

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE FERHAT ABBAS –SETIF-1
UFAS-1 (ALGERIE)

THÈSE

Présentée à :
La Faculté de technologie
Département de Génie des Procédés

Pour l'obtention du Diplôme de

Doctorat en Sciences

Option : Génie des procédés pharmaceutiques

Par :

M^{elle} CHETOUANI ASMA

THÈME

*Elaboration et Bioévaluation de nouvelles classes
d'hydrogels à base de pectine avant et après son oxydation
par le periodate et/ou par le chlore actif et étude de leurs
effets sur les comportements physico-chimiques et
biologiques de la gélatine et du chitosane*

Présentée et soutenue le : 23/04/2015

Pr Lahcène BENCHEIKH	Professeur	UFAS-1	Président
Pr Meriem EL KOLLI MERBAH	Professeur	UFAS-1	Rapporteur
Pr Djallel BOUZID	Professeur	U. Constantine	Examineur
Pr Kaddour LAMARA	Professeur	U. Jijel	Examineur
Pr Khoudir MADANI	Professeur	U. Bejaia	Examineur
Pr Saci NACEF	Professeur	UFAS-1	Examineur
Pr Mahmoud BOUNEKHEL	Professeur	UFAS-1	Membre invité
Dr Roudayna DIAB	Maitre de conférences	U. Lorraine	Membre invité

Remerciements

*Je dois tout d'abord remercier et me prosterner devant **ALLAH**, Dieu Le Tout Puissant, qui m'aide et m'offre tout ce que j'ai aujourd'hui.*

*Je ne cesse de pleurer, de prier et de penser à mon cher regretté, mon professeur, **Monsieur Djellouli Brahim**, qui m'avais toujours appris la rigueur, le sérieux et l'amour de mes travaux.*

Qu'il soit parmi les préférés du Grand Dieu Le Miséricordieux.

*Je tiens tout particulièrement à remercier **Madame La Professeure Elkolli Merbah Meriem** qui a dirigé cette thèse.*

Pour sa disponibilité, son soutien et ses conseils qui ont été nombreux et importants.

Mme Elkolli Merbah Meriem a beaucoup œuvré pour la mise en valeur de mon travail. J'ai tant apprécié en sa présence l'environnement de notre équipe qui s'est solidifié. J'ai appris beaucoup de choses avec elle. Je lui adresse toute ma reconnaissance et mon affection.

*Je suis profondément sensible à l'honneur que **Monsieur Le Professeur Bencheikh Lahcène** m'a fait en acceptant de présider mon jury de soutenance. Je lui transmets toutes les expressions de mes profonds respects et de mes distinguées considérations.*

Ses compétences et son enthousiasme déjà appréciés lors de ses cours me sont une bonne référence dans ma nouvelle vie professionnelle.

*J'exprime mes vifs remerciements à **Monsieur Le Professeur Bounekhel Mahmoud** qui m'a toujours aidé sur tous les plans surtout scientifiques.*

Pour les qualités de ses orientations et de ses connaissances et pour sa sympathie qu'il m'a témoignées. Qu'il trouve ici la reconnaissance de ma profonde gratitude.

*Je remercie **Madame La Docteur Diab Roudayna**, Maitre de conférences à l'Université de Lorraine, pour sa compétence et son aide plus que significatives dans l'élaboration de cette thèse. Je lui témoigne toute ma reconnaissance pour la bienveillance et les conseils avisés qu'elle n'a cessés de démontrer à mon égard dès que j'ai besoin d'elle.*

*Je remercie **Monsieur Le Professeur Nacef Saci** d'avoir accepté de consacrer de son temps à juger cette thèse et de nous honorer par sa présence à ma soutenance en tant que membre de mon jury.*

*Je remercie **Monsieur Le Professeur Bouzid Djallel** d'avoir accepté avec bienveillance de se déplacer pour juger ce travail. Sa présence honore mon jury. Qu'il reçoive l'expression de mes sincères remerciements.*

*Je suis honorée de l'acceptation de **Monsieur Le Professeur Madani Khoudir** pour assumer l'évaluation de cette thèse. Je lui sais gré d'avoir fait preuve d'une grande ouverture d'esprit en acceptant avec simplicité de participer à ma soutenance.*

L'étendue de ses connaissances et ses qualités humaines sont surtout savourées et ne sont jamais démenties par ses collaborateurs.

*J'adresse tous mes remerciements à **Monsieur Le Professeur Lamara Kaddour** qui avait accepté avec une remarquable amabilité à être membre de mon jury de soutenance malgré les lourdes fonctions qu'il assume.*

Je lui suis très reconnaissante de consacrer de son précieux et laborieux temps à examiner et juger mes travaux.

*Je remercie **Madame La Docteur Silini Hafsa**, Maître de conférences au département de biologie à l'UFAS-Sétif-1 d'El BEZ.*

Qu'elle trouve ici tous mes remerciements pour son dévouement, son professionnalisme, sa compréhension et son aide pour la réalisation des études antimicrobiennes.

*Je dois surtout exprimer mes remerciements à **tous les membres du LMPMP-UFAS de Sétif-1** et spécialement **Zohra, El khamza et Khadidja** pour avoir partagé avec moi la route, parfois tortueuse, de cette thèse. Que ces années vécues ensemble laissent persister une amitié durable et solide.*

*Je suis très reconnaissante envers **les membres du personnel de SOFIPLAST** qui m'ont toujours aidé et m'ont fait découvrir un monde que je ne soupçonnais même pas et m'ont enseigné avec beaucoup de patience et de maîtrise leur savoir faire.*

A mon père,

A ma mère,

A mes frères et mes sœurs

A mes ami(e)s,

Et à tous ceux qui me sont chers.

SOMMAIRE

Sommaire.....	<i>i</i>
Liste des abréviations	<i>vi</i>
Liste des figures.....	<i>vii</i>
Liste des tableaux	<i>xii</i>
Introduction générale.....	01

CHAPITRE I : APERÇU GÉNÉRAL SUR LES POLYSACCHARIDES

I.1. Les polysaccharides.....	03
I.2. Classification des polysaccharides	03
I.2.1. Les polysaccharides cationiques	03
I.2.1.1. Le chitosane	03
I.2.2. Les polysaccharides neutres	05
I.2.2.1. L'amidon	05
a. L'amylose	05
b. L'amylopectine	06
I.2.2.2. La cellulose	06
I.2.2.3. La gomme de guar	07
I.2.2.4. Le pullulane	08
I.2.3. Les polysaccharides anioniques	08
I.2.3.1. L'acide hyaluronique ou hyaluronate	08
I.2.3.2. L'alginate de sodium	09
I.2.3.3. La carraghénane	09
I.2.3.4. La pectine	10
a. Description des pectines et leurs origines	11
b. Extraction	12
c. Propriétés physico-chimiques	12
- Solubilité et précipitation	12
- Stabilité	12
- Dégradation chimique	13
- Viscosité	14
d. Structure	14

- La zone lisse	14
- La zone hérissée	14
e. Applications	16
- Pectines dans la nutrition et l'industrie alimentaire	16
- Pectines dans la médecine et l'industrie pharmaceutique	16
I.3. Modifications chimiques des polysaccharides par oxydation	16
I.3.1. Oxydation par le permanganate de potassium	17
I.3.2. Oxydation par le chlorite de sodium	21
I.3.3. Oxydation par le periodate	21
I.3.4. Oxydation par le TEMPO	22
I.3.5. Oxydation par le H ₂ O ₂	24
I.3.6. Oxydation par l'hypochlorite de sodium	24

CHAPITRE II : PARTIE EXPERIMENTALE

II.1. Produits utilisés.....	27
II.2.Méthodes suivies	27
II.2.1. Oxydation de la pectine par l'hypochlorite de sodium (NaOCl)	27
II.2.2. Oxydation de la pectine par le periodate de potassium (KIO ₄).....	27
II.2.3. Dosage chimiques	28
II.2.3.1. Détermination de la teneur en carbonyle.....	28
II.2.3.2. Détermination de la teneur en dialdéhyde (DA) des pectines oxydées par le periodate	29
Méthode 1.....	29
Méthode 2.....	29
II.2.3.3. Détermination de la teneur en carboxyle.....	30
II.2.3.4. Détermination du degré d'estérification.....	30
II.2.4. Préparation de la 2,3-dihydrazone pectines	31
II.2.5. Préparation des films.....	31
II.2.5.1. Préparation de films de gélatine, gélatine/pectine, gélatine/pectine oxydée par le periodate, gélatine/pectine oxydée par le chlore et gélatine/glutaraldehyde	31

a. Préparation des films de gélatine, gélatine/pectine, gélatine/pectine oxydée par le periodate et gélatine/pectine oxydée par le chlore	31
b. Films de gélatine réticulée par le glutaraldehyde	31
II.2.5.2. Préparation de films de chitosane, chitosane/pectine, chitosane/ pectine oxydée par le periodate et chitosane/ glutaraldehyde	32
a. Préparation des films de chitosane, chitosane/pectine et chitosane/ pectine oxydée par le periodate	32
b. Films de chitosane réticulé par le glutaraldehyde	32
II.2.6. Etude structurale.....	34
II.2.6.1. Spectrophotométrie infrarouge (IR-TF)	34
II.2.6.2. Radiocristallographie par diffraction des rayons X (DRX).....	34
II.2.7. Etude thermique	34
II.2.7.1. Analyses thermiques (ATG/ATD)	34
II.2.8. Etudes mécaniques	34
II.2.8.1. Test de gonflement	34
II.2.8.2. Essai de traction	35
II.2.9. Libération de principes actifs	36
Libération de la caféine	36
Libération de paracétamol	37
Libération de l'amoxicilline	38
II.2.9.1. Modélisation mathématique des profils de libération	39
II.2.10. Etudes biologiques	40
II.2.10.1. Biocompatibilité des films avec le sang humain	40
II.2.10.2. Activité antibactérienne	40
a. Souches bactériennes	41
b. Préparation du milieu de culture	41

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Oxydation de la pectine	42
III.1.1. Oxydation par l'hypochlorite de sodium	42
III.1.1.1. Teneur en carbonyle et en carboxyle	42

III.1.1.2. Degré d'estérification (DE)	43
III.1.1.3. Spectroscopie infrarouge IR-TF	44
III.1.1.4. Diffraction des rayons X	47
III.1.2. Oxydation par le periodate	47
III.1.2.1. Teneur en aldéhyde et en carboxyle	47
III.1.2.2. Degrés d'estérification	49
III.1.2.3. Spectroscopie IR-TF	50
III.1.2.4. Spectroscopie IR-TF de pectine 2,3-dihydrazone	53
III.1.2.5. Diffraction des rayons X	54
III.1.2.6. Analyse thermogravimétrique	55
III.2. Etude de l'interaction physicochimique entre la gélatine et la pectine avant et/ou après son oxydation par le chlore actif et/ou par le periodate.....	57
III.2.1. Spectroscopie infrarouge IR-TF	57
III.2.1.1. (Gélatine/Pectine) (60/40) (%)	57
III.2.1.2. (Gélatine/ Pectine oxydée par le chlore actif) (60/40)(%)	59
III.2.1.3. (Gélatine/ Pectine oxydée par le periodate) (60/40)(%)	60
III.2.1.4. (Gélatine/Glutaraldehyde) (%)	62
III.2.2. Diffraction des rayons X	65
III.2.3. Analyse thermogravimétrique	67
III.2.4. Test de gonflement	68
III.2.5. Essais mécaniques de traction	69
III.2.6. Libération de principes actifs	70
III.2.6.1. Libération de la caféine	70
III.2.6.2. Modélisation mathématique des profils de libération	71
III.2.6.3. Libération du paracétamol	72
III.2.6.4. Modélisation mathématique des profils de libération	72
III.2.7. Evaluation de la compatibilité avec le sang	73
III.2.8. Activité antibactérienne	73
III.3. Etude de l'interaction physicochimique entre le chitosane et la pectine avant et/ou après son oxydation par le periodate.....	75

