat de l'université pierre et marie curie, France. (2004)

[27] A. Lanslaux, C. Bailly.

“Les dolastatines = Dolastatins”, Bulletin du cancer, Vol 86, pp 897-901. (1999)

[28] S.L. Crampton, E.G. Adams, S.L. Kuentzel, L. H. Li, G. Badiner, B.K. Bhuyan.

“Biochemical and cellular effects of didemnins A and B = Effets biochimiques et cellulaires des didemnines A et B”, Cancer research, vol 44, pp 1796-1801. (1984)

[29] M. Garcia-Rocha, P. Bonay, J. Avila.

“The antitumoral compound Kahalalide F acts on cell lysosomes”, Cancer letters, Vol 99, pp 43-50. (1996)

[30] T. Hennebelle.

“Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de lamiales productrices d'antioxydants : *Marrubium peregrinum*, *Ballota larendana*, *Ballota pseudodictamnus* (Lamiacées) et *Lippia alba* (Verbénacées)”, Thèse de Doctorat, Université des sciences et technologies de Lille, France. (2006)

[31] M. Rakba.

“Défense chimique des algues brunes de la famille des Cystoseiraceae. Nouvelle classe des métabolites secondaires (meroditèrenes) à biogène mixte isolés de *Cystoseira stricta*”, Thèse de Doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse, France. (1987)

[32] C. Francisco, G. Combaut, J. Teste, B.F. Maume.

“ Étude des stérols d'algues brunes du genre *Cystoseira*: Identification par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse”, Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism, Vol 487, Pages 115-12. (1977)

[33] K.W. Glombitza, H.U. Rösener.

“Bifuhalol: Ein diphenyläther aus *Bifurcaria bifurcata*”, Phytochemistry, Vol 13, pp 1245-1247. (1974)

[34] K.W. Glombitza, H.U. Rösener, D. Müller.

‘‘Bifupalol und diphlorethol aus *Cystoseira tamariscifolia*’’, *Phytochemistry*, Vol 14, pp 1115-1116. (1975)

[35] K.W. Glombitza, H.U. Rösener, M. Koch.

‘‘Polyhydroxyoligophenyle und phenyläther aus *Bifurcaria bifurcata*’’, *Phytochemistry*, Vol 15, pp 1279-1281. (1976)

[36] V. Amico, M. Piattelli, P. Neri, G. Ruberto, L. Mayol.

‘‘Novel metabolites from the marine genus *Cystoseira* - application of two-dimensional 1H-13C correlation to the structure elucidation’’, *Tetrahedron*, Vol 42, pp 6015-6020. (1986)

[37] C. Francisco, B. Banaigs, M. Rakba, J. Teste, A. Cave.

‘‘Cystoseirols : novel rearranged diterpenoids of mixed biogenesis from *Cystoseiraceae* (brown marine algae)’’, *Journal of organic chemistry*, Vol 51, pp. 2707-2711. (1986)

[38] R. Valls, L. Piovetti, B. Banaigs, A. Praud.

‘‘Secondary metabolites from Morocco brown algae of the genus *Cystoseira*’’, *Phytochemistry*, Vol 32, pp 961-966. (1993)

[39] J.F. Biard, J.F. Verbist, R. Floch, Y. Letourneux.

‘‘Epoxyelegantolone et elegantediol, deux nouveaux diterpenes de *Bifurcaria bifurcata* ross (*cystoseiraceae*)’’, *Tetrahedron Letters*, Vol 21, pp 1849-1852. (1980)

[40] G. Combaut, L. Piovetti.

‘‘A novel acyclic diterpene from the brown alga *Bifurcaria bifurcata*’’, *Phytochemistry*, Vol 22, pp 1787-1789. (1983)

[41] R. Valls, B. Banaigs, C. Francisco, L. Codomier, A. Cave.

‘‘An acyclic diterpene from the brown alga *Bifurcaria bifurcata*’’, *Phytochemistry*, Vol 25, pp 751-752. (1986)

[42] L. Semmak, A. Zerzouf, R. Valls, B. Banaigs, G. Jeanty, C. Francisco.

‘‘Acyclic diterpenes from *Bifurcaria bifurcata*’’, *Phytochemistry*, Vol 27, pp 2347-2349. (1988)

[43] L. Hougard, U. Anthoni, C. Christophersen, P.H. Nielsen.

‘‘Elegantolone derived diterpenes from *Bifurcaria bifurcata*’’, *Phytochemistry*, Vol 30, pp 3049-3051. (1991)

[44] M. El Hattab, M. Ben Mesaaoud, M. Daoudi, A. Ortalo-Magné, G. Culioli, R. Valls, L. Piovetti.

‘‘Trihydroxylated linear diterpenes from the brown alga *Bifurcaria bifurcata* (Fucales, Phaeophyta)’’, *Biochemical Systematics and Ecology*, Vol 36, pp 484-489. (2008)

2^{ÈME} PARTIE :

Potentialités pharmacologiques des deux algues marines :
Cystoseira tamariscifolia et *Bifurcaria bifurcata*

Introduction :

De tous temps, les hommes ont utilisé les produits naturels pour leurs propriétés biologiques, à des fins thérapeutiques, cosmétiques, ... Pendant très longtemps, pratiques religieuses et médications ont été intimement liées, les différents traitements à bases de plantes terrestres, marines ou d'extraits organiques étaient ainsi associés à des divinités prépondérantes ^[1].

Les extraits et les molécules biologiquement actives d'origine naturelles occupent aujourd'hui une place prépondérante dans notre société puisqu'elles sont à la base de nombreux principes actifs utilisés en pharmacie ^[2].

Selon des estimations, le nombre total d'espèces marines représente environ la moitié de la biodiversité totale de la planète. Seulement 1% des espèces marines identifiées ont été étudiées à ce jour. L'étude des produits d'origine marine a débuté à la fin des années 1960 et a conduit à l'isolement d'environ 10000 substances. Beaucoup des extraits isolés présentent une potentialité pharmacologique, bien supérieure à celle de produits naturels provenant de plantes ou d'organismes terrestres ^[2].

En dépit du grand nombre de molécules marines découvertes, très peu d'entre elles sont sur le marché ou devraient être commercialisées prochainement. Elles représentent néanmoins une source d'inspiration pour la découverte de nouveaux médicaments ^[2].

L'objectif de cette partie est d'essayer d'exploiter les algues marines *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata* comme sources de molécules pharmaceutiques en étudiant les potentialités pharmacologiques de leurs extraits, selon une gamme d'activités biologiques telles que :

- Les activités antibactériennes.
- L'activité antitumorale.
- L'activité antileishmanien.
- L'activité de cytotoxicité.

Aussi, au cours de cette partie, des travaux de fractionnement et purification biodirigés ont été réalisés en étudiant des activités antibactériennes.

1. Critères de sélection :

Face aux nombreuses espèces marines, le criblage reste le problème principal. La recherche d'éventuelles substances naturelles à propriétés pharmacologiques constitue une tâche énorme et nécessite des moyens financiers et humains considérables.

La sélection des algues *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata* de la côte atlantique est basée sur des critères écologiques. Essentiellement, les algues poussent dans un milieu écologique où il y a absence totale d'oursin (le principal prédateur), ceci suggère que les algues sont aussi capables de se défendre, moyennant des armes chimiques, vis-à-vis des prédateurs ^[3].

2. La récolte :

Les algues brunes *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata* ont été récoltées à La plage Florida - Dar Bouâza (Figure II.1) région au sud de Casablanca dans la période de basse marée (Février 2008). Les identifications des espèces a été faite par Madame N.Chaib, Professeur Biologiste de la Faculté des sciences Ben M'Sik, Casablanca.

3. Extraction :

3.1. Extraction au Soxhlet :

L'extraction au Soxhlet est une technique couramment pratiquée, elle permet de réaliser des extractions continues solide – liquide à l'aide de cycles de vaporisation – condensation du solvant (Figure II.2.). Cette méthode présente l'avantage d'être simple d'utilisation ^[4].

Au laboratoire, et après la récolte, les algues marines sont lavées et elles sont séchées pendant une journée à température ambiante et à l'abri de la lumière, puis elles sont séchées à l'étuve à 60°C pendant 72h.

Quatre extraits organiques sont obtenus à partir des extractions successivement au soxhlet avec des solvants de polarité croissante : l'hexane, l'éther, le chloroforme et le méthanol.

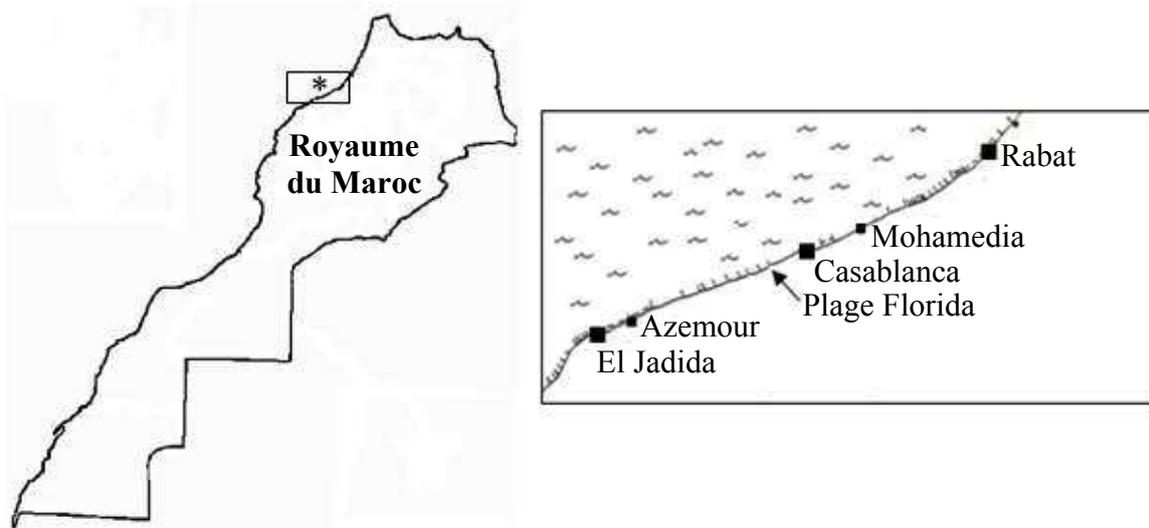


Figure II.1 : Station de récolte au sud de Casablanca de *Cystoseira tamariscifolia* et de *Bifurcaria bifurcata*.

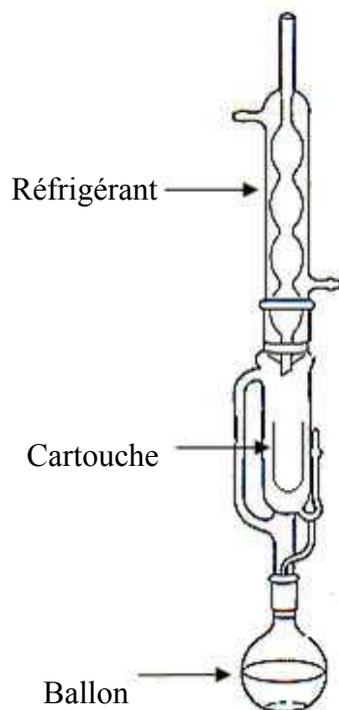


Figure II.2 : Système d'extraction au Soxhlet.

3.2. Rendement d'extraction :

Une fois les extraits ont été obtenus, on a déterminé leurs couleurs et leurs rendements par rapport à la quantité initiale d'algue marine sèche :

$$\text{Rdt} = \frac{m_{\text{extrait}}}{m_{\text{algue}}} \times 100$$

m_{extrait} : La masse de l'extrait.

m_{algue} : La masse de l'algue sèche. ($m_{\text{algue}} = 500\text{g}$)

Les données concernant les extraits obtenus à partir des deux algues marines sont portées sur le tableau suivant :

Espèce	Extrait	Couleur	Masse (g)	Rdt (%)
<i>Cystoseira tamariscifolia</i>	Hexanique	Verte foncée	1,81	0,36
	Ethéré	Verte – jaune	1,12	0,22
	Chloroformique	Verte – jaune	1,25	0,25
	Méthanolique	Marron	28,38	5,67
	Marc (*)	Brune	465	93
<i>Bifurcaria bifurcata</i>	Hexanique	Verte foncée	20,23	4,04
	Ethéré	Verte – jaune	4,6	0,92
	Chloroformique	Verte	7,16	1,43
	Méthanolique	Marron	43,28	8,66
	Marc (*)	Brune	422	84,4

(*) (Après évaporation)

Tableau II.1 : Les différents extraits de *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata*.

4. Activités d'orientation et Screening pharmacologique :

Les différents extraits obtenus à partir des deux algues : *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata* ont subi la gamme d'activités biologiques suivantes :

- Activités antibactériennes à l'égard de *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus*.
- Activité antitumorale basée sur l'interaction avec l'ADN du thymus de veau.
- Activité antileishmanien vis-à-vis des *Leishmania infantum*.
- Activité de cytotoxicité vis-à-vis des larves d'une crevette d'eau salée : *Artemia salina*.

Ces activités constituent pour nous la base des tests d'orientation et de screening pharmacologique.

4.1. Activités Antibactériennes :

4.1.1. Les bactéries :

Les bactéries sont des êtres unicellulaires qui possèdent les éléments essentiels à la vie cellulaire. Leur taille varie de 1 à 10 microns (μm). Elles ne sont donc visibles qu'au microscope optique ($\times 10^3$) ou au microscope électronique ($\times 10^6$) [5]. La structure générale des bactéries est constituée de :

- **La Paroi :**

Elle est présente chez toutes les espèces bactériennes à l'exception des mycoplasmes. Elle entoure la bactérie et constitue la structure constante la plus externe. On rencontre deux types de paroi : Les parois épaisses et denses et Les parois fines et lâches.

- **La membrane cytoplasmique :**

Les molécules qui la constituent sont mobiles et "flottent" dans son épaisseur lui donnant une grande plasticité. Parmi les diverses protéines, certaines sont constitutives, d'autres ont un rôle de transport permettant le passage de diverses molécules ou ions (Na^+ , K^+ , Cl^- , sucres, aminoacides ou oligopeptides). La membrane cytoplasmique contrôle donc les entrées et sorties de la cellule.

La membrane cytoplasmique des bactéries contient en outre de nombreux enzymes assurant les synthèses et fournissant l'énergie nécessaire au métabolisme. La membrane assure les fonctions des mitochondries, qui n'existent pas chez les bactéries.

- **Le cytoplasme :**

Il contient essentiellement les ribosomes qui assurent les synthèses protéiques. Ils sont en étroit contact avec le matériel nucléaire. Les ribosomes des bactéries sont différents des ribosomes des eucaryotes.

- **Le matériel nucléaire :**

Les cellules procaryotes ne possèdent pas de noyau mais possèdent du matériel nucléaire sous forme d'un chromosome unique, circulaire, d'une longueur voisine de 1 mm. Ce chromosome est constitué d'un filament hélicoïdal d'acide désoxyribonucléique (ADN) bicaténaire.

Il existe de nombreuses sortes de bactéries. On les différencie par leur forme, la composition de leur paroi, la façon dont les bactéries de même espèce se regroupent entre elles, par le fait qu'elles consomment ou non de l'oxygène et par la présence de certaines enzymes dans leur cytoplasme.

4.1.2. Les antibiotiques :

Les antibiotiques sont des substances capables d'inhiber ou de détruire les bactéries. Les antibiotiques ne sont pas actifs sur les autres types de microbes (virus, parasites, champignons). Ces antibiotiques agissent à des niveaux particuliers pour détruire ou empêcher la multiplication des germes. Selon la molécule antibiotique où le germe combattu, c'est au niveau de la paroi bactérienne, de la membrane cytoplasmique, du chromosome, ou des ribosomes que se déroulent les mécanismes aboutissant au contrôle de l'infection ^[6].

La mise en évidence de l'effet d'un antibiotique vis-à-vis d'une souche bactérienne est macroscopique. En effet, la sensibilité d'une bactérie est mesurée par plusieurs méthodes, parmi ces méthodes on trouve la méthode de diffusion sur un milieu gélosé.

4.1.3. Les souches bactériennes utilisées :

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude sont *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus*.

- ***Escherichia coli* :**

Les bactéries appartenant à l'espèce *Escherichia coli* constituent la majeure partie de la flore microbienne aérobie du tube digestif de l'Homme. Certaines souches d'*Escherichia coli* sont virulentes, capables de déclencher spécifiquement chez l'Homme des infections spontanées des voies digestives ou urinaires ou bien encore des méningites néonatales. Il s'agit d'un bacille Gram négatif, le plus souvent mobile (péritriche) et gazogène lorsqu'il fermente un sucre *Escherichia coli* croît après 24 heures d'incubation à 37°C donnant des colonies de 2 à 3 mm de diamètre, rondes, blanchâtres et translucides. Ils fermentent le lactose, le mannitol et le sorbitol, oxydase négative, aéroanaérobie, poussent rapidement sur milieux ordinaires ^[7].

- ***Enterobacter cloacae* :**

Il s'agit d'un bacille à coloration de Gram négatif, chimio-hétérotrophe, commensale du tube digestif de l'Homme et des animaux, pouvant être rencontré dans le sol et les eaux d'égouts. Certaines souches peuvent être responsables d'infections nosocomiales.

Il peut également être responsable de bactériémies, et c'est un pathogène dont l'incidence en milieu hospitalier a considérablement augmenté ces dernières années ^[8].

- ***Klebsiella pneumoniae* :**

Petit bâtonnet à gram négatif, immobile, aérobie facultatif, encapsulé, colonies d'aspect mucoïde. Répandu dans le monde entier, son réservoir est le sol, eau, peau, nasopharynx et intestins de sujets humains, tractus intestinal d'animaux. Elle est la cause fréquente des infections urinaires et pulmonaires d'origine nosocomiale, infections des plaies, infection pulmonaire secondaire chez les malades atteints de maladies pulmonaires chroniques ^[9].

- ***Staphylococcus aureus* :**

Les staphylocoques sont des germes ubiquitaires : on les trouve en effet dans l'air, les sols et les eaux. Ils appartiennent à la flore commensale de la peau et des muqueuses de l'Homme et des animaux. *Staphylococcus aureus* est un germe pyogène responsable de la plupart des infections suppurées de la peau et des muqueuses. Les infections générales, septicémiques. *Staphylococcus aureus* est fréquemment impliqué dans les infections nosocomiales.

Staphylococcus aureus est une bactérie Gram positive, immobile, non sporulé et ne présente pas de capsule visible au microscope optique. Il est cultivable facilement sur des milieux ordinaires aussi bien en aérobie qu'en anaérobie, Il est capable de transformer de nombreux substrats, notamment les sucres ^[10].

4.1.4. Principe de la méthode d'évaluation antibactérienne :

La méthode utilisée, méthode des puits ou de diffusion sur milieu gélosé décrite par C. Perez et al. (1990) ^[11]. Cette méthode permet d'observer rapidement les effets d'une substance vis-à-vis du développement bactérien c'est-à-dire l'effet bactériostatique. Il s'agit d'une technique fiable, facile à mettre en œuvre, et sa lecture est rapide.

L'activité bactériostatique des extraits testés est rendue visible par la présence d'une auréole d'inhibition plus ou moins étendue du développement bactérien. Les diamètres des zones d'inhibition sont alors mesurés pour chaque substance testée.

4.1.5. Protocole expérimental :

L'évaluation in vitro de l'activité antibactérienne a été réalisée par la technique de diffusion en puits en utilisant le milieu solide. Donc un milieu de culture solide est nécessaire au développement des bactéries. Il s'agit de milieu Agar Müller Hinton (MH), gélosé, stérilisé et coulé dans des plateaux des diamètres (15cm×15cm).

On ensemence 200 µL d'une suspension bactérienne en phase de croissance exponentielle sur la surface de la gélose (10⁹ bactéries/mL, correspondant à une absorption à 600 nm de densité optique D.O = 0,925). La suspension est étalée le plus homogènement possible à l'aide d'un étaloir stérilisé, et on réalise des puits de 6 mm sur la gélose par l'utilisation des pipettes pasteur stérilisées.

Une solution à 1 mg/mL dans DMSO 2 % a été préparée pour chaque extrait, chaque 50 µL de ces solutions sont introduites dans les puits ce qui signifie à chaque puit on a 50 µg de substance à tester.

L'activité antibactérienne est déterminée en termes de diamètres de la zone d'inhibition produit autour des puits après 24h d'incubation à la température 37 °C pour le développement du germe en question.

4.1.6. Résultats :

Les résultats du test de l'effet antibactérien des extraits hexanique, étheré, chloroformique et méthanolique des algues *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata* sont résumés dans le tableau II.2.

Parallèlement nous avons testé un antibiotique connu, la Tétracycline qui a été déposé à la même concentration des extraits des algues.

Les résultats de cette activité antibactérienne ont montré que tous les extraits des algues *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata* ont produit des zones d'inhibition intéressantes vis-à-vis de deux souches *Enterobacter cloacae* et *Klebsiella pneumoni*.

On note aussi que tous les extraits sont actifs envers *Escherichia coli* sauf les extraits hexaniques des deux algues qui n'ont pas montré d'activité remarquable.

On note aussi que les extraits de *Cystoseira tamariscifolia* et les extraits hexanique et méthanolique de *Bifurcaria bifurcata* n'ont aucune activité envers *Staphylococcus aureus*. Par contre les extraits étheré et chloroformique de *Bifurcaria bifurcata* présentent une activité importante.

On peut donc conclure que les deux espèces d'algues marines possèdent une activité antibactérienne intéressante surtout contre *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* et *Klebsiella pneumoni*.

Algues	Extraits	Souches bactériennes			
		<i>E. coli</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>K. pneumoni</i>	<i>S. aureus</i>
<i>Cystoseira tamariscifolia</i>	Hexanique	-	+	++	-
	Ethéré	+	++	+	-
	Chloroformique	+	++	++	-
	Méthanolique	+	+	+	-
<i>Bifurcaria bifurcata</i>	Hexanique	-	++	++	-
	Ethéré	+	++	++	++
	Chloroformique	+	++	++	++
	Méthanolique	++	++	+	-
Tétracycline		+++	+++	+++	+++

Légende : - : pas d'inhibition, + : diamètre d'inhibition inférieur à 10mm, ++ diamètre d'inhibition compris entre 10 et 15mm, +++ diamètre d'inhibition supérieur à 15mm.

Tableau II.2 : Evaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits d'algues.

4.2. Activités Antileishmaniens :

Le parasite *Leishmania* fut observé par S.W.Leishman en 1900 dans des frottis de la rate d'un soldat mort à Dum-Dum en Inde. En 1903, Charles Donovan, en poste dans un service médical indien, identifia le même parasite dans une biopsie de rate. Le parasite fut nommé *Leishmania donovani* en leur hommage. ^[12] Ce même parasite fut étudié en 1903 par Wright chez un enfant arménien vivant à Boston, aux Etats-Unis, et les nombreuses similitudes au point de vue morphologique entre ces deux parasites (Leishman-Donovan et celui de Wright) ne sont pas contestables ^[13].

La relation entre le vecteur (phlébotome) et les symptômes est due à l'équipe de l'Institut Pasteur d'Algérie dirigé à l'époque par les frères Edmond et Etienne Sergent et leurs collaborateurs. Les preuves expérimentales de la transmission de la leishmaniose cutanée ont été apportées en 1921, lorsque les frères Sergent contaminèrent un sujet sain en le faisant piquer par des phlébotomes récoltés dans le sud du pays. Presque parallèlement, des observations faites en Palestine et en Syrie par Adler et Theodor confirmèrent celles de l'équipe de l'Institut Pasteur d'Algérie ^[13].

4.2.1. Identification et taxonomie des parasites du genre *Leishmania* :

Les agents responsables de cette maladie parasitaire qui appartiennent à la famille des *Trypanosomatidae* et à l'ordre des *Kinetoplastida*. Depuis la description du genre *Leishmania* par Ross, en 1903, différentes classifications ont été proposées, dont celle ci-dessous proposée par Levine et collaborateurs en 1980 ^[12-13] (Tableau II.3).

Règne	<i>Protista</i>
Sous - règne	<i>Protozoa</i>
Embranchement	<i>Sarcomastigophora</i>
Classe	<i>Zoomastigophorea</i>
Ordre	<i>Kinetoplastida</i>
Sous – ordre	<i>Trypanosomatina</i>
Famille	<i>Trypanosomatidae</i>
Genre	<i>Leishmania</i>

Tableau II.3 : Position systématique du genre *Leishmania*.

Le développement du parasite dans le tube digestif du vecteur, au niveau du pylore est le critère qui a permis de diviser le genre *Leishmania* en deux sous-genres. D'une part, la section *Suprasyllaria*, caractérisée par la multiplication dans l'intestin moyen et antérieur, devient le sous-genre *Leishmania* ^[14]. D'autre part, la section *Perispyllaria*, caractérisée par la multiplication dans la partie postérieure suivie d'une migration antérieure, devient le sous – genre *Vannia*.

Le genre *Leishmania* est composé de plusieurs espèces qui, bien qu'elles soient toutes de morphologie similaire, causent une panoplie de manifestations cliniques allant d'affections cutanées qui se résorbent d'elles-mêmes à des infections viscérales fatales en passant par des exacerbations inflammatoires causant de graves défigurations. On regroupe habituellement les espèces de *Leishmania* en « complexes » selon les similarités biochimiques (Tableau II.4).

Sous – genre	Complexes	Espèces
<i>Leishmania</i>	Complexe : <i>L. donovani</i>	<i>L.donovani, L.archibaldi</i>
	Complexe : <i>L. infantum</i>	<i>L.infantum, L.chagasi</i>
	Complexe : <i>L. tropica</i>	<i>L.tropica, L.killicki</i>
	Complexe : <i>L. major</i>	<i>L.major</i>
	Complexe : <i>L. gerbilli</i>	<i>L.gerbilli</i>
	Complexe : <i>L. arabica</i>	<i>L.arabica</i>
	Complexe : <i>L. aethiopica</i>	<i>L.aethiopica</i>
	Complexe : <i>L. mexicana</i>	<i>L.mexicana, L.amazonensis, L.venezuelensis</i>
	Complexe : <i>L. enrietti</i>	<i>L.enrietti</i>
	Complexe : <i>L. hertigi</i>	<i>L.hertigi, L.deanei</i>
<i>Viannia</i>	Complexe : <i>L. braziliensis</i>	<i>L.braziliensis, L.peruviana</i>
	Complexe : <i>L. guyanensis</i>	<i>L.guyanensis ; L.panamensis</i>

Tableau II.4 : Espèces et sous-espèces du genre *Leishmania*.

4.2.2. Distribution des différentes espèces de *Leishmania* :

Les différents types de leishmanioses sont retrouvés dans les régions tropicales et subtropicales du globe. On distingue deux grandes situations géographiques, l'ancien monde (sud de l'Europe, Afrique, Proche-Orient, Moyen-Orient et Asie) et le Nouveau monde (Amériques du Sud et Centrale) tableau II.5 ^[15].

4.2.3. Cycle de vie et morphologie de *Leishmania* :

Les leishmanies sont des parasites hétéroxènes et dimorphiques c'est-à-dire possédant deux formes morphologiques différentes au cours de leur cycle de vie : tout d'abord la forme promastigote lorsqu'il se développe chez l'insecte vecteur puis sous forme amastigote qui se développe à l'intérieur des macrophages chez l'hôte mammifère ^[16] (Figure II.3).

Types	Espèce	Distribution géographique
<i>Leishmaniose cutanée</i>	<i>L. aethiopica</i>	Éthiopie et Kenya
	<i>L. major</i>	Afrique et Asie
	<i>L. mexicana</i>	Amérique Centrale et du Sud
	<i>L. tropica</i>	Europe, Asie, et Afrique du Sud
<i>Leishmaniose mucocutanée</i>	<i>L. braziliensis</i>	Amérique Centrale et du Sud
	<i>L. peruviana</i>	Amérique du Sud
<i>Leishmaniose viscérale</i>	<i>L. chagasi</i>	Amérique du Sud
	<i>L. donovani</i>	Afrique et Asie
	<i>L. infantum</i>	Bassin Méditerranéen

Tableau II.5 : Distribution géographique des différentes espèces de *Leishmania*.

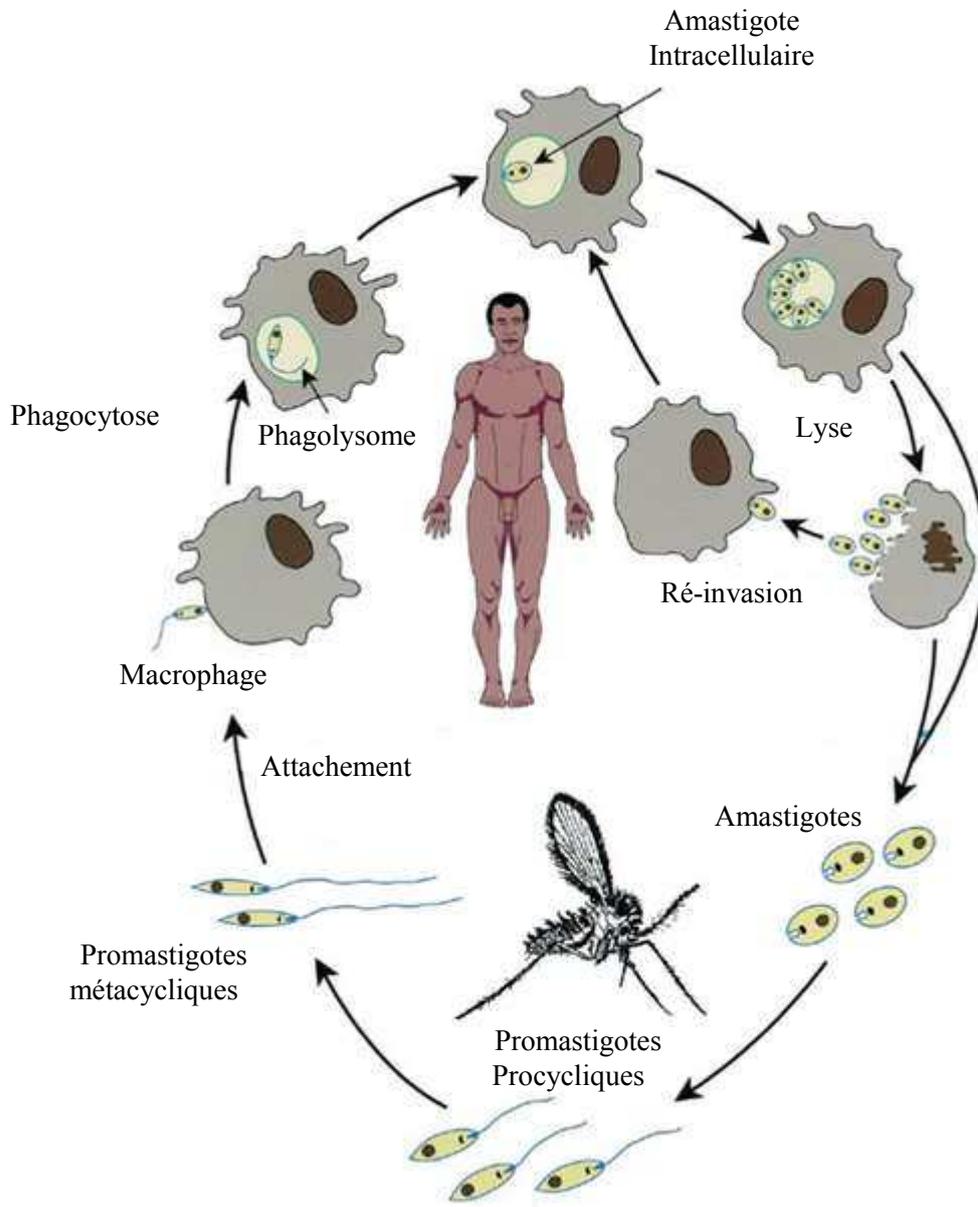


Figure II.3 : Cycle de vie du parasite.

4.2.4. Les leishmanioses au Maroc :

Au Maroc, comme dans la plupart des pays circumméditerranéens, les leishmanioses constituent un important problème de santé publique. Qu'elles soient zoonotiques ou anthroponotiques, cutanées ou viscérales, ces affections y sont largement représentées, depuis les montagnes du Rif jusqu'aux palmeraies perarides des piémonts de l'Anti-Atlas.

Les études écobiologiques ont révélé la présence simultanée de deux formes nosologiques et cliniques de leishmanioses dans le royaume, à savoir :

- La leishmaniose viscérale répartie principalement au Nord du Maroc.
- La leishmaniose cutanée observée dans le centre du pays, le Sud et le Sud-Est de la chaîne de l'Atlas.

4.2.4.1. Leishmaniose viscérale :

C'est une maladie à déclaration obligatoire depuis 1995 (arrêté ministériel du Ministère de la Santé Publique n° 683-95 du 3 Mars 1995). Le foyer de la LV s'étend tout au long des montagnes du Rif et dans le plateau pré-Rifain (Nador, Tétouan, AI Houceima, Taounate, Taza, Sidi Kacem, Fès et Meknès) sans pour autant exclure d'autres régions du pays où elle continue à évoluer de façon sporadique et localement très éparpillée. Classiquement pédiatrique, elle touche généralement l'enfant de moins de 5 ans. L'incidence de la maladie est d'environ 60 cas/an. Cette affection est due à *L. infantum* MON-1 dont le réservoir est le chien alors que la transmission est assurée par *P. arlasi*, comme il a été démontré dans la province de Taounate ^[17-18].

4.2.4.2. Leishmaniose cutanée :

- Leishmaniose cutanée zoonotique à *Leishmania major* :

La LC due à *L. major* provoque des lésions indolores souvent très inflammées et ulcérées, fréquemment multiples, pouvant donner une confluence et une surinfection. Elles guérissent au bout de 3 ou 4 mois et laissent d'importantes cicatrices inesthétiques et/ou invalidantes. Elle est localisée dans un macro-foyer aride et périaride s'étendant de la côte atlantique au sud de l'Anti-Atlas jusqu'à la région d'Oujda passant par les zones sahariennes au sud du Haut Atlas et de l'Anti-Atlas et à l'Est du Moyen Atlas (Ministère de la Santé Publique, 1997). C'est

une affection qui sévit sous forme d'épidémie. Ainsi, 1473 et 1173 cas ont été déclarés en 1996 et 1997 respectivement dont plus de 90% dans les provinces d'Errachidia, Ouarzazate (Zagora) et de Figuig (Ministère de la Santé Publique, 1996-1997). Au niveau des zones touchées, l'infestation se fait à partir d'un seul réservoir, *Meriones shawi*, dont le vecteur est *P. papatasi* (Ministère de la Santé Publique, 1992). Le zymodème responsable de la leishmaniose cutanée 'a *L. major* est le zymodème MON-25 commun aux pays d'Afrique du Nord ^[17,19].

- Leishmaniose cutanée anthroponotique à *Leishmania tropica* :

Cette forme dite "sèche" sévit dans les zones semi-arides du pays allant des plateaux du Tadla à la région d'Agadir en passant par Beni-Mellal, Azilal, Marrakech, El Kélaa et Essaouira où la maladie évolue sous forme hypoendémique avec une recrudescence de cas. Elle est transmise par le vecteur *P. sergenti*. *L. tropica* provoque une ulcération. L'ulcération séchée guérit en général spontanément en un an ou parfois plus. Un nouveau foyer épidémique péri-urbain émergent de LC à *L. tropica* a été mis en évidence au Nord du Maroc dans la région de Taza ^[17,19].

4.2.5. Traitements contre les leishmanioses :

L'antimoine trivalent fût la première molécule utilisée mais elle a été vite abandonnée à cause de sa toxicité. Depuis 1940, les médicaments de première ligne les plus utilisés sont des antimoinés pentavalents, le N-méthyl glucamine (Glucantime®) avec une teneur d'antimoine de 8.5% (85 mg/ml) et le stibogluconate de sodium (Pentostam®) dont la teneur en antimoine est de 10% (100 mg/ml). Ces produits ont une action inhibitrice sur la synthèse de l'ADN, sur l'oxydation glycolytique et sur celle des acides gras, de plus ils ne sont actifs in vivo qu'après conversion en antimoine trivalent ^[13,20].

Dans les cas où ces médicaments ne sont pas efficaces, les traitements de deuxième intention sont l'Amphotéricine B et la pentamidine. L'Amphotericine B est un antibiotique, un polyénique, puissant antifongique utilisé dans le traitement des mycoses systémiques, et qui inhibe l'ergostérol provoquant des modifications de la perméabilité de la membrane parasitaire. Cette molécule est utilisée surtout dans le cas de la leishmaniose viscérale. Ce médicament est très efficace avec un taux de guérison de 97 % et aucune résistance n'a encore été rapportée. L'administration s'effectue par perfusion intraveineuse. Malheureusement elle

montre des effets toxiques rénaux et hématologiques non négligeables. Pour diminuer cette toxicité, certaines formulations lipidiques d'Amphotéricine B ont été élaborées, comme par exemple des liposomes, des dispersions colloïdales ou des complexes lipidiques. Les liposomes (AmBisome®) sont les plus efficaces (une dose de 15 mg/kg permet un taux de guérison de 95% sur des patients atteints de LV, et les moins toxiques mais les coûts extrêmement élevés de l'ensemble de ces produits ne permettent pas leur usage dans les pays en voie de développement ^[21].

La pentamidine, est une diamine aromatique synthétisée qui inhibe la synthèse de l'ADN parasitaire par blocage de la thymidine synthétase et par fixation sur l'ARN de transfert. L'administration se fait par perfusion lente, et les effets toxiques dépendants de la dose, apparaissent au cours du traitement atteignant le rein, le pancréas ou les lignées sanguines. La pentamidine à des doses faibles de 4 mg/kg n'a montrée qu'un taux de guérison modéré de 74%. Afin d'atténuer ses effets toxiques, la pentamidine a été testée en alternance avec l'allupurinol (2 mg/kg de pentamidine pendant 30 jours en combinaison avec l'allupurinol à 15 mg/kg/jours), le taux de guérison obtenu fut bien plus important, de l'ordre de 90 % ^[20].

Récemment, de nouveaux produits montrent des résultats très intéressants. Tout d'abord la Miltéfosine, La Paromomycine, la Sitamaquine, L'imiquimod et le Fluconazole. Le coût de ces traitements, très élevé pour la majorité des populations contaminées, rend la progression de la maladie plus facile ^[22].

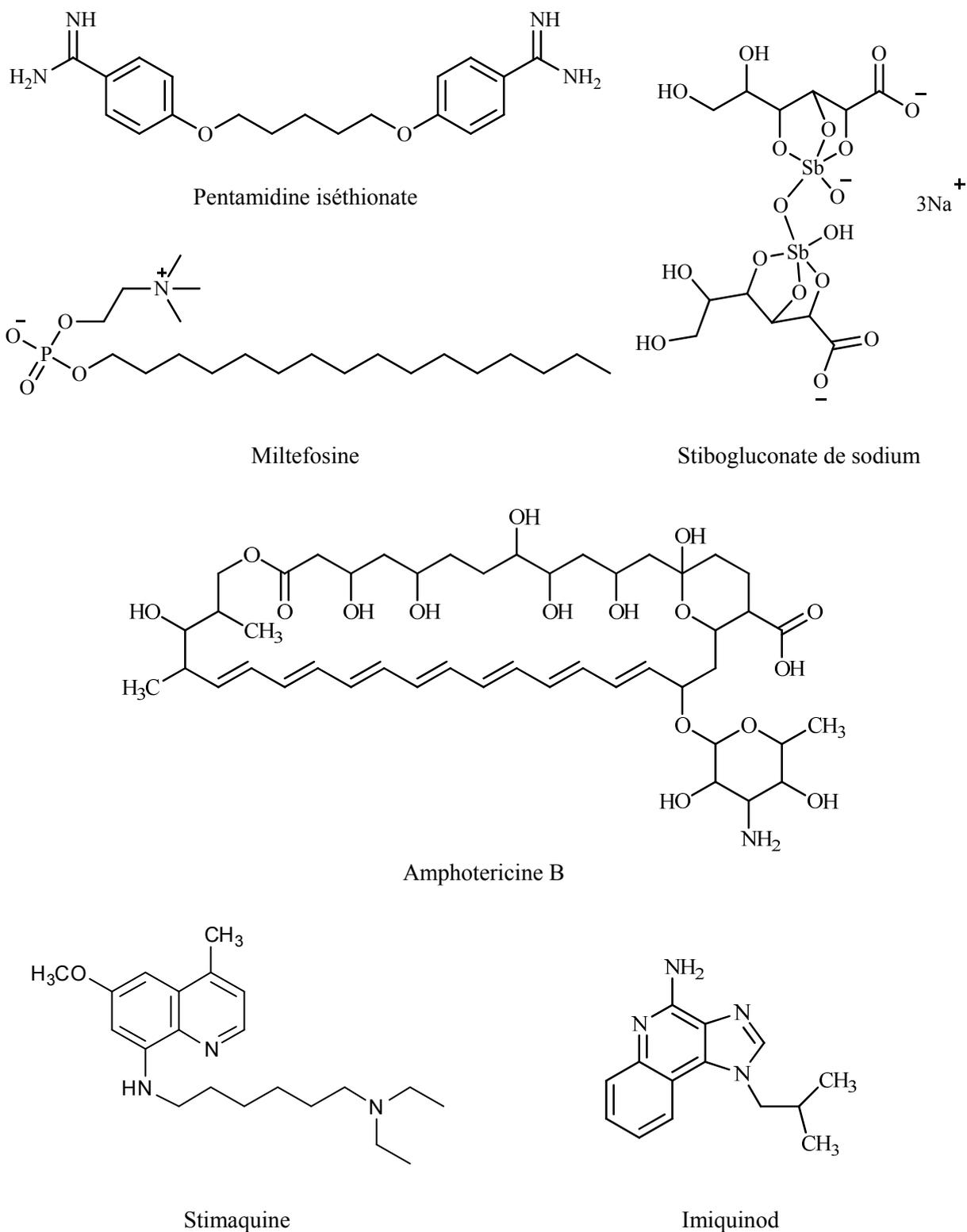


Figure II.4 : Structures des différents médicaments utilisés actuellement contre les leishmanioses.

4.2.6. Principe de la méthode de test antileishmanien MTT :

La méthode MTT utilisée est celle décrite par A. Dutta (2005) ^[23]. C'est une technique colorimétrique, qui permet de déterminer l'activité antileishmanienne des formes promastigote du genre *Leishmania*. Le principe du test est basé sur la transformation d'un sel de tetrazolium MTT (3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltetrazolium bromide) en formazan par réduction enzymatique (Figure II.5). En bref, le cycle tétrazolique qu'il contient est réduit, par la succinate déshydrogénase mitochondriale des cellules vivantes actives en formazan. Le formazan est un produit coloré (violet foncé), insoluble dans l'eau et l'intensité de cette coloration est proportionnelle au nombre de cellules vivantes présentes lors du test mais aussi à leur activité métabolique.

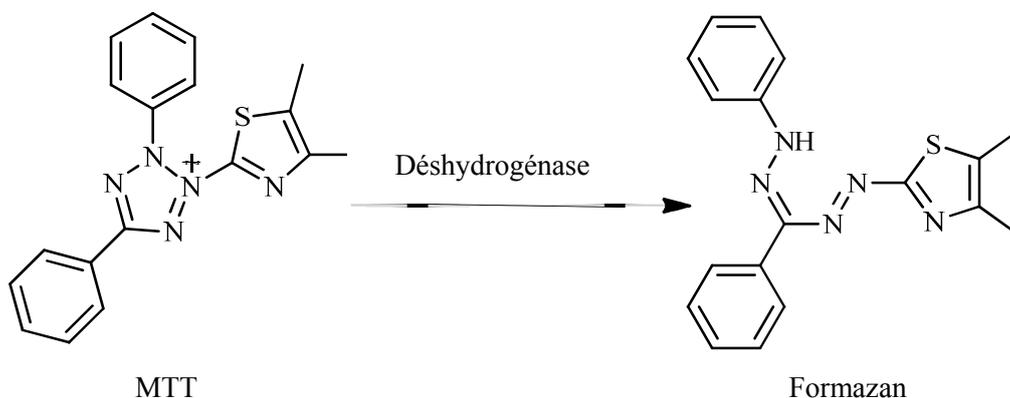


Figure II.5 : Déshydrogénase de MTT en Formazan.

4.2.7. Protocole expérimental :

Les évaluations antileishmaniens ont été réalisées sur des cultures des promastigotes de *Leishmania infantum*. Les promastigotes sont maintenus à 25°C par repiquage tous les cinq jours en utilisant le milieu RPMI 1640 dépourvu de phénol rouge, tamponné avec 25 mM NaHCO₃ (pH = 7,2) et supplémenté avec 20 % du sérum bovine fœtal (SVF). Les parasites sont incubés dans des flacons de culture avec une concentration initiale de 5 x 10⁵ parasites par mL. ^[24]

Les parasites sont dénombrés sur une cellule de Thoma, puis partagés dans une plaque Elisa de 96 puits à une concentration de 2x10⁵ parasites/puits dans 90 µL de milieu RPMI. Les échantillons à tester sont dissouts dans le DMSO 1 % (à concentrations finales de 20, 30, 40 et 50 µg.mL⁻¹) ainsi que l'amphotéricine B témoin positif et le témoin solvant (100 µL de la culture parasitaire + 10 µL DMSO) sont alors additionnés en triplicat dans les puits pour un volume additionnel de 10 µL. Après 72 heures d'incubation à 25°C, on ajoute un volume de 10 µL de MTT (5 mg.mL⁻¹) et les plaques sont remises dans les incubateurs. Après 1 heure d'incubation à température ambiante et 3 heures à 37°C la coloration violète est développée, les plaques sont centrifugées à 2000 rpm pendant 5 min et on ajoute un volume de 200 µL de DMSO. La densité optique (D.O) de chaque puits est mesurée à 492 nm sur un Spectrophotomètre ELISA.

La détermination de CI₅₀ est déterminée par interpolation linéaire sur des courbes donnant le pourcentage de viabilité en fonction de logarithme de la concentration testée.

On note que le pourcentage de viabilité est donné par la relation :

$$\% \text{ Viabilité} = \frac{D.O_{\text{Controle}} - D.O_{\text{Echantillon}}}{D.O_{\text{Controle}}} \times 100$$

4.2.8. Résultats :

Les extraits hexanique, étheré, chloroformique et méthanolique des algues *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata* ont été testés à des concentrations 20, 30, 40 et 50 µg.mL⁻¹. Les valeurs des pourcentages de viabilité des *Leishmania* en fonction de la concentration sont données dans le Tableau II.6.

Extrait	Concentration ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	<i>Cystoseira tamariscifolia</i>			<i>Bifurcaria bifurcata</i>		
		DO _{échantillon}	DO _{contrôle}	Viabilité (%)	DO _{échantillon}	DO _{contrôle}	Viabilité (%)
Hexanique	20	n.d	0,579	-	0,536	0,579	7,309
	30	n.d	0,579	-	0,436	0,579	24,604
	40	n.d	0,579	-	0,420	0,579	27,453
	50	n.d	0,579	-	0,206	0,579	64,431
Éthéré	20	0,552	0,579	4,690	0,534	0,579	7,654
	30	0,540	0,579	6,762	0,493	0,579	14,762
	40	0,528	0,579	8,8345	0,430	0,579	25,669
	50	0,512	0,579	11,597	0,232	0,579	59,942
Chloroformique	20	0,575	0,579	0,719	0,559	0,579	3,338
	30	0,571	0,579	1,410	0,540	0,579	6,676
	40	0,568	0,579	1,928	0,431	0,579	25,553
	50	0,552	0,579	4,690	0,316	0,579	45,381
Méthanolique	20	n.d	0,579	-	n.d	0,579	-
	30	n.d	0,579	-	n.d	0,579	-
	40	n.d	0,579	-	n.d	0,579	-
	50	n.d	0,579	-	n.d	0,579	-

n.d : non détecté

Tableau II.6 : Résultats de l'activité antileishmanien.

A partir du tableau précédant, on déduit que le pourcentage de viabilité augmente avec la concentration. Ceci est bien illustré par les courbes de la figure II.6.

On note que les extraits hexanique et méthanolique de *Cystoseira tamariscifolia* et l'extrait méthanolique de *Bifurcaria bifurcata* n'ont aucune activité antileishmanien.

Les valeurs des concentrations d'inhibition de 50 % CI_{50} obtenus à partir des expressions linéaires de viabilité en fonction de logarithme de la concentration testée sont représentées dans le tableau II.7.

L'ensemble des résultats obtenus montrent que les extraits de *Bifurcaria bifurcata* présentent une activité remarquable par rapport aux extraits de *Cystoseira tamariscifolia*. Les valeurs de CI_{50} des extraits hexanique, étheré et chloroformique de *Bifurcaria bifurcata* sont respectivement de l'ordre : 46,83 $\mu\text{g/mL}$, 51,64 $\mu\text{g/mL}$ et 63,83 $\mu\text{g/mL}$, par contre les valeurs de CI_{50} des extraits étheré et chloroformique de *Cystoseira tamariscifolia* sont supérieures à 100 $\mu\text{g/mL}$.

Les valeurs obtenues comparés à d'autres extraits organiques des algues marines (Tableau II.8), montrent que les extraits de *Bifurcaria bifurcata* ont eu des activités intéressantes par rapport aux extraits de *Padina perindusiata* et *Sargassum fluitans*, ils sont semblables à l'extrait de *Lobophora variegata* ($CI_{50} = 49,9 \mu\text{g/mL}$) et des activités inférieures aux extraits de *Bostrychia tenella* ($4,3 < CI_{50} < 22,2 \mu\text{g/mL}$), *Dictyota caribaea* ($CI_{50} = 24,4 \mu\text{g/mL}$) et *Turbinaria turbinata* ($CI_{50} = 10,9 \mu\text{g/mL}$).

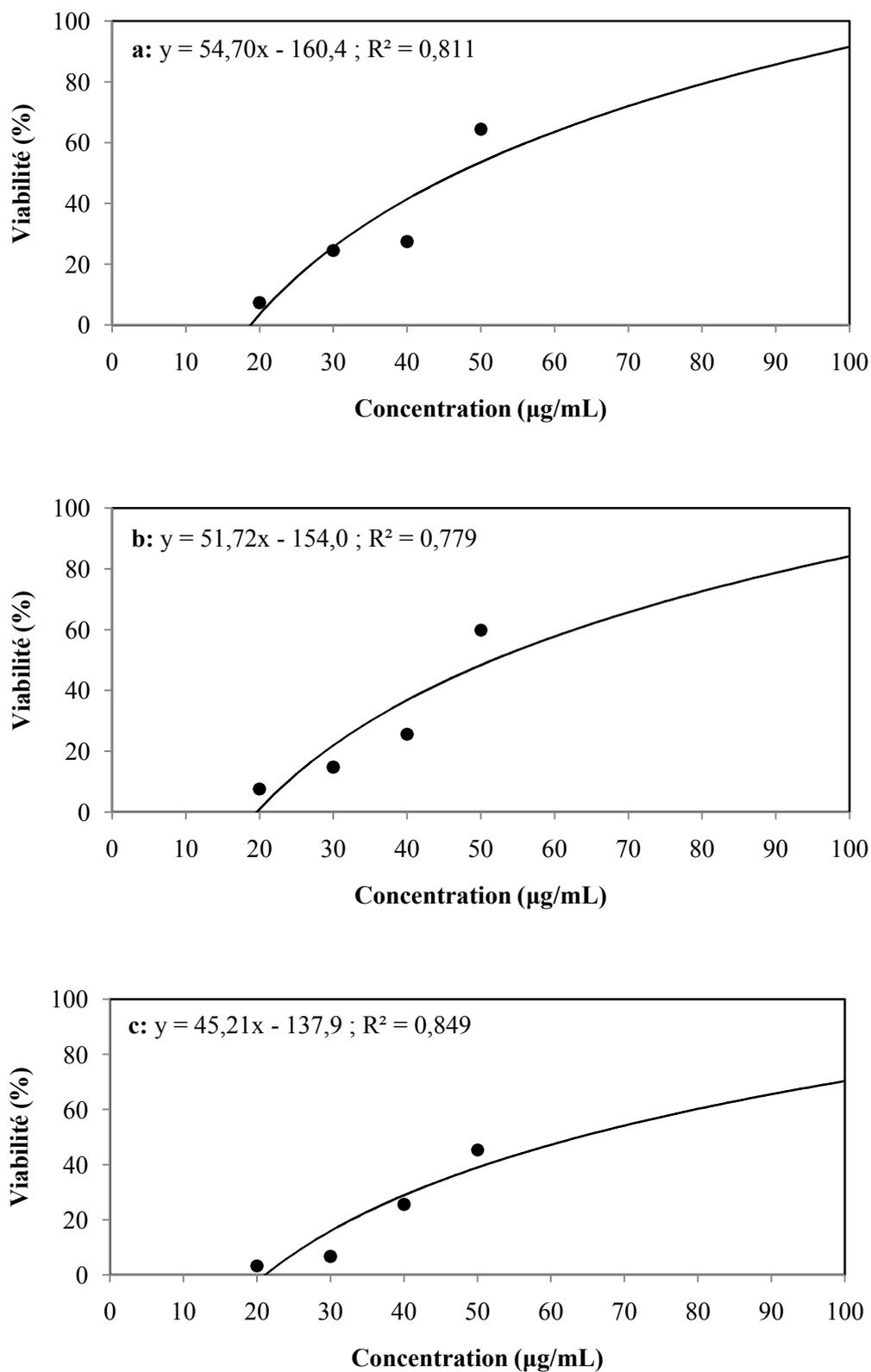


Figure II.6 : Courbes de viabilité en fonction de concentration, (a : extrait hexanique BB, b : extrait étheré BB, c : extrait chloroformique BB)

Espèce	Extrait	CI ₅₀ (µg/mL)
<i>Cystoseira tamariscifolia</i>	Hexanique	n.d
	Ethéré	>100
	Chloroformique	>100
	Méthanolique	n.d
<i>Bifurcaria bifurcata</i>	Hexanique	46,83
	Ethéré	51,64
	Chloroformique	63,83
	Méthanolique	n.d
Amphothéricine B ^[17]		0,24

n.d : non détecté

Tableau II.7 : Valeurs de CI₅₀ des extraits de *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata*.

Algue	Espèce <i>Leshmania</i>	CI ₅₀ (µg/mL)	Référence
<i>Bostrychia tenella</i>	<i>L. amazonensis</i>	4,3 – 22,2	[25]
<i>Dictyota caribaea</i>	<i>L. mexicana</i>	24,4	[26]
<i>Lobophora variegata</i>	<i>L. mexicana</i>	49,9	[26]
<i>Padina perindusiata</i>	<i>L. mexicana</i>	> 100	[26]
<i>Sargassum fluitans</i>	<i>L. mexicana</i>	> 100	[26]
<i>Turbinaria turbinata</i>	<i>L. mexicana</i>	10,9	[26]

Tableau II.8 : Valeurs de CI₅₀ des extraits organiques de quelques algues marines.

4.3. Activités Antitumorales :

4.3.1. Généralités et modes d'action des agents antitumoraux :

Les affections tumorales représentent la seconde cause de mortalité humaine par maladie. Toutes choses étant égales par ailleurs, cette statistique vaut aussi pour l'ensemble de la planète. Les causes des cancers sont multiples mais de mieux en mieux connues, les facteurs de risque également.

Pour qu'un produit soit un bon archétype d'agent antitumoral, il faut qu'il induise une destruction des cellules tumorales sans affecter les cellules saines. Les recherches sur l'étiologie du cancer n'ont pas encore permis de concevoir des modèles efficaces pour la sélection de biomolécules susceptibles d'atteindre spécifiquement les cellules tumorales.

L'analyse des mécanismes connus de l'action cytotoxique montre que dans 70 % des cas, les produits à activité antitumorale agissent au niveau de l'ADN, soit indirectement par inhibition de sa biosynthèse, soit directement par modification physique ou chimique de sa structure.

Généralement, les agents antitumoraux sont classés en quatre grands groupes : les agents alkylants, les agents intercalants, les antimétabolites et les poisons du fuseau ^[27].

- **Les agents alkylants :**

Ce sont des composés qui agissent préférentiellement au niveau des régions riches en électrons, par substitution, par liaison inter ou intrabrin ou par rupture de l'ADN. Cette inhibition de la biosynthèse de l'ADN entraîne une inhibition de la biosynthèse de l'ARN et des protéines dans les cellules en voie de division. On cite comme exemple d'agents alkylants la cyclophosphamide ou endoxan, les β -chloroarnines, l'aziridine, la mitomycine, ...

- **Les agents intercalants :**

Leur mode d'action se caractérise par leur positionnement entre deux paires de base adjacentes dans la double hélice d'ADN, perturbant sa structure et donc sa réplication et sa transcription. L'adriamycine, l'ellipticine, les quinones aromatiques, et dérivés du platine appartiennent à cette catégorie.

- **Antimétabolites :**

Se comportent comme des leurres métaboliques et s'insèrent dans un processus biochimique particulier, fondamental pour la vie cellulaire et conduisent ainsi à un dysfonctionnement de la cellule et à sa mort. Exemple d'antimétabolites : c-nucléosides, 5-fluorouracile et méthothrexate.

- **Les poisons du fuseau :**

S'opposent à la constitution (ou plus rarement à la disparition) du fuseau au cours des différentes phases de la division cellulaire. La colchicine isolée du colchique ou le taxol, isolé de *Taxus baccata* et *Taxus brevifolia* ^[28,29] en sont de bons exemples.

4.3.2. Principe du test ADN par méthode HPLC :

Le mode d'action de plusieurs médicaments (agent antitumoraux, antimalariaux ...) induit la dénaturation de l'ADN ^[30]. À partir de cette interaction entre des molécules de faible poids moléculaire et l'ADN, un procédé simple a été mis au point dans le but de mettre en évidence les molécules ayant ce comportement.

Le procédé utilise un système HPLC (Chromatographie liquide haute performance) pour détecter la présence ou l'absence d'interactions entre molécules de faible poids moléculaire et l'ADN. Une quantité connue d'ADN est injectée dans des conditions données en HPLC. La même quantité d'ADN est injectée simultanément avec une quantité équivalente du produit à tester. Le pic d'ADN observé précédemment diminue ou disparaît lors de la co-injection si le produit testé interagit avec l'ADN.

Les pics obtenus avec les échantillons testés sont comparés avec le pic de l'ADN seul. Etant donné l'absence d'étalonnage interne, on considère uniquement une très forte diminution de l'aire du pic ou sa disparition comme un résultat positif.

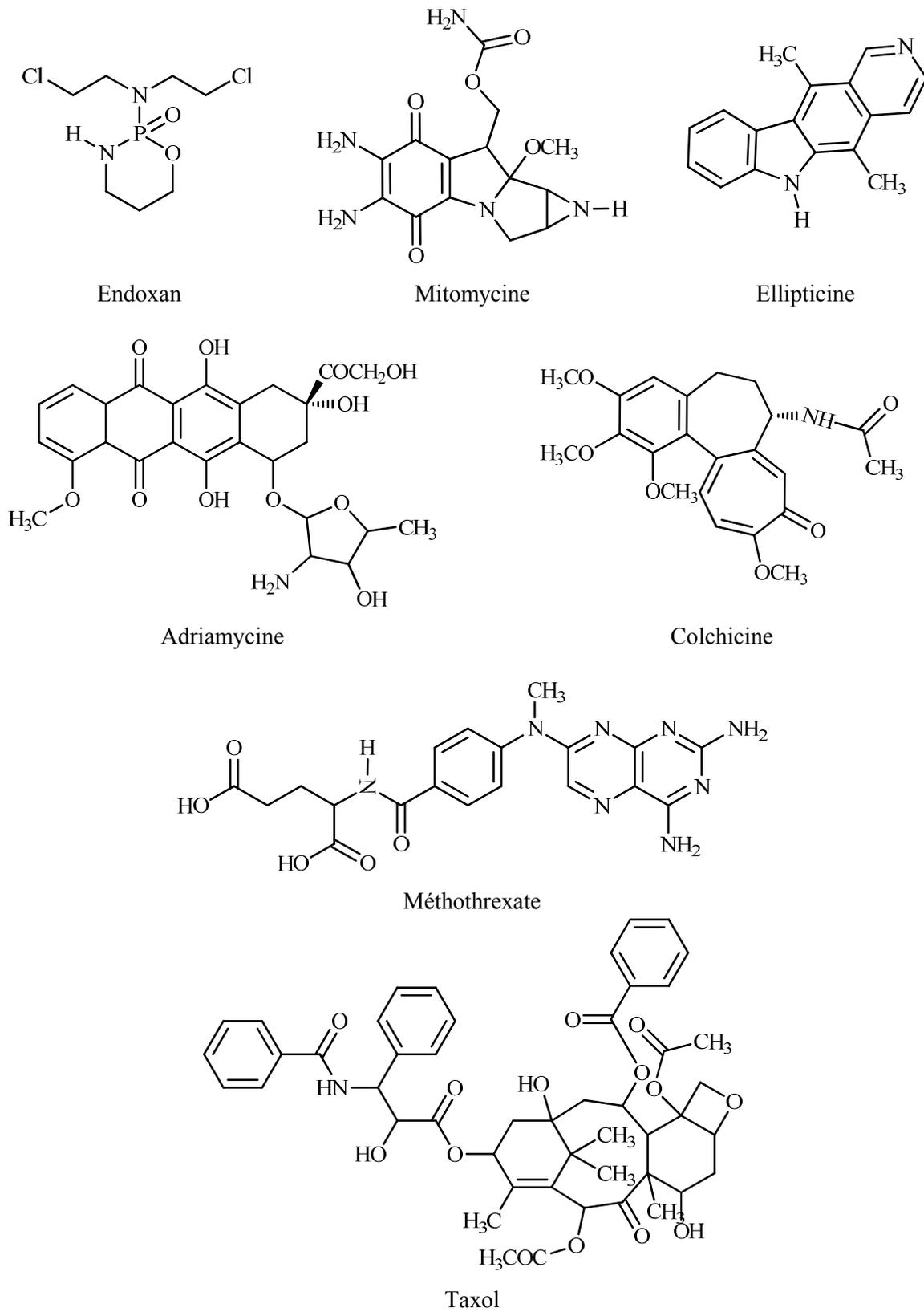


Figure II.7 : Structures des agents antitumoraux.

4.3.3. Protocole expérimental :

Une solution de l'ADN de thymus de veau dans l'eau à $0,1 \text{ mg.mL}^{-1}$ est injectée sur une colonne HPLC de silice greffée C_{18} conditionnée avec un mélange de solvant $H_2O/MeOH$ 80/20. Le pic correspondant à l'ADN est détecté par UV (254 nm). L'échantillon testé, dilué dans le Méthanol (1 mg.mL^{-1}) et co-injecté avec l'ADN ($30 \mu\text{l}$ chacun), est élué pendant 10 minutes avec l'éluant $H_2O/MeOH$ 80/20. Par comparaison des aires des pics d'ADN (avant et après l'injection du produit à tester), Nous estimons s'il y a une interaction entre le produit et l'ADN. Une diminution de la surface du pic traduit une interaction avec l'ADN.

Pour s'assurer de la bonne marche de cette méthode, L'adriamycine, molécule agissant sur l'ADN est utilisée comme substance de référence et nous permet de tester l'efficacité de la méthode.

4.3.4. Résultats :

Les résultats de cette activité montrent que tous les extraits de *Cystoseira tamariscifolia* et de *Bifurcaria bifurcata* ne provoquent aucune réduction de l'aire de l'ADN ce qui explique que tous les extraits ne présentent aucune interaction avec l'ADN. D'autre part, L'adriamycine qui est utilisée comme substance de référence provoque une réduction de l'aire de l'ADN de l'ordre de 76 %.

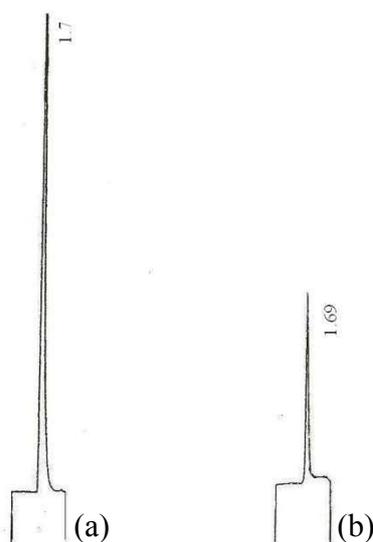


Figure II.8 : Pic de chromatogramme de l'ADN.

(a) ADN seul, (b) ADN + Adriamycine.

4.4. Activités Cytotoxiques « Brine Shrimp » :

Le test de toxicité consiste à observer le comportement d'un individu (ou un groupe homogène d'individus) mis en contact, dans des conditions expérimentales bien définies, avec la substance étudiée afin d'évaluer le degré de sensibilité (ou de résistance) à cette dernière.

Selon Truhaut cité par F. Ramade ^[31], une substance est toxique si elle provoque des altérations ou des perturbations des fonctions de l'organisme vivant conduisant à des effets nocifs dont la plus grave, de toute évidence, est la mort de cet organisme.

Pour évaluer la toxicité de nos extraits, on a utilisé le test de toxicité Brine Shrimp sur les larves d'*Artemia salina*.

4.4.1. Le cycle vital d'*Artemia salina* :

Artemia salina est un petit crustacé vivant habituellement dans les étangs saumâtres. Le cycle biologique d'*Artemia salina* est tout à fait particulier : après la fécondation, les premières étapes du développement conduisent normalement à la formation d'une blastula puis d'une gastrula.

La gastrula poursuit son développement, en conditions normales, pour conduire à la formation d'un adulte après passage par le stade prénauplius et nauplius. (Figure II.9 et Figure II.10)

Il existe une voie alternative de développement correspondant à l'apparition dans le milieu naturel de conditions vitales critiques (sécheresse et évaporation de l'eau des marais). Les gastrulas forment des kystes. Susceptibles de les isoler du milieu extérieur, la quasi-totalité de l'eau de l'organisme est éliminée (95 – 98 %) et l'ensemble des fonctions physiologiques et biochimiques entrent dans une phase de dormance. Lorsque les kystes sont réhydratés (soit naturellement soit artificiellement), les différentes activités métaboliques reprennent successivement. Ce que l'on appelle improprement des " œufs " d'*Artemia* sont en réalité des gastrulas dormantes ou enkystées susceptibles de rester dormantes pendant plusieurs années ^[32].

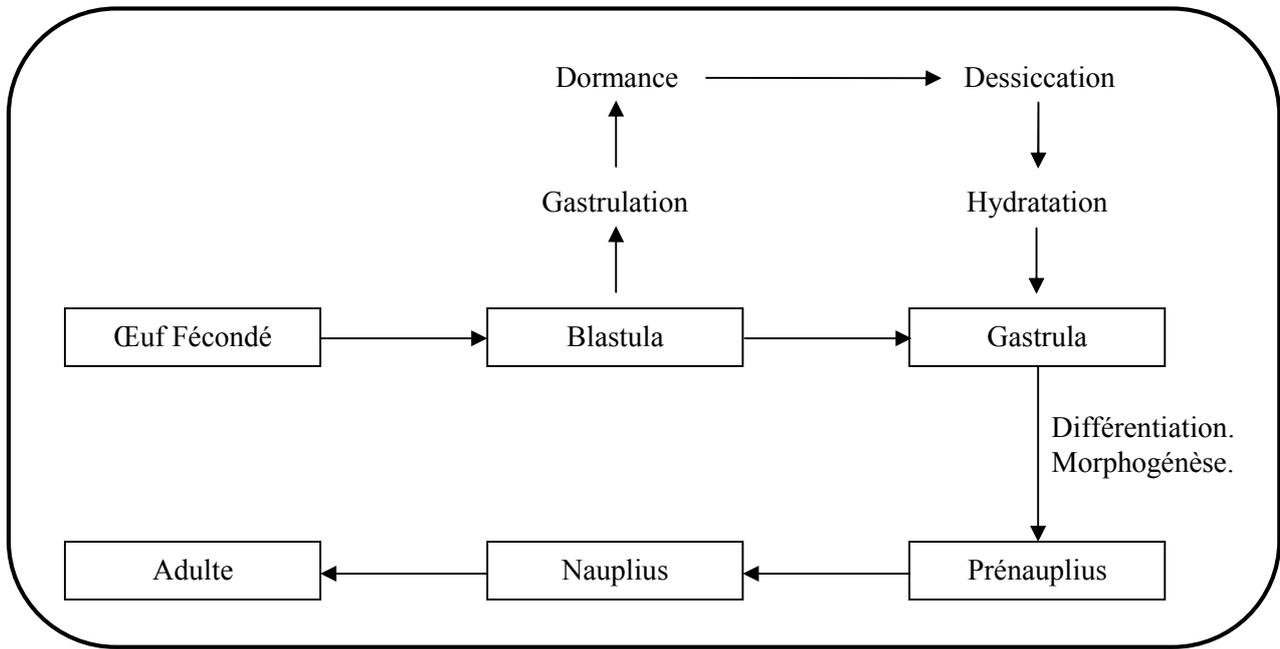


Figure II.9 : Le cycle de développement d'*Artemia salina*.

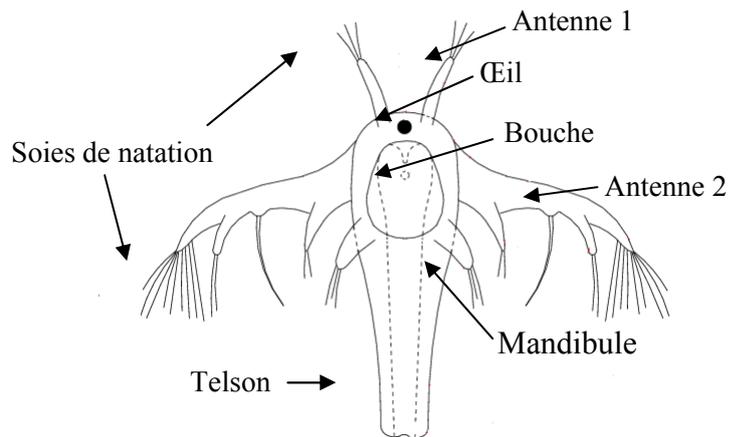


Figure II.10 : Anatomie schématique d'un nauplius d'*Artemia*.

4.4.2. Principe du test Brine Shrimp :

Pour réaliser cette étude toxicologique visant à rechercher les composés toxiques à partir des extraits, nous nous sommes appuyés sur le test BS "Brine Shrimp" mis au point par P. Vanhaecke en 1981 [33].

Ce test permet de déterminer l'activité toxique des produits testés par leurs effets sur les larves de crevettes d'eau salée : *Artemia salina*. Il permet également la détermination de la concentration qui tue 50 % des *Artemia nauplius* en 24 heures sous des conditions standardisées. Cette concentration est connue comme la dose létale DL₅₀ qui peut déterminer le pouvoir de toxicité par rapport à d'autres produits de références.

4.4.3. Protocole expérimental :

Les œufs de crevettes sont mis à éclore dans une solution de chlorure de sodium à concentration massique de 38 g/L. l'ensemble du matériel est placé à 25°C sous une intensité lumineuse et les jeunes larves sont obtenues au bout de 24 heures.

Les échantillons à tester sont mis en solution dans le DMSO 2% (solvant miscible à l'eau et ne présentant aucun effet toxique vis à vis des larves). Des volumes déterminés de la solution préparée sont ajoutés aux boîtes de Pétri contenant les larves *d'Artemia salina*. Les boîtes sont placées dans une chambre à la température ambiante et la lecture des résultats se fait après 24 heures par comptage sous une loupe binoculaire.

Au cas où le témoin contient des larves mortes, le pourcentage de mortalité est corrigé en utilisant la formule suivante :

$$\% M = \frac{NLP}{NLT} \times 100$$

Avec :

% M : pourcentage de mortalité.

NLP : Nombre de Larves Mortes en Présence du Produit à Tester.

NLT : Nombre de Larves Mortes en Présence du Témoin (solvant).

Pour évaluer la dose létale 50 (DL₅₀) du produit brut, ce dernier est testé à différentes concentrations de 20, 40, 60 et 100 µg.mL⁻¹. La dose DL₅₀ est déterminée à partir de la courbe de régression qui exprime le pourcentage des larves tuées en fonction du logarithme de la dose du produit utilisé.

4.4.3. Résultats :

Les extraits ont été testés à 20, 40, 60 et 100 µg/mL. Les valeurs des pourcentages de mortalité des larves en fonction de la concentration sont données dans le tableau II.9.

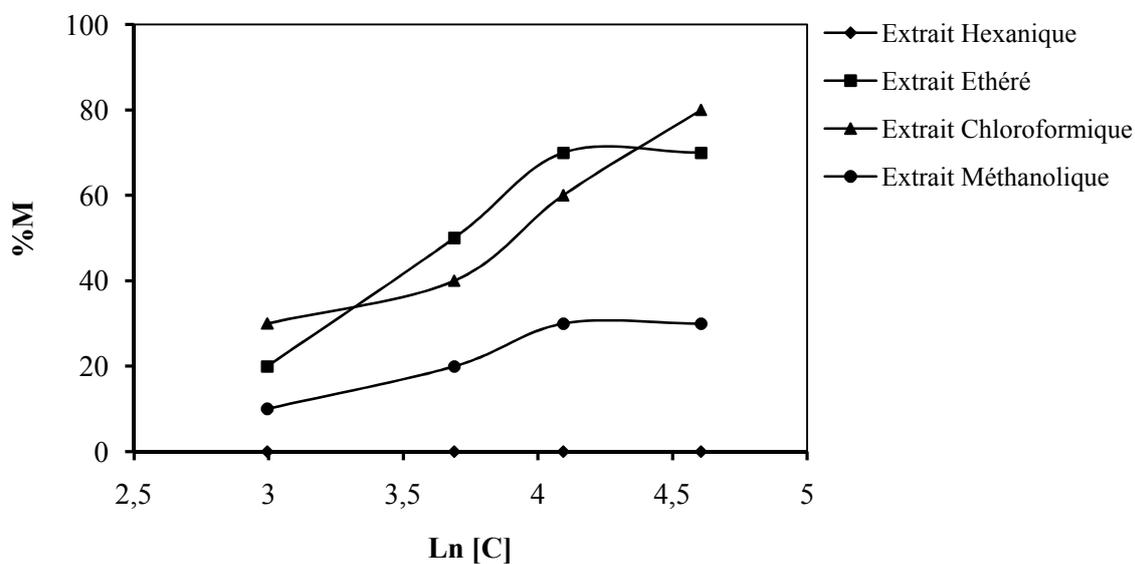
A partir de ce tableau, on déduit que le pourcentage de mortalité des larves croît en fonction de la concentration. Ceci est bien illustré par les courbes représentées dans la figure II.11 qui présentent les pourcentages de mortalité en fonction de logarithme des concentrations.

Les valeurs de DL₅₀ des différents extraits obtenus par les différentes expressions linéaires sont affichées au tableau II.10.

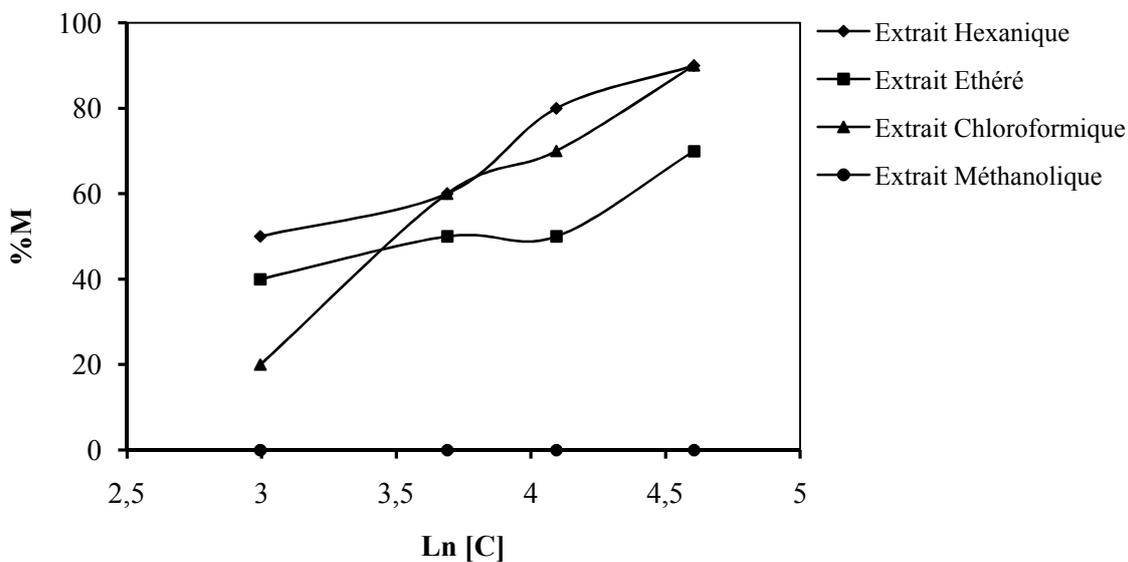
L'extrait hexanique de *Cystoseira tamariscifolia* et l'extrait méthanolique de *Bifurcaria bifurcata* ne présentent aucune activité cytoxique. Par contre l'extrait méthanolique de *Cystoseira tamariscifolia* présente une valeur DL₅₀ supérieure à 200µg/mL. Les extraits de *Bifurcaria bifurcata* sont toxiques par rapport aux extraits de *Cystoseira tamariscifolia* à l'égard des larves d'*Artemia salina*. Cette toxicité comparée à d'autres produits, montre que tous les extraits sont inférieurs à la podophyllotoxine (2,4 µg/mL) et supérieurs à la digitaline (77,2 µg/mL) et à la sulfate de strychnine (151 µg/mL).