III.3.1. Spectroscopie infrarouge IR-TF	75
III.3.1.1. Chitosane	75
III.3.1.2. (Chitosane/ Pectine) (60/40) (%)	76
III.3.1.3. (Chitosane/ Pectine oxydée par le periodate) (60/40) (%)	77
III.3.1.4. (Chitosane/ Glutaraldehyde) (100/02) (%).....	78
III.3.2. Diffraction des rayons X	80
III.3.2.1. Chitosane.....	80
III.3.2.2. Chitosane/ Pectine (%).....	80
III.3.2.3. Chitosane/ Pectine oxydée par le periodate (%)	81
III.3.2.4. Chitosane/ Pectine/glycérol (%) et Chitosane/Pectine oxydée par le periodate/glycérol(%).....	82
III.3.3. Gonflement	83
III.3.4. Essais mécaniques de traction	84
III.3.4.1. Films de chitosane/pectine et chitosane/pectine oxydée par le periodate sans glycérol	84
III.3.4.2. Films de chitosane/pectine et chitosane/pectine oxydée par le periodate en présence du glycérol.....	85
III.3.5. Libération des principes actifs	86
III.3.5.1. Libération de la caféine	86
III.3.5.2. La libération de l'amoxicilline	86
III.3.5.3. Modélisation mathématique des profils de libération	87
III.3.5.4. Libération du paracétamol	88
III.3.5.5. Modélisation mathématique des profils de libération	89
III.3.6. Evaluation de la compatibilité avec le sang	89
III.3.7. Activité antibactérienne	90
Conclusion.....	92
Références bibliographiques.....	94
Annexes	106
Travaux publiés	121

LISTE DES ABREVIATIONS

HG : Homogalacturonanes

RG : Rhamnogalacturonanes

AG : Acide galacturonique

HM : Hautement méthylées

DM : Degré de méthylation

FM : Faiblement méthylées

KMnO₄ : Permanganate de potassium

TEMPO : L'ion oxoammonium 2,2,6,6-tétraméthyl-1-pipéridine

DP : Degré de polymérisation

PI : Point isoélectrique

NaOCl : Hypochlorite de sodium

KIO₄ : Le periodate de potassium

GTA : Glutaraldehyde

G : Gélatine

P : Pectine

POP : Pectine oxydée par le periodate

POCl : Pectine oxydée par le chlore

CH : Chitosane

Gly : Glycerol

ATG : Analyses thermogravimétriques

ATD : Analyses thermiques différentielles

PFEC : Pseudo-fluide extracellulaire

IR-TF : Spectroscopie infrarouge

LISTE DES FIGURES

Figure I.1. Extraction du chitosane à partir de la chitine.	4
Figure I.2. Structure chimique de l'amylose.	5
Figure I.3. Structure chimique de l'amylopectine.	6
Figure I.4. Structure chimique de la cellulose.	7
Figure I.5. Structure de la gomme de guar.	7
Figure I.6. Structure chimique du pullulane.	8
Figure I.7. Structure chimique de l'acide hyaluronique.	8
Figure I.8. Structure chimique de l'Alginate.	9
Figure I.9. Structure chimique de kappa, lambda et iota carraghénanes.	10
Figure I.10. Structure moléculaire de la pectine.	11
Figure I.11. Stabilité de la pectine.	14
Figure I.12. Représentation schématique des zones "lisses" et "chevelues" des pectines.	15
Figure I.13. Pectines hautement méthylées.	15
Figure I.14. Pectines faiblement méthylées.	15
Figure I.15. Oxydation du chitosane par le permanganate de potassium.	18
Figure I.16. Oxydation du sodium alginate par le permanganate de potassium.	19
Figure I.17. Oxydation de la pectine par l'ion permanganate.	20
Figure I.18. Oxydation du chitosane par NaOCl.	21
Figure I.19. Oxydation de l'alginate de sodium par le NaIO ₄ et formation de Na-alginate oxydée sur la chaîne principale.	22
Figure I.20. Oxydation des hydroxyles primaires en C6 de la cellulose par le système TEMPO/NaClO/NaClO ₂ dans l'eau à pH 3,5-6,8.	23
Figure I.21. Oxydation de la cellulose par le peroxyde d'hydrogène.	25
Figure I.22. Oxydation de l'amidon par l'hypochlorite de sodium.	25
Figure I.23. Voie hétérolytique d'un clivage glycol par l'hypochlorite de sodium alcalin.	26
Figure II.1. Courbe d'étalonnage A=f(C) de la solution aqueuse de la caféine à $\lambda_{\max}=272\text{nm}$.	36
Figure II.2. Courbe d'étalonnage A=f(C) de la solution aqueuse du paracétamol à $\lambda_{\max}=244\text{nm}$.	38
Figure II.3. Courbe d'étalonnage A=f(C) de la solution aqueuse de l'Amoxicilline à $\lambda_{\max}=272\text{nm}$.	39

Figure III.1.1. Teneur en groupements carbonyle et carboxyle.	42
Figure III.1.2. Spectres IR-TF de la pectine (a) , POCl à 0,25% (b) , POCl à 0,75% (c) , POCl à 1,5% (d) , POCl à 3 % (e) .	44
Figure III.1.3. Conversions oxydatives par l’hypochlorite de sodium les plus plausibles de la pectine.	46
Figure III.1.4. Diffractogrammes de la pectine (a) ; POCl à 0,25% (b) ; POCl à 1,5% (c) et POCl à 3% (d) .	47
Figure III.1.5. Représentation schématique de l’oxydation de la pectine par le periodate.	48
Figure III.1.6. Les teneurs en dialdéhydes (méthode 1) (%) (a) et carboxyles (%) (b) en fonction du temps.	49
Figure III.1.7. Spectres IR-TF dans le KBr de la pectine (a) , la pectine oxydée par le KIO ₄ pendant t=4h (b) .	51
Figure III.1.8. Première étape du mécanisme d’oxydation des alcools pinacoliques par le periodate de sodium	52
Figure III.1.9. Mécanisme concerté de l’intermédiaire réactionnel cyclique à 5 chaînon.	52
Figure III.1.10. Spectres IR-TF de la POP à t=4h (a) et de la 2,3-dihydrazone (b) .	54
Figure III.1.11. Conversion de la pectine 2,3-dialdéhyde en pectine 2,3–dihydrazone.	54
Figure III.1.12. Diffractogrammes des rayons X de la pectine et la pectine oxydée par le [KIO ₄]=0,026M à t=4 h.	55
Figure III.1.13. Thermogrammes TG et DTG de la pectine et la pectine oxydée par le periodate à t=4h.	56
Figure III.2.1 Spectres IR-TF des films de gélatine a) , pectine b) et (G/P) (60/40)(%) c)	58
Figure III.2.2 Spectres IR-TF des films de gélatine a) , POCl b) et (G/POCl) (60/40)(%) c) .	59
Figure III.2.3 Réactions entre la gélatine et la pectine oxydée par le chlore.	60
Figure III.2.4 Spectres IR-TF des films de gélatine a) , POP b) et (G/POP)(60/40)(%) c) .	61
Figure III.2.5 Réactions entre la gélatine et la pectine oxydée par le periodate.	62
Figure III.2.6 Spectres IR-TF des films de gélatine a) , (G/GTA) (100/02)(%) b) .	63
Figure III.2.7 Modifications structurales possibles du glutaraldéhyde en fonction du pH.	64

Figure III.2.8 Diffractogrammes de la gélatine, (G/P) (60/40) (%), (G/POCl) (60/40) (%) et (G/POP) (60/40) (%).	66
Figure III.2.9 Thermogrammes TG et DTG de la gélatine, (G/P) (60/40)(%) et (G/POP) (60/40) (%).	67
Figure III.2.10 Contrainte à la rupture en fonction de l'allongement des films.	69
Figure III.2.11 Libération de la caféine à partir des différents films à $\lambda_{\max} = 272\text{nm}$.	70
Figure III.2.12 Libération du paracétamol à 244 nm des différents films.	72
Figure III.2.13 Activités antibactériennes des films de (G/POCl) (60/40)(%) après 24h (a) en absence d'amoxicilline (b) en présence d'amoxicilline.	74
Figure III.2.14 Activité antibactérienne de l'amoxicilline après 24 h.	74
Figure III.3.1 Spectres infrarouge du chitosane (a), de la pectine (b) et du (CH/P)(60/40)(%) (c).	76
Figure III.3.2 Spectres infrarouge du chitosane (a), de la pectine oxydée par le periodate (b) et de (CH/POP) (60/40) (%) (c).	77
Figure III.3.3 Spectres infrarouge du chitosane (a), de (CH/GTA) (100/02) (%) (b)	79
Figure III.3.4 Réticulation du chitosane par le glutaraldehyde.	80
Figure III.3.5 Diffractogrammes des rayons X du chitosane, (CH/P) (95/05) (%), (CH/P) (60/40) (%) et (CH/P) (40/60) (%).	81
Figure III.3.6 Diffractogramme des rayons X du chitosane ; (CH/POP) (95/05) (%), (CH/POP) (60/40) (%) et (CH/POP) (40/60) (%).	82
Figure III.3.7 Diffractogrammes des rayons X des films de chitosane/pectine/glycérol	83
Figure III.3.8 Diffractogrammes des rayons X des films de chitosane/pectine oxydée/glycérol.	83
Figure III.3.9 Contrainte en fonction de l'allongement des films (a) et (b).	85
Figure III.3.10 Contrainte en fonction de l'allongement des films (a) et (b).	86
Figure III.3.11 Libération de l'amoxicilline à partir des différents films à $\lambda_{\max} = 272\text{nm}$	87
Figure III.3.12 Libération du paracétamol à partir des différents films à $\lambda_{\max} = 244\text{nm}$	88
Figure III.3.13 Activités antibactériennes après t=24 h du (CH/P) (60/40) (%) sans antibiotique (a), (CH/P) (60/40) (%) avec antibiotique (b).	91

Figure III.3.14 Activités antibactériennes après $t=24$ h du chitosane sans antibiotique (a) (CH/POP)(60/40)(%) sans antibiotique (b) et (CH/POP)(60/40)(%) avec antibiotique (c).	91
Figure A.1. Variation du taux de gonflement (%) des différents films à une T_{amb} en fonction du temps dans l'eau distillée : (G/P) (%) (a), (G/POP) (%) (b) et (G/POCl) (%) (c).	106
Figure A.2. Variation du taux de gonflement (%) des différents films à une T_{amb} en fonction du temps dans l'eau distillée : (95/05) (%) (a), (60/40) (%) (b), (40/60) (%) et (G/GTA) (100/02) (%) (c).	107
Figure A.3. Variation du taux de gonflement (%) des différents films à une T_{amb} en fonction du temps dans un $pH=7,4$: (G/P)(%) (a), (G/POP)(%) (b) et (G/POCl)(%) (c).	108
Figure A.4. Variation du taux de gonflement (%) des différents films à une T_{amb} en fonction du temps dans un $pH=7,4$: (95/05)(%) (a), (60/40)(%) (b), (40/60)(%) et (G/GTA)(100/02)(%) (c).	109
Figure A.5. Variation du taux de gonflement (%) des différents films à une T_{amb} en fonction du temps dans un $pH=8,2$: (G/P)(%) (a), (G/POP)(%) (b) et (G/POCl)(%) (c).	110
Figure A.6. Variation du taux de gonflement (%) des différents films à une T_{amb} en fonction du temps dans un $pH=8,2$: (95/05)(%) (a), (60/40)(%) (b), (40/60)(%) et (G/GTA)(100/02)(%) (c).	111
Figure A.7. Cinétique de la libération de la caféine à partir des films à base de gélatine, premier -ordre (a), Modèle d'Huguchi (b), l'équation de Korsmeyer (c).	116
Figure A.8. Cinétique de libération de la caféine à partir des films à base de gélatine, premier -ordre (a), Modèle d'Huguchi (b), l'équation de Korsmeyer (c).	117
Figure A.9. Cinétique de la libération du paracétamol à partir des films à base de gélatine, premier -ordre (a), Modèle d'Huguchi (b), l'équation de Korsmeyer (c).	118
Figure A.10. Variation du gonflement des Films à T_{amb} en fonction du temps dans différents milieux.	112