Extrait	[C] ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	<i>Cystoseira tamariscifolia</i>			<i>Bifurcaria bifurcata</i>		
		NLT	NLP	% M	NLT	NLP	% M
Hexanique	20	10	0	0	10	5	50
	40	10	0	0	10	6	60
	60	10	0	0	10	8	80
	100	10	0	0	10	9	90
Éthéré	20	10	2	20	10	4	40
	40	10	5	50	10	5	50
	60	10	7	70	10	5	50
	100	10	7	70	10	7	70
Chloroformique	20	10	3	30	10	2	20
	40	10	4	40	10	6	60
	60	10	6	60	10	8	80
	100	10	8	80	10	9	90
Méthanolique	20	10	1	10	10	0	0
	40	10	2	20	10	0	0
	60	10	3	30	10	0	0
	100	10	3	30	10	0	0

Tableau II.9 : Résultats de l'activité de toxicité BS.



Cystoseira tamariscifolia



Bifurcaria bifurcata

Figure II.11 : Courbe représentant le pourcentage de mortalité en fonction de la concentration.

Espèce	Extrait	DL₅₀ (µg/mL)
<i>Cystoseira tamariscifolia</i>	Hexanique	n.d
	Ethéré	43,38
	Chloroformique	43,26
	Méthanolique	>>200
<i>Bifurcaria bifurcata</i>	Hexanique	21,8
	Ethéré	40,46
	Chloroformique	37,05
	Méthanolique	n.d
Produits de référence		
Podophyllotoxine		2,4 ^[34]
Digitaline		77,2 ^[34]
Sulfate de strychnine		151 ^[34]

n.d : non détecté

Tableau II.10 : Valeurs DL₅₀ des extraits de *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata*.

5. Screening et fractionnement biodirigé :

5.1. *Bifurcaria bifurcata* :

Suite aux tests biologiques, nous avons sélectionné l'extrait éthéré de l'algue brune *Bifurcaria bifurcata*. Ce choix est justifié d'une part par le fait que cet extrait a une masse adéquate pour le fractionnement, et il a montré aussi une activité remarquable au niveau de tous les tests réalisés. D'autre part, la majorité des travaux antérieurs qui ont porté sur les algues ont concerné essentiellement les extraits éthérés.

Cet extrait est constitué principalement par des composés diterpéniques, généralement phénoliques, et qui sont susceptibles de présenter des activités biologiques intéressantes.

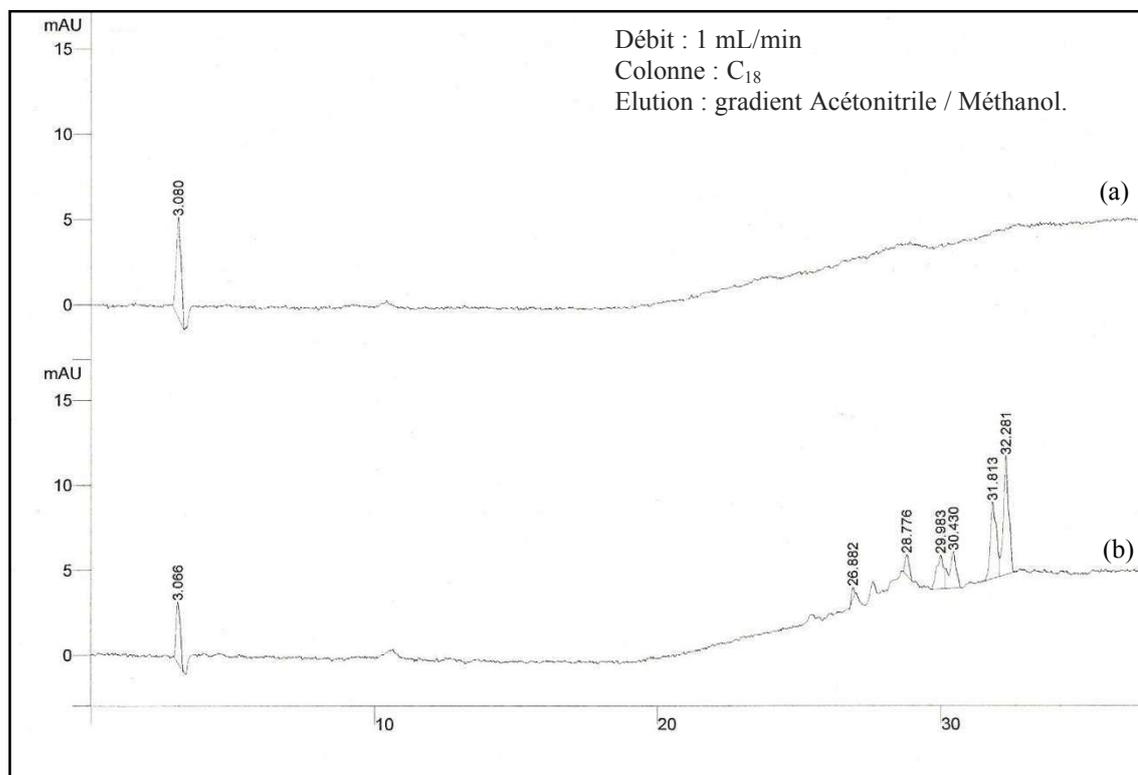
Dans cette partie le suivi biodirigé du fractionnement a été fait par le test antibactérien vis-à-vis de *Klebsiella pneumoniae* et d'*Enterobacter cloacae*, et ce pour deux raisons principales :

- Cet extrait montre une activité importante au niveau de ce test.
- Le test antibactérien est facile à mettre en œuvre et la lecture des résultats est rapide, ce qui nous permettra d'améliorer les conditions de fractionnement.

5.1.1. Analyse de l'extrait éthéré par des techniques chromatographiques :

L'analyse chromatographique de l'extrait éthéré de *Bifurcaria bifurcata* par CCM (chromatographie sur couche mince sur gel de silice) dans le système d'éluant Hexane/acétate d'éthyle (5/5), permet de mettre en évidence plusieurs classes de composés. Elle montre la présence de taches vertes relatives aux chlorophylles et des taches jaune – orange qui montrent la présence des caroténoïdes. D'autres techniques telles que la révélation par pulvérisation du réactif de Gibbs puis passage sur vapeur d'ammoniac permet de mettre en évidence la présence de composés phénoliques (coloration bleue), et la révélation par H₂SO₄ (50%) puis passage à l'étuve (100°C) permet de mettre en évidence la présence de stérols (coloration violette).

L'analyse de l'extrait éthéré par Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC) en gradient d'élution Acétonitrile / Méthanol permet également de mettre en évidence la présence de plusieurs classes de composés.



Temps	Acétonitrile	Méthanol
0 – 10 min	0 %	100 %
10 – 20 min	25 %	75 %
20 – 40 min	50 %	50 %

Figure II.12 : Chromatogramme HPLC de l'extrait étheré de *Bifurcaria bifurcata*.

(a) : Méthanol (b) : Extrait étheré

5.1.2. Fractionnement biodirigé de l'extrait éthéré :

L'extrait éthéré de l'algue brune *Bifurcaria bifurcata* d'une masse de 4,6 g a été fractionné sur colonne ouverte de gel de silice avec le gradient de solvant Hexane/Acétate d'éthyle. Onze fractions ont été récupérées. (Figure II.13)

Les masses et les couleurs des différentes fractions issues de l'extrait éthéré de *Bifurcaria bifurcata* sont présentées dans le tableau II.11.

Les différentes fractions issues de l'extrait éthéré de l'algue brune *Bifurcaria bifurcata* ont subi le test antibactérien vis-à-vis de *Klebsiella pneumoniae* et d'*Enterobacter cloacae*. Les résultats mentionnés dans le tableau II.12, montrent que la plupart des fractions présentent des activités antibactériennes notables.

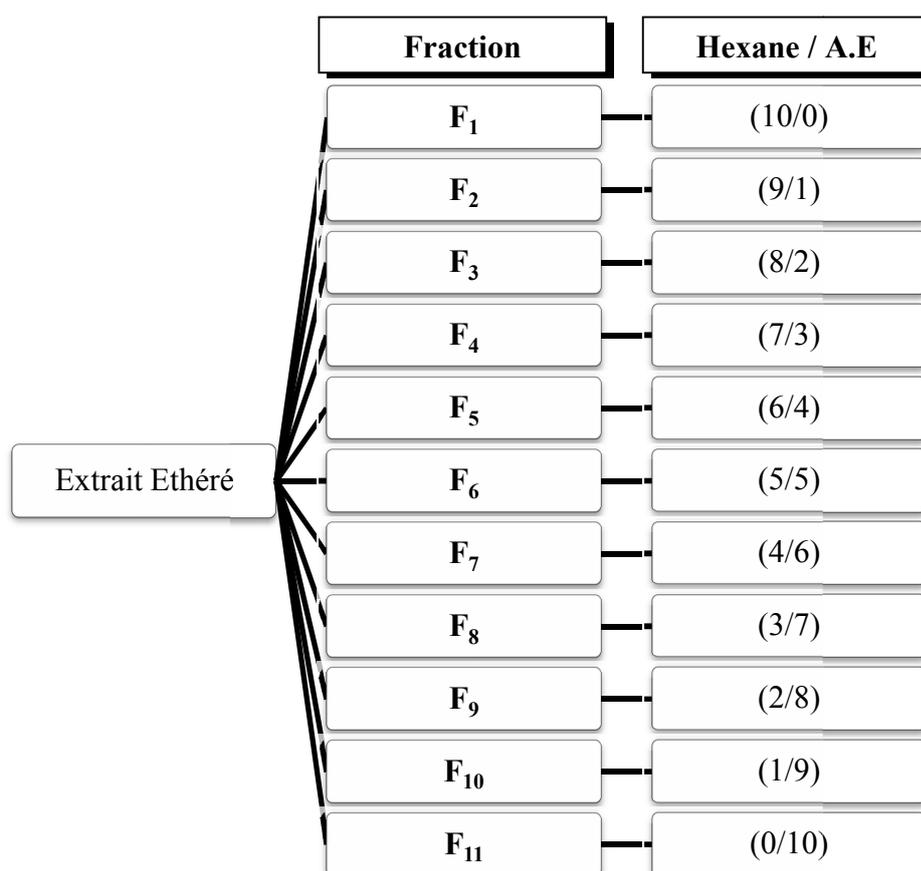


Figure II.13 : Fractionnement de l'extrait éthéré de *Bifurcaria bifurcata*.

(Elution : Hexane / Acétate d'éthyle)

Fraction	Couleur	Masse (mg)
F ₁	Jaune – orange	87
F ₂	Verte – grise	65
F ₃	Noire – grise	66
F ₄	Noire – verte	1565
F ₅	Orange	730
F ₆	verte	535
F ₇	Marron	231
F ₈	Marron	193
F ₉	Verte – grise	111
F ₁₀	Verte	67
F ₁₁	Verte foncée	492

Tableau II.11 : Masses et couleurs des différentes fractions issues de l'extrait éthéré de *Bifurcaria bifurcata*.

Fraction	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
F ₁	++	+
F ₂	-	-
F ₃	+	-
F ₄	++	++
F ₅	+	++
F ₆	+	+
F ₇	-	-
F ₈	++	+
F ₉	+	-
F ₁₀	++	-
F ₁₁	+	+

Légende : - : pas d'inhibition, + : diamètre d'inhibition inférieur à 10mm, ++ : diamètre d'inhibition compris entre 10 et 15mm, +++ : diamètre d'inhibition supérieur à 15mm.

Tableau II.12 : Test antibactérien vis-à-vis de *Klebsiella pneumoniae* et d'*Enterobacter cloacae* des différentes fractions issues de l'extrait éthéré de *Bifurcaria bifurcata*.

5.1.3. Etudes des fractions :

Pour la suite, nous avons sélectionné trois fractions de l'extrait éthéré de l'algue brune *Bifurcaria bifurcata* F₄, F₅ et F₆. Ce choix est justifié par le fait que ces fractions ont une masse importante et elles ont montré aussi des activités notables au niveau du test antibactérien vis-à-vis de *Klebsiella pneumoni* et d'*Enterobacter cloacae*.

- **Etude de la fraction F₄ :**

La fraction F₄ a été analysée par CCM dans le système d'éluant CH₂Cl₂/E.P (9/1), elle est constituée principalement des molécules de type stérol (révélation par H₂SO₄ concentré puis passage à l'étuve), L'analyse de cette fraction par chromatographie liquide haute performance (HPLC) en gradient d'éluant Acétonitrile / Méthanol permet de mettre en évidence la présence de molécules majoritaires (Figure II.14). Cette fraction a été fractionnée une deuxième fois sur une colonne ouverte de gel de silice avec le gradient de solvant CH₂Cl₂/E.P (9/1), on a donc isolé un produit **A** de type stérol.

- **Etude de la fraction F₅ :**

Cette fraction se présente sous forme d'une huile jaunâtre, l'analyse par CCM dans le système d'éluant Hexane/Acétate d'éthyle (5/5) montre qu'elle est monotache (R_f = 0,45), par contre l'analyse de cette fraction par chromatographie liquide haute performance (HPLC) en gradient d'éluant Acétonitrile / Méthanol (Figure II.14) montre que le produit majoritaire et en mélange complexe avec d'autres produits. Cette fraction a été purifiée sur une colonne ouverte de gel de silice avec le gradient de solvant Hexane/Acétate d'éthyle (1/4), on a obtenu finalement un produit **B** sous forme d'une huile jaunâtre.

- **Etude de la fraction F₆ :**

Cette fraction se présente sous forme d'une huile verte, l'analyse par CCM et par chromatographie liquide haute performance (HPLC) en gradient d'éluant Acétonitrile / Méthanol (Figure II.14) dans le système d'éluant Hexane/Acétate d'éthyle (4/6) montre qu'elle présente plusieurs molécules, la plupart de ces dernières réagissent avec le réactif de Gibbs ce qui prouve le caractère phénolique des molécules.

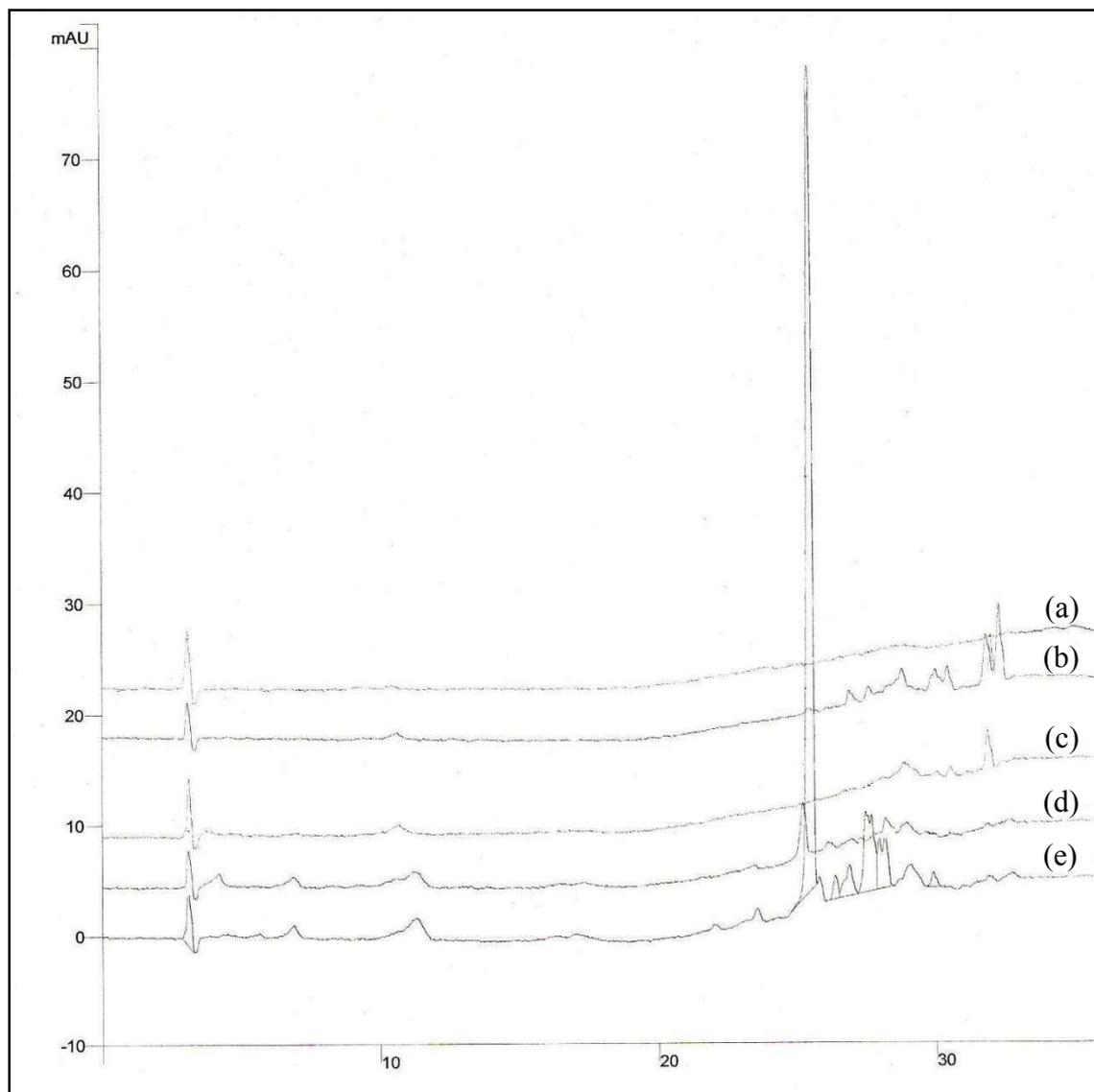


Figure II.14 : Chromatogramme HPLC des fractions isolées de l'extrait étheré de *Bifurcaria bifurcata*.

(a) : Méthanol, (b) : Extrait étheré, (c) : F₄, (d) : F₆ et (e) : F₅

5.2. *Cystoseira tamariscifolia* :

L'extrait éthéré de l'algue brune *Cystoseira tamariscifolia* a été fractionné sur colonne ouverte de gel de silice avec le gradient de solvant Hexane / Acétate d'éthyle. Plusieurs fractions ont été récupérées, la fraction de l'élution Hexane / Acétate d'éthyle (6/4) se présente sous forme d'une huile légèrement jaunâtre. L'analyse de cette fraction par HPLC dans les conditions d'élution Isooctane/ Acétate d'éthyle (6/4), permet d'isoler le produit **C**.

6. Etude structurale des composés isolés :

L'étude structurale des produits isolés a été effectuée par les techniques spectroscopiques usuelles : l'UV-visible, l'infrarouge et la résonance magnétique nucléaire à une dimension. Cette dernière technique reste le moyen le plus efficace et qui contribue d'avantage à l'élucidation de la structure d'un produit naturelle.

6.1. Spectrophotométrie UV-visible :

L'absorption moléculaire dans le spectre ultraviolet et visible dépend de la structure de la molécule. L'absorption d'énergie est quantifiée et résulte du passage des électrons d'orbitales de l'état fondamental vers des orbitales d'un état excité d'énergie supérieure. La structure particulière d'une molécule est liée à une absorption plus ou moins importante à chaque longueur d'onde observable (UV de 200 à 400 nm et visible de 400 à 800 nm), ce qui peut se traduire par l'établissement d'un spectre d'absorption.

L'absorption dans le domaine du visible est courante et se traduit par une coloration de l'échantillon. La spectrométrie UV se limite, elle, généralement aux systèmes conjugués. Cette sélectivité peut présenter un avantage : des groupes caractéristiques peuvent être reconnus dans des molécules de complexité très variable.

La spectrophotométrie UV-visible permettra donc :

- De reconnaître des groupements chimiques particuliers, surtout s'ils comportent des doubles liaisons.
- En mesurant, la longueur d'onde d'absorption maximale de la molécule λ_{\max} , et l'intensité de cette absorption (densité optique DO).

6.2. Spectrométrie infrarouge :

Les radiations infrarouges se situent dans la partie du spectre électromagnétique comprise entre la région visible et celle des micro-ondes. La région la plus utile pour l'analyse de molécules organiques est celle située entre 4000 et 400 cm^{-1} . L'absorption de ces radiations par un composé provoque une variation de l'énergie de rotation et de vibration des liaisons chimiques de ce composé, qui peut être détectée. On observe ainsi au niveau du spectre une série de bandes rotato-vibratoires dont le nombre d'onde ν , inverse d'une longueur d'onde et exprimé en cm^{-1} , dépend des masses relatives des atomes, de la constante de force des liaisons ainsi que de la géométrie des atomes.

6.3. La résonance magnétique nucléaire RMN :

La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire RMN repose sur la propriété qu'ont certains atomes, possédant un moment de spin I non nul de pouvoir prendre plusieurs orientations bien définies, auxquelles correspondent des niveaux d'énergie distincts, quand ils sont placés dans un champ magnétique B_0 . En pratique, les atomes les plus faciles à étudier sont ceux possédant un moment de spin $I = 1/2$, or la plupart des atomes couramment retrouvés dans des molécules, qu'elles soient d'origine chimique ou naturelle ont au moins un isotope qui se trouve dans ce cas de figure (^1H , ^{13}C , ^{15}N , ...). L'orientation de ces atomes peut être modifiée par leur soumission à une radiation électromagnétique supplémentaire, dans le domaine des radiofréquences ($\lambda = 3.10^7 \text{ nm}$ à 10^{11} nm , contre 10 à 800 pour le domaine UV – visible), et la mesure de la fréquence de précession autour de B_0 lors du retour à la position d'équilibre sera différente en fonction de l'environnement moléculaire précis de chaque atome.

En substance naturelle, les deux atomes les plus étudiés sont l'hydrogène (Proton) et le carbone ^{13}C . Nous allons rappeler ici les caractéristiques essentielles des techniques utilisées.

6.3.1. RMN du ^1H :

La réalisation d'un spectre de RMN du ^1H est une étape fondamentale dans la détermination structurale d'une molécule. De plus, elle ne nécessite que quelques minutes, depuis l'avènement de la RMN à transformée de Fourier.

En RMN du ^1H , trois informations sont importantes :

- Le déplacement chimique (δ) : c'est une fréquence exprimable en Hz, qui est en pratique toujours présentée sous la forme d'une échelle de ppm (rapport de la fréquence de résonance sur celle du champ magnétique B_0), qui a l'avantage d'être la même quelle que soit la puissance de l'appareil. Elle donne une indication sur la nature des groupements chimiques présents.
- L'intégration : l'aire sous la courbe de chaque pic est proportionnelle au nombre d'atomes d'hydrogène équivalents concernés.
- Le couplage : chaque proton est couplé avec ses voisins immédiats non équivalents dans la molécule. Ceci se traduit par un changement de forme des signaux observés. Le signal d'un proton indique le nombre de protons avec lesquels il est couplé ($n+1$ raies pour n voisins) et peut même donner des renseignements d'ordre structural, via l'écartement de ces raies, mesuré en Hz et appelé constante de couplage (J).

6.3.2. RMN du ^{13}C :

L'isotope ^{13}C ne représente que 1% des atomes de carbone existant. La sensibilité de cette expérience n'est donc pas excellente, ce qui oblige à multiplier le nombre des expériences (scans) sur plusieurs heures afin d'obtenir un spectre de bonne qualité. Ceci est particulièrement handicapant pour les substances naturelles qui sont souvent isolées en faible quantité par rapport aux produits de la chimie de synthèse. En revanche, la résolution obtenue est très supérieure à celle des spectres du ^1H , pour un même appareil : les déplacements chimiques s'échelonnent généralement sur plus de 200 ppm.

6.4. Etude structurale des produits A, B et C :

6.4.1. Produits A :

Ce produit issu de l'extrait éthéré de *Bifurcaria bifurcata*, se présente sous forme de cristaux de couleur blanche. La révélation de ce composé par H₂SO₄ concentré puis passage à l'étuve révèle la présence d'un stérol de point de fusion : P_f = 123 °C.

- **Spectre UV-visible :**

Le spectre UV-visible du produit A, enregistré dans le chloroforme présente une longueur d'onde d'absorption à $\lambda_{\text{max}} = 240 \text{ nm}$.

- **Spectre infrarouge :**

Le spectre infrarouge enregistré du produit A sur pastille de KBr montre la présence des bandes d'absorption suivantes :

- ✓ Une bande à 3440 cm⁻¹ due à la vibration d'allongement O-H indicative d'une fonction alcool.
- ✓ Une bande intense à 2936 cm⁻¹ caractéristiques de groupement méthyles et méthylènes.
- ✓ Une bande à 1050 cm⁻¹ relative à la vibration d'allongement C-O confirmant la présence d'une fonction alcool.

- **Spectre RMN :**

Le spectre RMN ¹H (Annexe 1) du produit A dans CDCl₃ à 300 MHz présente :

- ✓ Deux singulets à $\delta = 0,68 \text{ ppm}$ et à $\delta = 1 \text{ ppm}$ attribuables à la résonance des protons des groupements méthyles fixés sur un carbone tertiaire en position 18 et 19.
- ✓ Un doublet centré à $\delta = 0,98 \text{ ppm}$ attribuable à un groupement méthyle fixé sur un carbone secondaire.
- ✓ Un multiplet centré à $\delta = 3,5 \text{ ppm}$ correspondant au proton fixé sur un carbone hydroxylé.
- ✓ Un multiplet centré à $\delta = 5,35 \text{ ppm}$ caractéristique d'un proton éthylénique (fixé sur le carbone 6).
- ✓ Un doublet centré à $\delta = 1,57 \text{ ppm}$ correspondant au méthyle vinylique.

- ✓ Un doublet centré à $\delta = 1,06$ ppm pouvant correspondre aux deux méthyles fixés sur les carbones en position 26 et 27.

L'enregistrement du spectre de RMN ^{13}C réalisé à 75 MHz (Annexe 2), révèle l'existence de 29 atomes de carbone pour le produit **A**. L'expérience DEPT nous permet de distinguer les carbones primaires, secondaires, tertiaires et quaternaires. Le spectre présente :

- ✓ Cinq signaux attribuables à des groupements méthyle situés à : $\delta_{(19)} = 11,85$ ppm, $\delta_{(18)} = 18,75$ ppm, $\delta_{(21)} = 19,41$ ppm, $\delta_{(29)} = 13,19$ ppm et $\delta_{(26/27)} = 21,08$ ppm.
- ✓ Dix signaux correspondants au groupement méthylène des carbones en position (1), (2), (4), (7), (11), (12), (15), (16), (22), (23). Les déplacements chimiques respectivement sont : $\delta_{(1)} = 37$ ppm, $\delta_{(2)} = 31,9$ ppm, $\delta_{(4)} = 42$ ppm, $\delta_{(7)} = 31,9$ ppm, $\delta_{(11)} = 22,13$ ppm, $\delta_{(12)} = 39,75$ ppm, $\delta_{(15)} = 25,67$ ppm, $\delta_{(16)} = 24,33$ ppm, $\delta_{(22)} = 34,79$ ppm et $\delta_{(23)} = 28,25$ ppm.
- ✓ Deux signaux attribués aux atomes de carbones sp^2 en position 6 et 28 de déplacements chimiques: $\delta_{(6)} = 121,73$ ppm et $\delta_{(28)} = 115,56$ ppm.
- ✓ Deux signaux à champ faible attribuables à la résonance des carbones sp^2 en position 5 et 24 de déplacements chimiques: $\delta_{(5)} = 140,76$ ppm et $\delta_{(24)} = 147$ ppm.
- ✓ Deux signaux à champ fort attribuables à la résonance des carbones sp^3 en position 10 et 13 de déplacements chimiques : $\delta_{(10)} = 37,25$ ppm et $\delta_{(13)} = 42,3$ ppm.
- ✓ Sept signaux attribuables aux atomes de carbones sp^3 en position 3, 8, 9, 14, 17, 20 et 25. Les déplacements chimiques respectivement sont : $\delta_{(3)} = 71,82$ ppm, $\delta_{(8)} = 31,66$ ppm, $\delta_{(9)} = 50,11$ ppm, $\delta_{(14)} = 56,74$ ppm, $\delta_{(17)} = 55,57$ ppm, $\delta_{(20)} = 36,43$ ppm et $\delta_{(25)} = 35,22$ ppm.

Les résultats obtenus RMN ^1H et RMN ^{13}C du produit **A** sont regroupés dans le tableau II.13.

Comme le Fucostérol est le stérol principal chez la plupart des algues brunes, nous avons comparé le spectre RMN ^1H obtenu du produit **A** avec celui du Fucostérol et de l'Isosfucostérol son isomère géométrique. Le Fucostérol se différencie de l'Isosfucostérol par son spectre RMN ^1H . En effet, la position du signal des protons en $\text{C}_{(25)}$ est à 2,2 ppm pour le Fucostérol et 2,83 ppm pour l'Isosfucostérol [35].

L'étude comparative des déplacements chimiques du Fucostérol, de l'Isosfucostérol et le produit **A** montre que ce dernier est le Fucostérol.

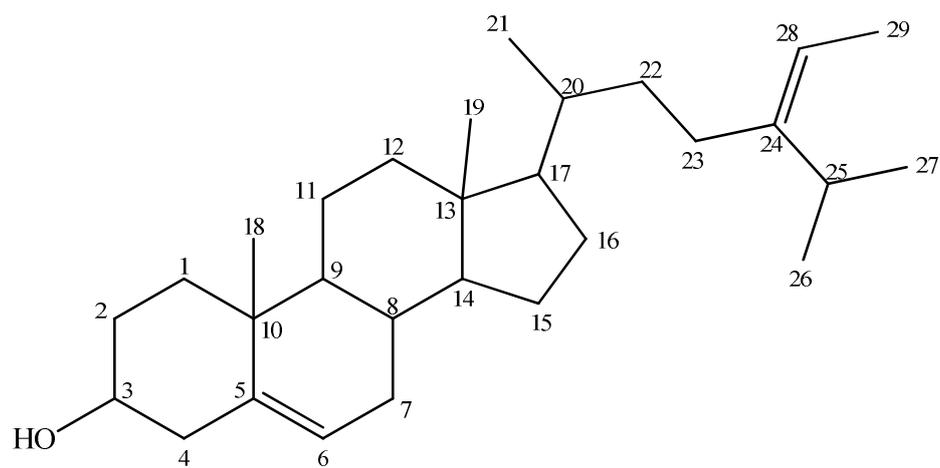


Figure II.15 : Fucostérol (Produit **A**).

Position	Carbone	δ_C RMN ^{13}C (ppm)	δ_H RMN 1H (ppm)
1	CH ₂	37	1,38 1,13
2	CH ₂	31,9	1,56 1,31
3	CH C-O <u>H</u>	71,82	2,8 3,5 (m)
4	CH ₂	42	2,26 1,99
5	C	140,76	-
6	CH	121,73	5,35 (m)
7	CH ₂	31,9	2,02 1,79
8	CH	31,66	1,47
9	CH	50,11	1,46
10	C	37,25	-
11	CH ₂	22,13	1,52 1,27
12	CH ₂	39,75	1,56 1,31
13	C	42,3	-
14	CH	56,74	1,4
15	CH ₂	25,67	1,6 1,35
16	CH ₂	24,33	1,6 1,35
17	CH	55,57	1,47
18	CH ₃	18,75	0,68 (s)
19	CH ₃	11,85	1 (s)
20	CH	36,43	1,64
21	CH ₃	19,41	0,98 (d)
22	CH ₂	34,79	1,54
23	CH ₂	28,25	1,86
24	C	147	-
25	CH	35,22	2,52
26	CH ₃	21,08	1,06 (d)
27	CH ₃	21,08	1,06 (d)
28	CH	115,56	5,19
29	CH ₃	13,19	1,57 (d)

Tableau II.13 : Valeurs de RMN 1H et ^{13}C pour produit **A**.

6.4.2. Produit **B** :

Ce produit, isolé de l'extrait étheré de *Bifurcaria bifurcata*, se présente sous forme d'une huile jaunâtre, il est monotâche en CCM dans le système d'éluant Ether de pétrole / Acétate d'éthyle 5/5 et son $R_f = 0,45$. L'analyse de ce produit par la résonance magnétique nucléaire du proton dans $CDCl_3$ à 300 MHz donne le spectre RMN 1H (Annexe 3).

L'analyse de ce spectre montre que ce produit est constitué d'un mélange de molécules diterpéniques dont le Bifurcane est le produit majoritaire. La présence du Bifurcane est confirmée par les déplacements chimiques du radical furanyl apparus dans le spectre tels que : $\delta = 7,34$ ppm, $\delta = 7,21$ ppm et $\delta = 6,28$ ppm. ^[36-38] Le tableau II.14 présente les déplacements chimiques des protons de Bifurcane. Ces derniers semblables à ceux observés par le produit **B**.

Finalement, le produit **B** nécessite d'autres techniques de purification et d'analyse pour qu'il soit bien caractérisé, mais malheureusement, il présente une faible quantité.

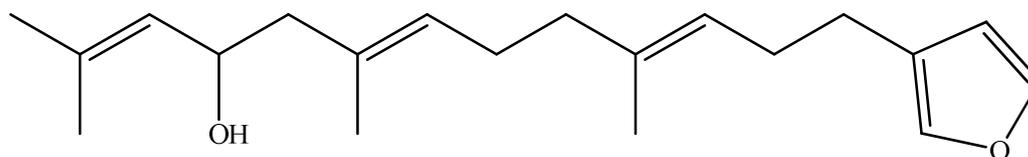


Figure II.16 : Bifurcane.

H	δ_H RMN ^1H (ppm)
1	7,34
2	6,28
3	2,47
4	2,24
5	5,17
6	2,03
7	2,12
8	5,21
9	2,13
10	4,41
11	5,16
12	1,72
13	1,69
14	1,66
15	1,59
16	7,21

Tableau II.14 : Déplacement chimiques de RMN ^1H du Bifurcane ^[37].

6.4.3. Produit C :

Le produit C, issu de l'extrait étheré de *Cystoseira tamariscifolia*, se présente sous forme d'une huile jaunâtre. Il est monotâche en CCM dans le système d'éluant Isooctane / A.E (6/4) et son $R_f = 0,4$. La révélation de ce composé par le réactif de Gibbs révèle la présence d'un noyau phénolique.

- **Spectre UV-visible :**

Le spectre UV-visible du produit C, enregistré dans l'éthanol présente trois longueurs d'onde d'absorption maximum à 214 nm, 224 nm et 289 nm. Les deux premières longueurs d'onde sont caractéristiques d'un noyau hydroquinonique et la dernière longueur d'onde confirme la présence d'une fonction carbonyle (α,β) insaturée.

- **Spectre infrarouge :**

Le spectre infrarouge enregistré du produit C sur pastille de NaCl montre la présence des bandes d'absorption suivantes :

- ✓ Une bande large centrée à 3400 cm^{-1} attribuable à la vibration de la liaison OH.
- ✓ Des bandes intenses entre 2800 et 3000 cm^{-1} correspondant à la vibration de valence (C-H) des groupes $-\text{CH}_3$ et $-\text{CH}_2-$.
- ✓ Une bande intense située à 1680 cm^{-1} due à la vibration de valence C=O d'une fonction cétone non conjuguée.
- ✓ Deux bandes à 1620 cm^{-1} et à 1600 cm^{-1} relatives à la vibration de valence C=C et montrant l'existence de doubles liaisons aromatiques.

- **Spectre RMN :**

Le spectre R.M.N ^1H du produit C pris dans CDCl_3 à 400 MHz, est comparable à celui de la Méthoxybifurcarénone (Annexe 4).

Dans le spectre RMN ^1H du composé C, on note :

- ✓ La présence d'un noyau méthylhydroquinonique méthoxylé représenté par : un singulet à $\delta = 2,26$ ppm d'un méthyle, un singulet à $\delta = 3,73$ ppm caractéristique

d'un groupement méthoxyle fixé sur le noyau aromatique et deux doublets à $\delta = 6,49$ ppm et à $\delta = 6,56$ ppm, dus à des protons aromatiques.

- ✓ La présence d'un groupe méthylène benzylique apparaît dans le spectre sous forme d'un multiplet centré à $\delta = 3,33$ ppm.
- ✓ La présence d'un proton H fixés sur une double liaison apparaît sous forme d'un triplet large centré à $\delta = 5,31$ ppm.
- ✓ La présence de deux protons éthyléniques fixés sur une double liaison conjuguée à une cétone représentés sous forme de deux doublet aux $\delta = 6,61$ ppm et $\delta = 6,81$ ppm.
- ✓ La présence de deux protons de deux groupes méthyle fixés sur les carbones en position 16 et 17 représentés par des singulets aux $\delta = 1,31$ ppm et $\delta = 1,33$ ppm.

L'enregistrement du spectre de RMN ^{13}C (Annexe 5), réalisé à 125 MHz en découplage total des protons, révèle l'existence de 28 atomes de carbone. L'expérience DEPT nous permet de distinguer les carbones primaires, secondaires, tertiaires et quaternaires. Nous avons ainsi :

- ✓ Sept signaux attribuables 3 des groupements méthyle situés à : $\delta_{(7')} = 16,55$ ppm, $\delta_{(20)} = 16,72$ ppm, ppm, $\delta_{(19)} = 20,18$ ppm, $\delta_{(18)} = 21,20$ ppm, $\delta_{(16/17)} = 29,35$ ppm, et $\delta_{(8')} = 55,62$ ppm.
- ✓ Six signaux correspondants aux groupements méthylène des carbones en position (9), (10), (1), (4), (8) et (6). Les déplacements chimiques respectifs sont : $\delta_{(9)} = 20,02$ ppm, $\delta_{(10)} = 36,85$ ppm, ppm, $\delta_{(1)} = 30,66$ ppm, $\delta_{(4)} = 47,36$ ppm, $\delta_{(8)} = 34,26$ ppm, et $\delta_{(6)} = 55,73$ ppm.
- ✓ Cinq signaux attribués aux atomes de carbone sp^2 en position (2), (3'), (5'), (13) et (14) de déplacement chimique : $\delta_{(2)} = 127,86$ ppm, $\delta_{(3')} = 113,04$ ppm, $\delta_{(5')} = 114,07$ ppm, $\delta_{(13)} = 122,6$ ppm et $\delta_{(14)} = 152,88$ ppm.
- ✓ Cinq signaux à champ faible attribuables à la résonance des carbones sp^2 en position (1'), (2'), (3), (4') et (6') dont les déplacements chimiques sont : $\delta_{(1')} = 146,59$ ppm, $\delta_{(2')} = 128,06$ ppm, $\delta_{(3)} = 130,72$ ppm, $\delta_{(4')} = 153,14$ ppm et $\delta_{(6')} = 126,24$ ppm.

- ✓ Trois signaux à champ fort correspondant à la résonance des carbones sp^3 en position (7), (11) et (15) dont les déplacements chimiques sont situés respectivement à $\delta_{(7)} = 59,95$ ppm, $\delta_{(11)} = 46,81$ ppm et $\delta_{(15)} = 71,06$ ppm.

Les résultats obtenus de RMN ^1H et RMN ^{13}C du produit **C** (Méthoxybifurcarénone) sont regroupés dans le tableau II.15.

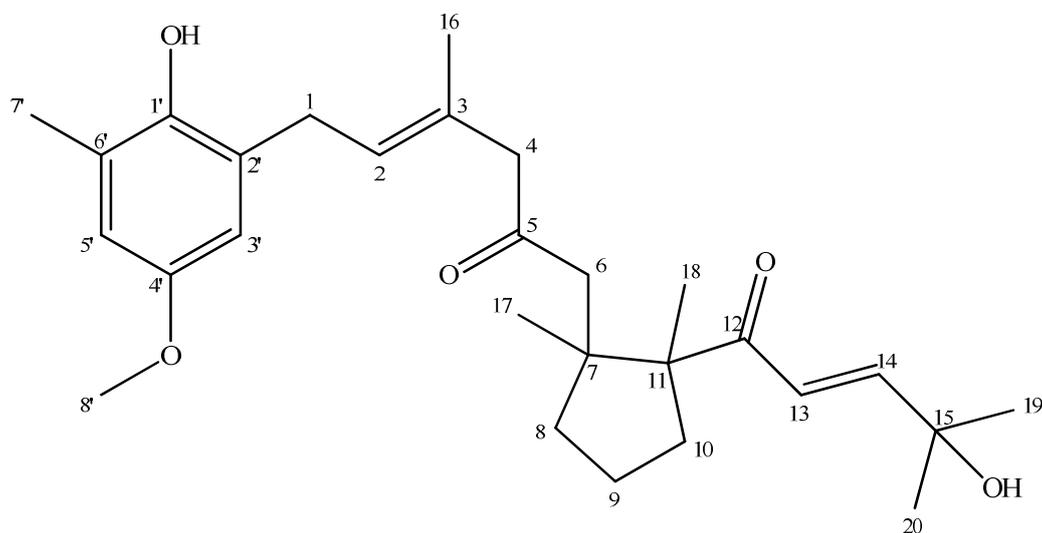


Figure II.17 : Produit **C** (Méthoxybifurcarénone).

Position	Carbone	δ_C RMN ^{13}C (ppm)	δ_H RMN ^1H (ppm)
1	CH ₂	30,66	3,33
2	CH	127,86	5,31(t)
3	C	130,72	-
4	CH ₂	47,36	3,02 (s)
5	C	209,33	-
6	CH ₂	55,73	2,41 (d) 2,31 (d)
7	C	59,96	-
8	CH ₂	34,26	1,88 (m)
9	CH ₂	20,02	1,68 (m)
10	CH ₂	36,85	1,50 (m)
11	C	46,82	-
12	C	204,83	-
13	CH	122,6	6,61 (d)
14	CH	152,88	6,81 (d)
15	C	71,07	-
16	CH ₃	16,72	1,71 (s)
17	CH ₃	20,18	1,14 (s)
18	CH ₃	21,20	1,13 (s)
19	CH ₃	29,35	1,33 (s)
20	CH ₃	29,35	1,33 (s)
1'	C	146,59	-
2'	C	128,06	-
3'	CH	113,04	6,56 (d)
4'	C	153,14	-
5'	CH	114,07	6,49 (d)
6'	C	126,24	-
7'	CH ₃	16,55	2,26 (s)
8'	OCH ₃	55,62	3,73 (s)

Tableau II.15 : Valeurs de RMN ^1H et ^{13}C pour produit **C**.

7. Activités antibactériennes des produits isolés :

Les différents produits isolés A, B et C ont subi le test antibactérien vis-à-vis de *Klebsiella pneumoniae* et d'*Enterobacter cloacae*. Ils ont été testés à une concentration de 1mg/mL. Les résultats obtenus (Tableau II.16) montrent que tous les produits présentent des activités antibactériennes intéressantes.

Produit	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
<u>A</u>	++	++
<u>B</u>	+	++
<u>C</u>	++	++

Légende : - : pas d'inhibition, + : diamètre d'inhibition inférieur à 10mm, ++ : diamètre d'inhibition compris entre 10 et 15mm, +++ : diamètre d'inhibition supérieur à 15mm.

Tableau II.16 : Test antibactérien vis-à-vis de *Klebsiella pneumoniae* et d'*Enterobacter cloacae* des produits A, B et C.

Conclusion :

Cette partie a concerné l'étude des potentialités pharmacologiques des algues marines du genre *Cystoseira* de la côte atlantique de Casablanca. Nous avons réalisés des activités biologiques sur les deux algues marines *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata*, et aussi d'autres travaux biodirigés et chimiodirigés sur les extraits éthers de *Bifurcaria bifurcata* et de *Cystoseira tamariscifolia*.

Les résultats obtenus ont montré que les deux algues marines possèdent des perspectives très intéressantes, et pouvant faire l'objet de plusieurs applications pharmaceutiques et biologiques et ceci par l'étude des différentes fractions organiques des deux algues qui se sont montrées susceptibles de fournir des molécules biologiquement actives.

L'extrait étheré de *Bifurcaria bifurcata* et l'extrait étheré de *Cystoseira tamariscifolia* ont fait l'objet d'un travail de purification et d'identification des métabolites secondaires contenus dans ces deux algues. Les différentes étapes de purifications successives ont été effectuées à l'aide de plusieurs méthodes chromatographiques (CCM, CC, HPLC). Les métabolites purs ainsi obtenus ont ensuite été identifiés à l'aide de méthodes d'analyses spectroscopiques (UV-visible, Infrarouge, RMN ¹H et RMN ¹³C) afin de déterminer la structure chimique de chacun. Trois produits ont été caractérisés parmi lesquels : le Fucostérol, stérol majoritaire chez la plupart des algues brunes et la Méthoxybifurcarénone.

En ce qui concerne le produit **B**, les techniques chromatographiques utilisés se sont avérées insuffisantes pour purifier la molécule majoritaire. Aussi, l'étude effectuée par l'analyse RMN ¹H montre que ce produit contient le Bifurcane comme molécule majoritaire.

A l'issue de ces travaux, il paraît important de poursuivre la recherche de molécules originales à partir de ces deux algues et aussi d'autres substances marines. Il est également recommandé d'étudier d'autres activités in vitro et in vivo à des fins thérapeutiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

[1] J. Mann.

‘Murder, Magic, and Medicine’, Oxford University Press, 2nd edition, pp 256. (2000)

[2] J. Gonzales.

‘Initiation à l’histoire de la médecine’, Editions Heures de France, pp 190. (1997)

[3] A. Abourriche.

‘Etude chimique et potentialités pharmacologiques de l’ascidie simple *Cynthia savigni* et de l’algue brune *Cystoseira tamariscifolia* de la cote atlantique Marocaine. Synthèse et valorisation biologique de nouveaux alcaloïdes à base de la 8-hydroxyquinoléine’, Thèse d’Etat, Université Hassan II, Casablanca, Maroc, pp 191. (1999)

[4] M.D. Luque de Castro, L.E. García-Ayuso.

‘Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future’, *Analytica Chimica Acta*, Vol 369, pp 1-10. (1998)

[5] Lansing-M Prescott, John-P Harley, Donald-A Klein.

‘Microbiologie’, 2^{ème} édition, De Boeck, pp 1162. (2003)

[6] J.P. Larpent, J.J. Sanglier.

‘Biotechnologie des antibiotiques’, édition Masson, pp 496. (1989)

[7] M. Schaechter

‘*Escherichia Coli*’, *Encyclopedia of Microbiology* (Third Edition), pp 125-132. (2009)

[8] M. Mallaé, V. Simonet, E. Lee, R. Gervier, E. Collatz, L. Gutmann, J. M. Pagès.

‘Biological and immunological comparisons of *Enterobacter cloacae* and *Escherichia coli* porins’, *FEMS Microbiology Letters*, Vol 129, pp 273-279. (1995)

[9] H. Baudrand, B.H.M. Ngahane, M. Marcu, N. Freymond, Y. Pacheco, G. Devouassoux.

‘Pneumopathie communautaire abcédée à *Klebsiella pneumoniae*’, *Revue des Maladies Respiratoires*, Vol 26, pp 773-778. (2009)

[10] L.G. Miller, S. L. Kaplan.

‘*Staphylococcus aureus* : A Community Pathogen’, *Infectious Disease Clinics of North America*, Vol 23, pp 35-52. (2009)

[11] C. Perez, M. Paul, P. Bazerque.

‘An antibiotic assay by the agar well diffusion method’, *Acta Biologiae et Medicinae Experimentalist*, Vol 15, pp 113–115. (1990)

[12] L.S. Roberts, J. Janovy, G.D. Schmidt.

‘Gerald D. Schmidt & Larry S. Roberts' foundations of parasitology’, 6th edition, McGraw-Hill, pp704. (1999)

[13] J.P. Dedet.

‘‘Les Leishmanioses’’, Editions AUPELF-UREFF, Ellipses Paris, pp 249. (1999)

[14] D. Botero, M. Restrepo.

‘‘Parasitosis humanas’’, Corporación para Investigaciones biológicas, 4a edición, Medellín Colombia, pp 491. (2006)

[15] J.P. Dedet.

‘‘Geographical distribution of leishmaniasis’’, journal de Médecine et Maladies Infectieuses, Vol 31, pp 178-183. (2001)

[16] M. Ouellette, M. Olivier, S. Sato, B. Papadopoulou.

‘‘Le parasite Leishmania à l’ère de la post-génomique’’, Société de la revue médecine/sciences et Éditions EDK, Vol 19, pp. 900-909. (2003)

[17] Z. Dardari.

‘‘Activités antibactérienne, antifongique et antileishmanienne de deux dérivés hétérocycliques : une pyrazole et une 8-hydroxyquinoline’’, Thèse doctorat, Université Hassan II, Casablanca, Maroc. (2004)

[18] R. Nejjar, M. Lemrani, A. Malki, S. Ibrahimy, H. Amarouch, A. Benslimane.

‘‘ Canine leishmaniasis due to Leishmania infantum MON-1 in northern Morocco’’, journal Parasite, Vol 5, pp 325-330. (1998)

[19] M. Lemrani, R. Nejjar, F. Pralong.

‘‘ A new Leishmania tropica zymodeme: causative agent of canine visceral leishmaniasis in northern Morocco’’, Annals of tropical medicine and parasitology, Vol 96, pp 637-638. (2002)

[20] J. Berman.

‘‘Current treatment approaches to leishmaniasis’’, Current Opinion in Infectious Diseases, Vol 16, pp 397-401. (2003)

[21] C.P. Thakur¹, A.K. Pandey, G.P. Sinha¹, S. Roy¹, K. Behbehani, P. Olliaro.

‘‘Comparison of three treatment regimens with liposomal amphotericin B (AmBisome®) for visceral leishmaniasis in India : a randomized dose-finding study’’, Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene Vol 90, pp 319-322. (1996)

[22] S.L. Croft, M.P. Barrett, J.A. Urbina.

‘‘Chemotherapy of trypanosomiasis and leishmaniasis’’, Trends in Parasitology, Vol 21, pp 508-512. (2005)

[23] A. Dutta, S. Bandyopadhyay, C. Mandal, M. Chatterjee.

‘‘Development of a modified MTT assay for screening antimonial resistant field isolates of Indian visceral leishmaniasis’’, Parasitology International, Vol 54, pp 119-122. (2005)

[24] P. Agnew, P. Holzmüller, Y. Michalakis, D. Sereno, J.L. Lemesre, F. Renaud.

‘‘In vitro Growth of *Leishmania amazonensis* Promastigotes Resistant to Pentamidine Is Dependent on Interactions among Strains’’, American Society For Microbiology, Vol 45, pp 1928-1929. (2001)

[25] R. De Felício, S. De Albuquerque, M.C.M. Young, N.S. Yokoya, H.M. Deboni.

“Trypanocidal, leishmanicidal and antifungal potential from marine red alga *Bostrychia tenella* J. Agardh (*Rhodomelaceae*, Ceramiales)”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol 52, pp 763-769. (2010)

[26] Y. Freile-Pelegrin, D. Robledo, M.J. Chan-Bacab, B.O. Ortega-Morales.

“Antileishmanial properties of tropical marine algae extracts”, *Fitoterapia*, Vol 79, pp 374-377. (2008)

[27] W.J. Slichenmeyer, E.K. Rowinsky, R.C. Donehower, S.H. Kaufman.

“The current status of camptothecin analogues as antitumor agents”. *Journal of the National Cancer Institute*, Vol 85, pp 271-91. (1993)

[28] F. Guéritte-Voegelein, D. Guénard, P. Potier.

“Substances anticancéreuses d'origine végétale. Les poisons du fuseau : vincalécoblastine, leurocristine et Navelbine, taxol et taxotère”, *Comptes rendus des séances de la Société de biologie et de ses filiales*, Vol 168, pp 433-440. (1992)

[29] A.T. Van Oosterom, D. Schriivers.

“Docetaxel (Taxotere(R)), a review of preclinical and clinical experience. Part II: clinical experience”, Vol 6, pp 356-368. (1995)

[30] J.M. Pezzuto, C.T. Che, D.D. McPherson, J.P. Zhu, G. Topcu, C.A.J. Erdelmeier, G.A. Cordell.

“DNA as an Affinity Probe Useful in the Detection and Isolation of Biologically Active Natural Products”, Vol 54, pp 1522-1530. (1991)

[31] F. Ramade.

“Ecotoxicologie”, Masson, 2^{ème} édition Paris, France, pp 228. (1979)

[32] Y. Le Gal, F. Gros.

“Biochimie marine”, Edition Masson, Paris, France, pp 285. (1988)

[33] P. Vanhaecke, G. Persoone, C. Claus, P. Sorgeloos

“Proposal for a short-term toxicity test with *Artemia nauplii*”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol 5, pp 382-387. (1981)

[34] M.H. Moshafi, F. Sharififar, G. Dehghan, A. Ameri.

“Bioassay Screening of the Essential Oil and Various Extracts of Fruits of *Heracleum persicum* Desf. and Rhizomes of *Zingiber officinale* Rosc. using Brine Shrimp Cytotoxicity Assay”, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, Vol 8, pp 59-63. (2009).

[35] A. Bennamara.

“Défense chimique des algues brunes de la famille des *Cystoseiraceae* : caractérisation structurales des mérodiptérenes chez *Cystoseira tamariscifolia*, Synthèse du tris de praséodyme, réactif RMN de déplacement chimique, pour l'analyse des acides gras des algues brunes *Cystoseira gibraltarica* et *Cystoseira tamariscifolia*”, Thèse d'Etat, Université Hassan II, Casablanca, Maroc, pp 188. (1994)

[36] R. Valls, L. Pioveti, B. Banaigs, A. Archavlis, M. Pellegrini.

“(S)-13-hydroxygeranylgeraniol-derived furanoditerpenes from *Bifurcaria bifurcata*”,
Phytochemistry, Vol 39, pp145 – 149. (1995)

[37] G. Culioli.

“Isolement et détermination structurale de nouveaux diterpènes linéaires de l'algue brune *Bifurcaria bifurcata* (Velley) Ross, Chimiotaxonomie du genre *Bifurcaria Stackhouse*”, Thèse Doctorat, Université de Toulon, La Garde, France. (1999)

[38] R. Valls.

“Séparation, identification, étude spectroscopique de métabolites secondaires d'algues brunes (Cystoseiracées). Dosage-Variations-Chimiotaxonomie”, Thèse d'Etat, Tome 1, Université d'Aix-Marseille 3, Aix-en-Provence, France. (1993)

3^{ÈME} PARTIE :

**Elaboration de nouveaux matériaux adsorbants à partir de
Cystoseira tamariscifolia et de *Bifurcaria bifurcata*.
Application environnementale : utilisation des matériaux élaborés
pour l'élimination du Chrome**

Introduction :

L'eau de la planète se répartit approximativement de la manière suivante ^[1,2] : l'eau salée (97,2 %), les eaux souterraines (0,63 %), les glaces polaires (2,15 %), les eaux de surface (lacs, fleuves, rivières) (0,02 %) et l'eau atmosphérique : 0,001 %.

Si seuls les produits naturels étaient véhiculés par nos eaux, si divers soient-ils, ils restaient dans le cycle de la vie et tout le mécanisme d'autoépuration s'effectuait normalement. Mais les choses ont bien changé aujourd'hui où notre civilisation technique déverse dans nos précieuses eaux des produits artificiels de toutes sortes.

La tâche actuelle du spécialiste en traitement des eaux ne consiste pas uniquement à appliquer des principes connus, étant donné que la croissance démographique et l'industrialisation ont augmenté la quantité et la diversité des déchets rejetés dans les rivières et les lacs, ce qui donne naissance à de nouveaux problèmes. Les virus, les métaux lourds (Zn, Cd, Pb, Cr, Cu, Ni, Fe,...), et les micropolluants engendrent autant de cas que le spécialiste doit résoudre techniquement et de façon économique. ^[3]

L'objectif de cette partie est d'évaluer la capacité d'adsorption du chrome sur des supports obtenus à partir des algues marines. Le choix de ces derniers repose surtout sur des considérations purement économiques, car nous sommes toujours à la recherche de matériaux naturels n'ayant pas une utilité évidente afin de les exploiter pour des tâches bien spécifiques, soit à l'état brut ou après certaines opérations ne nécessitant pas de grands investissements en apport d'énergie ou de matière. L'objectif principal est de valoriser cette ressource naturelle marine et de l'utiliser pour la dépollution des eaux et la préservation de l'équilibre écologique.

1. La pollution et les principaux types de polluants :

1.1. La pollution :

La pollution de l'eau est une altération de sa qualité et de sa nature qui rend son utilisation dangereuse et (ou) perturbe l'écosystème aquatique. Elle peut concerner les eaux superficielles (rivières, plans d'eau) et/ou les eaux souterraines. Elle a pour origines principales, l'activité humaine, les industries, l'agriculture et les décharges de déchets domestiques et industriels.^[4]

1.1.1. La pollution des eaux :

Elle se manifeste principalement, dans les eaux de surface, par :

- Une diminution de la teneur en oxygène dissous : les matières organiques, essentielles à la vie aquatique en tant que nourriture, peuvent devenir un élément perturbateur quand leur quantité est trop importante. Parmi les substances qui entraînent une importante consommation d'oxygène, notons en particulier les sous-produits rejetés par l'industrie laitière, le sang rejeté par l'industrie de la viande, les déchets contenus dans les eaux usées domestiques, ... Cette diminution de l'oxygène dissous peut provoquer dans certains cas des mortalités importantes de poissons.

- La présence de produits toxiques (rejetés sous différentes formes) : Ces substances provoquent des effets qui peuvent être de deux formes : effet immédiat ou à court terme conduisant à un effet toxique brutal et donc à la mort rapide de différents organismes et effet différé ou à long terme, par accumulation au cours du temps, des substances chez certains organismes. La plupart des produits toxiques proviennent de l'industrie chimique, de l'industrie des métaux, de l'activité agricole et des décharges de déchets domestiques ou industriels.^[5]

- Une prolifération d'algues : bien que la présence d'algues dans les milieux aquatiques soit bénéfique pour la production d'oxygène dissous, celles-ci peuvent proliférer de manière importante et devenir extrêmement gênantes en démarrant le processus d'eutrophisation. Les algues se nourrissent de matières minérales c'est-à-dire de phosphore sous forme de phosphate, ainsi qu'azote (ammonium, nitrates et azote gazeux), de carbone (gaz carbonique) et d'autres éléments minéraux. La présence excessive de ces éléments est essentiellement liée aux activités humaines, à l'agriculture et à l'industrie.^[6]

- Une modification physique du milieu récepteur : le milieu peut être perturbé par des apports aux effets divers : augmentation de la turbidité de l'eau (ex. lavage de matériaux de sablière ou de carrière), modification de la salinité (ex. eaux d'exhaure des mines de sel), augmentation de la température (ex. eaux de refroidissement des centrales nucléaires).
- La présence de bactéries ou virus dangereux : les foyers domestiques, les hôpitaux, les élevages et certaines industries agro-alimentaires rejettent des germes susceptibles de présenter un danger pour la santé.

L'ensemble des éléments perturbateurs décrits ci-dessus parviennent au milieu naturel de deux façons différentes : par rejets bien localisés (villes et industries) à l'extrémité d'un réseau d'égout ou par des rejets diffus (lessivage des sols agricoles, des aires d'infiltration dans les élevages, décharges, ...). L'introduction dans le sous-sol provoque une pollution des eaux souterraines qui est caractérisée par une propagation lente et durable (une nappe est contaminée pour plusieurs dizaines d'années) et une grande difficulté de résorption ou de traitement. ^[6]

1.1.2. La pollution naturelle :

La teneur de l'eau en substances indésirables n'est pas toujours le fait de l'activité humaine. Certains phénomènes naturels peuvent également y contribuer. Par exemple, le contact de l'eau avec les gisements minéraux peut, par érosion ou dissolution, engendrer des concentrations inhabituelles en métaux lourds, en arsenic, ... Des irrptions volcaniques, des épanchements sous-marins d'hydrocarbures... peuvent aussi être à l'origine de pollutions. ^[7]

1.1.3 La pollution industrielle :

Si la pollution domestique des ressources est relativement constante, les rejets industriels sont, au contraire, caractérisés par leur très grande diversité, suivant l'utilisation qui est faite de l'eau au cours du processus industriel. ^[7]

Selon l'activité industrielle, on va donc retrouver des pollutions aussi diverses que :

- Des matières organiques et des graisses (abattoirs, industries agro-alimentaires...),
- Des hydrocarbures (industries pétrolières, transports),
- Des métaux (traitements de surface, métallurgie),

- Des acides, bases, produits chimiques divers (industries chimiques, tanneries...),
- Des eaux chaudes (circuits de refroidissement des centrales thermiques),
- Des matières radioactives (centrales nucléaires, traitement des déchets radioactifs).

Parmi les industries considérées traditionnellement comme rejetant des matières particulièrement polluantes pour l'eau, on citera, notamment, les industries agro-alimentaires, papetières, la chimie, les traitements de surface, l'industrie du cuir, ...^[7]

1.2. Les principaux types de polluants :

Les matières organiques fermentescibles (MOF) constituent, de loin, la première cause de pollution des ressources en eaux. Ces matières organiques (déjections animales et humaines, graisses, ...) sont notamment issues des effluents domestiques, mais également des rejets industriels (industries agro-alimentaires, en particulier). La première conséquence de cette pollution réside dans l'appauvrissement en oxygène des milieux aquatiques, avec des effets bien compréhensibles sur la survie de la faune.^[8]

Les éléments minéraux nutritifs (nitrates et phosphates), provenant pour l'essentiel de l'agriculture et des effluents domestiques, mobilisent également l'attention des acteurs impliqués dans la gestion de l'eau. Ils posent en effet des problèmes, tant au niveau de la dégradation de l'environnement résultant d'un envahissement par les végétaux (eutrophisation...), que des complications qu'ils engendrent lors de la production de l'eau potable.^[8]

Les métaux lourds (mercure, cuivre, cadmium, ...) constituent un problème préoccupant lorsqu'ils sont impliqués dans la pollution des ressources en eau. Non seulement leur toxicité peut être fort dommageable pour le milieu aquatique, mais leur accumulation au fil de la chaîne alimentaire pourrait avoir des effets plus ou moins graves sur la santé humaine.^[8-9]

La pollution des eaux par les composés organiques de synthèse (produits phytosanitaires) s'est accrue au cours des dernières décennies, notamment sous l'effet du développement de l'activité agricole. La présence de concentrations trop élevées de pesticides dans certaines ressources complique, comme dans le cas des nitrates, les processus de production de l'eau potable. Par ailleurs, ces substances peuvent s'accumuler au fil de la chaîne alimentaire.

Les hydrocarbures peuvent contaminer les ressources en eau selon différentes modalités : rejets industriels, rejets des garages et stations-service, ruissellement des chaussées, effluents domestiques. ^[8-9]

2. Les métaux lourds :

De nos jours, le problème des métaux lourds est devenu préoccupant. Une caractéristique commune des effluents industriels est liée au fait qu'ils contiennent presque toujours des métaux toxiques. La protection de l'environnement impose de limiter les teneurs de ces métaux au maximum admis. Plusieurs procédés de traitement ont été essayés pour éliminer ces polluants.

Bien que le terme « métaux lourds » soit abondamment utilisé, et ce même dans la littérature scientifique, il n'a pas de réelle définition scientifique ou juridique unanimement reconnue. Certains auteurs définissent les métaux lourds selon leur densité minimale (de 3,5 à 6 g/cm³), d'autres, en fonction de leur masse atomique ou de leur numéro atomique. Le terme métal lourd impliquant une notion de toxicité, il est souvent utilisé pour l'arsenic (métalloïde) ou le sélénium (non-métal).

Parmi les éléments les plus couramment désignés par le terme métal lourd on retrouve : le vanadium, le chrome, le cobalt, le nickel, le cuivre, le zinc, l'arsenic, le sélénium, le plomb, le cadmium, le mercure, ... Le terme « éléments traces » est aussi souvent utilisé pour décrire ces mêmes éléments, car ils se retrouvent souvent en très faible quantité dans les solides. ^[10]

2.1. Utilité des métaux lourds :

La problématique des métaux lourds repose sur le fait qu'ils sont très utiles, voire indispensables à l'homme. En effet, par leurs propriétés, ils entrent dans la composition d'une grande variété de produits et se retrouvent à de nombreux niveaux : métallurgie, chimie, pharmacie, énergie, ... Il semble donc assez difficile de s'en passer et de les substituer. ^[10-11]

2.1.1. Arsenic :

L'arsenic a été largement utilisé en agriculture et dans l'industrie pour éliminer une multitude d'organismes ou en réduire le nombre. Les traitements fongicides pour les semences et l'application d'insecticides sur les cultures sont des exemples d'utilisations, dont

certaines ont été abandonnées. Aujourd'hui, l'arsenic et ses dérivés sont employés dans les applications suivantes : traitement du bois sous pression, fabrication d'émail et de céramique en verrerie, durcissement des alliages de cuivre et de plomb en métallurgie. Parmi les applications secondaires de l'arsenic, on peut citer les feux d'artifice, les micropuces et les éléments « photoélectriques » dans l'industrie de l'électronique où l'arséniure de gallium représente un nouveau semi-conducteur très prometteur. ^[12]

2.1.2. Cadmium :

Le cadmium est récupéré lors de l'élaboration du zinc, du plomb et du cuivre. Appliqué en couche mince, il protège l'acier contre la corrosion. Il constitue les plaques négatives des accumulateurs au nickel-cadmium. Le cadmium entre dans la composition d'alliages dont il abaisse le point de fusion et d'alliages antifriction. Absorbant fortement les neutrons lents, le cadmium est utilisé pour la commande des réacteurs nucléaires et le blindage d'appareils de mesure. Les sels de cadmium sont employés dans la photographie, la fabrication des feux d'artifice, les caoutchoucs, la porcelaine, ... Les oxydes de cadmium sont utilisés dans l'industrie chimique, pour la galvanoplastie, dans les accumulateurs électriques, comme stabilisants pour matières plastiques, et pigment pour émaux. ^[13]

2.1.3. Chrome :

Le chrome, est utilisé sous forme de chromite ($\text{FeO} \cdot \text{Cr}_2\text{O}_3$) dans l'industrie métallurgique et dans l'industrie chimique. On le trouve également sous la forme de ferrochrome, utilisé pour la production d'aciers inoxydables et d'alliages divers. Le chrome est également employé comme pigment pour la peinture, le caoutchouc, le papier, l'encre d'imprimerie, ou encore pour le tannage des peaux. Réalisé industriellement depuis 1920, le chromage est utilisé pour donner un aspect décoratif et assurer une bonne résistance à la corrosion atmosphérique. ^[14]

2.1.4. Mercure :

On obtient le mercure par grillage du cinabre (sulfure de mercure). Il se combine avec d'autres métaux pour former des alliages, appelés amalgames. Il permet d'extraire l'or et l'argent avec lesquels il se combine. On l'emploie dans la fabrication de thermomètres, baromètres, pompes à vides, lampes et redresseurs à vapeurs de mercure. Il sert à l'étamage

des glaces, à la fabrication de colorants, il entre dans la composition des cosmétiques, des adhésifs, des filtres des systèmes à air conditionné, ... ^[15]

2.1.5. Cuivre :

Le cuivre est un oligo-élément nécessaire à la vie, mais qui peut présenter des effets toxiques à partir d'un certain seuil de concentration. Les sources de cuivre les plus importantes sont les épandages des boues résiduaires, les lisiers, des produits phytosanitaires, ... ^[16]

2.1.6. Cobalt :

La terre, les poussières, l'eau de mer, les éruptions volcaniques et les feux de forêt sont tous des sources naturelles de cobalt. Il est aussi libéré dans les milieux naturels par les fumées de charbon et de pétrole, les gaz d'échappement des véhicules, des avions, et les procédés industriels qui emploient du cobalt ou ses composés. ^[16]

2.1.7. Nickel :

Le nickel est surtout utilisé pour la fabrication d'alliages durs, malléables et résistants à la corrosion, d'enduits, de pièces de monnaie, des catalyseurs, d'appareils et instruments pour laboratoires de chimie, de thermophiles, d'accumulateurs Ni-Cd, des matériaux magnétiques, des colorants de céramiques et de verres. ^[16]

2.1.8. Zinc :

Le zinc métallique est employé principalement pour la galvanisation du fer et de l'acier afin d'empêcher la corrosion et l'oxydation. Le zinc métallique est également coulé sous pression pour des composantes de véhicules à moteur, des équipements électriques, des outils, du matériel de quincaillerie, des jouets de d'autres objets de fantaisie. ^[16]

2.2. Impact des métaux lourds sur les écosystèmes :

Une quantité importante de métaux lourds est introduite dans l'environnement par l'intermédiaire de sources naturelles et humaines. Cette contamination a plusieurs origines telles que la combustion de fossiles, les gaz d'échappement des véhicules, l'incinération, l'activité minière, l'agriculture et les déchets liquides et solides. Mais elle peut également être

d'origine naturelle via les volcans, l'activité des sources thermales, l'érosion, l'infiltration, etc. Le cadmium, l'arsenic, et surtout le mercure et le plomb sont introduits dans l'environnement, de façon quasi exclusive par l'homme. Il est assez difficile de prévoir l'évolution de ces métaux dans l'environnement, car ils peuvent subir un grand nombre de transformations (oxydation, réduction, complexation, ...), qui dépendent fortement du milieu. [17]

2.2.1. Contamination des sols :

Les métaux peuvent être soit mobiles, soit fixés dans les roches et les sédiments. Dans le deuxième cas, les quantités disponibles sont négligeables et ils n'ont aucune signification sur l'environnement. Mais lorsque les conditions changent de telle manière que les métaux redeviennent solubles, l'augmentation de la concentration devient alors une menace directe pour l'environnement du fait de l'augmentation de leur disponibilité pour les plantes. [18] En outre, depuis quelques années, les pluies acides augmentent la mobilité des métaux dans le sol et causent donc une augmentation de leur concentration dans les produits agricoles.

2.2.2. Contamination de l'air :

Les métaux lourds dans l'air peuvent se trouver principalement sous deux formes : soit sous forme gazeuse pour certains composés métalliques volatiles dont la pression de vapeur saturante est élevée (c'est le cas du mercure même à température ambiante), soit sous forme de composés métalliques solides, déposés sur les très fines particules ou poussières formées lors des phénomènes de combustion. C'est le cas du plomb sur les particules formées dans les moteurs à explosion et le cas de tous les métaux sur les particules formées dans les incinérateurs d'ordures ménagères.

Les effets biologiques, physiques et chimiques de ces particules dépendent de la taille des particules, leur concentration et leur composition. Le paramètre le plus effectif sur l'environnement est la taille de ces particules. Dans l'air ambiant, on trouve de nombreux éléments, comme le plomb, le cadmium, le zinc, le cuivre, ..., dont la concentration est d'autant plus élevée que les particules sont fines. [19]

2.2.3. Contamination de l'eau :

Les principales sources de contamination de l'eau sont les eaux usées domestiques et industrielles, la production agricole, les polluants atmosphériques, les anciennes décharges, l'utilisation de substances dangereuses pour l'eau, la navigation, ... ^[10]

En effet, leur migration vers la nappe phréatique dépend de nombreux paramètres :

- La forme chimique initiale du métal.
- La perméabilité du sol et du sous-sol.
- La porosité du sol.
- Le pH : dans un milieu acide, les métaux risquent de se solubiliser, alors que dans un milieu alcalin, ils peuvent former des hydroxydes métalliques.
- L'activité biologique : certains micro-organismes ont la capacité d'ingérer des métaux, alors que d'autres les solubilisent par acidogénèse.
- Le potentiel redox du sol.
- La composition minéralogique et la teneur en matières organiques du sol formation de composés et complexation des métaux par les substances humiques.

2.2.4. Impact sur l'homme :

L'homme qui peut se trouver à tous les échelons du cycle de répartition des métaux lourds dans l'environnement, va en absorber par différentes voies et devenir lui-même réservoir de métaux lourds avec des conséquences probables sur sa santé. C'est ce passage des métaux lourds de l'état de polluants du sol, de l'air et des eaux à celui d'éléments toxiques absorbés en quantité suffisante qui peut nuire à la santé de l'homme. Ces polluants peuvent atteindre l'homme par passage à travers la peau, ingestion ou par inhalation. ^[11]

2.2.4.1. Absorption par voie respiratoire :

Les métaux dans l'air (gaz ou fines particules) peuvent pénétrer dans les voies respiratoires lors d'une inhalation normale et, si la taille des particules le permet, atteindre les alvéoles pulmonaires, véritables échangeurs air/sang, d'où ils diffusent (gradient de concentration) dans la voie circulatoire et sont solubilisés dans le sang de la personne exposée. Présents dans la circulation sanguine, les métaux peuvent alors atteindre tous les organes, ce qui fait de la voie respiratoire une voie de contamination de premier ordre.

2.2.4.2. Absorption par voie orale :

La bioaccumulation qui se transmet tout au long de la chaîne alimentaire, contribue à l'exposition de l'homme à des quantités dangereuses de métaux lourds par son alimentation. Pour tous les métaux lourds, il est possible de trouver une plante ou un animal appartenant à la chaîne alimentaire de l'homme qui sert d'accumulateur de ces métaux. A l'inverse, il existe très peu d'espèces capables de détoxiquer ou d'éliminer efficacement ces métaux lourds de la chaîne alimentaire. Par conséquent, lorsqu'un bioaccumulateur de métaux lourds apparaît dans la chaîne alimentaire, ses effets sur la teneur finale des aliments se poursuivent jusqu'à l'homme. Si on ajoute à cela que l'homme lui-même ne possède pas de métabolisme efficace des métaux lourds susceptible de les éliminer, on comprend comment peut survenir la toxicité chez l'homme par voie orale.

2.2.5. Normes et réglementation :

Depuis la Conférence des Nations Unies sur l'environnement et le développement, connue sous le nom : sommet « Planète Terre » organisé au Rio de Janeiro (Brésil) en juin 1992, le Maroc a accompli d'importants progrès en matière d'amélioration des connaissances de l'état de l'environnement et de la caractérisation des pollutions qu'il subit. Une stratégie de protection de l'environnement et de développement durable, visant l'intégration de la dimension environnementale dans les plans de développement socio-économique du Maroc, a été ainsi adoptée dès 1995.

Depuis cette date, la prise d'initiative des décideurs, de la société civile et du secteur privé se développe pour améliorer l'état de connaissance de l'environnement et la préparation d'un cadre législatif favorable à la maîtrise de la dégradation des ressources naturelles.

L'adoption de normes est donc nécessaire et se justifie également par le fait que le Maroc a ratifié plusieurs conventions internationales et régionales se rapportant à l'environnement. Au terme de ces conventions, les parties contractantes dont le Maroc s'engage à prendre des mesures législatives, réglementaires et institutionnelles pour honorer les engagements souscrits.

Un système de normes et standards nationaux souples permettant des niveaux d'application progressifs et des décrets d'application évolutifs ont été élaborés par le Secrétariat d'Etat

Chargé de l'Environnement du Ministère de l'Aménagement du Territoire de l'Eau et de l'Environnement marocain.

Les normes de qualité des eaux destinées à l'irrigation (Tableau III.1) et des eaux de surface (Tableau III.2) ont été élaborées en se basant généralement sur des études réelles et des données de la documentation nationale ou internationale disponible. Ces normes tiennent compte de l'évaluation des impacts de la pollution sur les écosystèmes aquatiques en général ou de la toxicité vis-à-vis de l'homme.^[20]

Substance	Hg	Cd	As	Cr	Pb	Cu	Zn	Co	Fe	Mn	Ni
Valeurs limites (mg/l)	0,001	0,01	0,1	0,1	5	0,2	2	0,05	5	0,2	0,2

Tableau III.1 : Normes de qualité des eaux destinées à l'irrigation.
(Bulletin Officiel N°5062 2002) ^[20]

Types	Substances	Unités	Classe 1	Classe 2	Classe 3	Classe 4
			Excellente	Bonne	Moyenne	Mauvaise
Substances indésirables	Fe	mg/l	≤ 0,5	0,5 – 1	1 – 2	2 – 5
	Cu	mg/l	≤ 0,02	0,02-0,05	0,05 – 1	>1
	Zn	mg/l	≤ 0,5	0,5 – 1	1 – 5	>5
	Mn	mg/l	≤ 0,1	0,1 – 0,5	0,5 - 1	>1
Substances toxiques	As	µg/l	≤ 10	≤ 10	10 – 50	>50
	Cd	µg/l	≤ 3	≤ 3	3 – 5	>5
	Cr	µg/l	≤ 50	≤ 50	≤ 50	>50
	Pb	µg/l	≤ 10	≤ 10	10 – 50	>50
	Hg	µg/l	≤ 1	≤ 1	<1	>1
	Ni	µg/l	≤ 20	≤ 20	20 – 50	>50

Tableau III.2 : Normes de qualité des eaux de surface.
(Bulletin Officiel N°5062 2002) ^[20]

3. Généralités sur le chrome :

3.1. Abondance naturelle du chrome et source de pollution :

La concentration moyenne en chrome de la croûte continentale est de 125 mg /Kg avec des valeurs généralement comprises entre 80 et 200 mg/Kg. ^[21] Il est largement présent dans les roches ignées où le chrome trivalent peut se substituer au fer (III) car leur rayons ioniques sont très proches ($r_{\text{Fe(III)}} = 0,067 \text{ nm}$ et $r_{\text{Cr(III)}} = 0,064 \text{ nm}$). Il se substitue aussi au fer (II) et à l'aluminium (III) dans d'autres minéraux, comme dans les tourmalines, les micas et les agrégats. Les traces de chrome sont souvent responsables de la couleur de ces minéraux comme le vert de l'émeraude et le rouge du rubis. La teneur en chrome des sols est largement dépendante de leur nature. La concentration moyenne d'un sol est autour de 40 mg/Kg avec des variations entre 10 et 150 mg/Kg.