Figure A.11. Variation du gonflement des Films à T_{amb} en fonction du temps dans différents milieux.	113
Figure A.12. Variation du gonflement des Films à T_{amb} en fonction du temps dans différents milieux.	114
Figure A.13. Variation du gonflement des Films à T_{amb} en fonction du temps dans différents milieux.	115
Figure A.14. Cinétique de libération de l'amoxicilline à partir des films à base du chitosane, premier -ordre (a) , Modèle d'Huguchi (b) , équation de Korsmeyer (c) .	119
Figure A.15. Cinétique de libération du paracétamol à partir des films à base du chitosane, premier -ordre (a) , Modèle d'Huguchi (b) , l'équation de Korsmeyer (c) .	120

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I.1. Principales sources de pectines d'intérêt industriel.	12
Tableau III.1.1. Résultats du dosage des groupes carbonyles et des groupements carboxyliques.	42
Tableau III.1.2. Degrés d'estérification de la pectine et des pectines oxydées par le chlore actif.	43
Tableau III.1.3. Résultats du dosage des groupes aldéhydes et des groupements carboxyliques.	48
Tableau III.1.4. Résultats du dosage des groupes aldéhydes (méthode 2).	49
Tableau III.1.5. Degrés d'estérification de la pectine oxydée par le periodate.	50
Tableau III.1.6. TG et DTG de la pectine et la pectine oxydée par $[KIO_4]=0,026\text{ M}$ à $t=4\text{h}$.	56
Tableau III.2.1. Diamètre inter-réticulaire et teneur en triple hélice de la gélatine, (G/P) (60/40) (%), (G/POCl) (60/40) (%) et (G/POP) (60/40) (%).	66
Tableau III.2.2. TG et DTG de la gélatine, pectine, POP, G/P et G/POP.	68
Tableau III.2.3. Valeurs des G_{\max} des différentes compositions des films de gélatine, (gélatine /pectine) et (gélatine /pectines oxydées) à $t=4\text{h}$.	69
Tableau III.2.4. Variations des caractéristiques mécaniques (σ, ε, E) des films (G/P) (100/00)(%), (G/P) (60/40) (%) et (G/PO) (60/40)(%).	70
Tableau III.2.5. Modélisation de la cinétique de la libération de la caféine à partir des différentes formulations.	71
Tableau III.2.6. Différentes formulations de la modélisation de la cinétique de la libération du paracétamol.	73
Tableau III.2.7. Potentiel hémolytique des hydrogels.	73
Tableau III.2.8. Diamètres d'inhibition de la croissance bactérienne (mm).	75
Tableau III.3.1. Cristallinité relative du chitosane, (CH/P) (95/05), (60/40) et (40/60) (%).	81
Tableau III.3.2. Cristallinité relative du chitosane, (CH/POP) (95/05), (60/40), (40/60) (%).	82
Tableau III.3.3. Valeurs des G_{\max} des différentes compositions des films avec ou sans glycerol dans différents milieux à T_{amb} pendant $t=4\text{h}$.	84
Tableau III.3.4. Variation des caractéristiques mécaniques (σ, ε, E) des films.	85

Tableau III.3.5. Variation des caractéristiques mécaniques (σ , ε , E) des films.	86
Tableau III.3.6. Modélisation de la cinétique de la libération de l'amoxicilline à partir des différentes formulations.	88
Tableau III.3.7. La modélisation cinétique de la libération du paracétamol à partir des différentes formulations.	89
Tableau III.3.8. Potentiel hémolytique des hydrogels.	90
Tableau III.3.9. Diamètres d'inhibition des films après t=24h.	91

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les polysaccharides présentent une grande importance mais ce sont des ingrédients qui sont négligés dans la nature. Les protéines, de l'ADN jusqu'au collagène, les lipides ainsi que les autres biopolymères ont reçu une notoriété considérable. Malheureusement, les polysaccharides sont restés inconnus malgré leur capacité extraordinaire d'auto-assemblage. Ce sont des molécules fondamentales dans l'adhésion cellulaire aussi bien dans le cerveau par la formation des glycoprotéines que dans les plantes. Ils sont contenus dans la majorité des aliments que nous consommons, dans les céréales, les légumes et les fruits. Leurs origines peuvent être végétale (cas de l'amidon, la cellulose, les pectines et les gommes), microbienne (le dextrane, le xanthane, la chitine et le chitosane), marine à partir des algues (l'alginate, les carraghénanes, l'agar ou les fucanes) et animale (l'héparine et la chondroïtine).

Il se révèle en outre à travers l'intérêt académique que le domaine des polysaccharides réside entre les mains des formulateurs industriels. Les performances des applications et la recherche sur ces supra-molécules sont encore des formes d'art inédites.

Les polysaccharides sont, en général, non toxiques, biodégradables et biocompatibles puisqu'ils sont issus des ressources renouvelables. Ils sont fréquemment utilisés dans les produits cosmétiques et pharmaceutiques. Ce sont des épaississants et des gélifiants. Ils ont le pouvoir de former des films, de moduler la libération médicamenteuse, de régénérer les tissus et de piéger les molécules toxiques.

Pour notre étude, nous avons choisi la pectine qui est le polysaccharide le plus complexe structurellement. Sa composition renferme, en plus du polygalacturonique, d'autres polysaccharides dont les défis de leurs activités biologiques sont significatifs. Citons le cas de l'acide ferulique qui est un agent cytotoxique doté d'excellents pouvoirs antioxydants.

Au départ, nous avons soumis la pectine à des modifications chimiques par oxydation selon deux voies différentes. La première voie utilise l'hypochlorite de sodium qui génère plutôt la formation de carbonyles et de carboxyles alors que la seconde voie provoque le plus souvent en présence du periodate de potassium des oxydations chimiosélectives en dialdéhydes des groupements diols avec des scissions homolytiques des deux carbones vicinaux du cycle osidique.

Ensuite, deux macromolécules, la gélatine et le chitosane, sont additionnées aux différentes pectines ainsi préparées. Ces deux polymères ont des caractères complètement différents. La gélatine est une protéine par contre le chitosane est un polysaccharide. Ils possèdent tous les deux un caractère commun qui est la nucléophilie induite par la présence des groupements amines primaires présents sur leurs chaînes. Ces amino groupes sont réactifs en présence d'électrophiles tels que les aldéhydes, les cétones ou même encore les acides carboxyliques.

On dénombre actuellement peu de macromolécules naturelles porteuses de ces groupements amines, d'une part.

D'autre part, l'oxydation permet d'éviter l'usage des agents de réticulation qui néanmoins améliorent les propriétés physico-chimiques et mécaniques mais manifestent désormais des effets secondaires indésirables après la décomposition et la dégradation du matériau réticulé.

Cette thèse traduit alors les résultats des différentes étapes de notre démarche dans l'oxydation de la pectine et ses interactions avec la gélatine et/ou le chitosane.

Nous avons donné au premier chapitre un aperçu général sur les polysaccharides. Nous y avons aussi présenté à travers les données bibliographiques les principales réactions d'oxydation faites jusqu'à ce jour sur ces biopolymères.

Au second chapitre, nous avons exprimé les matériels utilisés et les méthodes opératoires suivies pour l'identification, la caractérisation et les études biologiques des matériaux élaborés.

Au troisième et dernier chapitre, nous avons discuté en illustrant les résultats expérimentaux obtenus.

CHAPITRE I :
APERÇU GÉNÉRAL SUR LES POLYSACCHARIDES

Les polymères naturels issus de ressources renouvelables de plantes, d'algues ou d'animaux sont des biopolymères. Ils sont regroupés en trois familles principales, les polysaccharides (amidon, cellulose, pectine, ...), les protéines (collagène, gélatine, ...) et la lignine.

Les polymères naturels suscitent ces dernières années un intérêt vu l'importance de leur utilisation dans des domaines d'application diverses. Les mélanges de biopolymères, protéine/protéine, protéine/polysaccharide, polysaccharide/polysaccharide et autres, aussi bien leur modification structurale par des voies chimiques ou physiques permettent à l'aboutissement à de nouveaux biomatériaux dont les propriétés recherchées peuvent être optimisées.

Au cours de ce chapitre nous avons donné succinctement une description générale des polysaccharides et nous avons décrit les différentes réactions d'oxydation qui ont été étudiées sur ces macromolécules tout en élucidant selon la possibilité qui se présente leur mécanisme réactionnel.

I.1. Les polysaccharides

Les polysaccharides sont une forme de glucides appelés aussi sucres, glucanes ou polyosides. Ils sont formés suite à la condensation d'unités glucidiques. Le terme "polysaccharides" est utilisé pour désigner indifféremment les oligosaccharides, les polysaccharides et leurs mélanges.

On distingue deux catégories de polysaccharides : les homopolysaccharides constitués du même monosaccharide et les hétéropolysaccharides formés de différents monosaccharides.

Ils peuvent être des épaississants, des stabilisants, des agents de suspension, des gélifiants, des filmogènes, des agents d'aération, des flocculants, des liants, des émulsifiants, des lubrifiants, des agents de texture et de structuration (**Berand, 2001**).

I.2. Classification des polysaccharides

En général, on distingue trois types essentiels de polysaccharides :

I.2.1. Les polysaccharides cationiques :

I.2.1.1. Le chitosane :

Le chitosane ou le chitosan (**Figure I.1**) est un polyoside composé de la distribution aléatoire de D-glucosamine lié en β -(1-4) (unité désacétylée) et de N-acétyl-D-glucosamine (unité acétylée) (**Crini et al., 2007**).

Il est produit par désacétylation chimique (en milieu alcalin) ou enzymatique de la chitine. Il est le composant de l'exosquelette des arthropodes (crustacés) ou de l'endosquelette des

céphalopodes (calmars...) ou encore de la paroi des champignons. C'est le deuxième biopolymère naturel le plus abondant après la cellulose (Shahidi *et al.*, 1999). Cette matière première est déminéralisée par traitement à l'acide chlorhydrique, puis déprotéinée en présence de la soude ou de la potasse et enfin décolorée grâce à un agent oxydant (Shahidi *et al.*, 1991).