Roches/Minéraux	Basaltes	Gabbros	Argiles	Micas	Feldspaths	Quartz
Cr (mg/Kg)	300-400	450	150-200	50	5-25	5

Tableau III.3 : Concentrations moyennes en chrome dans différents Minéraux. ^[22]

3.2. Chrome et l'industrie :

Dans les industries chimiques, ce sont surtout les bichromates qui sont les plus employés. Les sels hexavalents, totalement solubles, sont utilisés en tannerie, dans la peinture et la teinture, les explosifs, la céramique, le traitement du bois (As-Cu-Cr) de même que par l'industrie papetière. Les sels trivalents sont utilisés comme mordants en teinture, en céramique, en verrerie et en photographie. Cependant, le stockage inadapté et des structures défaillantes sont à l'origine de graves pollutions industrielles, le sol étant le plus touché avec 900.10^3 tonnes de chrome rejeté par an. Viennent ensuite les eaux de surface qui récupèrent environ 140.10^3 tonnes par an et l'atmosphère avec 30.10^3 tonnes par an. ^[22-23]

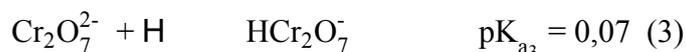
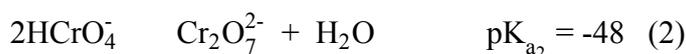
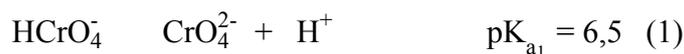
3.3. Etats d'oxydation du chrome :

Le chrome peut exister sous plusieurs formes de valence pouvant aller de -2 à +6. Les formes les plus couramment rencontrées avec les valeurs de pH et de potentiel redox trouvées dans l'environnement sont les formes Cr (VI) et Cr (III). La forme Cr (III) est considérée comme la plus stable dans l'environnement. ^[23]

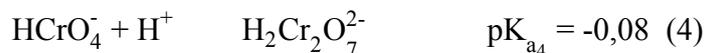
3.3.1. Chrome hexavalent, chrome (VI) :

Le chrome (VI) est un puissant oxydant, on le trouve sous forme d'oxyanions qui sont très solubles dans l'eau. Mise en solution aqueuse, la spéciation du chrome est relativement complexe du fait de l'existence d'un équilibre entre une forme basique, le chromate CrO_4^{2-} et les différentes formes acides.

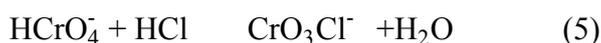
Les différents équilibres existant entre les espèces du chrome (VI) ont été décrits dans la littérature ^[24] :



En milieu très acide, en présence d'acide nitrique ou d'acide perchlorique, on peut avoir la formation de H_2CrO_4 :



En présence d'acide chlorhydrique, à $\text{pH} < 0,5$, la forme acide prédominante est CrO_3Cl^- :



Il existe également un équilibre de dimérisation représenté par l'équation (2). Cet équilibre entre la forme monomère HCrO_4^- et le dimère $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ne dépend pas du pH dans la zone de pH compris entre 2 et 4,5, mais uniquement de la concentration totale du chrome (VI). Les concentrations de chaque espèce peuvent être calculées à partir de l'équation suivante ^[24] :

$$K_d = \frac{[\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}]}{[\text{HCrO}_4^-]} = 48 \quad (6)$$

Dans les conditions généralement rencontrées dans des eaux polluées au chrome, l'ion chromate est prédominant. Ainsi pour une concentration en chrome de l'ordre de 5 mg/L à pH= 7, le rapport $[\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}]$ sur $[\text{CrO}_4^{2-}]$ est égal à 0,04. C'est pour cette raison que la chimie de l'environnement se limite souvent à l'étude de l'ion chromate plutôt que de l'ion bichromate.

La solubilité du chrome (VI) dans l'eau peut être très importante mais tout dépend du cation auquel il est associé. K_2CrO_4 présente une solubilité de 38,96 g/L à 20°C alors que les sels PbCrO_4 , CaCrO_4 et BaCrO_4 présentent des solubilités beaucoup moins importantes de l'ordre de $5 \cdot 10^{-6}$ à 18 °C et $5 \cdot 10^{-2}$ g/L à 25°C respectivement. ^[24]

3.3.2. Le chrome trivalent, chrome (III) :

Le chrome trivalent est la forme la plus stable mais ayant des propriétés chimiques plus complexes que le chrome hexavalent. Il forme notamment de nombreux complexes de coordination, souvent de symétrie octaédrique ou pseudo octaédrique. Parmi les ligands suivants OH^- , SO_4^{2-} , CO_3^{2-} et NO_3^- , seul OH^- se complexe de façon significative avec le chrome (III) aux concentrations retrouvées dans l'environnement. Dans les conditions environnementales courantes le chrome (III) se trouve en solution aqueuse sous forme de Cr^{3+} , $\text{Cr}(\text{OH})^{2+}$, $\text{Cr}(\text{OH})_3$ et $\text{Cr}(\text{OH})_4^-$. Les formes ioniques donnent une coloration verte aux solutions. La solubilité de la forme solide $\text{Cr}(\text{OH})_3$, c'est à dire la concentration de $\text{Cr}(\text{OH})_3$ aux pH normaux, est connue pour être très faible. Certains composés, notamment les composés organiques, peuvent former des complexes avec le chrome trivalent, ainsi sa précipitation réaliser à des faibles valeurs de pH.

La spéciation du chrome (VI) et (III) dépend de plusieurs paramètres comme le pH, leur concentration et la disponibilité en ligand. Dans les milieux naturels, le chrome hexavalent est principalement sous la forme de CrO_4^{2-} et la majeure partie du chrome trivalent est incluse dans des hydroxydes ou dans des complexes avec les ligands organiques.

Si la réduction du chrome hexavalent est possible dans l'environnement dans les conditions réductrices rencontrées dans de nombreux milieux peu oxygénés, l'oxydation du chrome (III) est moins courante car elle exige la présence d'un couple de potentiel redox plus élevé que celui du couple Cr (VI)/Cr (III). Il est généralement admis que l'oxydation du chrome(III) ne se produit pas dans les sols, sauf s'ils sont riches en oxyde de manganèse. Cependant les concentration en Cr^{3+} en solution sont quasiment nulles dans les conditions environnementales courantes car le chrome trivalent précipite presque complètement sous forme de $\text{Cr}(\text{OH})_3$ ou de CrO H , souvent conjointement avec le fer à des pH compris entre 5,5 et 12. Le chrome trivalent, ainsi immobilisé physiquement sur la matrice du sol ou bien sédimenté dans les milieux liquides, est alors protégé de l'oxydation. A des pH inférieurs à 5, le Cr (III) est présent sous forme cationique et peu s'adsorber sur des sites échangeurs de cations. ^[22-24]

3.4. La toxicité du chrome :

Le chrome hexavalent, du fait de sa solubilité, s'est retrouvé en interaction avec beaucoup d'organismes aquatiques et terrestres sans oublier l'homme. ^[25-26]

3.4.1. Chez les micro-organismes :

La présence du métal chrome peut être tolérée par certains micro-organismes. Par contre, à de fortes concentrations le chrome (VI) a des effets toxiques et mutagènes. 10 à 12 mg de chrome (VI) par litre peuvent inhiber le développement de bactéries du sol alors que les mêmes concentrations en chrome (III) n'ont aucun effet sur ce développement. Le chrome a un effet sur les bactéries saprophytes et nitrifiantes, sur les champignons filamenteux, les algues et sur le phytoplancton. ^[25]

3.4.2. Chez les végétaux :

Comme pour les micro-organismes, le chrome ne semble pas être essentiel à la vie des plantes. Sa toxicité vis à vis du règne végétal est rare dans les systèmes naturels. Certaines plantes poussent sur des sites hautement contaminés en chrome. Certains auteurs s'accordent à dire qu'il n'y a pas d'absorption du chrome par les végétaux mais seulement une absorption racinaire sans passage vers les autres parties de la plante.

Cependant, une étude récente a montré que la jacinthe d'eau cultivée en milieu riche en chrome hexavalent était capable de se reproduire au niveau de ses racines. Le chrome (III) est alors stocké au niveau de celles-ci mais aussi dans d'autres parties de la plante comme les feuilles et le pétiole, sous forme libre ou complexée avec l'oxalate. La capacité détoxifiante de cette plante permet d'envisager son utilisation pour la phytoremédiation des rivières, marécages ou lagunes pollués en chrome (VI).^[27-28]

3.4.3. Chez les hommes et les animaux :

A l'état de trace, le chrome est un oligo-élément essentiel pour l'homme et les animaux, il est associé au métabolisme du glucose par son action sur l'insuline et serait aussi impliqué dans le métabolisme des graisses. Le chrome métallique est biologiquement inerte. Il est admis que c'est la forme trivalente qui est la forme nutritionnelle. La déficience en chrome se traduit par une augmentation de l'insuline circulante, du cholestérol du sérum, des triglycérides et de l'apolipoprotéine B et par la diminution de la tolérance au glucose.

Les recommandations journalières sont de 25 µg par jour pour les femmes et de 33 µg par jour pour les hommes. Pour les enfants, l'apport journalier doit être compris entre 10 et 40 µg par jour. Les sources alimentaires sont les fruits, les légumes, la levure de bière, le foie, les champignons et les céréales. La viande rouge, la volaille, le poisson et les laitages en contiennent peu.

La forme hexavalente n'est pas la source nutritionnelle car elle est très toxique et mutagène. En principe, l'homme et l'animal absorbent peu le chrome par inhalation, mais pour l'essentiel au travers des aliments et de l'eau potable. Les complexes organiques sont absorbés à raison de 20-25% et le chrome inorganique à raison de 0,5% environ. Cependant, les complexes chromiques absorbés avec les aliments sont relativement inoffensifs tandis que les chromates sont fortement toxiques. La résorption dans le tube intestinal dépend beaucoup

de la structure chimique du chrome. La toxicité du chrome (VI) vient de sa grande facilité à traverser les membranes biologiques et de ses propriétés mutagènes et de puissant oxydant. [27-29]

3.5. Réduction du chrome (VI) en chrome (III) en solution aqueuse :

Le chrome VI, sous sa forme de HCrO_4^- , peut oxyder la forme réduite de tous les couples dont le potentiel standard est inférieur à 1,35 V. Par conséquent la réduction du chrome VI peut avoir lieu en condition standard en présence de fer (II) puisque le potentiel standard du couple fer(III)/fer (II) est de 0,77 V. La présence de composés soufrés réducteur ou de la matière organique tels que les acides fulviques et humiques augmente la réduction du chrome (VI) surtout si le taux d'oxygène est faible. La réduction de chrome (VI) peut être aussi photochimique ou biologique. [30]

3.6. Mobilité du chrome dans le sol :

La mobilité du chrome dans les sols dépend du pH et du potentiel d'oxydoréduction qui détermine la spéciation du métal et la capacité d'échange cationique (pour le Cr(III)) ou anionique (pour le Cr(VI)), ainsi que la présence d'agents chélatant organiques ou minéraux. Compte tenu de la quasi insolubilité de son hydroxyde $\text{Cr}(\text{OH})_3$ et de son oxy-hydroxyde CrO_2H et de la forte capacité de sorption cationique des sols et des sédiments, le chrome trivalent est quasi immobile dans la plus part des milieux naturels.

Cependant, dans les milieux oxydants pauvres en matières organiques et où les oxydes de manganèses sont présents en grande quantité, la forme hexavalente du chrome peut être la plus stable, laquelle est soluble sur une large gamme de pH. Ce sont alors les phénomènes de sorption sur les oxydes chargés positivement qui sont prépondérants dans sa rétention. La sorption regroupe tous les phénomènes de rétention de soluté à la surface des solides impliquant par exemple des mécanismes d'échange d'ions, de complexation de surface et de précipitation de surface. Le phénomène de sorption du chrome sans modification de sa valence existe mais il est généralement moins important que les phénomènes d'oxydoréduction. [31]

4. Elimination du chrome par *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata* :

4.1. Mécanismes d'élimination des métaux lourds :

La figure III.1 ^[32-33] illustre les principales interactions entre un atome (ou une molécule) et un solide. Les processus physico-chimiques à l'interface solide/liquide, qui peuvent permettre le piégeage des métaux lourds, sont indiqués sur la figure suivante :

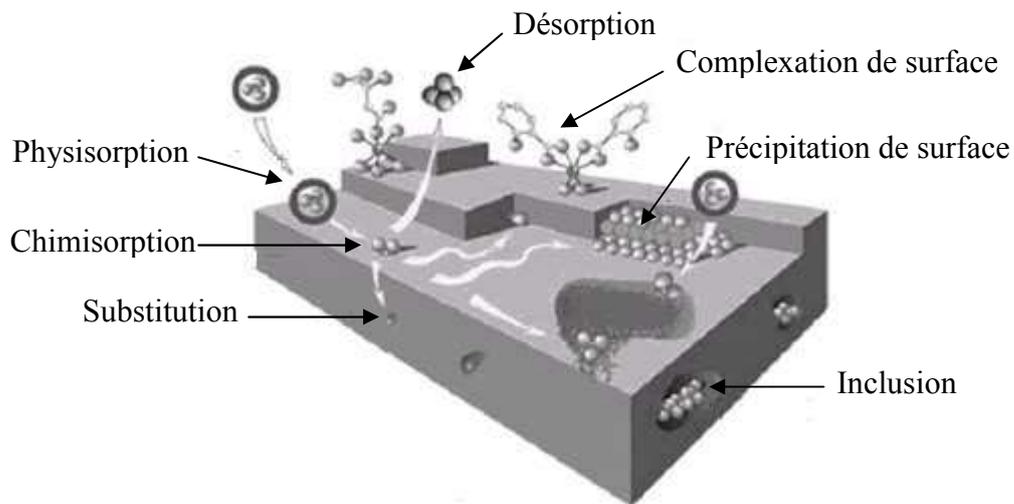


Figure III.1 : Les principaux mécanismes de rétention.

4.1.1. L'adsorption :

L'adsorption est un phénomène très connu, il s'agit de la fixation d'une molécule d'une surface liquide ou gazeuse sur la surface (interne ou externe) d'un matériau solide. Ce dernier est appelé adsorbant et l'espèce adsorbée est appelée adsorbat.^[32] L'adsorption d'une substance sur la surface d'un solide dépend principalement des propriétés texturales et structurales de ce dernier, et en particulier le nombre et la forme des pores ainsi que la nature des fonctions de surface. On appelle désorption la transformation inverse de l'adsorption, par laquelle les molécules ou les atomes adsorbés se détachent du substrat. On distingue deux types d'adsorption, selon les mécanismes mis en jeu :

- **Adsorption physique (ou physisorption) :**

Elle est attribuable à l'attraction électrostatique d'un soluté par une surface polarisée, afin de maintenir l'électroneutralité. Les énergies de liaisons mises en jeu sont relativement faibles, du type force de Van der Waals. Les espèces ainsi adsorbées gardent les molécules d'eau qui leur sont associées. Plusieurs couches d'atomes ou de molécules peuvent se déposer de cette manière. L'adsorption physique est généralement facilement réversible [32]. La faculté d'un matériau à retenir des cations par adsorption physique est appelée C.E.C. (Capacité d'Echange Cationique).

- **Adsorption chimique (ou chimisorption) :**

Dans ce cas, la molécule adhère à la surface par des liaisons ioniques ou covalentes. Elle est souvent difficilement réversible et engendre une couche mono-moléculaire. Cette liaison est spécifique, c'est-à-dire qu'elle n'est possible qu'entre éléments ayant une configuration électronique adaptée [38]. On parle de complexation de surface lorsqu'un ion métallique réagit avec un groupement anionique qui fonctionne comme un ligand inorganique (comme OH⁻, Cl⁻, SO₄⁻, CO₃²⁻), ainsi ces sites de surface forment des liaisons chimiques avec les ions en solution.

4.1.2. La précipitation :

C'est le passage d'une espèce de l'état dissout à l'état solide. Les métaux peuvent précipiter dans l'eau des pores ou à la surface des particules solides. Dans un milieu naturel, les métaux précipitent principalement sous forme d'hydroxyde, de carbonates, de phosphates ou de sulfures. Les équilibres de précipitation sont gouvernés par les produits de solubilité (K_s) :

$$K_s = A \cdot B^x$$

Où (A) et (B) représentent les activités des espèces dans le liquide et x et y leur stœchiométries respectives. Le solide précipite quand le produit de solubilité est dépassé.

4.1.3. Substitution dans le réseau cristallin :

Un atome peut se substituer à un autre dans le réseau cristallin ; sa charge et sa taille doivent alors être similaires. C'est, par exemple, le cas d'un ion métallique incorporé dans le réseau cristallin lors de sa précipitation, ou bien qui diffuse dans le solide pour combler un vide ou remplacer un atome du solide.

4.1.4. Inclusion (piégeage mécanique) :

Il s'agit d'impuretés piégées mécaniquement dans des pores non débouchant lors de la croissance des minéraux. Cela peut être sous forme dissoute ou solide. Un élément métallique retenu à la surface d'un matériau (physisorption, complexation, précipitation, chimisorption) sera plus rapidement mis en solution et donc présentera davantage de risques de toxicité que s'il est inséré dans le réseau cristallin du matériau.

4.2. Isothermes d'adsorption :

Brunauer, Deming, Deming et Teller ^[34] ont proposé une classification des isothermes d'adsorption en cinq types. Voici les conditions qui mènent à leur apparition (Figure III. 2) :

- **Les isothermes de type I :**

On les rencontre quand l'adsorption est limitée à seulement quelques couches moléculaires, au plus. Cette situation se rencontre en chimisorption où l'approche asymptotique vers une quantité limitante indique que tous les sites sont occupés. Dans le cas de la physisorption, les isothermes de type I se rencontrent avec des supports microporeux dont la taille des pores ne dépasse pas quelques diamètres moléculaires de l'adsorbât. Une molécule de gaz, lorsqu'elle est à l'intérieur de pores de faibles dimensions, rencontre un potentiel supplémentaire de la part des parois du pore qui augmentent la quantité adsorbée à des pressions relativement basses. A des pressions plus hautes, les pores sont remplis par de l'adsorbât adsorbé ou condensé conduisant au plateau où seule une légère adsorption a lieu une fois les pores remplis (voire aucune). Une physisorption de type I indique que les pores sont microporeux et que la surface est essentiellement composée de ces micropores, qui, une fois remplis d'adsorbât, ont peu de surface externe disponible pour une adsorption supplémentaire (voire aucune).

- **Les isothermes de type II :**

Ils se traduisent fréquemment lorsque l'adsorption a lieu sur des supports non poreux ou avec des diamètres de pores plus grands que des micropores. Le point d'inflexion de l'isotherme arrive d'habitude près du remplissage complet de la première monocouche adsorbée, et, avec l'augmentation de la pression relative, les couches suivantes sont remplies jusqu'à ce que le nombre de couches soit infini.

- **Les isothermes de type III :**

Ils sont caractérisés principalement par des chaleurs d'adsorption inférieures à la chaleur de liquéfaction de l'absorbât. Ainsi, au cours du processus, l'adsorption complémentaire est facilitée parce que l'interaction de l'absorbât avec une couche adsorbée est plus grande que l'interaction avec la surface adsorbante.

- **Les isothermes de type IV :**

Ils arrivent sur des absorbants poreux possédants des pores dans une gamme de rayon d'environ 15 – 1000 Å. L'augmentation de la pente aux pressions plus élevées indique une assimilation accrue d'absorbât au moment où les pores sont remplis. Comme pour le type II, l'inflexion du type IV arrive généralement près de la fin de la première monocouche.

- **Les isothermes de type V :**

Ils résultent d'un faible potentiel d'interaction adsorbât – adsorbant semblable aux isothermes de type III. Cependant, les isothermes de type V sont aussi associées aux pores dans la même gamme que ceux du type IV.

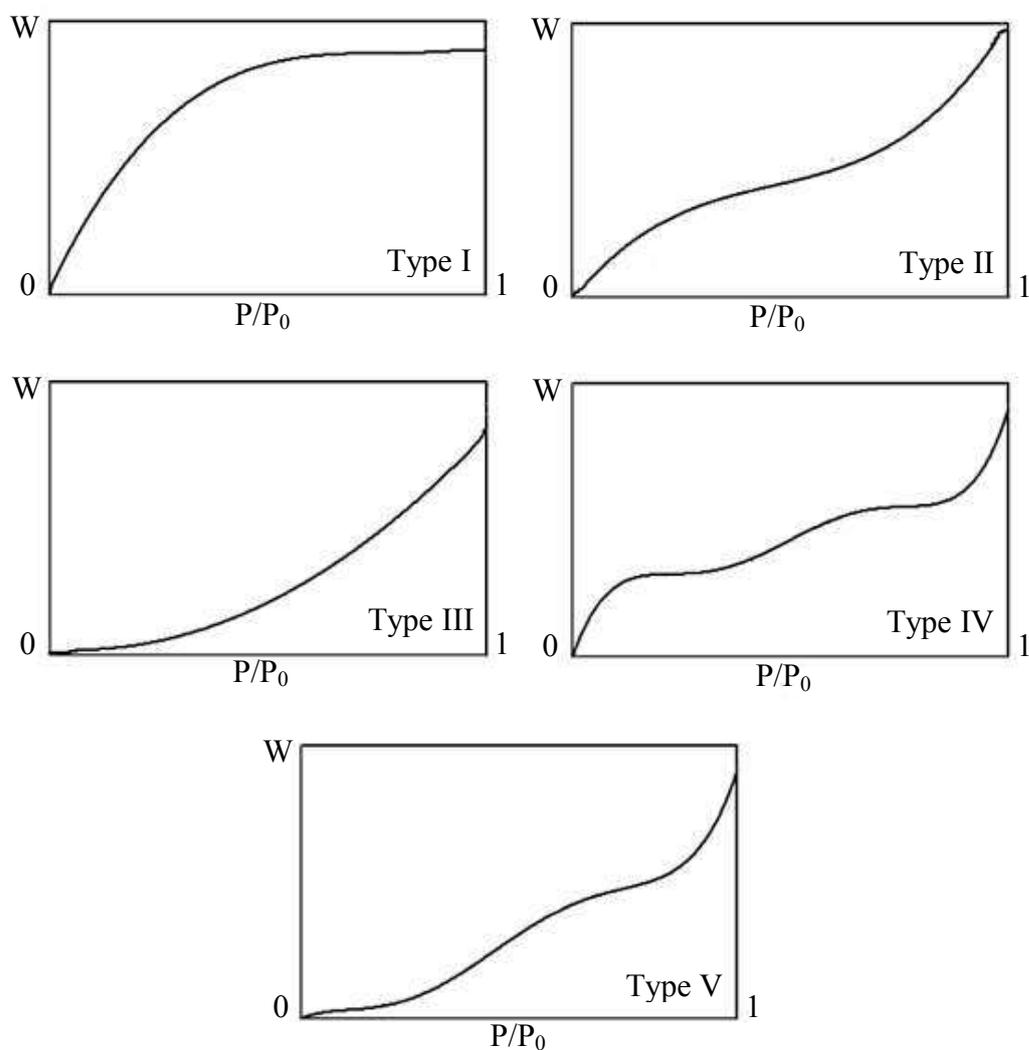


Figure III.2 : Cinq types d'isothermes d'adsorption.

4.3. Approche théorique de l'adsorption :

4.3.1. Approche théorique de la cinétique d'adsorption:

L'ensemble de la littérature ^[35-37] sur le sujet considère que la sorption à l'interface liquide/solide, avec une réaction localisée dans des pores (adsorbants, échangeurs d'ions, catalyseurs, ...), comprend cinétiquement trois étapes importantes :

- La diffusion à travers le film entourant les particules solides d'adsorbant, appelée encore « diffusion externe ».
- La diffusion dans les pores de l'adsorbant, dite « diffusion intra-particulaire ».
- La réaction d'adsorption et de désorption proprement dite « réaction de surface ».

Il existe plusieurs modèles cinétiques pour étudier le mécanisme d'adsorption, ceux qu'on a testés dans notre étude sont :

- Modèle de puissance fractionnaire.
- Modèle de premier Ordre.
- Modèle d'Elovich.
- Modèle du pseudo deuxième ordre.
- Modèle de zéro ordre.
- Modèle du pseudo premier ordre.
- Modèle de deuxième Ordre.
- Modèle de la diffusion intra-particule.

On note que tous les modèles de la cinétique sont des équations qui donnent la quantité adsorbé q_t en fonction du temps t :

$$q_t = \frac{V \cdot (C_0 - C_t)}{m}$$

Avec :

- C_0 : la concentration initiale de l'adsorbat.
- C_t : la concentration résiduelle à l'instant t de l'adsorbat.
- m : la masse de l'adsorbant
- V : le volume de l'adsorbat.

Dans la partie pratique on symbolise la fraction m sur V par w qui exprime la masse de l'adsorbant sur le volume de l'adsorbat :

$$w = \frac{m}{V}$$

4.3.1.1. Modèle de puissance fractionnaire :

Le modèle de puissance fractionnaire ^[38] est représenté par l'équation suivante :

$$q_t = k_p \cdot t^v$$

Où :

- k_p et v : constantes du modèle de puissance fractionnaire.

La linéarité du modèle donne :

$$\text{Ln } q_t = v \cdot \text{Ln } t + \text{Ln } k_p$$

4.3.1.2. Modèle de zéro ordre :

Le modèle de zéro ordre ^[39] est représenté par l'équation suivante :

$$q_t = -k_0 \cdot t + q_{e,0}$$

Où :

- k_0 : constante de vitesse pour une cinétique de zéro ordre.
- $q_{e,0}$: capacité d'adsorption à l'équilibre.

4.3.1.3. Modèle de premier Ordre :

Le modèle de premier ordre ^[40] est représenté par l'équation suivante :

$$q_t = q_{e,1} - e^{-k_1 \cdot t}$$

Où :

- k_1 : constante de vitesse pour une cinétique du premier ordre.
- $q_{e,1}$: capacité d'adsorption à l'équilibre.

La linéarité du modèle donne :

$$\text{Ln } q_t = \text{Ln } q_{e,1} - k_1 \cdot t$$

4.3.1.4. Modèle du pseudo premier ordre :

Lagergren (1898) ^[41] a proposé un modèle cinétique du pseudo premier ordre exprimée par la relation suivante :

$$q_t = q_{e,1P}(1 - e^{-k_{1P} \cdot t})$$

Où :

- k_{1P} : constante de vitesse pour une cinétique du pseudo premier ordre.
- q_t : capacité d'adsorption à l'instant t .
- $q_{e,1P}$: capacité d'adsorption à l'équilibre.

La linéarité du modèle donne :

$$\text{Ln } q_e - q_t = -k_{1P} \cdot t + \text{Ln } q_{e,1P}$$

4.3.1.5. Modèle d'Elovich :

Le modèle d'Elovich ^[42] est représenté par l'équation suivante :

$$q_t = \frac{1}{\beta_E} \cdot \text{Ln}(\alpha_E \cdot \beta_E \cdot t)$$

Où :

- α_E : le taux d'adsorption initiale en ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}$).
- β_E : constante relié à la surface externe et à l'énergie d'activation de la chimiosorption en ($\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$).

Ce modèle n'apporte pas des hypothèses évidentes pour le mécanisme de rétention. Mais, il est recommandé pour des systèmes hautement hétérogènes.

La linéarité du modèle donne :

$$q_t = \frac{\text{Ln}(\alpha_E \cdot \beta_E)}{\beta_E} + \frac{1}{\beta_E} \cdot \text{Lnt}$$

4.3.1.6. Modèle de deuxième Ordre :

Le modèle de deuxième ordre ^[38] est représenté par l'équation suivante :

$$q_t = \frac{q_{e,2}}{1 + k_2 \cdot q_{e,2} \cdot t}$$

Où :

- k_2 : constante de vitesse pour une cinétique du deuxième ordre.
- q_t : capacité d'adsorption à l'instant t .
- $q_{e,2}$: capacité d'adsorption à l'équilibre.

La linéarité du modèle donne :

$$\frac{1}{q_t} = k_2 \cdot t + \frac{1}{q_{e,2}}$$

4.3.1.7. Modèle du pseudo deuxième ordre :

Le modèle du pseudo deuxième ordre ^[43] suggère l'existence d'une chimisorption, un échange d'électron par exemple entre molécule d'adsorbat et l'adsorbant solide. Il est représenté par la formule suivante :

$$q_t = \frac{k_{2p} \cdot q_{e,2P}^2 \cdot t}{1 + k_{2p} \cdot q_{e,2P} \cdot t}$$

Où :

- k_{2p} : constante de vitesse pour une cinétique du pseudo deuxième ordre.
- q_t : capacité d'adsorption à l'instant t .
- $q_{e,2P}$: capacité d'adsorption à l'équilibre.

La linéarité du modèle donne :

$$\frac{1}{q_t} = \frac{1}{k_{2p} \cdot q_{e,2P} \cdot t} + \frac{1}{q_{e,2P}}$$

4.3.1.8. Modèle de la diffusion intra-particule :

Le modèle de la diffusion intra particule est proposé par Weber et Morris (1963) ^[44]. Il est représenté par l'équation suivante :

$$q_t = k_D \cdot t^{1/2} + C_D$$

Avec :

- k_D : constante de vitesse de la diffusion intra-particule en $(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{1/2})$.
- C_D : constante reliée à la courbe de tendance.

Le tableau III.4 récapitule les différentes expressions des modèles cinétiques qui ont été décrit précédemment.

Modèle	Expression du modèle	Expression linéaire	Tracé
Puissance fractionnaire	$q_t = k_p \cdot t^v$	$\text{Ln } q_t = v \cdot \text{Ln } t + \text{Ln } k_p$	$\text{Ln } q_t$ en fonction $\text{Ln } t$
Zéro ordre	$q_t = -k_0 \cdot t + q_{e,0}$	-	q_t en fonction $-t$
Premier Ordre	$q_t = q_{e,1} - e^{-k_1 \cdot t}$	$\text{Ln } q_t = \text{Ln } q_{e,1} - k_1 \cdot t$	$\text{Ln } q_t$ en fonction t
Pseudo premier ordre	$q_t = q_{e,1P}(1 - e^{-k_{1P} \cdot t})$	$\text{Ln } q_e - q_t = -k_{1P} \cdot t + \text{Ln } q_{e,1P}$	$\text{Ln } q_e - q_t$ en fonction t
Elovich	$q_t = \frac{1}{\beta_E} \cdot \text{Ln}(\alpha_E \cdot \beta_E \cdot t)$	$q_t = \frac{\text{Ln}(\alpha_E \cdot \beta_E)}{\beta_E} + \frac{1}{\beta_E} \cdot \text{Ln } t$	q_t en fonction $\text{Ln } t$
Deuxième Ordre	$q_t = \frac{q_{e,2}}{1 + k_2 \cdot q_{e,2} \cdot t}$	$\frac{1}{q_t} = k_2 \cdot t + \frac{1}{q_{e,2}}$	$\frac{1}{q_t}$ en fonction du t
Pseudo deuxième ordre	$q_t = \frac{k_{2P} \cdot q_{e,2P}^2 \cdot t}{1 + k_{2P} \cdot q_{e,2P} \cdot t}$	$\frac{1}{q_t} = \frac{1}{k_{2P} \cdot q_{e,2P} \cdot t} + \frac{1}{q_{e,2P}}$	$\frac{1}{q_t}$ en fonction $\frac{1}{t}$
Diffusion intra-particule.	$q_t = k_D \cdot t^{1/2} + C_D$	-	q_t en fonction $t^{1/2}$

Tableau III.4 : Principaux modèles cinétiques.

4.3.2. Approche théorique d'isothermes d'adsorption:

Plusieurs auteurs ont proposé des modèles, théoriques ou empiriques et parfois développés, pour décrire la relation entre la quantité adsorbée à l'équilibre et la concentration résiduelle à l'équilibre. Les principaux modèles décrits dans la littérature sont :

- Modèle de Freundlich.
- Modèle de Langmuir.
- Modèle de Dubinin – Radushkevich.
- Modèle de Temkin.
- Modèle de Halsey.

4.3.2.1. Modèle de Freundlich :

Le modèle simple et empirique de Freundlich (1907) ^[45] est le plus communément utilisé. On considère qu'il s'applique à de nombreux cas, notamment dans le cas de l'adsorption multicouche avec possibles interactions entre les molécules adsorbées. Il est représenté par la formule suivante :

$$q_e = K_F \cdot C_e^n$$

K_F est une constante qui est relative à la capacité d'adsorption. Comme C_e est souvent exprimée en $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ et q_e en $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, l'unité de K_F est $\text{mg}^{(1-n)} \cdot \text{L}^n \cdot \text{g}^{-1}$.

La relation entre K_F et la capacité maximum d'adsorption $q_{m,F}$ est :

$$q_{m,F} = K_F \cdot C_0^n$$

La constante n (adimensionnelle) donne une indication sur l'intensité de l'adsorption. Il est généralement admis que des faibles valeurs de n ($0,1 < n < 0,5$) sont caractéristiques d'une bonne adsorption, alors que des valeurs plus élevées révèlent une adsorption modérée ($0,5 < n < 1$) ou faible ($n > 1$). La constante « n » est très souvent remplacée par « $1/n$ » ou facteur d'hétérogénéité.

La forme exploitée la plus courante est le tracé en échelle logarithmique des variations de q_e en fonction de C_e :

$$\text{Ln}q_e = \text{Ln}K_F + n \cdot \text{Ln}C_e$$

4.3.2.2. Modèle de Langmuir :

Le second modèle le plus communément utilisé est celui de Langmuir (1916).^[46] Les hypothèses initiales sont que le solide adsorbant présente une capacité d'adsorption limitée (q_m), que tous les sites actifs sont identiques, qu'ils ne peuvent complexer qu'une seule molécule de soluté (adsorption monocouche) et qu'il n'y a pas d'interactions entre les molécules adsorbées. Ce modèle est représenté par la formule suivante :

$$q_e = \frac{q_{m,L} \cdot K_L \cdot C_e}{1 + K_L \cdot C_e}$$

Quand q_e et $q_{m,L}$ sont exprimées en $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ et C_e en $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, la constante K_L est exprimée en $\text{L} \cdot \text{mg}^{-1}$.

Pour des raisons scientifiques, un autre paramètre R_L peut expliquer le phénomène d'adsorption selon Langmuir tel que :

$$R_L = \frac{1}{1 + K_L \cdot C_0}$$

Notons que R_L une grandeur indiquant si l'adsorption d'autant plus favorable que R_L tend vers zéro ($R_L \rightarrow 0$) et d'autant plus défavorable que R_L tend vers un ($R_L \rightarrow 1$).

La linéarité du modèle donne :

$$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{q_{m,L} \cdot K_L \cdot C_e} + \frac{1}{q_{m,L}}$$

4.3.2.3. Modèle de Dubinin – Radushkevich :

Le modèle de Dubinin-Radushkevich (1947)^[47] ne fait pas l'hypothèse d'une surface homogène ou d'un potentiel d'adsorption constant, comme le modèle de Langmuir. Sa théorie de remplissage du volume des micropores repose sur le fait que le potentiel d'adsorption est

variable et que l'enthalpie libre d'adsorption est reliée au degré de remplissage des pores. L'isotherme de Dubinin-Radushkevich est donnée par l'équation :

$$q_e = q_{m,DR} \cdot e^{-(B \cdot \varepsilon^2)}$$

Avec :

- $q_{m,DR}$: la capacité maximum d'adsorption.
- B : la constante reliée à l'énergie d'adsorption par :

$$E = \frac{1}{B}$$

- ε : le potentiel de Polanyi :

$$\varepsilon = R \cdot T \cdot \ln\left(1 + \frac{1}{C_e}\right)$$

L'équation de Dubinin-Radushkevich devient alors :

$$\ln q_e = \ln q_{m,DR} - \frac{R^2 T^2}{E^2} \left[\ln \left(1 + \frac{1}{C_e} \right) \right]^2$$

4.3.2.4. Modèle de Temkin :

Le modèle de Temkin ^[48] (1940) repose sur l'hypothèse que, lors de l'adsorption en phase gazeuse, la chaleur d'adsorption due aux interactions avec l'adsorbat décroît linéairement avec le taux de recouvrement. C'est une application de la relation de Gibbs pour les adsorbants dont la surface est considérée comme énergétiquement homogène.

L'isotherme de Temkin est donnée par l'équation :

$$q_e = B_T \cdot \ln(K_T \cdot C_e)$$

D'où B_T et K_T sont des constantes de Temkin, avec :

$$B_T = \frac{R \cdot T}{\Delta Q}$$

ΔQ c'est la variation d'énergie d'adsorption.

La forme exploitée la plus courante est le tracé en échelle logarithmique des variations de q_e en fonction d'échelle logarithmique de C_e :

$$q_e = B_T \cdot \text{Ln}K_T + B_T \cdot \text{Ln}C_e$$

La relation entre les constantes de Temkin et la quantité maximum d'adsorption $q_{m,T}$ selon Temkin est :

$$q_{m,T} = B_T \cdot \text{Ln}(K_T \cdot C_0)$$

4.3.2.5. Modèle de Halsey :

Le modèle d'Halsey (1948) ^[49] rend compte d'une adsorption multicouche par paliers, sur une surface uniforme non-poreuse. La hauteur des paliers représente la capacité de chacune des couches adsorbées. Il est exprimé par la relation :

$$q_e = \frac{K_H}{C_e}^{1/n_H}$$

Avec K_H et n_H sont des constantes d'Halsey.

La linéarité du modèle donne :

$$\text{Ln}q_e = \frac{1}{n_H} \cdot \text{Ln}K_H - \frac{1}{n_H} \cdot \text{Ln}C_e$$

La relation entre les constantes de Halsey et la quantité maximum d'adsorption $q_{m,H}$ est :

$$q_{m,H} = \frac{K_H}{C_0}^{1/n_H}$$

Le Tableau III.5 présente les différentes expressions des principaux modèles des isothermes qui ont été décrit précédemment.

Modèle	Expression du modèle	Expression linéaire	Tracé
Freundlich	$q_e = K_F \cdot C_e^n$	$\text{Ln}q_e = \text{Ln}K_F + n \cdot \text{Ln}C_e$	$\text{Ln } q_e$ en fonction $\text{Ln } C_e$
Langmuir	$q_e = \frac{q_{m,L} \cdot K_L \cdot C_e}{1 + K_L \cdot C_e}$	$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{q_{m,L} \cdot K_L \cdot C_e} + \frac{1}{q_{m,L}}$	$\frac{1}{q_e}$ en fonction $\frac{1}{C_e}$
Dubinin – Radushkevich	$q_e = q_{m,DR} \cdot e^{-(B \cdot \varepsilon^2)}$	$\text{Ln}q_e = \text{Ln}q_{m,DR} - \frac{R^2 T^2}{E^2} \left[\text{Ln} \left(1 + \frac{1}{C_e} \right) \right]^2$	$\text{Ln } q_e$ en fonction $\left[\text{Ln} \left(1 + \frac{1}{C_e} \right) \right]^2$
Temkin	$q_e = B_T \cdot \text{Ln}(K_T \cdot C_e)$	$q_e = B_T \cdot \text{Ln}K_T + B_T \cdot \text{Ln}C_e$	q_e en fonction $\text{Ln } C_e$
Halsey	$q_e = \frac{K_H}{C_e}^{1/n_H}$	$\text{Ln}q_e = \frac{1}{n_H} \cdot \text{Ln}K_H - \frac{1}{n_H} \cdot \text{Ln}C_e$	$\text{Ln } q_e$ en fonction $\text{Ln } C_e$

Tableau III.5 : Principaux modèles des isothermes d'adsorption.