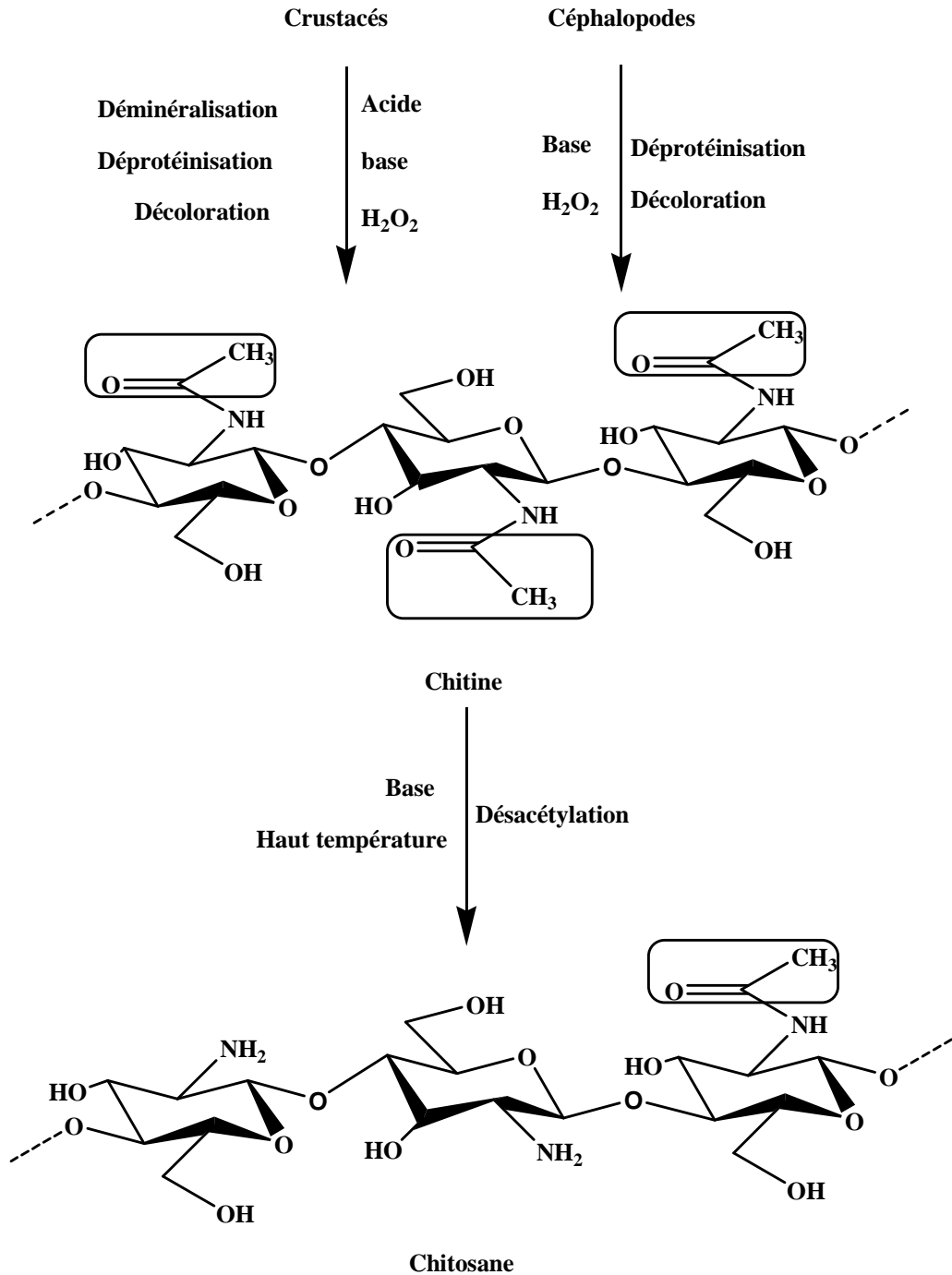


Figure I.1. Extraction du chitosane à partir de la chitine (<http://www.bibliomer.com/>).

Le chitosane a un certain nombre d'utilisations commerciales et biomédicales possibles. Il est utilisé en agriculture pour le traitement des semences et biopesticide. Il aide les plantes à lutter contre les infections fongiques. En vinification, c'est un agent de collage. Il empêche la détérioration. Dans l'industrie, c'est un revêtement de peinture en polyuréthane. En médecine, il se trouve dans les bandages pour réduire le saignement et il est aussi un agent antibactérien. Le chitosane a l'exceptionnelle particularité d'être chargé positivement (en milieu acide). Ce qui lui permet de réagir avec tous les composés biologiques chargés négativement (membranes des muqueuses, parois des bactéries, lipides...) et de les fixer solidement par liaison ionique. Cette particularité lui confère de très nombreuses propriétés (bio-adhésion, agent filmogène...) (**Kumar, 2000**).

De façon plus controversée, le chitosane limite l'absorption des graisses, ce qui le rendrait utile pour suivre un régime, mais il existe des travaux qui contredisent ces effets (**Kumar, 2000**).

I.2.2. Les polysaccharides neutres :

I.2.2.1. L'amidon :

L'amidon est la principale réserve glucidique des végétaux. C'est l'aliment glucidique le plus important pour l'homme. Il peut présenter jusqu'à 30 ou 60 % du poids sec d'un tissu végétal. Il est abondant dans les graines et les tubercules mais aussi largement répandu dans certaines cellules végétales.

L'hydrolyse enzymatique de l'amidon par une amylase conduit à la formation du maltose. L'amidon est donc un polymère d' α -glucose en liaisons 1-4 (**Berrada, 2009**).

L'étude des propriétés de l'amidon ont permis de mettre en évidence deux constituants : L'*amylose* et l'*amylopectine* (**BeMiller, 2009**).

a. L'amylose

L'amylose (**Figure I.2**) est formée de chaînes de 250 à 600 résidus d' α -glucose associés par des liaisons osidiques 1-4. Cette chaîne possède une structure spatiale hélicoïdale.

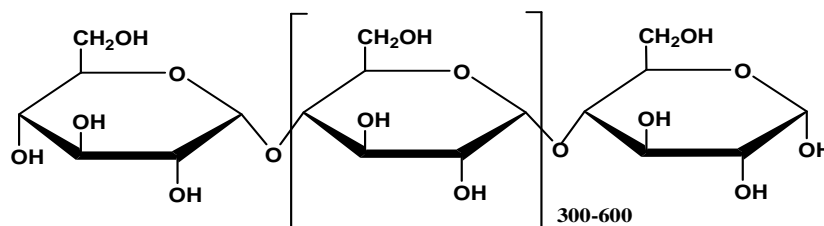


Figure I.2. Structure chimique de l'amylose (**BeMiller, 2009**).

b. L'amylopectine

L'amylopectine (**Figure I.3**) présente une structure ramifiée comportant environ 1000 à 2500 résidus de glucose groupés en chaînes de 20 à 25 résidus d' α -glucose reliés par des liaisons 1-4. Les chaînes sont unies les unes aux autres par des liaisons 1-6. Enfin, la spiralisation des chaînes fournit à la macromolécule un aspect général buissonnant (**Berrada, 2009**).

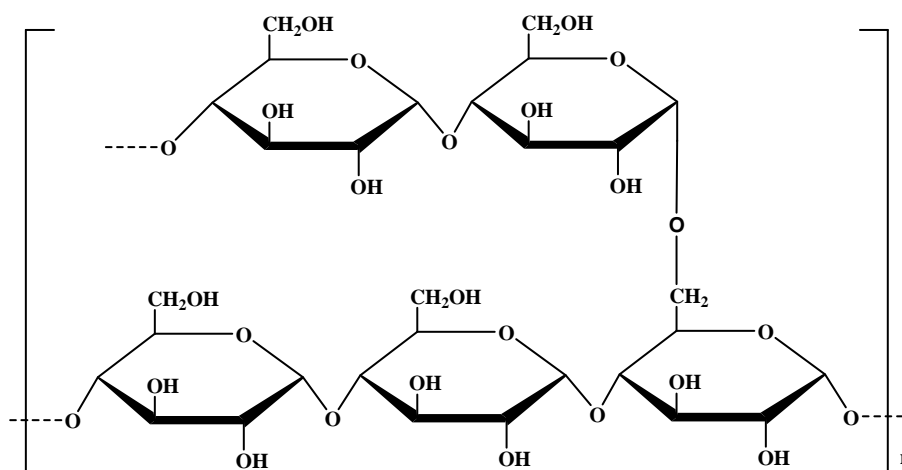


Figure I.3. Structure chimique de l'amylopectine (**BeMiller, 2009**).

Le grain d'amidon est formé par le mélange selon un ordre défini d'amylose et d'amylopectine auxquels s'ajoutent des traces de lipides, de phosphates, d'ions calcium et de potassium. Si l'amylopectine domine toujours (70 à 80 %), les proportions sont variables selon les espèces et il serait plus correct de parler des amidons plutôt que de l'amidon (**Berrada, 2009**).

I.2.2.2. La cellulose

La cellulose est le biopolymère naturel le plus abondant. C'est le constituant principal des différentes fibres naturelles comme le coton (**Kamel *et al.*, 2008**).

C'est un homopolysaccharide à très longue chaîne, de masse molaire très élevée et de formule brute $(C_6(H_2O)_5)_n$ (**Atalla *et al.*, 2010**). Elle appartient à la famille des β -D-glucanes. Elle est constituée exclusivement d'unités β -D-glucose reliées entre elles par des liaisons de type $\beta(1-4)$, à chaque molécule de cellulose comportant trois groupes hydroxyles, à l'exception des extrémités terminales. L'unité répétitive composée de l'association de deux glucoses est appelée cellobiose (**figure I.4**) (**Atalla *et al.*, 2010**).

La cellulose est un hydrogel tridimensionnel hydrophile capable d'absorber et de créer des liaisons polaires avec les molécules d'eau par ses fonctions hydroxyles.

Ce matériau très réticulé est semi-cristallin. Il se caractérise par une certaine proportion de cristallites au sein d'une masse amorphe. Sa stabilité est assurée par des liaisons hydrogènes inter- et intramoléculaires (**Bartouilh, 2004**).

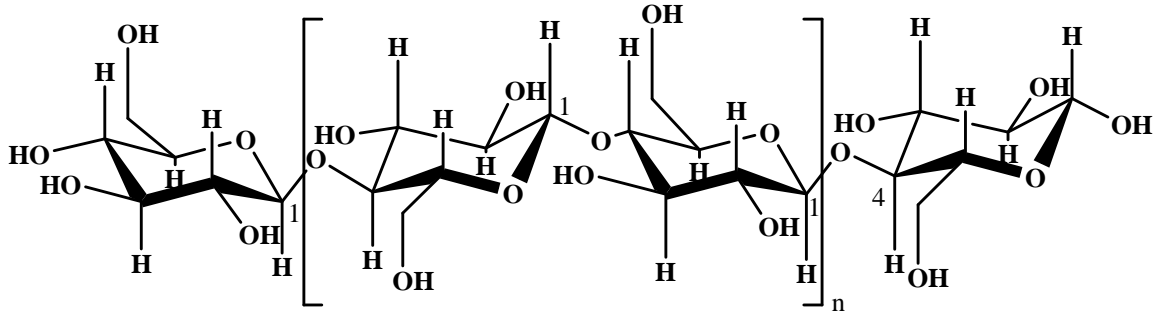


Figure I.4. Structure chimique de la cellulose (**Zugenmaier, 2008**).

I.2.2.3. La gomme de guar

La gomme de guar est composée principalement de galactomannane, une fibre végétale soluble et acalorique. Le galactomannane est un polymère linéaire composé d'une chaîne de monomères de mannose ((1,4)-beta-D-mannopyranose) auxquelles sont ramifiées par un pont 1-6 une unité de galactose (**Figure I.5**). Elle est fréquemment utilisée, en particulier dans l'industrie alimentaire, cosmétique et pharmaceutique, comme épaississant, liant, émulsifiant et stabilisant. Elle est ajoutée à divers aliments tels que les céréales pour petit déjeuner, les produits laitiers, les sauces, les légumes préparés (**Embuscado, 2009**).

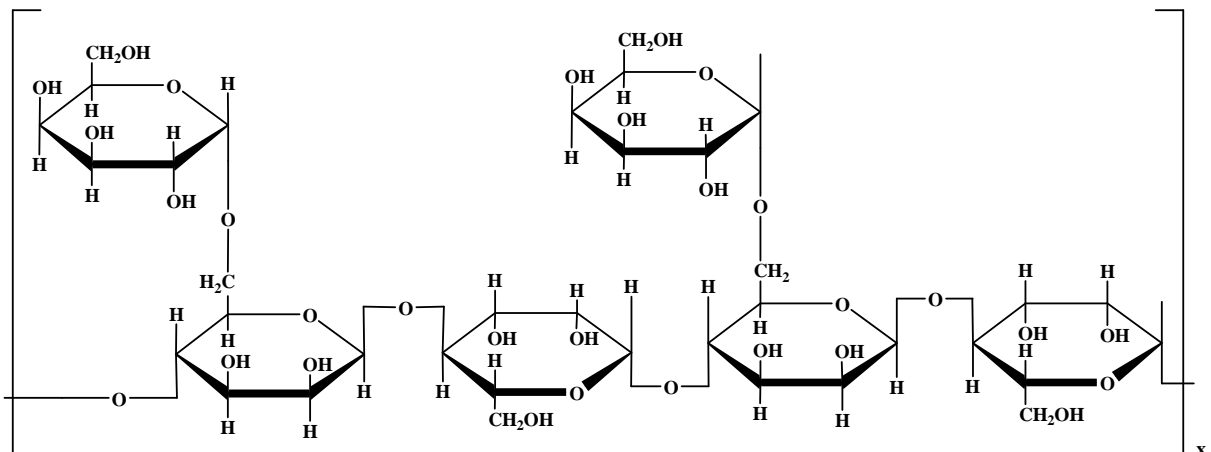


Figure I.5. Structure de la gomme de guar (**Embuscado, 2009**).