4. Analyse texturale des algues brunes *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata* :

4.1. Analyse par la Microscopie Electronique à Balayage couplée à la microanalyse Dispersion des Electrons des rayons X (MEB/EDX):

La Microscopie Electronique à Balayage est une technique de microscopie électronique capable de produire des images en haute résolution de la surface d'un échantillon en utilisant le principe des interactions électrons-matière, elle est utilisée dans des domaines allant de la biologie à la science des matériaux.

4.1.1. Principe :

Le Microscope Electronique à Balayage est une technique utilisée pour définir la répartition, la forme et la morphologie en 3 dimensions des pores. La microscopie électronique repose sur le même principe que la microscopie optique, à la différence près que le rayon incident est constitué par un faisceau d'électrons au lieu d'un rayon de lumière visible.

La Microscopie Electronique à Balayage (MEB) Figure III.3 permet d'obtenir une image réfléchie (agrandie jusqu'à 100 000 fois ou plus) de l'échantillon, mettant en évidence des détails (" l'effet profondeur ") impossibles à déceler autrement et de dimensions excessivement réduites. La technique par réflexion est devenue essentielle pour l'étude des matériaux.

La technique d'analyse MEB est employée pour l'étude des métaux, des pierres, et autres matériaux. Les clichés ont été réalisés sur un MEB à effet de champ Hitachi. Les échantillons ont été fixés à l'aide de colles conductrices sur des plots métalliques. Les échantillons ont ensuite été métallisés (recouverts d'une fine couche ~ 1-2nm de métal) par pulvérisation de platine. Ce procédé permet d'augmenter l'intensité en électrons secondaires et d'éliminer des effets de charges (qui viendraient concurrencer et altérer le contraste topographique).^[22, 50-51]

Le couplage de microscope électronique à balayage (MEB) avec dispersion des électrons des rayons X (EDX), permet de donner la microanalyse du matériau étudié, c'est-à-dire la détermination de sa composition chimique soit en pourcentage atomique ou pourcentage massique.

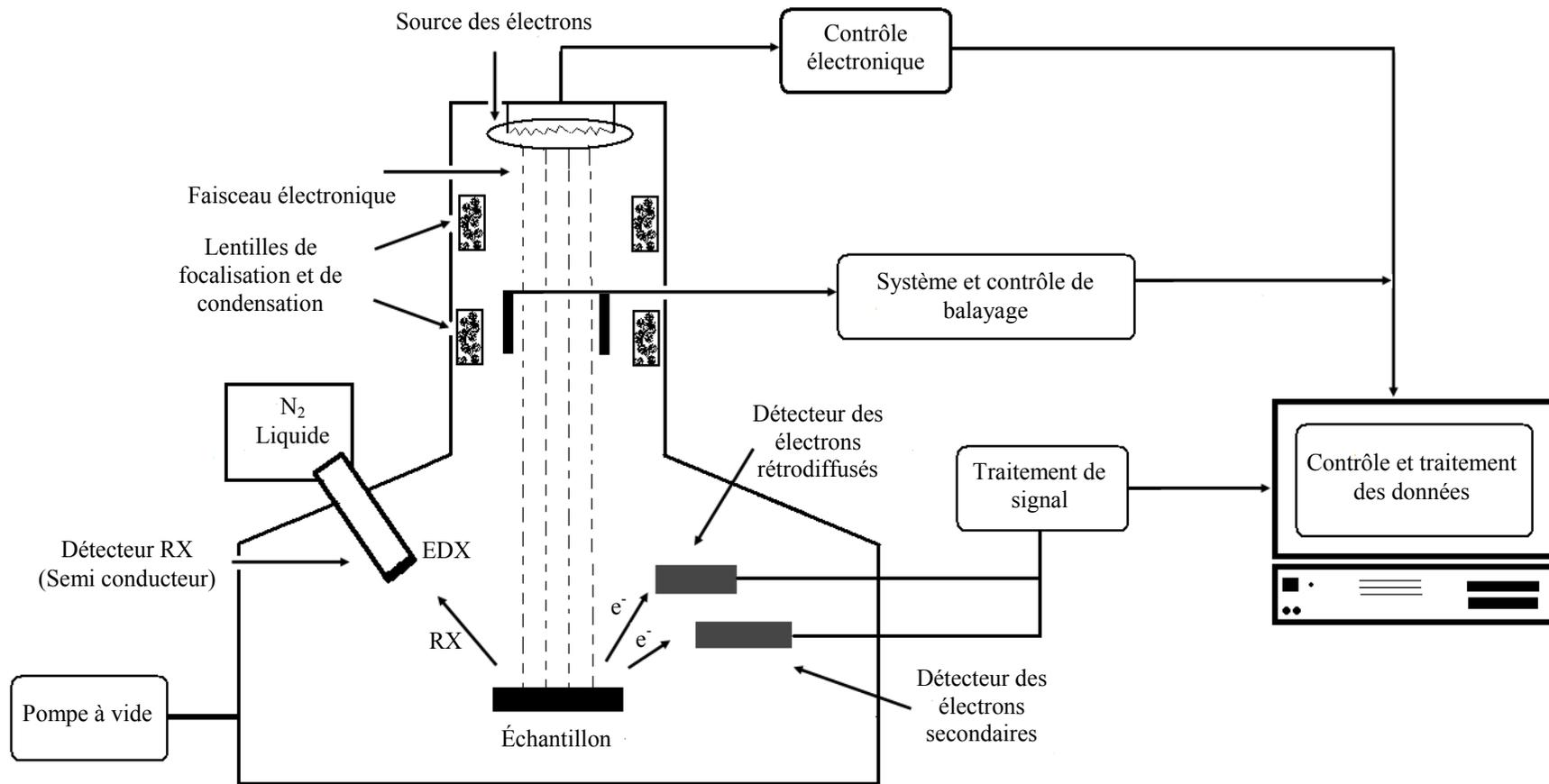


Figure III.3 : Station Principe de la microscopie électronique à balayage et microanalyse (EDX).

4.1.2. Résultats des analyses de MEB/EDX :

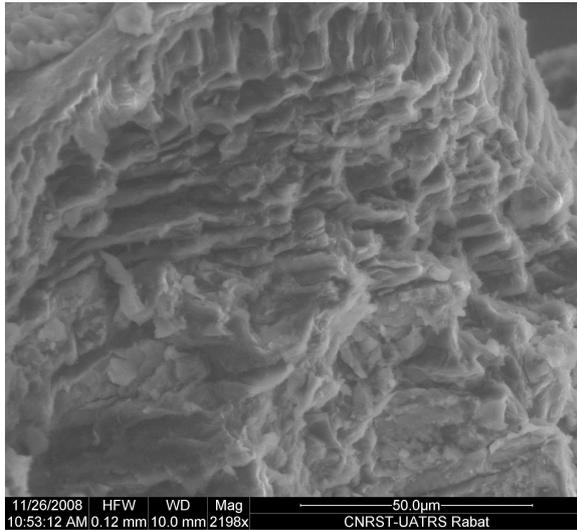
La figure III.4 donne respectivement des clichés représentatifs des surfaces de *Cystoseira tamariscifolia* et de *Bifurcaria bifurcata* obtenus par la microscopie électronique à balayage (MEB). On obtient des clichés sur les surfaces extérieurs et d'autres sur les surfaces des coupes fictives.

Les résultats obtenus montrent d'une part, des structures très irrégulières et poreuses, et d'autre part une hétérogénéité des formes des pores sur toutes les surfaces de *Cystoseira tamariscifolia* et de *Bifurcaria bifurcata*, ces résultats encouragent l'évaluation de ces deux algues marines dans le traitement des eaux pollués par la voie de l'adsorption.

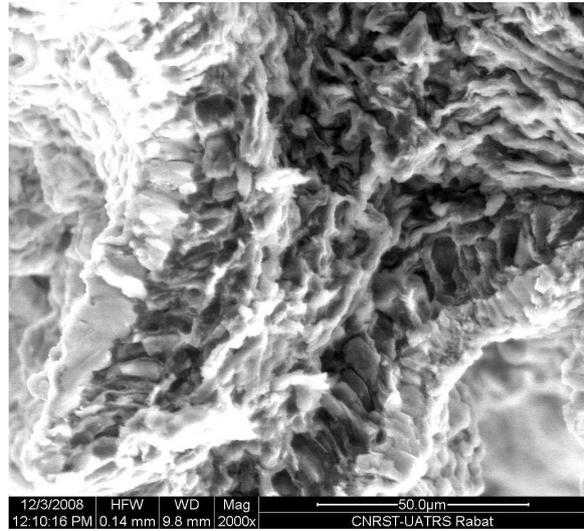
Par ailleurs, les microanalyses par la dispersion des électrons des rayons X (EDX des surfaces précédentes qui donnent les compositions chimiques en fonction de pourcentages massiques sont répertoriées dans le tableau III.6.

L'analyse de nos échantillons révèlent des taux élevés en carbone (C) et oxygène (O) ce qui prouve la présence de matières organiques.

Les macro-éléments sont présents en quantités relativement importantes : Le magnésium (Mg : 0,22 % – 1,12 %), le potassium (K : 5,50 % – 9,56 %), le chlore (Cl : 4,85 % – 7,54 %), le soufre (S : 1,50 % - 4,29 %), le sodium (Na : 0,52 % - 2,62 %) et le phosphore (P : 0,27 % – 1,60 %). Les oligoéléments comme la silice, l'aluminium, et le nickel sont présents particulièrement sur les surfaces extérieures avec des pourcentages assez faibles. Ces valeurs des éléments minéraux confirment l'importance qualitative en matières minérales.

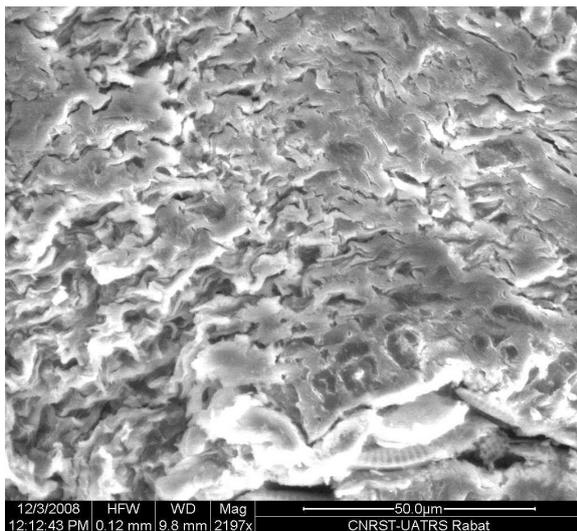


Surface extérieure

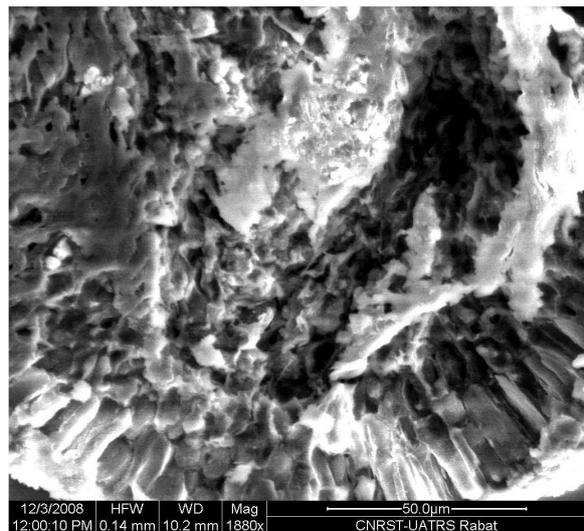


Surface intérieure sur une coupe fictive

Cystoseira tamariscifolia



Surface extérieur



Surface intérieure sur une coupe fictive

Bifurcaria bifurcata

Figure III.4 : Structures des surfaces extérieures et intérieures de *Cystoseira tamariscifolia* et de *Bifurcaria bifurcata*.

Eléments	<i>Cystoseira tamariscifolia</i>		<i>Bifurcaria bifurcata</i>	
	Surface Extérieure (%)	Surface Intérieure (%)	Surface Extérieure (%)	Surface Intérieure (%)
C	45,63	40,48	49,69	36,39
O	22,27	37,03	27,76	38,08
N	10,39	3,36	-	2,30
S	1,50	1,97	4,29	1,63
K	5,50	5,93	8,05	9,56
Cl	6,47	4,85	5,34	7,54
Na	0,52	2,62	0,69	1,97
Mg	1,09	1,12	0,22	0,99
Ca	1,61	1, 31	2,84	1,55
Si	0,21	1,32	Trace	-
P	1,60	-	0,27	-
Ni	Trace	-	0,75	-
Al	0,30	-	0,11	

Tableau III.6 : Microanalyse par EDX en fonction des pourcentages massiques des éléments présents dans *Cystoseira tamariscifolia* et dans *Bifurcaria bifurcata*.

4.2. Analyse par la spectroscopie infrarouge :

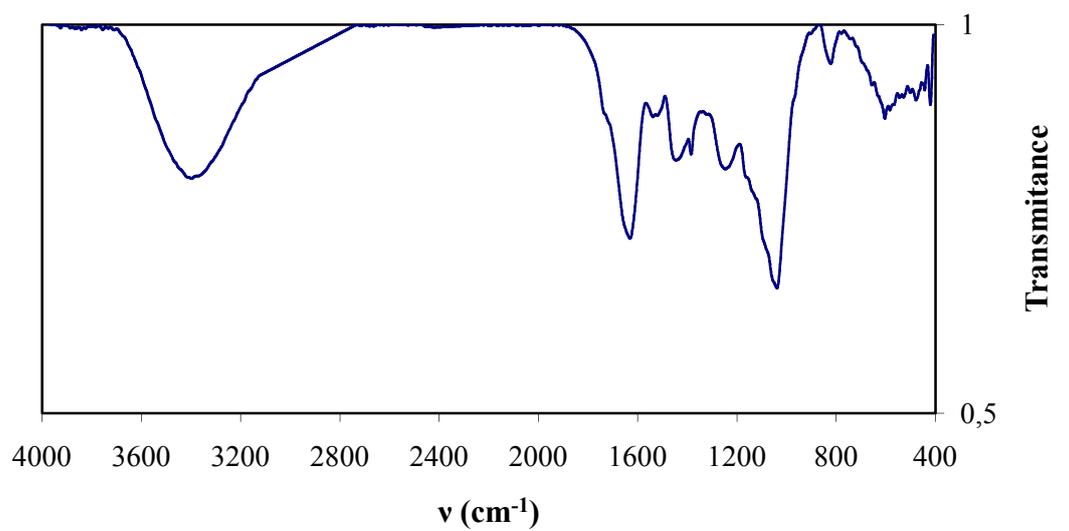
L'analyse par Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier, est complémentaire à l'étude réalisée par Microscopie Electronique à Balayage MEB couplée à la microanalyse EDX, elle apporte des informations sur la nature des groupes fonctionnels et les liaisons moléculaires des échantillons analysés.

Les spectromètres infrarouges sont adaptés aux mesures du spectre dans la région de 4000 cm^{-1} à 400 cm^{-1} . Les spectromètres infrarouge utilisent un rayonnement polychromatique, ils effectuent le calcul du spectre dans le domaine de la fréquence à partir des données obtenues, par transformation de Fourier. Elle apporte des informations sur la structure fonctionnelle des produits à analyser, dont deux types de vibration considérés : vibration de valence ou d'élongation (stretching) ou vibration de déformation (bending).

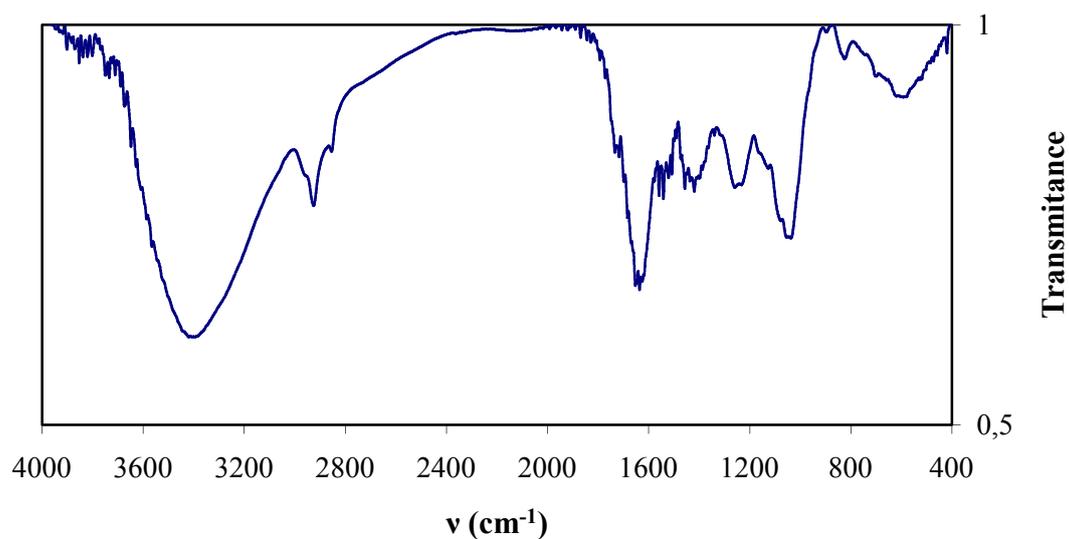
L'analyse des spectres infrarouge des algues *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata* qui sont représentés sur la figure III.5, permet l'attribution des bandes d'absorption suivantes pour les deux algues :

- Une bande située vers 3400 cm^{-1} correspondant aux vibrations des élongations OH ou NH libre.
- Une bande située vers 1650 cm^{-1} correspondant aux vibrations d'élongations du groupement C=O et aux vibrations d'élongations asymétriques du groupement N=O.
- Une bande faible située vers 1550 cm^{-1} correspondant aux vibrations des élongations C=C.
- Une bande située vers 1450 cm^{-1} correspondant aux vibrations de déformations O-H.
- Une bande située vers 1250 cm^{-1} correspondant aux vibrations d'élongations C-C-O.
- Une bande située vers 1030 cm^{-1} correspondant aux vibrations de valence -C-O.
- Une bande située vers 850 cm^{-1} correspondant aux vibrations de déformation de C-H.
- une bande située vers 750 cm^{-1} pour les deux algues, correspondant aux vibrations N-H.

Le tableau III.7 résume l'attribution des bandes d'absorption pour les deux algues. ^[52-54]



Cystoseira tamariscifolia



Bifurcaria bifurcata

Figure III.5 : Spectres infrarouge de *Cystoseira tamariscifolia* et de *Bifurcaria bifurcata*.

Bande	Longueur d'onde (cm ⁻¹)	Attribution
1	3400	Vibrations des élongations OH ou NH libre
2	1650	Vibrations d'élongations du groupement C=O vibrations d'élongations du groupement N=O
3	1550	Vibrations des élongations C=C
4	1450	Vibrations de déformations O-H
5	1250	Vibrations d'élongations C-C-O
6	1030	Vibrations de valence -C-O
7	850	Vibrations de déformation de C-H
8	750	Vibrations de déformation N-H

Tableau III.7 : L'attribution des bandes d'absorption des spectres Infrarouge de *Cystoseira tamariscifolia* et de *Bifurcaria bifurcata*.

5. Etude de l'adsorption du chrome sur les algues marines *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata* :

5.1. Conditions expérimentales :

5.1.1. Préparation des échantillons :

Après la récolte, les algues *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata* ont été lavées à l'eau de robinet puis avec de l'eau distillée. Elles ont été ensuite séchées à l'étuve à 60°C pendant 24 h. Ensuite, elles ont été broyées avec un moulin électrique et tamisées pour obtenir la fraction de taille 0,50 mm. Les échantillons résultants ont été désignés comme les supports bruts et ils ont été notés par (RC) pour *Cystoseira tamariscifolia* et par (RB) pour *Bifurcaria bifurcata*.

100 g de chaque support brut ont été activés en solution d'acide chlorhydrique 1M à 25°C pendant 2h, ensuite le mélange a été séparé par centrifugation, puis lavé avec l'eau distillée 3 fois. Les supports ont été séchés à l'étuve à 60°C pendant 24 h. les nouveaux supports obtenus ont été désignés comme des supports activés et ils ont été notés par (AC) pour *Cystoseira tamariscifolia* et par (AB) pour *Bifurcaria bifurcata*.

5.1.2. Etude de sorption :

L'étude de sorption du chrome sur les algues marines a été effectuée en deux étapes : la cinétique de sorption et l'isotherme de sorption. Les supports algaux ont été introduits dans des solutions contenant le chrome à des concentrations bien déterminées, et le contact solide/liquide est maintenu par une agitation magnétique continue à pH et température constants (pH = 5,8 et T = 25 °C).

5.1.3. Préparation et dosage des solutions du Chrome :

Les solutions du chrome hexavalent ont été préparées à partir du chromate de potassium K_2CrO_4 . Le Dosage des solutions du chrome hexavalent est réalisé par la méthode colorimétrique basée sur la réaction du chrome avec le 1,5-diphénylcarbazine (DPC) pour former, en milieu acide, un complexe variant du rose au violet et dont l'absorbance à 540 nm est proportionnelle à la concentration du chrome hexavalent. ^[55-56]

5.2. Cinétique d'élimination du chrome par les supports algaux :

Les études sur la cinétique d'adsorption de composés chimiques en solution aqueuse sont généralement réalisées pour des gammes réduites de concentrations initiales en composé chimique et en adsorbant. L'objectif a été en premier lieu d'étudier la cinétique apparente d'adsorption du chrome sur les quatre supports qui ont été déjà préparés.

L'étude cinétique de biosorption du chrome hexavalent a permis de déterminer le temps de contact nécessaire pour atteindre l'équilibre. Durant le temps de contact, la solution est maintenue sous agitation constante et à température et pH constants (pH = 5,8 et T = 25 °C).

Une masse de 2 g/L de chacun des supports bruts RC et RB et des supports activés AC et AB sont dispersés dans une solution du chrome à une concentration initiale égale à $C_0=50$ mg/L. La figure III.6 illustre la variation de la concentration résiduelle C_{res} en fonction du temps. Une autre manière pour exprimer les résultats, consiste à étudier la variation de la capacité d'adsorption à l'instant t en fonction du temps (Figure III.7).

Ces courbes montrent deux branches bien nettes :

- Une première branche traduit une diminution rapide de la concentration résiduelle C_{res} du chrome par les biomasses brutes. L'élimination rapide pendant 20 minutes, est liée à des caractéristiques physico-chimiques des supports algaux.
- Une deuxième branche se caractérise par une variation lente de la concentration résiduelle C_{res} du chrome jusqu'à l'obtention de l'équilibre de biosorption à partir de 30 minutes.

Les capacités expérimentales d'adsorption des supports activés sont supérieures à celles des supports bruts. On note que la capacité d'adsorption des supports de *Cystoseira tamariscifolia* augmente de 7,02 mg/g à 8,35 mg/g, alors que pour les supports de *Bifurcaria bifurcata*, elle augmente de 9,42 mg/g à 13,35 mg/g.

Il est donc évident que les capacités d'adsorption des supports de *Bifurcaria bifurcata* sont nettement supérieures à celles de *Cystoseira tamariscifolia*.

L'ensemble des paramètres cinétiques de biosorption des supports RC, RB, AC et AB sont déterminés à partir des droites de linéarité selon les équations des modèles décrites au Tableau III.4 (paragraphe 4.3).

Pour l'examen de la fiabilité de ces modèles cinétiques proposés, nous avons calculé les coefficients des corrélations des équations ainsi que les constantes cinétiques de chaque modèle. Ces derniers sont regroupés dans les Tableaux III.8, III.9, III.10 et III.11.

A partir des valeurs des coefficients des corrélations R^2 de ces tableaux on peut conclure que le modèle de puissance fractionnaire (91,9 % pour RC, 88,6 % pour RB, 89,4 % pour AC et 89,2 % pour AB) et le modèle d'Elovich (91,1 % pour RC, 88,3 % pour RB et 89 % pour AC et pour AB) sont plus proches aux résultats expérimentaux des cinétiques d'adsorption. Par contre, on remarque que les données théoriques des autres modèles (modèle de premier Ordre, modèle du pseudo premier ordre, modèle de deuxième Ordre, modèle du pseudo deuxième ordre et modèle de la diffusion intra-particule) s'éloignent des données expérimentales. On note également que le modèle de zéro ordre est le seul a présenté de très faibles coefficients de corrélations des équations linéaires (coefficients R^2 compris entre 23,8 % et 36,1 %).

Pour mieux mettre en évidence l'efficacité du modèle de puissance fractionnaire et du modèle d'Elovich, nous avons reporté sur les figures III.8 et III.9 les modélisations de la cinétique de biosorption du chrome de ces deux modèles respectivement sur les quatre supports RC, RB, AC et AB.

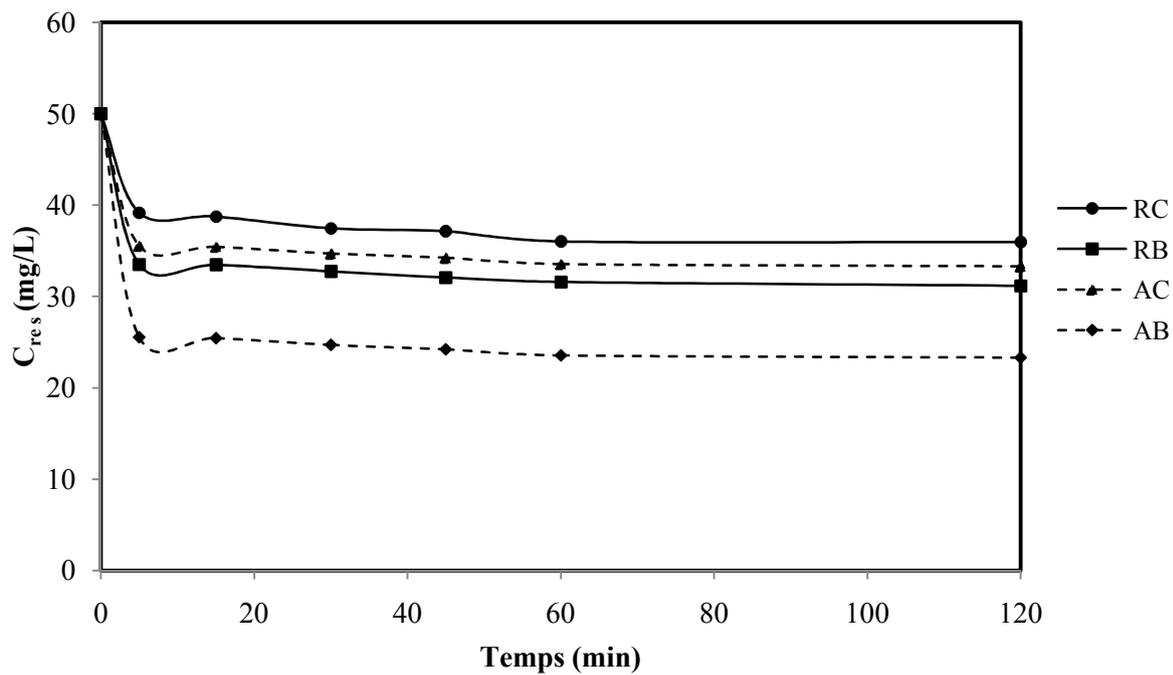


Figure III.6 : Cinétique de biosorption du chrome par les supports de *Cystoseira tamariscifolia* et de *Bifurcaria bifurcata* : $C_{res} = f(\text{temps})$
 ($C_0 = 50 \text{ mg/L}$, $m = 2 \text{ g/L}$, $T = 298 \text{ K}$, $\text{pH} = 5,8$)

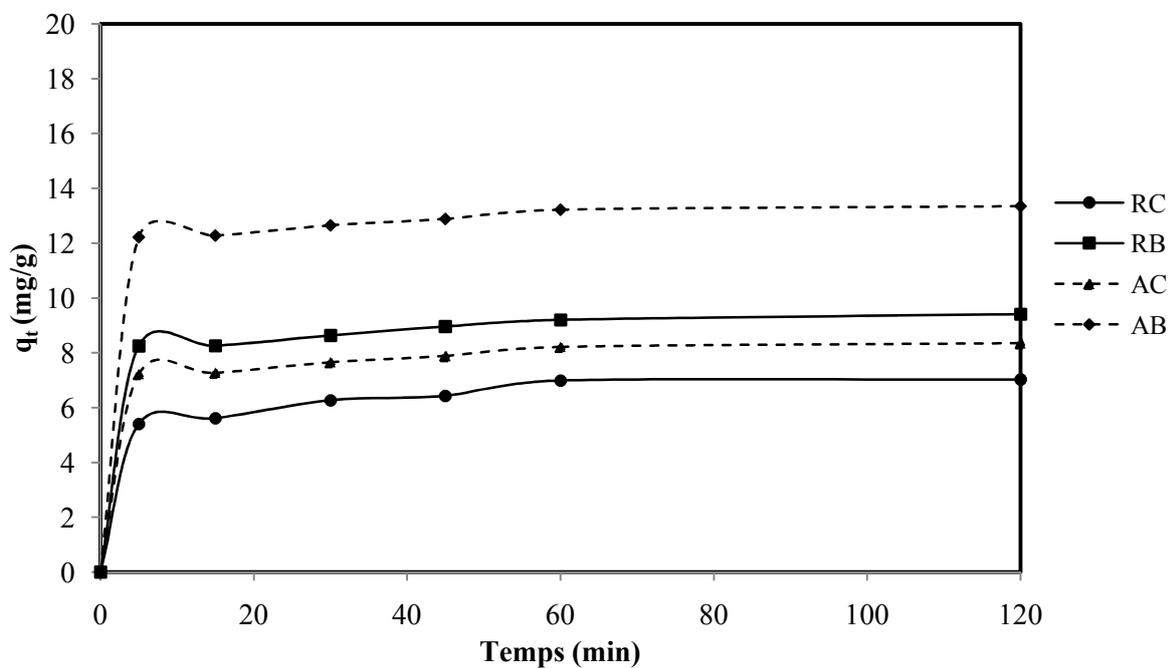


Figure III.7 : Cinétique de biosorption du chrome par les supports de *Cystoseira tamariscifolia* et de *Bifurcaria bifurcata* : $q_t = f(\text{temps})$
 ($C_0 = 50 \text{ mg/L}$, $m = 2 \text{ g/L}$, $T = 298 \text{ K}$, $\text{pH} = 5,8$)

Modèle	Expression linéaire	R ²	Paramètres du modèle
Puissance fractionnaire	$y = 0,093x + 1,517$	0,919	$v = 9,3 \cdot 10^{-2}$ $k_p = 4,558$ $v \cdot k_p = 0,424 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$
Zéro ordre	$y = -0,035x + 3,996$	0,361	$k_0 = -3,5 \cdot 10^{-2} \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ $q_{e,0} = 3,996 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$
Premier Ordre	$y = 0,0023x + 1,730$	0,738	$k_1 = -2,3 \cdot 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ $q_{e,1} = 5,641 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$
Pseudo premier ordre	$y = -0,069x + 1,548$	0,840	$k_{1P} = 6,9 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ $q_{e,1P} = 4,702 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$
Elovich	$y = 0,575x + 4,334$	0,911	$\alpha_E = 1078,7 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ $\beta_E = 1,739 \text{ g} \cdot \text{mg}^{-1}$
Deuxième Ordre	$y = -0,0004x + 0,177$	0,722	$k_2 = -4 \cdot 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ $q_{e,2} = 5,649 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$
Pseudo deuxième ordre	$y = 0,206x + 0,148$	0,721	$k_{2P} = 0,718 \text{ g} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ $q_{e,2P} = 6,756 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$
Diffusion intra-particule	$y = 0,540x + 2,536$	0,641	$k_D = 0,540 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1/2}$ $C_D = 2,536 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$

Tableau III.8 : Paramètres des modèles de la cinétique de biosorption du chrome par le support brut RC de *Cystoseira tamariscifolia*.

Modèle	Expression linéaire	R ²	Paramètres du modèle
Puissance fractionnaire	$y = 0,046x + 2,012$	0,886	$v = 4,6 \cdot 10^{-2}$ $k_p = 7,478$ $v \cdot k_p = 0,343 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$
Zéro ordre	$y = -0,042x + 5,869$	0,275	$k_0 = -4,2 \cdot 10^{-2} \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ $q_{e,0} = 5,869 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$
Premier Ordre	$y = 0,0012x + 2,115$	0,842	$k_1 = -1,2 \cdot 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ $q_{e,1} = 8,289 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$
Pseudo premier ordre	$y = -0,047x + 1,222$	0,767	$k_{1P} = 4,7 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ $q_{e,1P} = 3,393 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$
Elovich	$y = 0,409x + 7,391$	0,883	$\alpha_E = 2,863 \cdot 10^7 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ $\beta_E = 2,444 \text{ g} \cdot \text{mg}^{-1}$
Deuxième Ordre	$y = -0,0001x + 0,120$	0,832	$k_2 = -1 \cdot 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ $q_{e,2} = 8,333 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$
Pseudo deuxième ordre	$y = 0,066x + 0,110$	0,577	$k_{2P} = 1,666 \text{ g} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ $q_{e,2P} = 9,090 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$
Diffusion intra-particule	$y = 0,674x + 3,964$	0,537	$k_D = 0,674 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1/2}$ $C_D = 3,964 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$

Tableau III.9 : Paramètres des modèles de la cinétique de biosorption du chrome par le support brut RB de *Bifurcaria bifurcata*.

Modèle	Expression linéaire	R ²	Paramètres du modèle
Puissance fractionnaire	$y = 0,051x + 1,873$	0,894	$v = 5,1 \cdot 10^{-2}$ $k_p = 6,507$ $v \cdot k_p = 0,331 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$
Zéro ordre	$y = -0,038x + 5,165$	0,283	$k_0 = -3,8 \cdot 10^{-2} \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ $q_{e,0} = 5,165 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$
Premier Ordre	$y = 0,0013x + 1,987$	0,820	$k_1 = -1,3 \cdot 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ $q_{e,1} = 7,293 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$
Pseudo premier ordre	$y = -0,051x + 1,197$	0,804	$k_{1P} = 5,1 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ $q_{e,1P} = 3,310 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$
Elovich	$y = 0,397x + 6,416$	0,890	$\alpha_E = 4,122 \cdot 10^6 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ $\beta_E = 2,518 \text{ g} \cdot \text{mg}^{-1}$
Deuxième Ordre	$y = -0,0002x + 0,137$	0,810	$k_2 = -2 \cdot 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ $q_{e,2} = 7,299 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$
Pseudo deuxième ordre	$y = 0,084x + 0,124$	0,606	$k_{2P} = 1,476 \text{ g} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ $q_{e,2P} = 8,064 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$
Diffusion intra-particule	$y = 0,603x + 3,468$	0,548	$k_D = 0,603 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1/2}$ $C_D = 3,468 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$

Tableau III.10 : Paramètres des modèles de la cinétique de biosorption du chrome par le support activé AC de *Cystoseira tamariscifolia*.

Modèle	Expression linéaire	R ²	Paramètres du modèle
Puissance fractionnaire	$y = 0,031x + 2,440$	0,892	$v = 3,1 \cdot 10^{-2}$ $k_p = 11,473$ $v \cdot k_p = 0,355 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$
Zéro ordre	$y = -0,056x + 8,706$	0,238	$k_0 = -5,6 \cdot 10^{-2} \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ $q_{e,0} = 8,706 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$
Premier Ordre	$y = 0,0008x + 2,509$	0,823	$k_1 = -8 \cdot 10^{-4} \text{ min}^{-1}$ $q_{e,1} = 12,292 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$
Pseudo premier ordre	$y = -0,056x + 1,388$	0,757	$k_{1P} = 5,6 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ $q_{e,1P} = 4,006 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$
Elovich	$y = 0,397x + 11,41$	0,890	$\alpha_E = 1,192 \cdot 10^{12} \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ $\beta_E = 2,518 \text{ g} \cdot \text{mg}^{-1}$
Deuxième Ordre	$y = -6 \cdot 10^{-5}x + 0,081$	0,818	$k_2 = -6 \cdot 10^{-5} \text{ g} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ $q_{e,2} = 12,345 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$
Pseudo deuxième ordre	$y = 0,030x + 0,076$	0,597	$k_{2P} = 2,533 \text{ g} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ $q_{e,2P} = 13,157 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$
Diffusion intra-particule	$y = 0,935x + 5,996$	0,494	$k_D = 0,935 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1/2}$ $C_D = 5,996 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$

Tableau III.11 : Paramètres des modèles de la cinétique de biosorption du chrome par le support activé AB de *Bifurcaria bifurcata*.

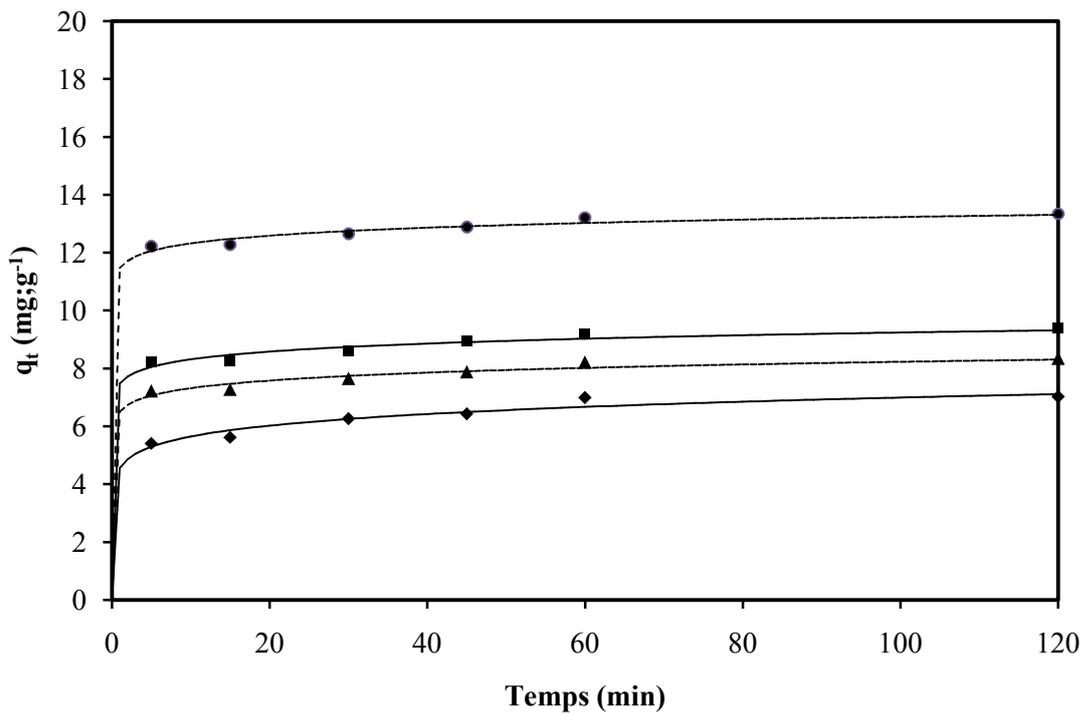


Figure III.8 : Modélisation de la cinétique selon le modèle de puissance fractionnaire.