I.2.2.4. Le pullulane

Le pullulane est un homopolysaccharide linéaire neutre dans laquelle les unités de glucose sont polymérisées en des unités répétitives maltotriose. Il a été établi que le pullulane est un glucane avec une structure linéaire relativement simple dans lequel les unités de maltotriose (trois unités de α -1,4-molécules de glucose liées) sont polymérisées de manière répétée par l'intermédiaire de liaisons α -1,6 sur les résidus terminaux de glucose (**Figure I.6**) (**Hui, 1995**).

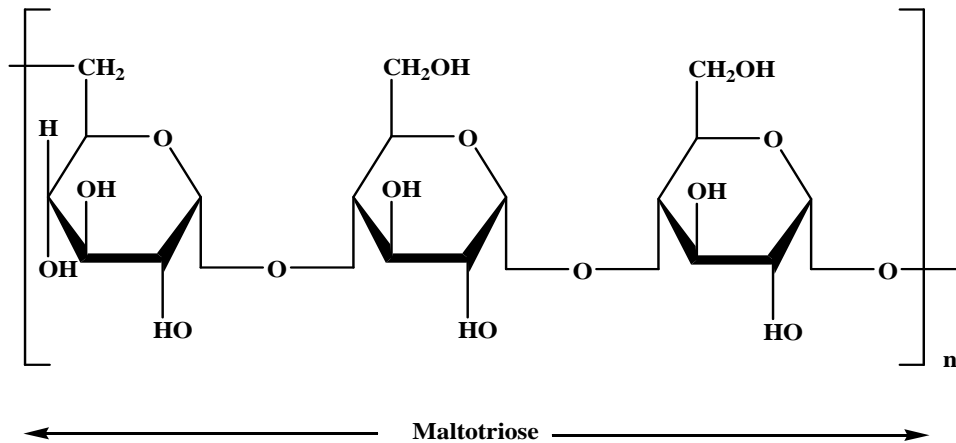


Figure I.6. Structure chimique du pullulane (**Hui, 1995**).

I.2.3. Les polysaccharides anioniques :

I.2.3.1. L'acide hyaluronique ou hyaluronate :

L'acide hyaluronique est un polysaccharide linéaire composé d'un enchaînement d'unités disaccharides composées d'acide glucuronique et de N-acétyl-glucosamine reliées par une liaison α (1-4) (**figure I.7**). C'est l'un des principaux composants de la matrice extracellulaire et du liquide synovial des articulations. L'immuno-neutralité de cet acide fait de lui un excellent matériau de construction des biomatériaux employés dans la médecine des tissus et dans les systèmes de libération des médicaments (**Onesippe, 2005**).

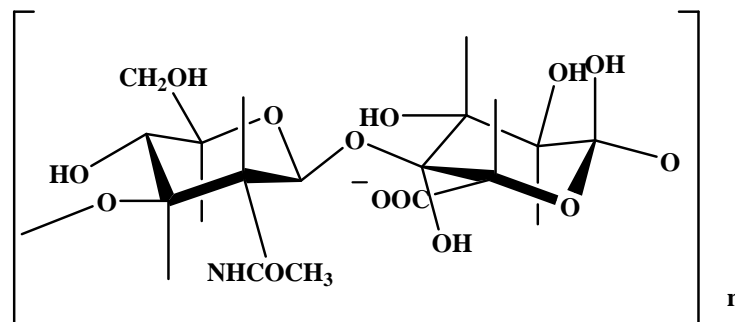


Figure I.7. Structure chimique de l'acide hyaluronique (**Onesippe, 2005**).

I.2.3.2. L'alginate de sodium :

Les alginates sont des polysaccharides anioniques extraits à partir des algues marines (par exemple, algue brune) ou certaines bactéries. Elles se composent des copolymères non ramifiés contenant des structures par bloc de (1-4) - lié α -D-acide mannuronique «M» et β -L-acide guluronique «G», résidus se trouvant dans divers arrangements et proportions (**Figure I.8**) (**Kuen et al., 2012**).

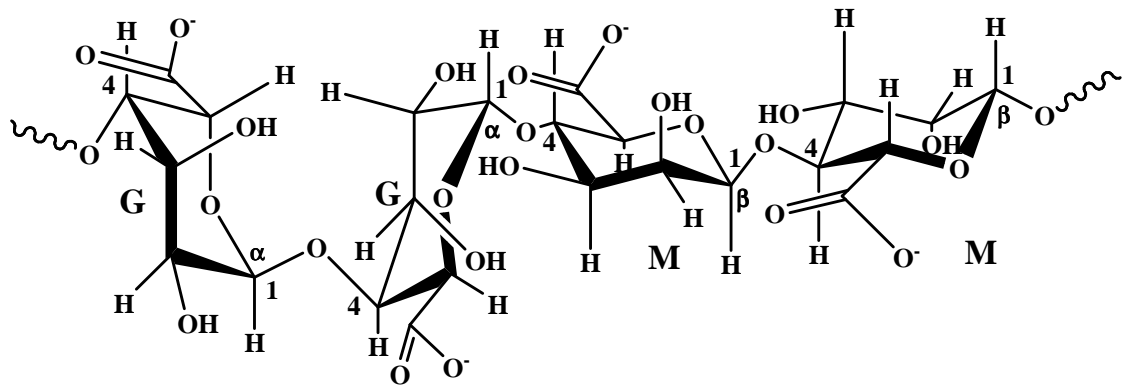


Figure I.8. Structure chimique de l'Alginate (**Salisu et al., 2013**).

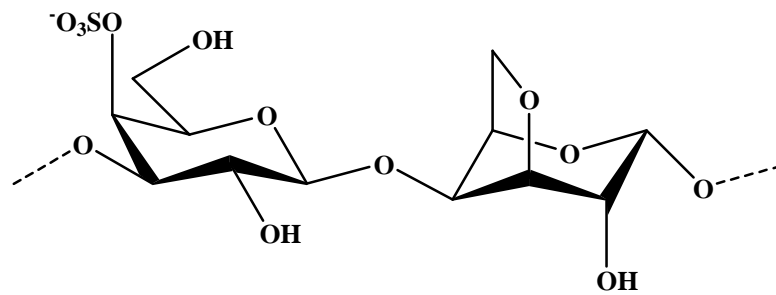
Ce type de polysaccharide existe sous forme de sels solubles en présence de cation monovalent tel que le Na^+ , et gels ionotropiques avec des cations di, tri ou polyvalents (Ca^{2+} , Sr^{2+} , Al^{2+}).

Durant ces dernières années, les alginates attirent l'attention de nombreux chercheurs pour leurs propriétés intéressantes, telles que la biocompatibilité, la faible toxicité, la biodégradabilité et leur aptitude à former des hydrogels dans des conditions modérées, qui font d'eux des matériaux d'applications pharmaceutiques (**Cunha et al., 2010**).

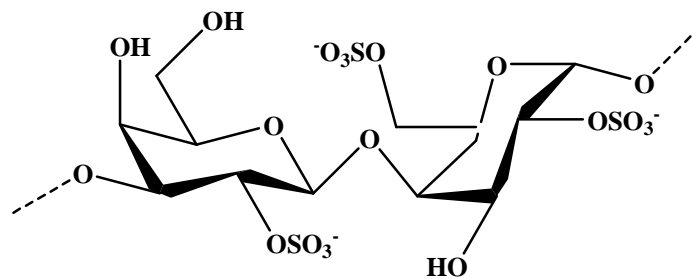
Les hydrogels d'alginate ont été particulièrement intéressants dans la cicatrisation des plaies et l'administration de médicaments (**Kuen et al., 2012**).

I.2.3.3. La carraghénane

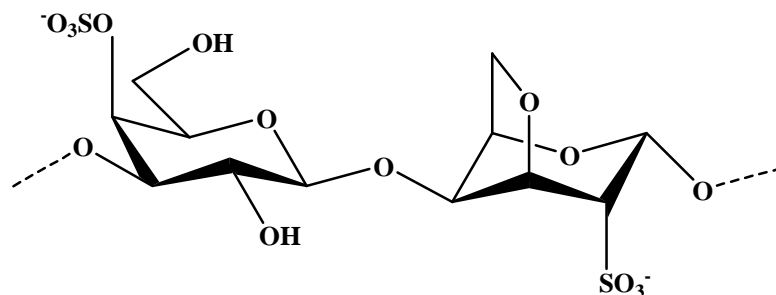
Les carraghénanes sont des polysaccharides linéaires sulfatés qui composent la paroi cellulaire des algues rouges et qui sont utilisés comme agents texturants dans l'industrie alimentaire. Leur squelette est composé de D-galactopyranoses reliés alternativement par des liaisons $\alpha(1-3)$ et $\beta(1-4)$ (**Figure I.9**). La structure des motifs disaccharidiques de répétition des carraghénanes varie par la position et le nombre des groupements sulfates. Les carraghénanes ont des structures qui changent suivant les espèces d'algues dont ils sont extraits (**Pensé-Lhéritier, 2014**).



κ-carraghénane



λ- carraghénane



ι-carraghénane

Figure I.9. Structure chimique de kappa, lambda et iota carraghénanes (Guibet, 2007)

I.2.3.4. La pectine

Les pectines sont des substances d'origine végétale. Ce sont des polysaccharides complexes que l'on retrouve principalement dans la lamelle moyenne et la paroi primaire des plantes supérieures (Paquot *et al.*, 2010).

La pectine (E440) est un polysaccharide composé majoritairement d'un enchainement par des liaisons $\alpha(1-4)$ d'acides D-galacturoniques qui peuvent être estérifiés par du méthanol ou amidés (Figure I.10). Les degrés d'estérification et d'amidation sont définis comme étant le nombre de fonctions carboxyliques méthylées et respectivement amidées pour cent motifs

d'acide galacturonique. La pectine est généralement extraite à partir de sous-produits de fabrication de jus de citron et de pomme (**Gharsallaoui, 2008**).

La pectine est également constituée de *xylose* qui s'insère dans la chaîne principale (**Liu et al., 2003**).

Les substances pectiques sont nombreuses, on y trouve:

- les protopectines qui sont des pectines hydrolysées ;
- les pectines qui sont des acides polygalacturoniques partiellement ou entièrement estérifiés ;
- les pectinates qui sont des sels de pectines ;
- les acides pectiques qui sont essentiellement des acides polygalacturoniques non estérifiés ;
- les pectates qui sont les sels d'acide pectique (**Liu et al., 2003**).

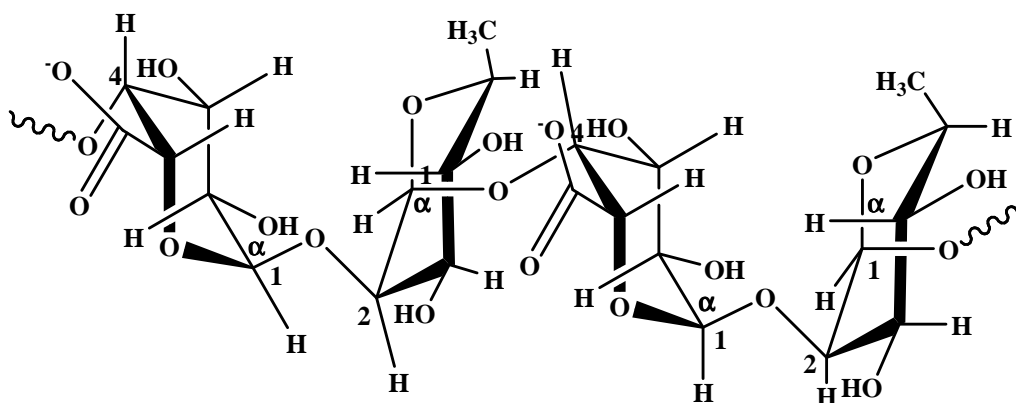


Figure I.10. Structure moléculaire de la pectine (**Fishman, 1986**).

a. Description des pectines et leurs origines

C'est en 1825 que le chimiste français Braconnot donne le nom de «pectine» (du grec pektos signifiant «prise en gelée» en grec) aux substances extraites de fruits et qui gélifient en milieu sucré et acide. Au début du XXème siècle, les pectines sont produites industriellement et sont utilisées comme agent gélifiant des denrées alimentaires.