(♦ : RC, ▲ : AC, ■ : RB et ● : AB)

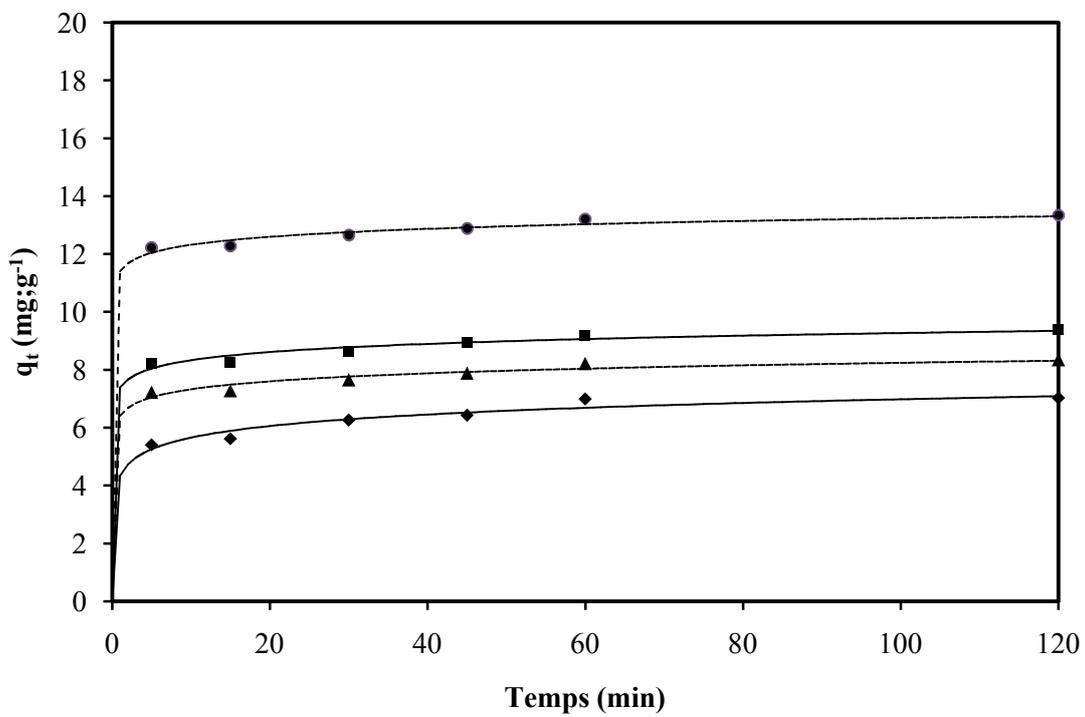


Figure III.9 : Modélisation de la cinétique selon le modèle d'Elovich.

(♦ : RC, ▲ : AC, ■ : RB et ● : AB)

5.3. Isothermes d'adsorption du chrome par les supports algaux :

Dans la perspective d'évaluer la capacité d'adsorption du chrome sur chaque support algale préparé, une étude des isothermes d'adsorption a été réalisée. Rappelons qu'une isotherme d'adsorption est appelé aussi courbe de saturation et elle présente la variation de la quantité adsorbée q_t en fonction de la concentration résiduelle à l'équilibre C_e ($q_t = f(C_e)$) à une température T et un pH constants.

Dans le but de déterminer le type et la nature de l'isotherme d'adsorption du chrome sur les supports, nous avons pris des solutions contenant du chrome à des concentrations initiales constantes $C_0 = 50$ mg/L, et pour chaque support nous avons introduit des masses de l'adsorbant sur le volume de l'adsorbat de 0,5 g/L à 5 g/L. L'agitation est maintenue pendant un temps suffisant pour atteindre l'équilibre (2 heures).

A la fin de chaque expérience, on détermine les concentrations du chrome résiduelles, puis on déduit la capacité de sorption à l'équilibre q_{eq} . Les évolutions des capacités d'adsorption à l'équilibre q_{eq} en fonction des concentrations résiduelles à l'équilibre C_e sont les isothermes d'équilibre.

La figure III.10 représente les isothermes d'équilibre de la biosorption du chrome sur les supports RC, RB, AC et AB.

Les résultats expérimentaux montrent que les capacités d'adsorption des supports RB et AB de *Bifurcaria bifurcata* sont généralement supérieures à celles des supports RC et AC de *Cystoseira tamariscifolia*.

D'après les courbes représentées dans la figure III.10, on peut remarquer que graphiquement, les données expérimentales sont difficiles à interpréter et à identifier clairement les types des isothermes d'équilibre mises en jeu, car les structures des supports sont irrégulières et aussi présentent une hétérogénéité des formes des pores.

Les isothermes des supports RC et RB sont de type III, ce qui explique que les chaleurs d'adsorption sont inférieures à la chaleur de liquéfaction du chrome. Ainsi, au cours du processus, l'adsorption complémentaire est facilitée parce que l'interaction du chrome avec une couche adsorbée est plus grande que l'interaction avec les surfaces des supports.

Par contre, on remarque que les isothermes des supports AC et AB sont de type V, ces isothermes résultent d'un faible potentiel d'interaction chrome – biomasse.

Pour traiter les données expérimentales, et pour bien expliquer les isothermes des équilibres obtenus, nous avons utilisé les modèles d'isothermes qui ont été décrit précédemment dans le tableau III.5 (Modèle de Freundlich, Modèle de Langmuir, Modèle de Dubinin – Radushkevich, Modèle de Temkin, Modèle de Halsey).

Les constantes caractérisant chacun des expressions linéaires de ces modèles ont été déterminées et données aux Tableau III.12 pour RC, Tableau III.13 pour RB, Tableau III.14 pour AC et Tableau III.15 pour AB. On note que la fiabilité de ces modèles proposés a été réalisée par le calcul des coefficients des corrélations R^2 .

A partir des valeurs des coefficients des corrélations R^2 , on peut conclure que le modèle de Langmuir est le plus proche aux résultats expérimentaux obtenus dans les quatre isothermes d'adsorption, (92,7 % pour RC, 94,7 % pour RB, 97,4 % pour AC et 82,1% pour AB). On note aussi, que tous les coefficients R_L de ce modèle tendent vers 0 ce qui explique que l'adsorption pour les quatre supports RC, RB, AC et AB est favorable.

Les autres modèles tels que le modèle de Freundlich, le modèle de Dubinin – Radushkevich, le modèle de Temkin et le modèle de Halsey, présentent des coefficients de corrélations importants ce qui exige de les prendre en considérance dans tous les modélisations réalisés.

Pour mieux mettre en évidence l'efficacité des ces modèles, nous avons reporté sur les figures III.11, III.12, III.13 et III.14 respectivement, les modélisations des isothermes d'adsorption du chrome sur les quatre supports RC, RB, AC et AB.

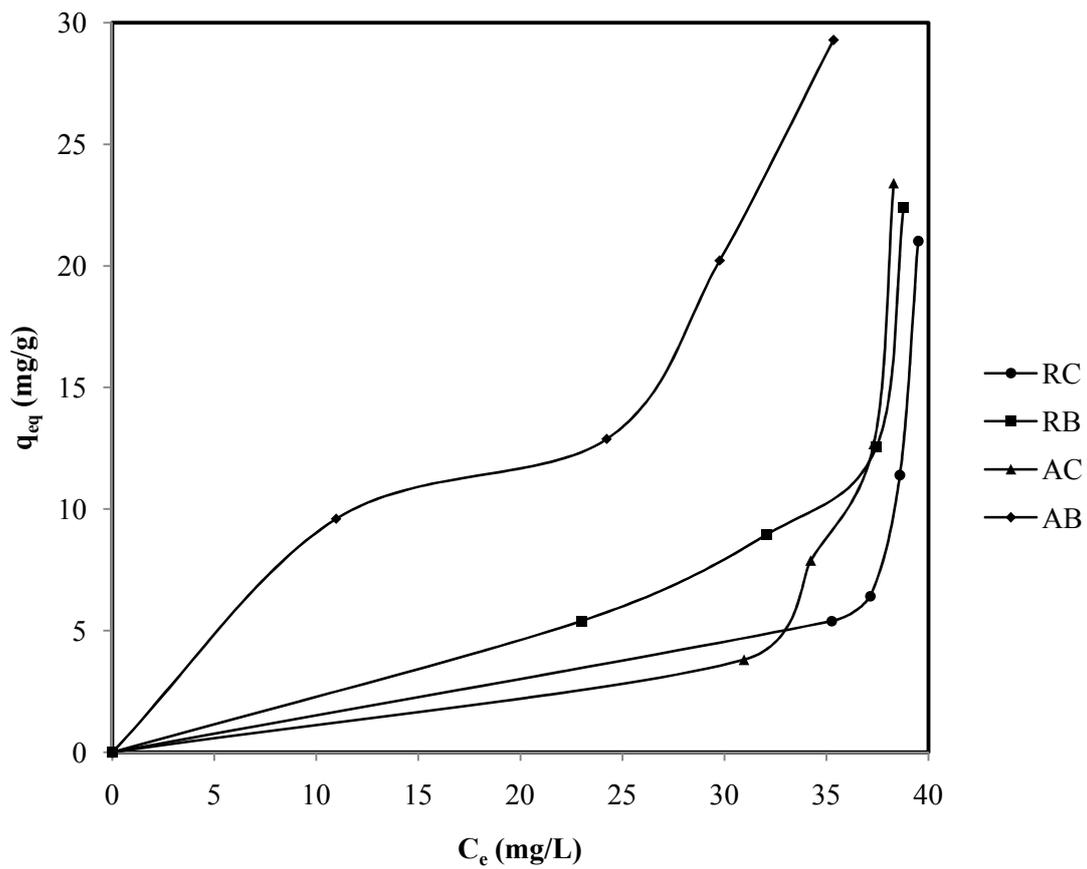


Figure III.10 : Isothermes d'équilibre de biosorption du chrome par les supports de *Cystoseira tamariscifolia* et de *Bifurcaria bifurcata*.
($C_0 = 50$ mg/L, $T = 298$ K, $pH = 5,8$)

Modèle	Expression linéaire	R ²	Paramètres du modèle
Freundlich	$y = 11,45x - 39,29$	0,858	$n = 11,45$ $K_F = 8,64 \cdot 10^{-18} \text{ L.g}^{-1}$ $q_{m,F} = 245,344 \text{ mg.g}^{-1}$ $n > 1$: adsorption faible
Langmuir	$y = 45,21x - 1,085$	0,927	$K_L = 2,39 \cdot 10^{-2} \text{ L.g}^{-1}$ $q_{m,L} = 0,921 \text{ mg.g}^{-1}$ $R_L = 0,45$
Dubinini – Radushkevich	$y = -8151x + 7,897$	0,835	$B = 1,32 \cdot 10^{-3} \text{ J}^2 \cdot \text{mol}^{-2}$ $q_{m,DR} = 2689,2 \text{ mg.g}^{-1}$ $E = 27,429 \text{ J.mol}^{-1}$
Temkin	$y = 123,9x - 438,4$	0,746	$B_T = 123,9 \text{ J.mol}^{-1}$ $K_T = 2,9 \cdot 10^{-2} \text{ L.g}^{-1}$ $\Delta Q = 19,98 \text{ J}$ $q_{m,T} = 46,29 \text{ mg.g}^{-1}$
Halsey	$y = 11,45x - 39,29$	0,858	$K_H = 30,92 \text{ L.g}^{-1}$ $n_H = -8,73 \cdot 10^{-2}$ $q_{m,H} = 245,34 \text{ mg.g}^{-1}$

Tableau III.12 : Paramètres des modèles des isothermes d'équilibre de biosorption du chrome par le support brut RC de *Cystoseira tamariscifolia*.

Modèle	Expression linéaire	R ²	Paramètres du modèle
Freundlich	$y = 2,294x - 5,585$	0,842	$n = 2,294$ $K_F = 3,75 \cdot 10^{-3} \text{ L} \cdot \text{g}^{-1}$ $q_{m,F} = 29,641 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ $n > 1$: adsorption faible
Langmuir	$y = 7,139x - 0,121$	0,947	$K_L = 1,69 \cdot 10^{-2} \text{ L} \cdot \text{g}^{-1}$ $q_{m,L} = 8,264 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ $R_L = 0,54$
Dubinin – Radushkevich	$y = -971,6x + 3,374$	0,776	$B = 1,58 \cdot 10^{-4} \text{ J}^2 \cdot \text{mol}^{-2}$ $q_{m,DR} = 29,195 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ $E = 79,446 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1}$
Temkin	$y = 24,87x - 74,00$	0,657	$B_T = 24,87 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1}$ $K_T = 5,1 \cdot 10^{-2} \text{ L} \cdot \text{g}^{-1}$ $\Delta Q = 99,57 \text{ J}$ $q_{m,T} = 23,29 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$
Halsey	$y = 2,294x - 5,585$	0,842	$K_H = 11,41 \text{ L} \cdot \text{g}^{-1}$ $n_H = -0,435$ $q_{m,H} = 29,64 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$

Tableau III.13 : Paramètres des modèles des isothermes d'équilibre de biosorption du chrome par le support brut RB de *Bifurcaria bifurcata*.

Modèle	Expression linéaire	R ²	Paramètres du modèle
Freundlich	$y = 7,791x - 25,44$	0,951	$n = 7,791$ $K_F = 8,94 \cdot 10^{-12} \text{ L} \cdot \text{g}^{-1}$ $q_{m,F} = 154,24 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ $n > 1$: adsorption faible
Langmuir	$y = 34,01x - 0,845$	0,974	$K_L = 2,48 \cdot 10^{-2} \text{ L} \cdot \text{g}^{-1}$ $q_{m,L} = 1,183 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ $R_L = 0,44$
Dubinini – Radushkevich	$y = -4748x + 6,075$	0,938	$B = 7,74 \cdot 10^{-4} \text{ J}^2 \cdot \text{mol}^{-2}$ $q_{m,DR} = 434,84 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ $E = 35,93 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1}$
Temkin	$y = 78,24x - 266,4$	0,789	$B_T = 78,24 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1}$ $K_T = 3,32 \cdot 10^{-2} \text{ L} \cdot \text{g}^{-1}$ $\Delta Q = 31,65 \text{ J}$ $q_{m,T} = 39,67 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$
Halsey	$y = 7,791x - 25,44$	0,951	$K_H = 26,18 \text{ L} \cdot \text{g}^{-1}$ $n_H = -0,128$ $q_{m,H} = 154,24 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$

Tableau III.14 : Paramètres des modèles des isothermes d'équilibre de biosorption du chrome par le support activé AC de *Cystoseira tamariscifolia*.

Modèle	Expression linéaire	R ²	Paramètres du modèle
Freundlich	$y = 0,856x + 0,116$	0,811	$n = 0,856$ $K_F = 1,122 \text{ L.g}^{-1}$ $q_{m,F} = 31,966 \text{ mg.g}^{-1}$ $0,5 < n < 1$: adsorption modérée
Langmuir	$y = 0,971x + 0,019$	0,821	$K_L = 1,95 \cdot 10^{-2} \text{ L.g}^{-1}$ $q_{m,L} = 52,631 \text{ mg.g}^{-1}$ $R_L = 0,50$
Dubinin – Radushkevich	$y = -121,3x + 3,137$	0,64	$B = 1,97 \cdot 10^{-5} \text{ J}^2 \cdot \text{mol}^{-2}$ $q_{m,DR} = 23,03 \text{ mg.g}^{-1}$ $E = 224,84 \text{ J.mol}^{-1}$
Temkin	$y = 14,17x - 26,45$	0,704	$B_T = 14,17 \text{ J.mol}^{-1}$ $K_T = 0,154 \text{ L.g}^{-1}$ $\Delta Q = 174,76 \text{ J}$ $q_{m,T} = 28,98 \text{ mg.g}^{-1}$
Halsey	$y = 0,856x + 0,116$	0,811	$K_H = 0,873 \text{ L.g}^{-1}$ $n_H = -1,16$ $q_{m,H} = 31,96 \text{ mg.g}^{-1}$

Tableau III.15 : Paramètres des modèles des Isothermes d'équilibre de biosorption du chrome par le support activé AB de *Bifurcaria bifurcata*.

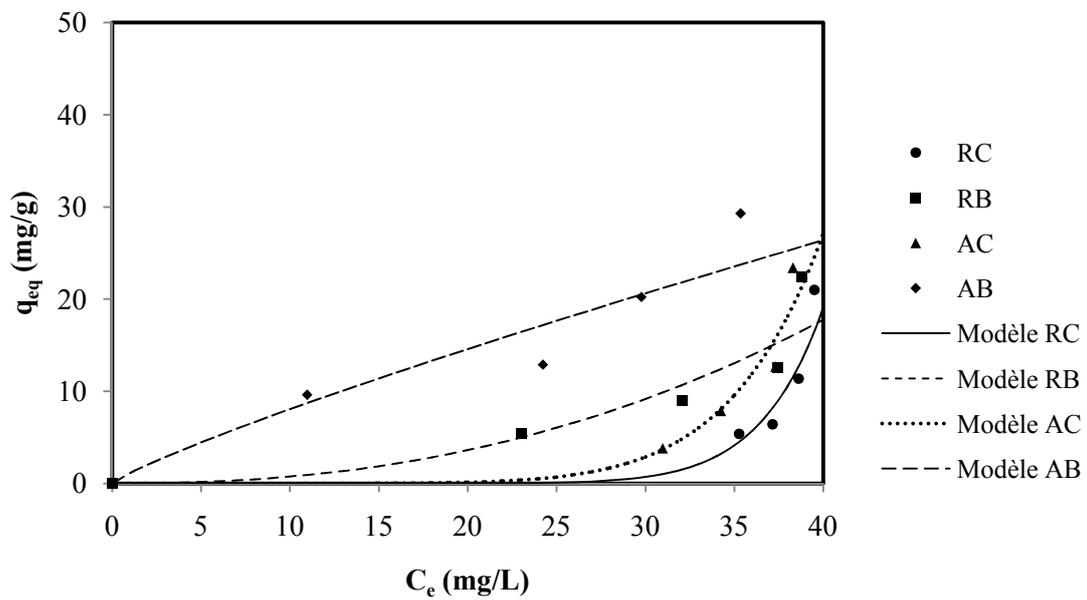


Figure III.11 : Modélisation des isothermes d'adsorption selon le modèle de Freundlich.

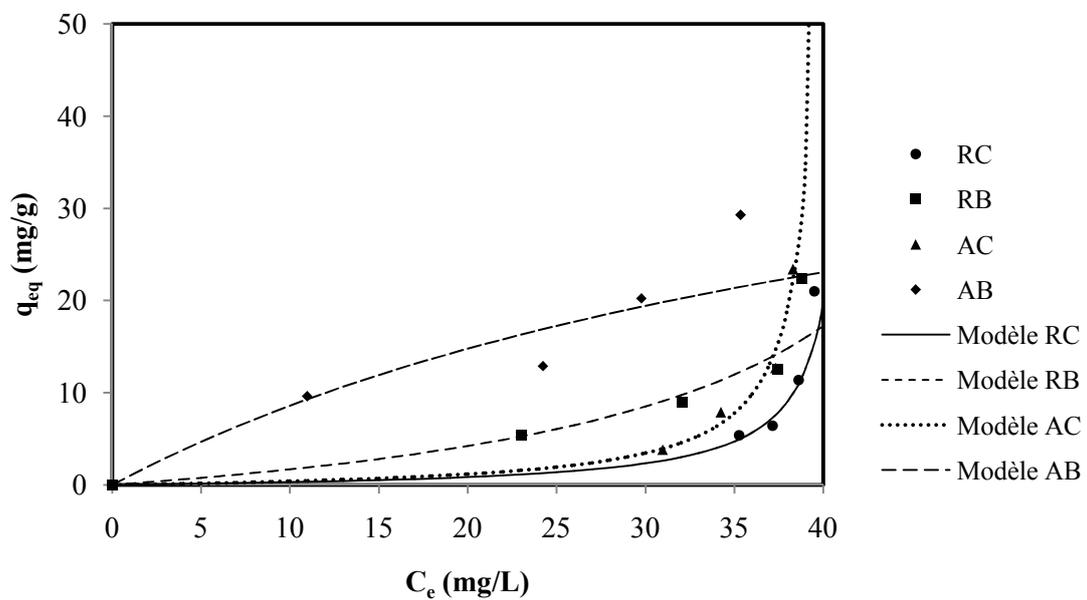


Figure III.12 : Modélisation des isothermes d'adsorption selon le modèle de Langmuir.

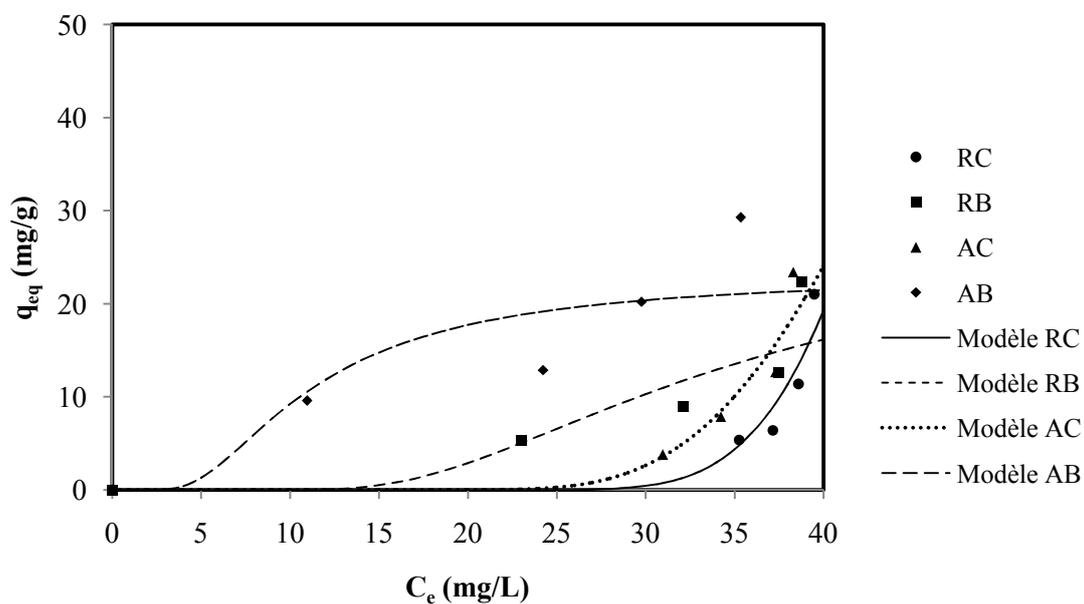


Figure III.13 : Modélisation des isothermes d'adsorption selon le modèle de Dubinin – Radushkevich.

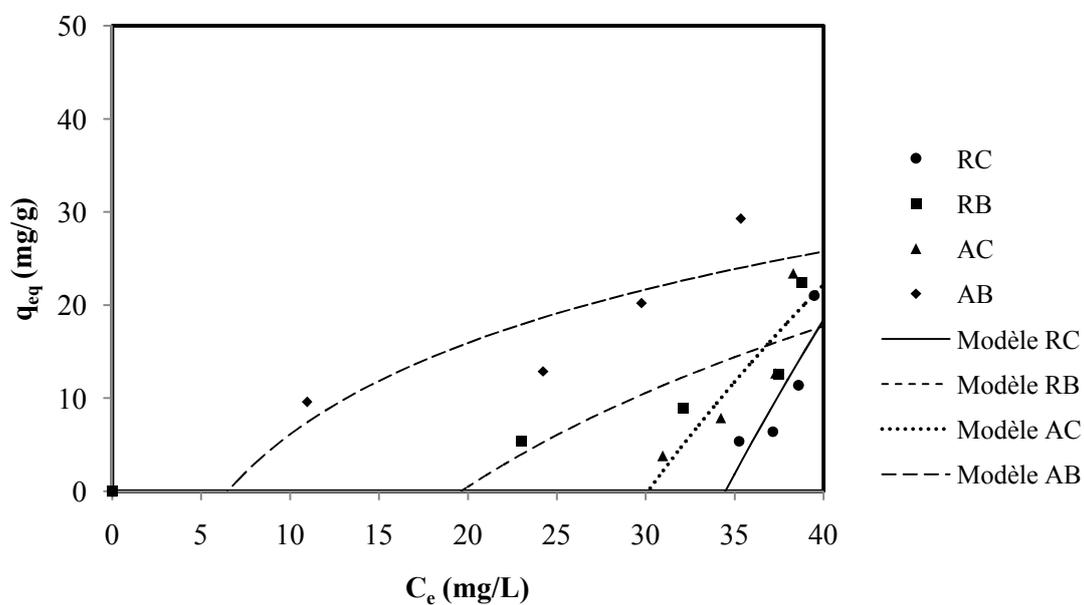


Figure III.14 : Modélisation des isothermes d'adsorption selon le modèle de Temkin.

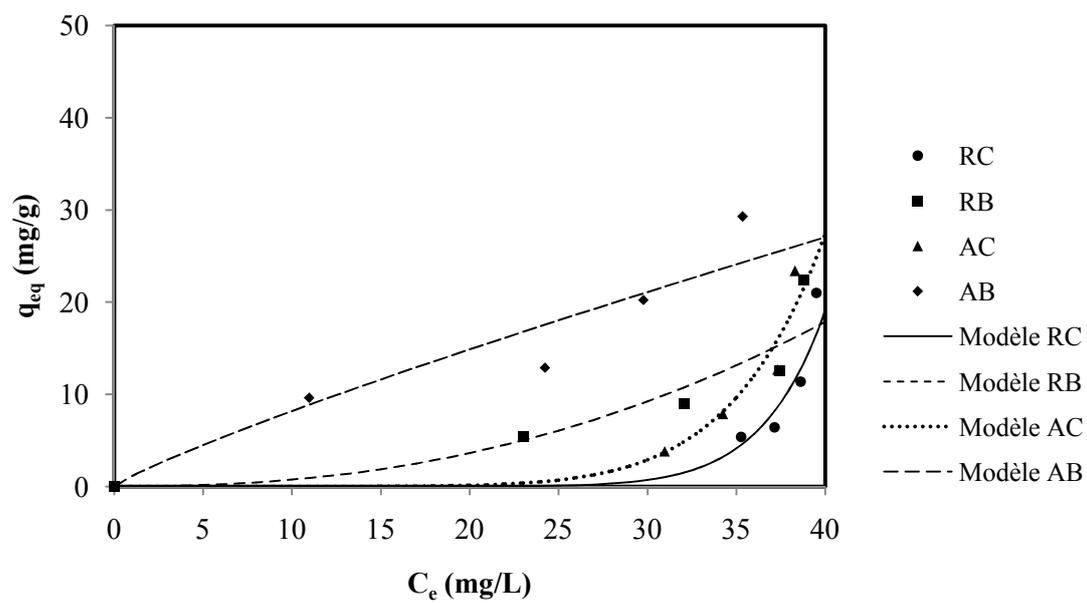


Figure III.15 : Modélisation des isothermes d'adsorption selon le modèle de Halsey.

5.4. Comparaison de nos résultats avec la littérature :

Afin de situer les résultats que nous avons obtenus, dans la biosorption du chrome sur les supports algaux RC et AC de *Cystoseira tamariscifolia* et RB et AB de *Bifurcaria bifurcata*, nous avons représenté dans le tableau III.16 la comparaison de nos résultats avec ceux de la littérature sur la biosorption du chrome sur d'autres algues brunes.

La lecture de ce tableau montre que les capacités de l'adsorption des supports de *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata* présentent des valeurs intéressantes par rapport aux autres supports algaux, ce qui permet d'envisager l'utilisation de ces supports comme des matériaux adsorbants.

Algues brunes	q (mg.g ⁻¹)	Références
<i>Padina</i> sp.	54,60	[58]
<i>Ecklonia</i>	4,49 mmol.g ⁻¹	[59]
<i>Pilayella littoralis</i>	4,68	[60]
<i>Sargassum siliculosum</i>	66,4	[61]
<i>Turbinaria ornata</i>	31	[62]
<i>Sargassum</i> sp.	31,72	[58]
<i>Cystoseira indica</i>	20,9 – 27,9	[53]
RC <i>Cystoseira tamariscifolia</i>	21,02	Ce travail
AC <i>Cystoseira tamariscifolia</i>	22,41	Ce travail
RB <i>Bifurcaria bifurcata</i>	23,4	Ce travail
AB <i>Bifurcaria bifurcata</i>	29,29	Ce travail

Tableau III.16 : Comparaison des résultats avec la littérature pour l'adsorption du chrome sur des algues brunes.

Conclusion :

L'objectif fixé au cours de cette partie est de tester la capacité et l'efficacité des supports préparés au laboratoire à partir des algues marines en vue de la dépollution des eaux usées industrielles chargées en polluants.

Dans le but de mieux connaître les supports élaborés et leurs morphologies, le premier axe du travail expérimental a été consacré à la caractérisation des supports par l'examen au microscope électronique, l'analyse élémentaire ainsi que par la spectroscopie infrarouge. Les résultats obtenus montrent que nos supports présentent des structures poreuses irrégulières avec des compositions minérales et organiques importantes.

Afin de tester l'efficacité des supports préparés RC, RB, AC et AB pour la dépollution des eaux, notre choix s'est fixé sur le chrome comme polluant inorganique toxique sur l'environnement. Ainsi, les études expérimentales ont été réalisées dans des conditions de pH et de température constants.

L'étude de la cinétique de biosorption du chrome sur les quatre supports élaborés, montre que la cinétique est réellement conforme à une cinétique décrite par les modèles de puissance fractionnaire et d'Elovich, cela est clairement confirmé par les valeurs de corrélations correspondantes à chaque support.

Les résultats expérimentaux obtenus à partir des essais sur l'adsorption à l'équilibre sur le chrome par les supports algaux, montrent que les supports bruts RC et RB sont des isothermes de type III, par contre les supports activés AC et AB sont des isothermes de type V. Aussi, à partir des régressions linéaires des isothermes de biosorption du chrome par nos supports préparés, on peut conclure que ces isothermes sont beaucoup mieux représentées par le modèle de Langmuir qui était le plus proche aux résultats expérimentaux.

La comparaison de nos résultats avec d'autres travaux antérieurs réalisés sur les algues brunes, montre l'intérêt des supports élaborés à partir de *Cystosiera tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata*. Ceci nous permet de les proposer comme matériaux adsorbants.

Enfin, cette étude représente une source importante d'informations sur le traitement des eaux polluées par les algues marines. Plusieurs données théoriques et expérimentales ont été générées mais la complexité du sujet laisse la voie libre à une poursuite des travaux :

- Utilisation de nouveaux adsorbats présentant une toxicité sur l'environnement tels que métaux lourds, colorants, pesticides, ...
- Utilisation de nouveaux modèles théoriques, pour bien expliquer la cinétique d'adsorption et les isothermes d'adsorption, tels que les modèles à trois dimensions, les modèles à plusieurs paramètres, ...
- Réalisation d'autres travaux sur les effets thermiques pour bien exploiter les données thermodynamiques qui régissent ces processus.
- L'optimisation de la capacité de biosorption peut être réaliser par les plans d'expériences (2k) qui tiennent compte de tous les paramètres d'influences et de leurs interactions.
- Programmation numérique des modèles classiques par le programme MATLAB pour bien faciliter l'exploitation des résultats obtenus jusqu'à n dimensions.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

[1] F. Ramade.

‘‘Eléments d’écologie appliquée’’, 4^{ème} édition, Edition Dunod, pp 689. (2009)

[2] C. Cosandey, S. Bigot, S. M. Dacharry, E. Gille, R. Laganier, P. Salvador.

‘‘Les eaux courantes : Géographie et environnement’’, Collection Belin Sup Géographie, pp 240. (2003)

[3] L. Guo-li, L. Da-xue, L. Quan-ming.

‘‘Heavy metals contamination characteristics in soil of different mining activity zones’’, J. Transactions of Nonferrous Metals Society of China, vol 18, pp 207-211. (2008)

[4] W.W. Eckenfelder.

‘‘Gestion des eaux usées urbaines et industrielles, technique et documentation’’, Edition Lavoisier Paris, pp 503. (1982)

[5] R.H. Foy, S.D. Lennox, R.V. Smith.

‘‘Assessing the effectiveness of regulatory controls on farm pollution using chemical and biological indices of water quality and pollution statistics’’, Water Research, Vol 35, pp 3004-3012. (2001)

[6] F. Berne, J. Cordonnier.

‘‘Industrial water treatment’’, Edition Technip Paris, pp 253. (1995)

[7] O. Atteia.

‘‘Chimie et pollutions des eaux souterraines’’, Edition Tec & Doc Lavoisier, pp 398. (2005)

[8] E. Koller.

‘‘Traitement des pollutions industrielles : Eau, air, déchets, sols, boues’’, 2^{ème} Edition Dunod, pp 569. (2009)

[9] H. Freeman.

‘‘Industrial Pollution Prevention Handbook’’, Edition McGraw-Hill, pp 976. (1994)

[10] H.T. Odum.

‘‘Heavy Metals In The Environment’’, Lewis Publishers London, pp 304. (2000)

[11] L.K. Wang.

‘‘Heavy Metals In The Environment’’, CRC Press Taylor & Francis Group, pp 490. (2009)

[12] R. Zhao, M. Zhao, H. Wang, Y. Taneike, X. Zhang.

‘‘Arsenic speciation in moso bamboo shoot — A terrestrial plant that contains organoarsenic species’’, Science of The Total Environment, Vol 371, pp 293-30. (2006)

[13] M.S. Safarzadeh, M.S. Bafghi, D. Moradkhani, M.O. Ilkhchi.

“A review on hydrometallurgical extraction and recovery of cadmium from various resources”, Minerals Engineering, Vol 20, pp 211-220. (2007)

[14] H. Ksheminska, D. Fedorovych, L. Babyak, D. Yanovych, P. Kaszycki, H. Koloczek.

“Chromium(III) and (VI) tolerance and bioaccumulation in yeast: a survey of cellular chromium content in selected strains of representative genera”, Process Biochemistry, Vol 40, pp 1565-1572. (2005)

[15] J.J. Rytuba.

“Mercury mine drainage and processes that control its environmental impact”, The Science of The Total Environment, Vol 260, pp 57-71. (2000)

[16] M.E. López-Mosquera, C. Moirón, E. Carral.

“Use of dairy-industry sludge as fertiliser for grasslands in northwest Spain: heavy metal levels in the soil and plants”, Resources, Conservation and Recycling, Vol 30, pp 95-109. (2000)

[17] M. He, Z. Wang, H. Tang.

“Modeling the ecological impact of heavy metals on aquatic ecosystems: a framework for the development of an ecological model”, The Science of The Total Environment, Vol 266, pp 291-298. (2001)

[18] M.B. McBride.

“Environmental Chemistry of Soils”, Oxford University Press, pp 416. (1994)

[19] E.G. Knox, E.A. Gilman.

“Hazard proximities of childhood cancers in Great Britain from 1953-80”, Journal of Epidemiology Community Health, Vol 51, pp 151-159. (1997)

[20] Bulletin officiel Marocain.

N° 5062 du 30 ramadan 1423, Arrêté conjoint du ministre de l'équipement et du ministre chargé de l'aménagement du territoire, de l'urbanisme, de l'habitat et de l'environnement n° 1276-01 du 10 chaabane 1423, portant fixation des normes de qualité des eaux destinées à l'irrigation. (2002)

[21] M.E. Losi, C. Amrhein, W.T. Frankenberger.

“Environmental biochemistry of chromium”, Reviews Environmental Contamination Toxicology, Vol 136, pp 91-121. (1994)

[22] D. Samake.

“Traitement des eaux usées de tannerie à l'aide de matériaux à base d'argile”, Thèse de Doctorat, Cotutelle de l'Université Joseph Fourier et de Grenoble et de l'Université de Bamako. (2009)

[23] J.O. Niragu, E. Nieboer.

“Chromium in the natural and human environments”, Environmental science and technology, Wiley-Interscience, pp 571. (1988)

[24] J. Guertin, J.A. Jacobs.

“Chromium (VI) handbook”, CRC Press, pp 784. (2005)

[25] A. Pichard.

“Chrome et ses dérivés”, INERIS : Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques, Version N°2, pp 80. (2005)

[26] D. Bagchi, S.J. Stohs, B.W. Downs, M. Bagchi, H.G. Preuss.

“Cytotoxicity and oxidative mechanisms of different forms of chromium”, Toxicology, Vol 180, pp 5-22. (2002)

[27] E. Nieboer and A.A. Jusys.

“Biologic chemistry of chromium”, Advances in environmental sciences and technology, Vol 20, pp 21-81. (1988)

[28] M.E. Losi, C. Amrhein and W.T. Frankenberger.

“Environmental Biochemistry of Chromium”, Reviews of environmental contamination and toxicology, Vol 13, pp 91-121. (1994)

[29] S. Zafra-Stone, M. Bagchi, H.G. Preuss and D. Bagchi

“Benefits of chromium(III) complexes in animal and human health”, The Nutritional Biochemistry of Chromium (III), pp 183-206. (2007)

[30] C.M. Lytle, F.W. Lytle, N. Yang, J. Qian, D. Hansen, A. Zayed, N. Terry.

“Reduction of Cr(VI) to Cr(III) by wetland plants : Potential for In Situ Heavy Metal Detoxification”, Environmental science and technology, Vol 32, pp 3087-3093. (1998)

[31] S.E. Fendorf

“Surface reactions of chromium in soils and waters”, Geoderma, Vol 67, pp 55-71. (1995)

[32] T. Deschamps, M. Benzaazoua, B. Bussière, T. Belem, M. Mbonimpa.

“Mécanismes de rétention des métaux lourds en phase solide : cas de la stabilisation des sols contaminés et des déchets industriels”, La revue Vertigo en sciences de l'environnement, Vol 2, pp 1-11. (2006)

[33] A. Manceau, M.A. Marcus, N. Tamura.