Les pectines sont des polysides complexes entrant dans la composition des parois cellulaires de la plupart des végétaux supérieurs. Elles sont majoritairement présentes dans la lamelle moyenne et la paroi primaire. Elles participent à la cohésion de la cellule et au maintien des parois par le biais d'interactions mécaniques et chimiques avec les autres constituants de la paroi. La quantité de substances pectiques dans le végétal varie fortement en fonction de son origine botanique et de son histoire (mode de culture, période de croissance...). Bien que les pectines puissent être extraites d'un grand nombre de végétaux (**Tableau I.1**), les sources industrielles principales sont le marc de pomme et les écorces d'agrumes (citron, orange) (**Donato, 2004**).

D'un point de vue nutritionnel, les pectines sont considérées comme des fibres solubles ayant une forte capacité de rétention d'eau (**Donato, 2004**).

Tableau I.1. Principales sources de pectines d'intérêt industriel (**Paquot et al., 2010**).

Fruit	Teneur en substances pectiques
Zeste d'orange	3,5-5,5
Pulpe de citron	2,5-4,0
Pomme	0,5-1,6
Banane	0,7-1,2
Pêche	0,1-0,9
Fraise	0,6-0,7
Tomate	0,2-0,6
Carotte	0,2-0,5
fruit de passion	0,5
Mangue	0,26-0,42
Ananas	0,04-0,13

b. Extraction

Les pectines sont des hydrocolloïdes et à ce titre sont fréquemment isolées après extraction en solution aqueuse (à froid ou à chaud) et précipitation dans l'alcool. Le précipité ainsi obtenu est dissout dans l'eau, filtré, dialysé contre de l'eau distillée, parfois dépigmenté par passage sur cartouche C-18 et enfin lyophilisé pour être conservé (**Brudieux, 2007**). L'extraction des pectines acides faiblement méthylestérifiées est facilitée par la présence de chélateur de calcium tel que le CDTA, l'EDTA, l'imidazole ou l'oxalate d'ammonium.

A une échelle industrielle, les pectines sont extraites dans l'eau chaude (généralement 90 à 100°C), en milieu acide (pH compris entre 1,5 et 3) et pour des temps variables (0,5 à 6 heures) (**Brudieux, 2007**).

c. Propriétés physico-chimiques

- Solubilité et précipitation

La pectine est soluble dans l'eau, formant une solution colloïdale, opalescente et insoluble dans l'éthanol (**Comité mixte FAO/OMS, 1986**).

- Stabilité

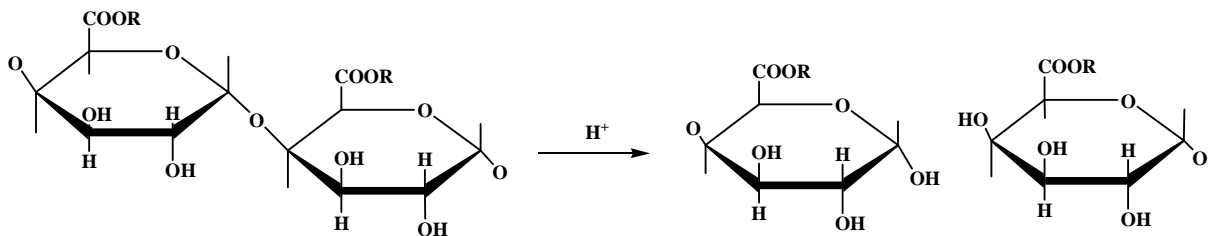
Les pectines en solution sont stables à pH 3-4. Pour des pH<3, et à basse température, les groupements acétyles et méthyles sont déstabilisés et les sucres neutres sont hydrolysés. Si la

température augmente l'hydrolyse est accélérée. En milieu alcalin et à basse température, les groupements esters sont saponifiés. En milieu neutre et à température ambiante, la saponification est accompagnée de la réaction de dépolymérisation. Cette dégradation a lieu uniquement dans les liaisons glycosidiques et dans les résidus de l'acide galacturonique méthoxylés. À des températures $>60^{\circ}\text{C}$, la dégradation n'a lieu qu'à pH légèrement acide (pH proche de 5) (Oosterveld *et al.*, 1996).

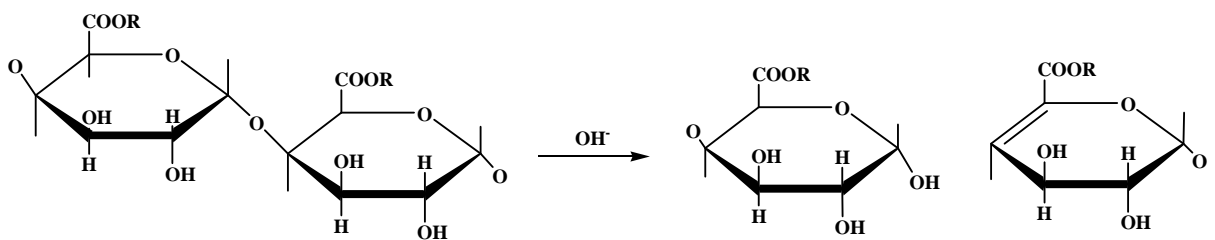
- Dégradation chimique

Les substances pectiques en solution peuvent subir deux grands types de dégradation :

- des désestérifications, réactions classiques qui libèrent le méthanol et forment des pectates.
- des dépolymérisations, soit par hydrolyse (acide ou enzymatique) des liaisons $\alpha(1-4)$ en milieu acide (Donato, 2004 ; Renard, 2010).



- soit par des réactions de β -élimination qui provoquent la rupture des liaisons glycosidiques adjacentes à un groupe estérifié entre les résidus d'acides galacturoniques et l'apparition d'une double liaison entre les carbones C-4 et C-5 en milieu neutre à basique (Donato, 2004 ; Renard, 2010).



Ces deux types de réactions dépendent essentiellement du pH et de la température. En milieu acide (pH=1-3), à température inférieure à 10°C , la désestérification prédomine alors qu'à plus forte température la dépolymérisation a lieu plus rapidement et peut conduire à une dégradation totale des pectines. En milieu neutre ou alcalin, à basse température, les substances pectiques sont désestérifiées sans incidence notable sur leur degré de polymérisation et une élévation de température favorise les réactions de β -élimination (Figure I.11) (Donato, 2004).

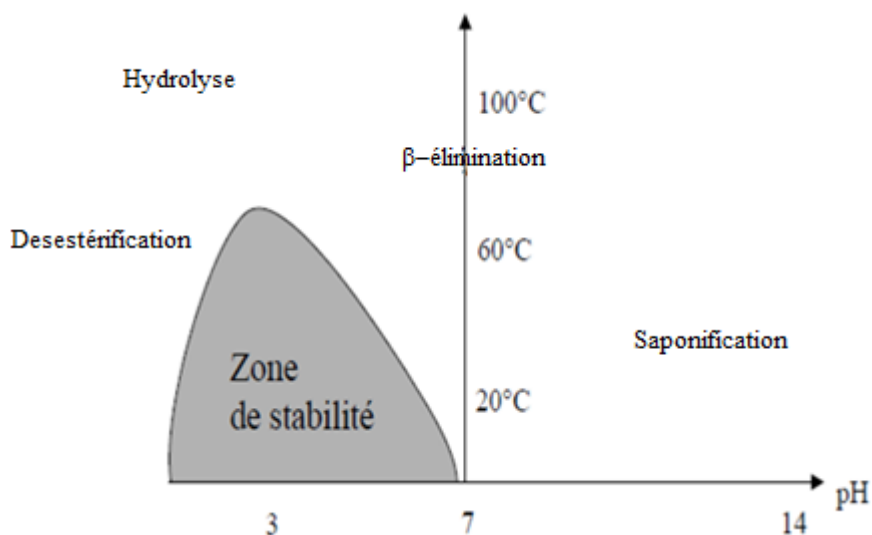


Figure I.11. Stabilité de la pectine (Renard, 2010).

- Viscosité

Les pectines de la betterave sucrière ont une faible viscosité et un faible pouvoir gélifiant par rapport à celles issues du citron ou de la pomme, ce qui limite leur application dans l'industrie alimentaire. Ces propriétés physiques ont été attribuées d'une part, au nombre important de groupements acétyles présents dans leurs chaînes et d'autre part, à leur poids moléculaire relativement faible (Oosterveld *et al.*, 1996).

d. Structure

Les pectines sont constituées d'une zone lisse formée d'homogalacturonanes (HG) et d'une zone hérissée composées de rhamnogalacturonanes (RG) et de chaînes latérales (Figure I.12). Ce sont des complexes de polysaccharides à forte teneur en acide galacturonique (AG) et une faible quantité de rhamnose et d'oses neutres (Bekhouche, 2006).

- La zone lisse

Elle est formée d'homogalacturonanes qui sont des polymères composés principalement d'acide D- galacturonique liés en $\alpha(1-4)$ sur des longueurs d'au moins cent résidus et d'une faible quantité de rhamnose (Bekhouche, 2006).

- La zone hérissée

La zone hérissée est représentée par des hétéropolymères divisés en deux groupes.

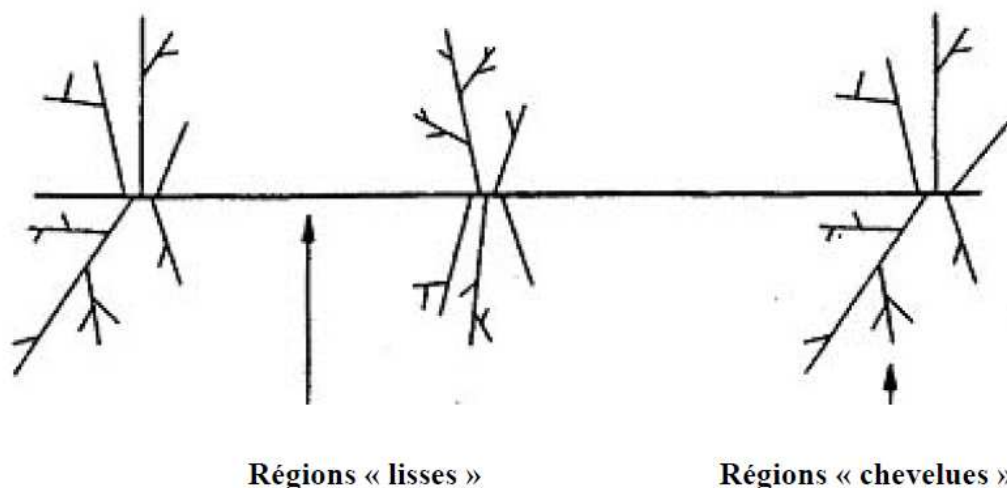


Figure I.12. Représentation schématique des zones "lisses" et "chevelues" des pectines.

(Voragen *et al.*, 2003).

Le substituant méthanol joue un rôle majeur dans les propriétés des pectines. On distingue ainsi deux grandes catégories.

- les pectines "hautement méthylées" (HM pour High Methoxyl) (**Figure I.13**) ayant un DM>50 %, majoritairement présentes dans la nature (Serguschenko *et al.*, 2007).

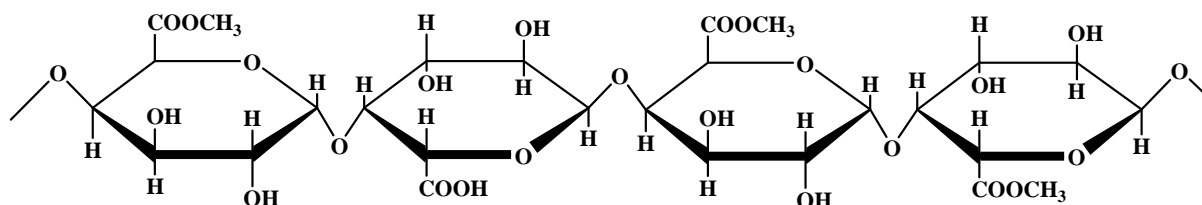


Figure I.13. Pectines hautement méthylées (Serguschenko *et al.*, 2007).