“Quantitative speciation of heavy metals in soils and sediments by synchrotron X-ray techniques. In Applications of Synchrotron Radiation in Low-Temperature Geochemistry and Environmental Science”. Reviews in Mineralogy and Geochemistry, pp 341-428. (2002)

[34] S. Brunauer, L.S. Deming, W.E. Deming, E. Teller.

“On a theory of the van der Waals adsorption of gases”, Journal of the American Chemical Society, pp 1723-1732. (1940)

[35] F. Al Mardini.

“Etude de l'adsorption du pesticide Bromacil sur charbon actif en poudre en milieu aqueux : effet compétiteur des matières organiques naturelles”, Thèse de Doctorat, Université de Poitiers, pp 245. (2008)

[36] T. Ainane.

‘‘Etude et modélisation de l'adsorption du bleu de méthylène sur une argile naturelle’’, Mémoire DESA, Université Hassan II, pp 50. (2006)

[37] L. Liggieri, F. Ravera, A. Passerone.

‘‘A diffusion-based approach to mixed adsorption kinetics’’, Colloids and surfaces A: physicochemical and engineering aspects, Vol 114, pp 351-359. (1996)

[38] S. Basha, Z.V.P. Murthy.

‘‘Kinetic and equilibrium models for biosorption of Cr(VI) on chemically modified seaweed, *Cystoseira indica*’’, Process Biochemistry, Vol 42, pp 1521-1529. (2007)

[39] R.G. Jones, D.L. Perry.

‘‘Fractional and zero order desorption kinetics of adsorbed monolayers: The role of attractive lateral interactions in the Hg/W(100) system’’, Surface Science, Vol 82, pp 540-548. (1979)

[40] G. Schüürmann.

‘‘First-order and pseudo-first-order elimination kinetics’’, The Science of The Total Environment, Vol 109-110, pp 395-405. (1991)

[41] S. Lagergren.

‘‘About the theory of so-called adsorption of soluble substances’’, Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar, Vol 24, pp.1-39. (1898)

[42] A.M. Peers

‘‘Elovich adsorption kinetics and the heterogeneous surface’’, Journal of Catalysis, Vol 4, pp 499-503. (1965)

[43] Y. Ho, A.E. Ofomaja.

‘‘Pseudo-second-order model for lead ion sorption from aqueous solutions onto palm kernel fiber’’, Journal of Hazardous Materials, pp 137-142. (2006)

[44] W.J.J. Weber, J.C. Morris.

‘‘Kinetics of adsorption on carbon from solution’’, American Society of Civil Engineers : Sanitary Engineering Division, Vol 89, pp 31-59. (1963)

[45] H. Freundlich.

‘‘Ueber die Adsorption in Loesungen’’, Zeitschrift für physikalische Chemie, Vol 57, pp 385-471. (1907)

[46] I. Langmuir.

‘‘The constitution and fundamental properties of solids and liquids’’, Journal of the American Chemical Society, Vol 38, pp 2221-2295. (1916)

[47] M.M. Dubinin, L.V. Radushkevich.

‘‘Equation of the characteristic curve of activated charcoal’’, Physical chemistry proceedings of the Academy of Sciences of the USSR, Vol 55, pp 331-333. (1947)

[48] M.J. Temkin and V. Pyzhev.

“Recent modifications to Langmuir isotherms”, *Acta Physicochimica U.R.S.S.*, Vol 12, pp 217-222. (1940)

[49] G. Halsey.

“Physical adsorption on non-uniform surfaces”, *Journal of Chemical Physics*, Vol 16, pp 931–937. (1948)

[50] J. Eschbach.

“Etude de nanocomposites hybrides en vue d'application dans les microsystèmes: de la synthèse des nanoparticules à l'élaboration de films minces piézoélectriques”, Thèse de Doctorat, Université Nancy I- Henri Poincaré, pp 175. (2009)

[51] B. François.

“Microscopie électronique à balayage et microanalyses”, EDP Sciences, pp 984. (2008)

[52] D.L. Pavia, G.M. Lampman, G.S. Kaiz.

“Introduction to spectroscopy : a guide for students of organic chemistry”, Saunders Golden Sunburst Series Brooks Cole, pp 672. (1987)

[53] S. Basha, Z.V.P. Murthy, B. Jha.

“Biosorption of hexavalent chromium by chemically modified seaweed, *Cystoseira indica*”, *Chemical Engineering Journal*, Vol 137, pp 480–488. (2008)

[54] D. Bertrand, E. Dufour.

“La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques”, 2ème Edition, Lavoisier, pp 660. (2006)

[55] Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec.

“Détermination du chrome hexavalent : méthode colorimétrique”, MA. 200 – CrHex 1.1, Rév. 1, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, pp 10. (2006)

[56] E. Pehlivan, S. Cetin.

“Sorption of Cr(VI) ions on two Lewatit-anion exchange resins and their quantitative determination using UV–visible spectrophotometer”, *Journal of Hazardous Materials*, Vol 163, pp 448-453. (2009)

[57] L. Cynober, J. Fricker

“La Vérité sur les compléments alimentaires”, Edition Odile Jacob, pp 235. (2010)

[58] P.X. Sheng, L.H. Tan, J.P. Chen, Y.P. Ting,

“Biosorption performance of two brown marine algae for removal of chromium and cadmium”, *J. Disper. Sci. Technol*, Vol 25, pp 679–686. (2004)

[59] D. Park, Y.S. Yun, J.M. Park.

“Reduction of hexavalent chromium with the brown seaweed *Ecklonia* biomass”, *Environ. Sci. Technol*, Vol 38, pp 4860–4864. (2004)

[60] E.N. Carrilho, T.R. Gilbert.

“Assessing metal sorption on the marine algae *Pilayella littoralis*”, J. Environ. Mon, Vol 2, pp 410–415. (2000)

[61] L.K. Cabatingan, R.C. Agapay, J.L.L. Rakels, M. Ottens, L.A.M. Vander Wielen,

“Potential of biosorption for the recovery of chromate in industrial wastewaters”, Ind. Eng. Chem. Res, Vol 40, pp 2302–2309. (2001)

[62] R. Aravindhan, B. Madhan, J.R. Rao, B.U. Nair.

“Recovery and reuse of chromium from tannery wastewaters using *Turbinaria ornata* seaweed”, J. Chem. Technol. Biotechnol. Vol 79, pp 1251–1258. (2004)

Conclusion Générale

Ce travail avait pour objectif, la valorisation de deux algues marines brunes de la côte atlantique du Maroc : *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata*. Notre investigation comporte deux volets principaux : Le premier s'est axé sur l'étude des potentialités pharmacologiques des extraits des deux algues marines. Tandis que, le deuxième volet est axé vers une application environnementale de l'étude de biosorption du chrome sur des matériaux préparés à partir des algues marines.

Etudes des potentialités pharmacologiques des deux algues marines :

Cette partie a concerné l'étude des potentialités pharmacologiques de ces deux algues marines, en étudiant certaines activités biologiques des extraits de ces algues :

- Activités antibactériennes vis-à-vis d'*Escherichia coli*, d'*Enterobacter cloacae*, de *Klebsiella pneumoniae* et de *Staphylococcus aureus*.
- Activités antileishmaniens vis-à-vis de *Leishmania infantum*.
- Activités antitumorales dont le suivie est basé sur l'interaction des extraits avec l'ADN de thymus de veau.
- Activité de cytotoxicité, appelée aussi test de Brine shrimp vis-à-vis des larves d'*Artemia salina*.

Les résultats obtenus ont montré que les deux algues marines possèdent des potentialités pharmacologiques et en particulier des activités très intéressantes pouvant faire l'objet de plusieurs applications pharmaceutiques et biologiques, particulièrement l'activité antibactérienne et l'activité antileishmanien.

D'autres travaux de fractionnement et de purification biodirigés ont été réalisés en suivant les activités antibactériennes de l'extrait éthéré de *Bifurcaria bifurcata*. Le choix de ce dernier résulte de ses activités remarquables au niveau de tous les tests biologiques réalisés au début.

Au cours de la purification, nous avons isolé trois produits :

- le Fucostérol à partir de *Bifurcaria bifurcata* : stérol majoritaire chez la plupart des algues brunes.

Conclusion générale :

- la Méthoxybifurcarénone à partir de *Cystoseira tamariscifolia*, cette molécule a déjà été isolée par notre équipe et a montrée des activités biologiques intéressantes.
- le produit **B** est constitué majoritairement du Bifurcane. La présence de d'autres molécules diterpéniques nécessite d'autres techniques analytiques de purification pour la structure soit totalement élucidée.

L'adsorption du chrome sur les supports algaux :

Dans cette partie, l'étude de la rétention du chrome a été effectuée sur quatre supports algaux. Ces derniers ont été préparés à partir des algues *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata* et ils ont été caractérisés par Microscopie Electronique à Balayage couplé avec Dispersion des Electrons des rayons X (MEB/EDX) et Infrarouge à Transformée de Fourier, les résultats de caractérisation de surface montrent l'hétérogénéité des formes des pores sur toutes les surfaces des deux algues.

Les résultats obtenus au cours de l'adsorption du chrome sur les quatre supports : RC, RB, AC et AB montrent que :

- La cinétique d'adsorption pourrait être considérée comme conforme aux modèles de puissance fractionnaire et d'Elovich.
- Les isothermes d'adsorption sont de types : III pour RC et RB et V pour AC et AB.
- La modélisation des isothermes d'adsorption par les Modèles de Freundlich, de Langmuir, de Dubinin – Radushkevich, de Temkin et de Halsey peut simplifier l'interprétation des données expérimentales des isothermes mises en jeux.
- Tous les isothermes d'adsorptions obtenues pourraient être considérées comme conformes au modèle de Langmuir.
- La comparaison avec la littérature, montre qu'on peut utiliser les supports bruts et activés de *Cystoseira tamariscifolia* et de *Bifurcaria bifurcata* dans le traitement des eaux polluées.

L'ensemble des résultats obtenus au cours de ce travail, nous ont permis de découvrir de nouvelles voies de valorisation de la biomasse algale du Maroc, donnant de nouveaux produit et matériaux dans des domaines d'application variés.

Conclusion générale :

Enfin, Au terme de ce travail, il convient de souligner l'importance des thèmes abordés sur la valorisation d'une ressource naturelle, en l'occurrence les algues marines. On peut dire que ces substances naturelles sont loin d'être totalement exploités et continueront, sans doute, à offrir d'autres applications plus intéressantes. A titre d'exemple les résultats obtenus, par notre Laboratoire, dans le domaine d'utilisation des algues contre la corrosion en milieu acide sont très encourageants.

Partie Expérimentale

1. Extraction :

Les extraits sont obtenus à partir des extractions successivement au Soxhlet (Figure II.2) avec des solvants de polarité croissante : l'hexane, l'éther, le chloroforme et le méthanol.

2. Activités biologiques :

2.1. Activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne a été réalisée aux Laboratoire de Biophotonique et Pharmacologie, Faculté de pharmacie de Strasbourg et Laboratoire de microbiologie de l'Institut Pasteur de Casablanca.

- **Souches bactériennes utilisées :** *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterobacter cloacae* (CHU Ibnou Rochd), *Klebsiella pneumoniae* (CHU Ibnou Rochd) et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- **Milieu de culture :** Agar Müller Hinton (MH).
- **Préparation des plateaux :** le milieu de culture gélosé, stérilisé et coulé dans des plateaux des diamètres (15cm×15cm).
- **Ensemencement :** On ensemence 200 µL d'une suspension bactérienne en phase de croissance exponentielle sur la surface de la gélose (10^9 bactéries/mL, correspondant à une absorption à 600 nm de densité optique D.O = 0,925). La suspension est étalée le plus homogènement possible à l'aide d'un étaloir stérilisé, et on réalise des puits de 6 mm sur la gélose par l'utilisation des pipettes pasteur stérilisées.
- **Préparation des extraits :** une solution à 1 mg/mL dans DMSO 2 % a été préparée pour chaque extrait, chaque 50 µL de ces solutions sont introduites dans les puits.

2.2. Activité antileishmanien :

L'activité antileishmanien a été réalisée au Laboratoire d'Etudes des Leishmanioses à l'Institut Pasteur de Casablanca.

- **Parasite utilisé :** *Leishmania infantum*.(promastigotes)
- **Milieu de culture :** milieu RPMI 1640 dépourvu de phénol rouge, tamponné avec 25 mM NaHCO₃ (pH = 7,2) et supplémenté avec 20 % du sérum bovine foetal (SVF).

- **Préparation des plaques ELISA :** 90 μL de milieu RPMI contient 2×10^5 parasites a partagé a chaque puit + 10 μL des échantillons à tester.
- **Préparation MTT :** solution à 5 mg.mL^{-1} de MTT a été préparée dans RPMI 1640.
- **Lecture des résultats :** les lectures ont été effectuées par Spectrophotomètre ELISA type ASYS à D.O = 492 nm.

Les échantillons à tester et l'amphotéricine B sont additionnés en triplicat dans les puits contenant les parasites. Après 72 heures d'incubation à 25°C , on ajoute un volume de 10 μL de MTT et les plaques sont remises dans les incubateurs. Après 1 heure d'incubation à température ambiante et 3 heures à 37°C la coloration violette est développée, les plaques sont centrifugées à 2000 rpm pendant 5 min et on ajoute un volume de 200 μL de DMSO, et enfin le calcule de l'absorbance de chaque puits par Spectrophotomètre ELISA.

2.3. Activités Antitumorales :

L'activité antitumorale a été réalisée au Laboratoire de Biochimie à l'Institut Pasteur de Casablanca.

- **ADN :** l'ADN utilisé provient de thymus de veau (SIGMA).
- **L'adriamycine :** (SIGMA) utilisée comme substance de référence.

Une solution de l'ADN à $0,1 \text{ mg.mL}^{-1}$ est injectée sur une colonne HPLC de silice greffée C_{18} conditionnée avec un mélange de solvant $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ 80/20. Le pic correspondant à l'ADN est détecté par UV (254 nm). L'échantillon testé, dilué dans le Méthanol (1 mg.mL^{-1}) et co-injecté avec l'ADN (30 μL chacun), est élué pendant 10 minutes avec l'éluant $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ 80/20.

2.4. Activités cytotoxiques :

Les œufs de crevettes d'*Artemia salina* proviennent de Youssoufia. Un gramme d'œufs est pesé à la balance est mis dans une cuve en verre de 1 litre, contenant 500 mL d'une solution de NaCl à 37 g/L d'eau distillée. Pour maintenir les œufs à l'obscurité et à la température constante de 25°C , le matériel est recouvert délicatement avec du papier aluminium. A l'éclosion, les jeunes larves sont attirées par un faisceau lumineux, maintenu à la surface du papier aluminium, grâce à un petit trou de 3 à 5 mm de diamètre. Le prélèvement et le

comptage des jeunes larves, lors du test est effectué au moyen d'une pipette pasteur. A la fin du test le comptage des larves est réalisé à l'aide d'une loupe binoculaire.

3. Chromatographie :

- **CCM** : Les diverses chromatographies sur couches minces (CCM) ont été réalisées sur des couches de gel de silice Merck 60 F254 d'épaisseur 0,2 mm sur support d'aluminium.

Révélation des plaques:

- 1) H_2SO_4 50 % + 5 min à 100°C : révélation des composés carbonés (coloration brune) et des stérols (coloration violette).
 - 2) Le réactif de Gibbs : révélation des composés phénoliques (coloration bleue après passage sur vapeurs d'ammoniac)
- **CC** : Les chromatographies sur colonne ouverte ont été effectuées sur gel de silice (MERCK) de granulométrie 0,063 – 0,200 et avec 40 g d'adsorbant par gramme d'extrait.
 - **HPLC** : des chaînes de chromatographie liquide haute performance ont été utilisées à des fins analytiques et semi préparatives . Les produits ont été détectés soit par un réfractomètre différentiel soit par un détecteur UV à longueur d'onde variable.

Les HPLC utilisées :

HPLC de type HP au Laboratoire de Biochimie à l'Institut Pasteur de Casablanca.

HPLC de type HP au Laboratoire de Chimie Analytiques et Sciences d'Aliment, Faculté de pharmacie de Strasbourg.

HPLC de type WATERS au Laboratoire Biomolécules et Synthèse Organique.

4. Spectrométrie :

- **Spectres infrarouges** : Le spectrophotomètre IRTF utilisé est de type VERTEX 70, le spectre a été enregistré dans la région de 4000 cm^{-1} à 400 cm^{-1} . (les produits sur pastilles de KBr ou NaCl) : CNRST Rabat.
- **Spectres UV-Visible** : Les spectres UV-Visible ont été pris sur un mini – spectrophotomètre SHIMADZU 640 : Laboratoire de Chimie Analytique et Physico-chimie des Matériaux.

- **Spectres RMN :** Les spectres RMN ^1H et ^{13}C ont été enregistrés par :

Bruker AC80 : CNRST Rabat.

Bruker AM 400 : Service Commun d'Analyse, Faculté de Pharmacie de Strasbourg.

Les déplacements chimiques (δ) Sont donnés en parties par millions (ppm) à parti du tétraméthylsilane (TMS) utilisé comme étalon interne.

5. Microscopie :

Le microscope électronique à balayage couplé à la microanalyse EDX de CNRST Rabat permet l'observation haute résolution dans des conditions environnementales (mode ESEM) avec une pression de gaz dans la chambre pouvant aller jusqu'à 26 mbar.

6. Adsorption :

- **Préparation des échantillons :**

Les algues *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata* ont été broyées avec un moulin électrique et tamisées pour obtenir la fraction de taille de 0,50 mm, les échantillons résultants ont été désignés comme les supports bruts RC et RB. Ces derniers ont été activés en solution d'acide chlorhydrique 1M à 25°C pendant 2h, ensuite le mélange a été séparé par centrifugation, puis lavé avec l'eau distillée, les supports ont été séchés et ils ont été désignées comme des supports activées AC et AB.

- **Dosage du Chrome :**

Les solutions du chrome ont été préparées à partir du chromate de potassium K_2CrO_4 (Séché à 100 °C). Le Dosage des solutions du chrome hexavalent est réalisé par la méthode colorimétrique basée sur la réaction du chrome avec le 1,5-diphénylcarbazide pour former, en milieu acide, un complexe dont l'absorbance à 540 nm est proportionnelle à la concentration du chrome.

- **Modélisation la cinétique d'adsorption :**

La modélisation de la cinétique d'adsorption a été effectuée selon de huit modèles théoriques (Tableau III.4) :

- | | |
|--------------------------------------|-----------------------------------|
| – Modèle de puissance fractionnaire. | – Modèle de zéro ordre. |
| – Modèle de premier Ordre. | – Modèle du pseudo premier ordre. |
| – Modèle d'Elovich. | – Modèle de deuxième Ordre. |

- Modèle du pseudo deuxième ordre.
- Modèle de la diffusion intra-particule.

- **Modélisation des isothermes d'adsorption :**

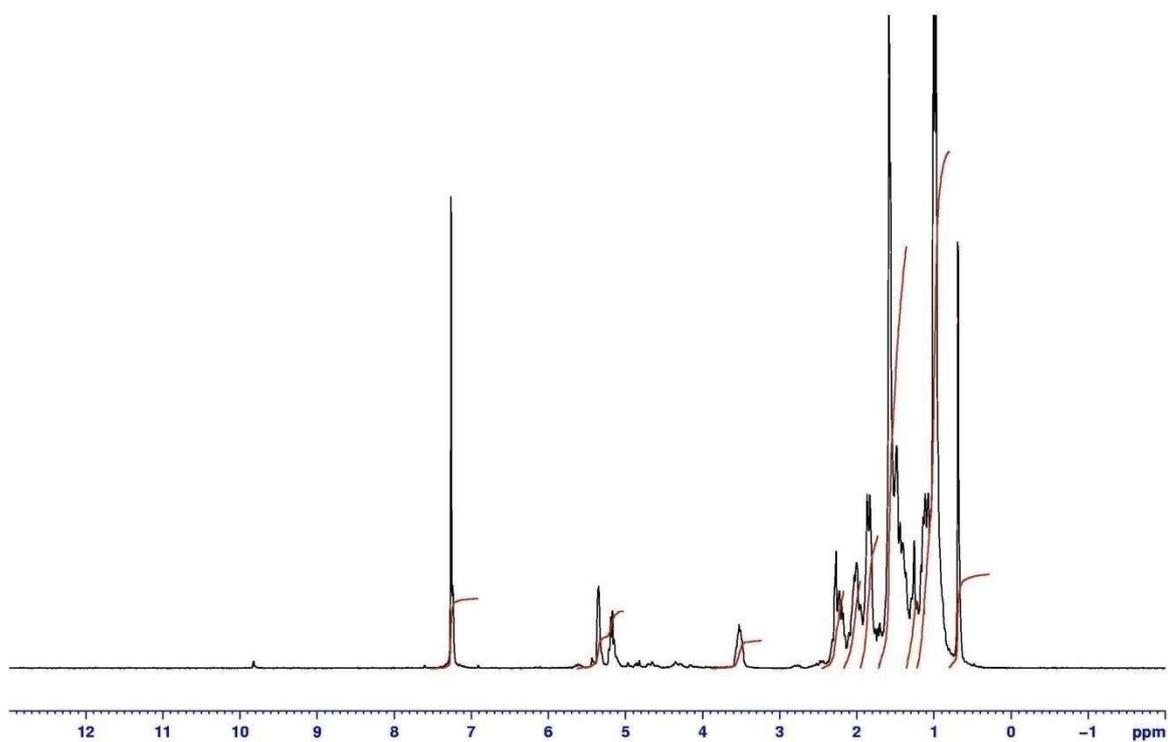
La modélisation des isothermes d'adsorption a été effectuée selon les modèles théoriques suivants : (Tableau III.15)

- Modèle de Freundlich.
- Modèle de Langmuir.
- Modèle de Dubinin – Radushkevich.
- Modèle de Temkin.
- Modèle de Halsey.

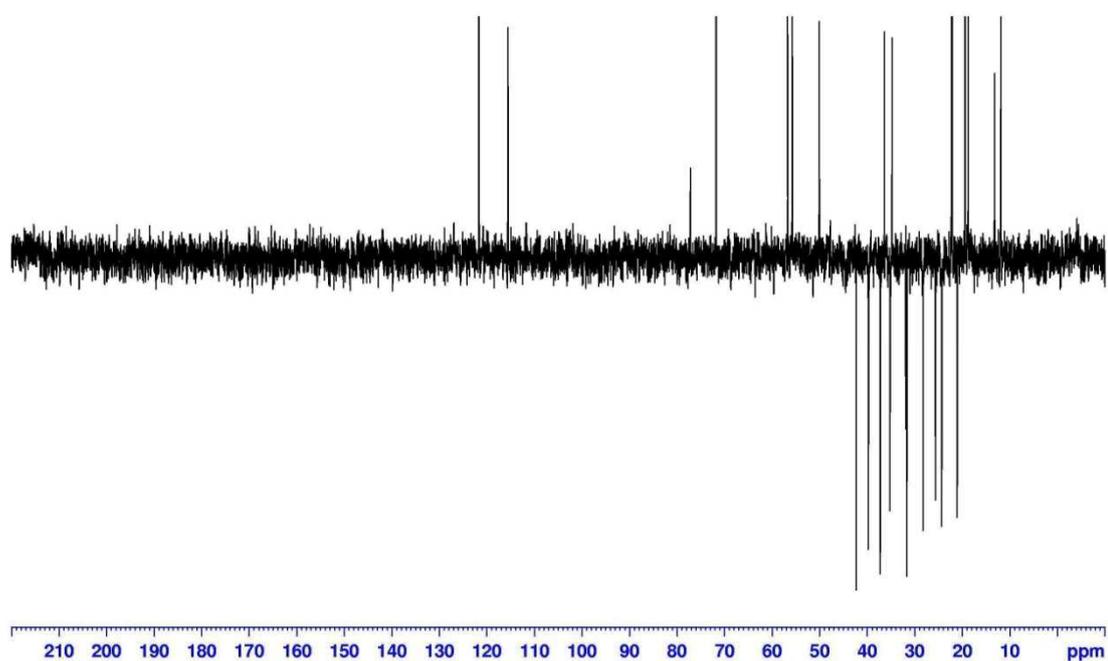
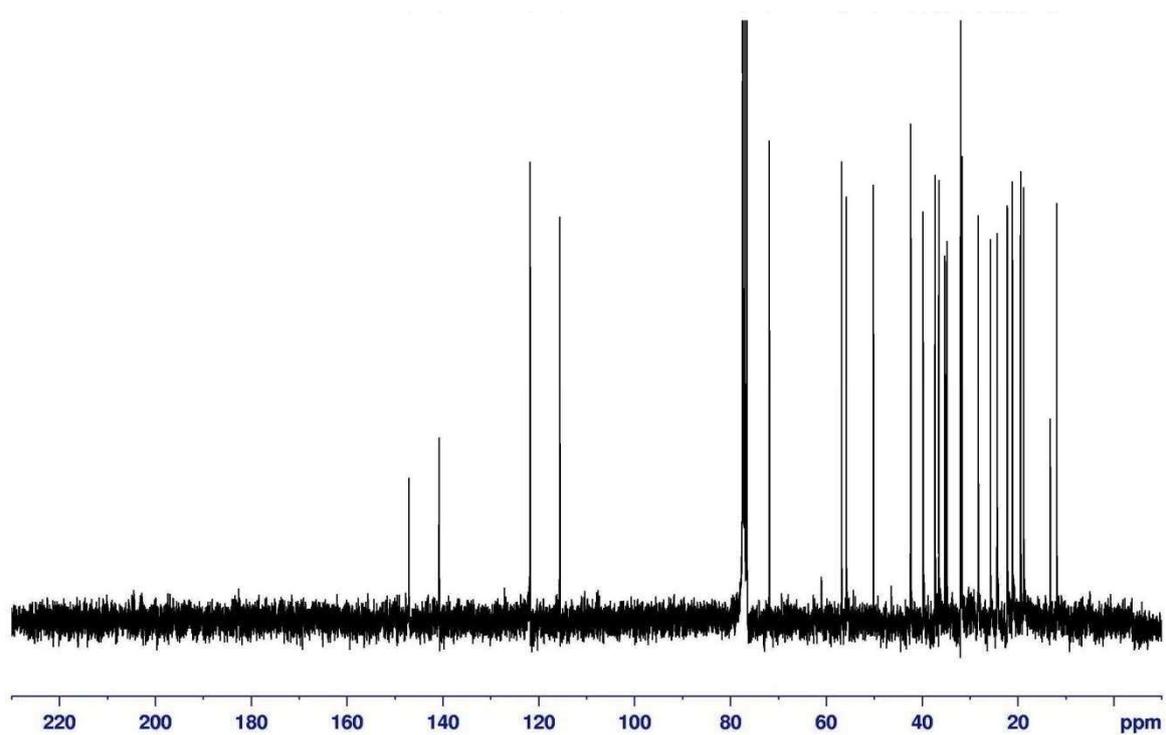
- **Outils informatiques :**

ChemOffice, Excel et Origin Lab.

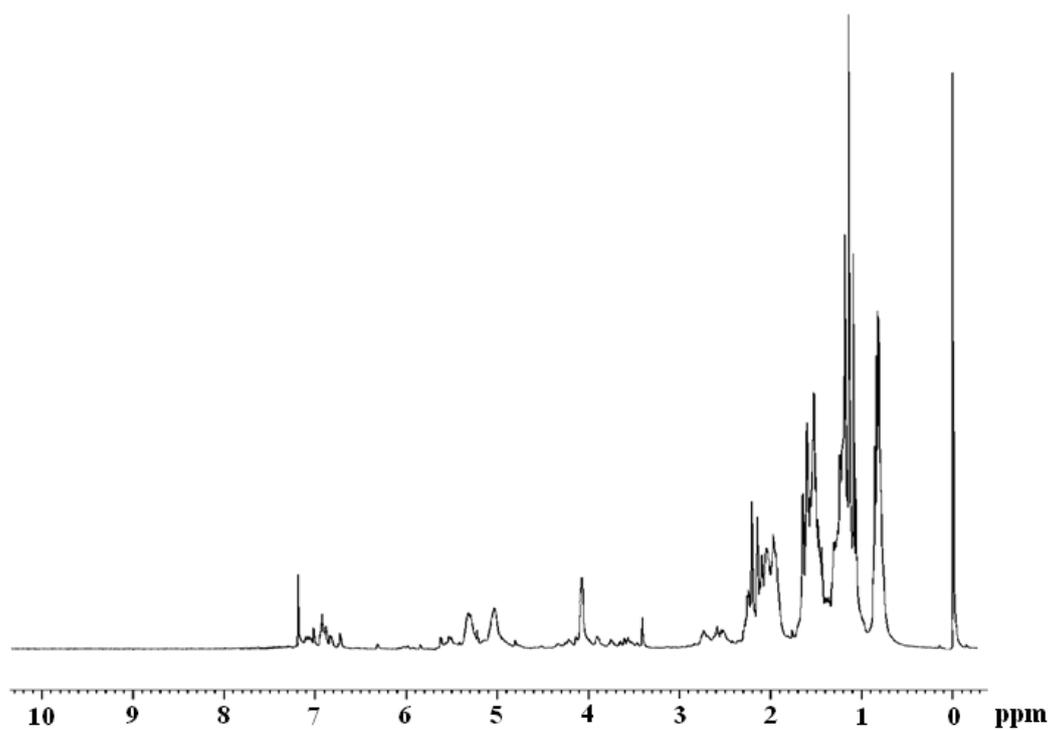
Annexes



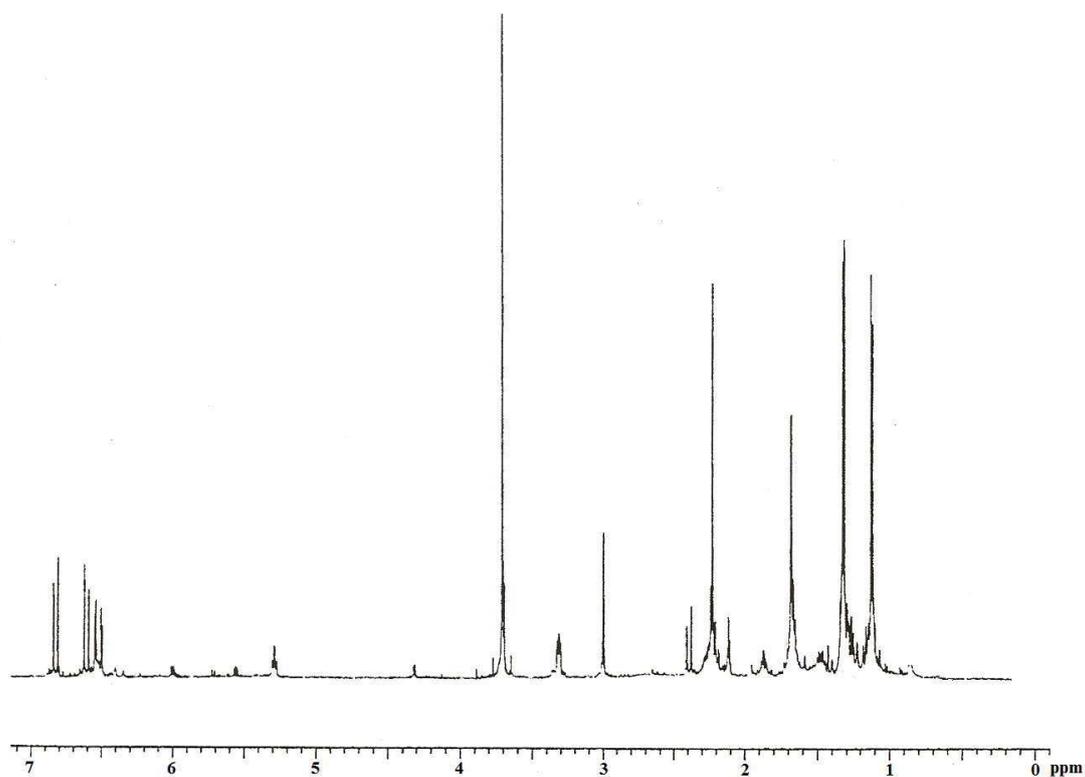
Annexe 1 : Spectre RMN ^1H du produit **A**.



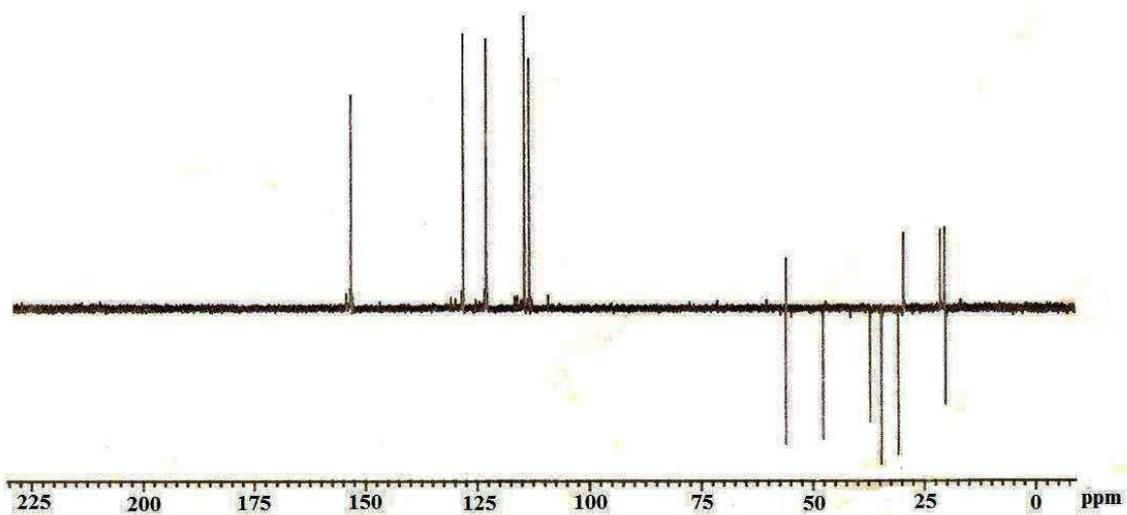
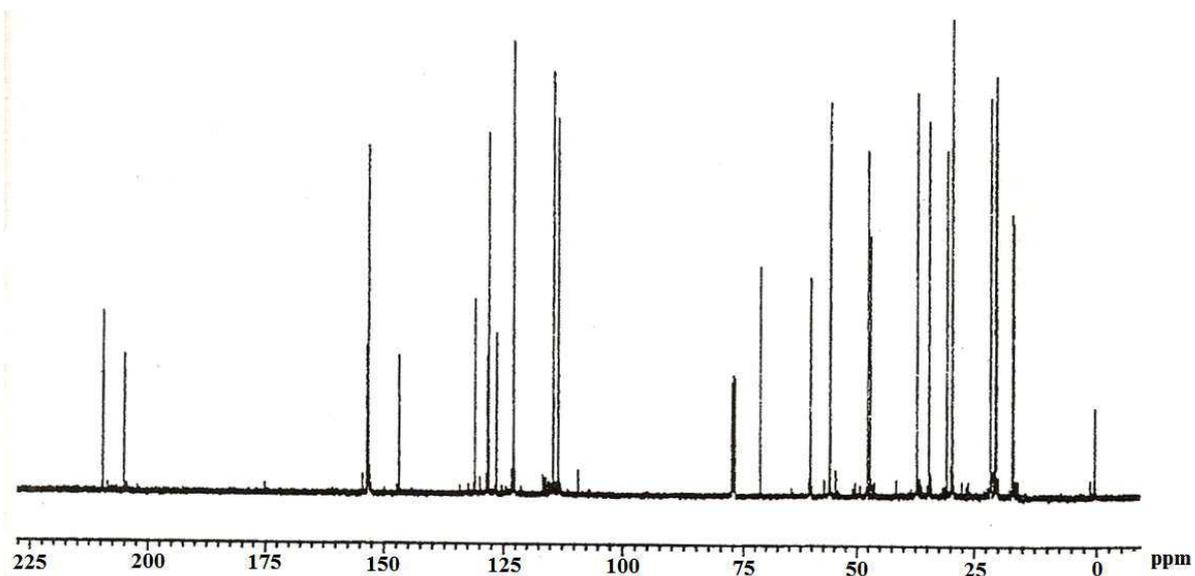
Annexe 2 : Spectres RMN ^{13}C et DEPT du produit A.



Annexe 3 : Spectre RMN ¹H du produit **B**.



Annexe 4 : Spectre RMN ^1H du produit C.



Annexe 5 : Spectres RMN ^{13}C et DEPT du produit **C**.



Nom & Prénom : AINANE Tarik

Unité de Formation et de Recherche : Chimie Fine & Contrôle Qualité

Diplôme : Doctorat

Discipline : Chimie

Spécialité : Chimie Analytique

Titre:

Valorisation de la biomasse algale du Maroc : Potentialités pharmacologiques et Applications environnementales, cas des algues brunes *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata*

Résumé :

Le Maroc, avec sa double façade Atlantique et Méditerranéenne, longue de plus de 3500 Km, est un pays profondément influencé par la mer, ce qui implique l'existence de milliers d'espèces marines.

Ce mémoire est consacré à la valorisation de deux algues brunes *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata* de la côte atlantique marocaine (région du Casablanca). Deux applications ont été investiguées : les potentialités pharmacologiques et les applications environnementales.

L'étude des potentialités pharmacologiques de ces deux algues marines a été effectuée par le biais de l'étude des activités antibactériennes, antileishmaniens, antitumorales et cytotoxicité. Des métabolites secondaires ont été isolés au cours de cette étude par des techniques analytiques de biodirection, leurs identifications ont été effectuées par les techniques spectroscopiques : UV – visible, Infrarouge et Résonance Magnétique Nucléaire.

L'autre partie de ce mémoire, s'intéresse aux applications environnementales et concerne l'élimination du chrome par des supports préparés à partir de ces deux algues marines. Des études cinétiques et des isothermes d'adsorption ont été réalisées selon des modèles théoriques pour expliquer et mettre au point les processus d'adsorption. L'ensemble des résultats obtenus au cours de cette partie ont montré l'intérêt de l'utilisation de ces supports algaux dans le traitement des eaux polluées.

Mots clés : *Cystoseira tamariscifolia*, *Bifurcaria bifurcata*, potentialités pharmacologiques, applications environnementales, antibactérienne, antileishmanien, antitumorale, cytotoxicité, biodirection, isolement, identification, adsorption, chrome, étude cinétique, isothermes, modélisation.

Date de Soutenance : 28 Mai 2011

Membres du Jury :

Pr M. CHARROUF (Président)

Pr A. BENNAMARA, Pr M. ZAHOUILY, Pr M. TALBI (Rapporteurs)

Pr E. MARCHIONI, Dr M. LEMRANI, Pr A. ABOURRICHE, Pr M. KABBAJ (Examineurs)

Laboratoire d'Accueil :

Laboratoire Biomolécules & Synthèse Organique

Directeurs de Recherche :

Pr. ABOURRICHE Abdelmjid & Pr. KABBAJ Mohammed

Contact:

e-mail : tarikainane@yahoo.fr