- les pectines "faiblement méthylées" (LM pour Low Methoxyl) (**Figure I.14**) ayant un DM<50 % obtenues à partir des pectines HM par différentes réactions chimiques (Serguschenko *et al.*, 2007).

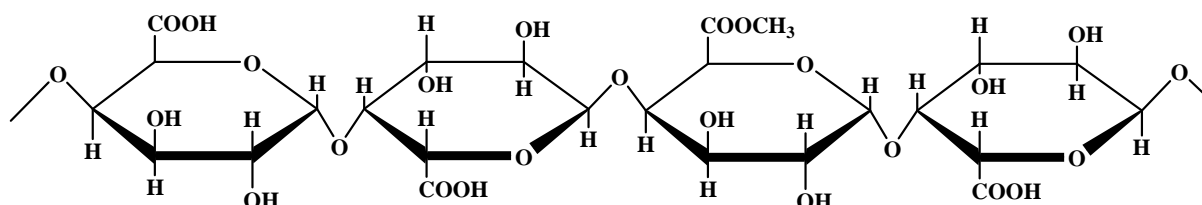


Figure I.14. Pectines faiblement méthylées (Serguschenko *et al.*, 2007).

e. Applications

- Pectines dans la nutrition et l'industrie alimentaire

Comme il a été déjà cité *en supra*, les pectines forment un gel dans certaines conditions. Cette propriété leur donne un grand intérêt dans l'industrie alimentaire. Elles sont utilisées aussi comme ingrédient dans la préparation des confitures, des marmelades et des gelées.

Des études récentes ont montré qu'elles peuvent être utilisées comme stabilisateur d'émulsion et notamment pour les acides des produits laitiers (**Voragen et al., 1995**).

- Pectines dans la médecine et l'industrie pharmaceutique

Jusqu'en 2002, la pectine était l'un des ingrédients principaux utilisés dans des pastilles pour le mal de gorge comme adoucissant. Dans les produits cosmétiques, elle agit en tant que stabilisateur et est employée dans les préparations curatives de blessures et particulièrement et surtout dans les adhésifs médicaux, tels que les dispositifs de colostomie (**Pranati et al., 2011**).

Comme prophylactique naturel, la pectine agit contre l'empoisonnement des cations toxiques. Elle s'est montrée efficace dans l'élimination du plomb et du mercure dans l'appareil gastro-intestinal et les organes respiratoires. Lorsqu'elle est injectée par voie intraveineuse, elle réduit le temps de coagulation du sang prélevé. De ce fait, elle est utile dans le contrôle de l'hémorragie ou de saignement local. Les combinaisons de celle-ci avec d'autres colloïdes ont été largement utilisées pour traiter la diarrhée, particulièrement chez les enfants en bas âge (**Pranati et al., 2011**). Cependant, elle a une action antimicrobienne *in vitro* à l'égard de quelques souches bactériennes (**Ziad et al., 2013**).

Dans les formulations à libération contrôlée, les hydrogels de pectine se trouvent dans les comprimés comme liant (**Sriamornsak, 2003**).

La pectine s'est révélée aussi d'une action prometteuse dans les colites ulcéreuses, la maladie de crohn et du cancer du colon (**Pranati et al., 2011**).

I.3. Modifications chimiques des polysaccharides par oxydation

Différents procédés de modifications chimiques des polysaccharides ont été investigués par un grand nombre de chercheurs (**Zhang et al., 2013 ; Lishuai et al., 2012 ; Changxing et al., 2015**).

Parmi les principales fonctions réactives portées par les polysaccharides, en plus des fonctions alcools primaires, secondaires ou même tertiaires et des diols vicinaux, il existe une disparité de groupements tels que les carboxyles (**Cumpstey, 2013**), les méthylesters (**Serguschenko et al., 2007**), les acétals (**Fox et al., 2011**), les amides (**Voragen, 2003**), les

acétalamines (**Crini et al., 2007**) et autres qui sont susceptibles de réagir selon des voies de synthèse chimique appropriées et de donner de nouvelles matrices exploitées dans la vie courante. Nous avons résumé dans ce qui suivra les réactions d'oxydation reportées dans la littérature que nous avons jugées les plus importantes. Nous devons mentionner qu'en chimie organique les groupements issus des oxydations présentent de véritables «*plaques tournantes*». Ils peuvent conduire d'une manière sélective, ciblée, contrôlée ou aléatoire à des oligo- et/ou à des nouveaux polysaccharides oxydés dont leurs usages se diversifient et s'intensifient au cours de ces dernières années (**Vignon et al., 2006**).

I.3.1. Oxydation par le permanganate de potassium

Bien que l'ion permanganate soit un oxydant puissant pour de nombreux composés organiques et inorganiques. L'oxydation des polysaccharides par cet agent n'a pas reçu beaucoup d'attention. Par ailleurs, **Hassan et al., (1989)** ont étudié les cinétiques d'oxydation des alginates, pectates et polyalcool vinyliques des macromolécules polyélectrolytes par les ions permanganates dans des solutions alcalines (pH=12). Ils ont trouvé que les procédés d'oxydation naturelle de polymères synthétiques passent par la formation de complexes intermédiaires de manganate (VI) «*l'espèce transitoire*», suivie d'une décomposition lente de ces produits intermédiaires pour aboutir aux dérivés oxydés.

En revanche, l'étude de l'action de l'ion permanganate sur le chitosane en milieu non complexant d'acide perchlorique pour déterminer la nature des radicaux et/ou ions formés ainsi que l'effet de la vitesse de la réaction d'oxydoréduction ont été établies par **Gamal et al., (2003)** (**Figure I.15**).

Selon **Lingbin et al., (2009)**, l'alginate de sodium peut être partiellement oxydé avec KMnO_4 en milieu acide. L'oxydation de l'alginate de sodium conduit à un clivage diols vicinaux en deux groupes aldéhydes. Le degré d'oxydation peut être contrôlé par le pH et la quantité de KMnO_4 . Après oxydation, le poids moléculaire de l'alginate se réduit et sa vitesse de dégradation est en fonction du degré d'oxydation. Ce dernier a été suivi par la diminution de la viscosité et la masse moléculaire. Ce type d'oxydation fournit une nouvelle méthode pour obtenir l'alginate partiellement oxydé et d'améliorer les propriétés de celui ci pour des applications biomédicales. Le produit d'oxydation de l'alginate de sodium par le permanganate de potassium est représenté dans la **figure I.16**.

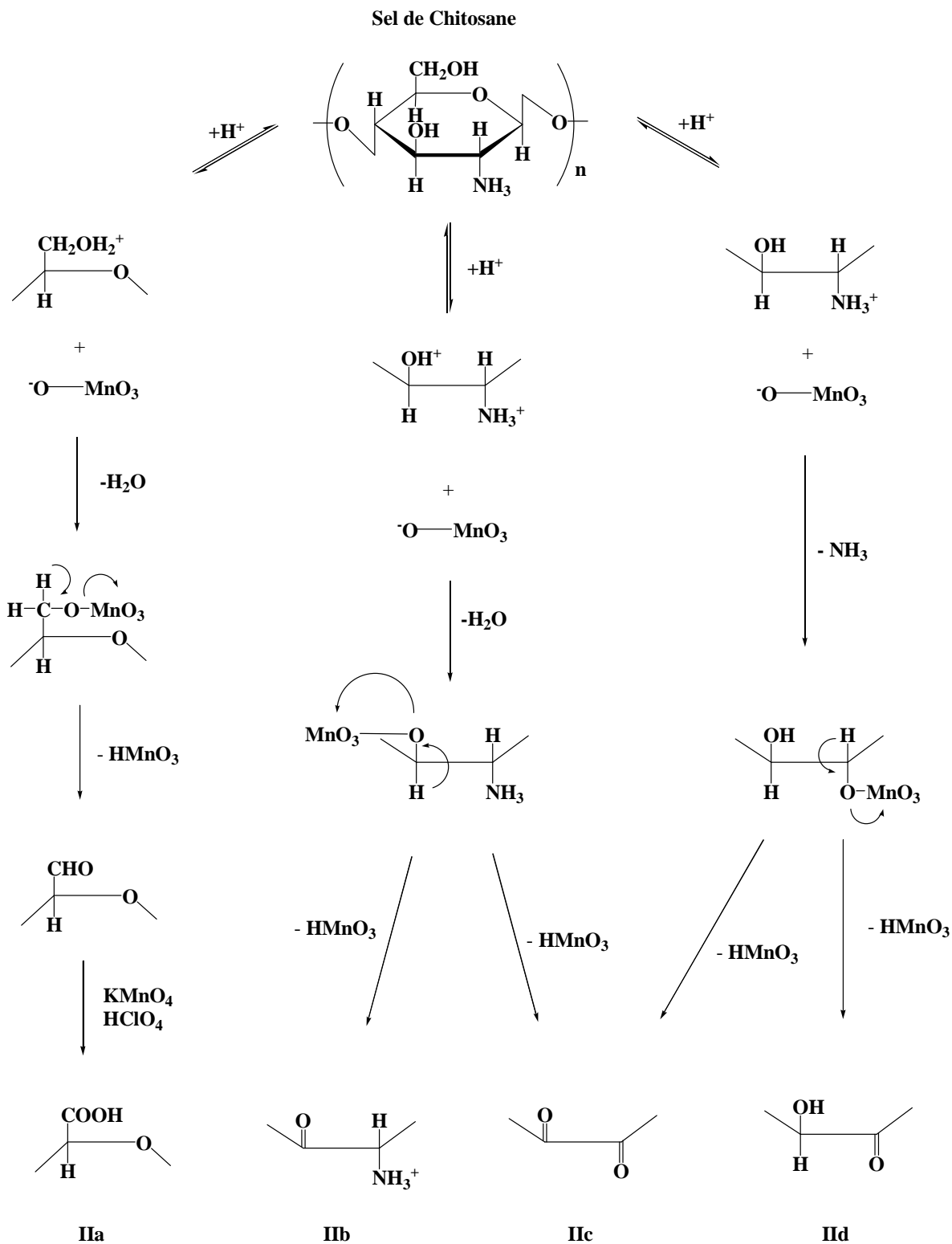


Figure I.15. Oxydation du chitosane par le permanganate de potassium (Gamal *et al.*, 2003).

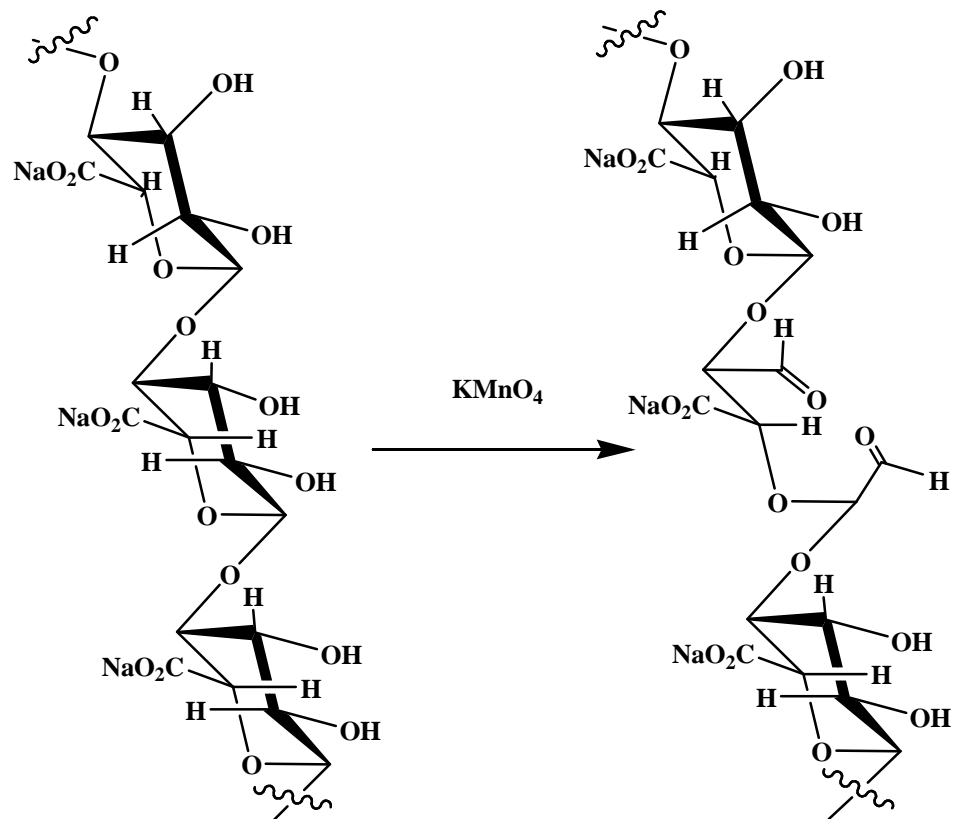


Figure I.16. Oxydation du sodium alginate par le permanganate de potassium (Lingbin *et al.*, 2009).

Il faut noter que la pectine naturelle a subi une oxydation par l'ion permanganate dans l'acide perchlorique (Abdelhamid *et al.*, 2003). Les produits de la réaction sont des dicétopectates (figure I.17).

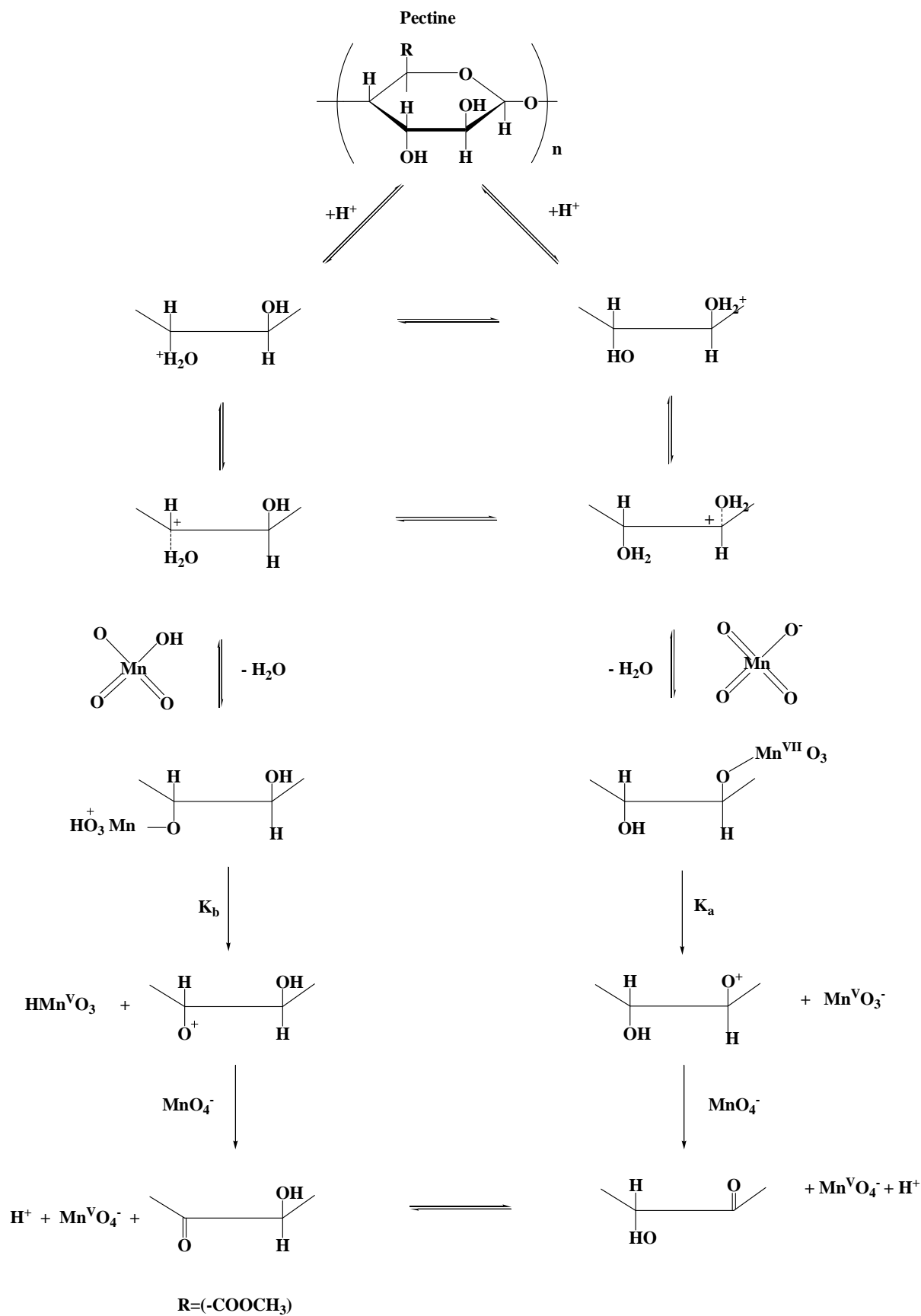


Figure I.17. Oxydation de la pectine par l'ion permanganate (Abdel-Hamid *et al.*, 2003).

I.3.2. Oxydation par le chlorite de sodium

La réaction du chitosane avec le chlorite de sodium en milieu homogène à un pH=4,5 implique une décomposition par oxydation simultanée des groupes alcools primaires CH₂OH en carboxyles (**Figure I.18**). En outre, l'oxydation hétérogène du chitosane par le chlorite de sodium à pH=6,4 conduit à la formation de liaisons covalentes entre l'atome d'azote du groupe amino et un atome de carbone du groupe carboxyle. Selon les données potentiométriques de titrage, le nombre de groupes carboxyles dans le produit d'oxydation est de 30% (**Murinov et al., 2010**).

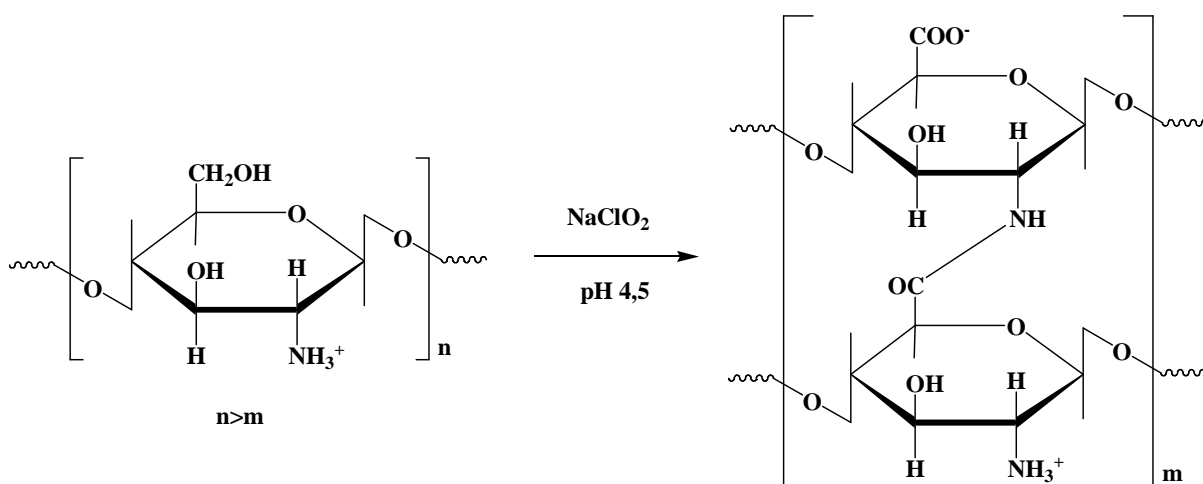


Figure I.18. Oxydation du chitosane par NaOCl (**Murinov et al., 2010**).

I.3.3. Oxydation par le periodate

L'oxydation par le periodate est largement utilisée comme une méthode pour l'élucidation des structures complexes en glucides et ses premières applications ont aidé à interpréter les structures fondamentales dans de nombreux polysaccharides tels que la cellulose, l'amidon et le glycogène (**Tang et al., 2005 ; Gosselink et al., 2011**). L'ion periodate « IO₄⁻ » attaque les diols vicinaux pour cliver la teneur en liaison carbone-carbone par une réaction d'oxydation, conduisant à la formation d'un dialdéhyde (**Teotia, 2012**).

La réaction de l'alginate avec le métaperiodate de sodium (**figure I.19**) active l'oxydation des deux groupes hydroxyles secondaires qui ont une faible réactivité en groupes aldéhydes mais ces derniers par contre possèdent une réactivité significativement plus élevée. Une réduction significative de la viscosité a été enregistrée en raison de la dégradation du poids moléculaire et de l'extension de la conformation de la chaîne par ouverture de cycle. L'oxydation partielle des alginates peut être avantageuse pour des applications biomédicales car ils se dégradent en milieu aqueux tandis que les alginates non modifiés ne le sont pas (**Siddhesh et al., 2012**).

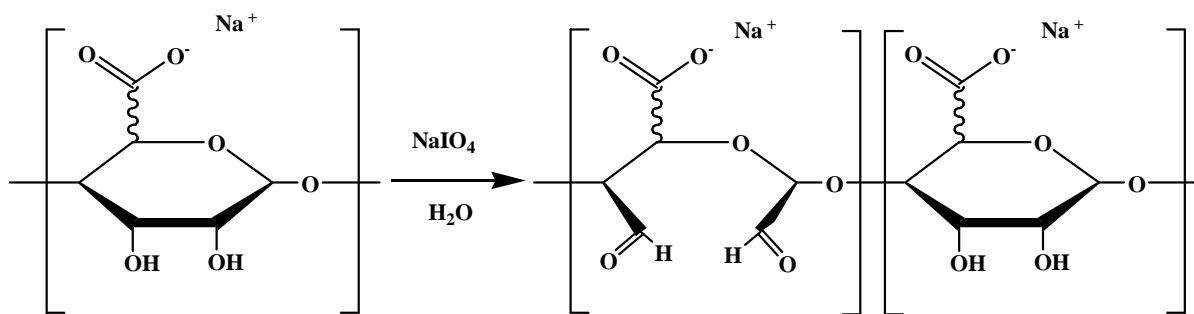


Figure I.19. Oxydation de l'alginate de sodium par le NaIO_4 et formation de Na-alginate oxydée sur la chaîne principale (Gomez *et al.*, 2007).

I.3.4. Oxydation par le TEMPO

L'ion oxoammonium 2,2,6,6-tétraméthyl-1-pipéridine (TEMPO) est utilisé comme produit chimique efficace pour la conversion des groupes alcools primaires en groupes carboxyles de glucanes. Ce procédé d'oxydation est appliqué à un large éventail de polysaccharides. Les α - ou β -glucanes y compris le chitosane sont sélectivement carboxylés par le TEMPO en position C-6 (Sang-Ho *et al.*, 2005).

L'oxydation de la cellulose par le TEMPO montre par ailleurs des baisses substantielles du degré de polymérisation (DP). Un nouveau système d'oxydation avec des quantités catalytiques de TEMPO et NaOCl utilisant le NaClO_2 comme oxydant primaire, c'est à dire un système TEMPO/NaOCl/ NaClO_2 , est appliqué à des composés de faible poids moléculaire pour convertir les groupes hydroxyles primaires en groupes carboxyles dans un mélange acétonitrile-eau dans des conditions neutres. Même si les temps nécessaires à l'oxydation sont plus longs que ceux du système TEMPO/NaBr/NaOCl, le carboxyle peut être obtenu avec de meilleurs rendements dans des conditions neutres (Masayuki *et al.*, 2009).

La **figure I.20** illustre le schéma réactionnel de ce type d'oxydation. Le NaOCl oxyde le TEMPO en formant l'ion N-oxoammonium qui oxyde rapidement à son tour l'hydroxyle primaire en aldéhyde en milieu acide ou neutre, formant l'hydroxylamine. L'aldéhyde est oxydé en un groupe carboxyle par l'oxydant primaire le NaClO_2 , formant le NaOCl. L'hydroxylamine est oxydée en l'ion N-oxoammonium à nouveau par le NaOCl ainsi généré. Il ne reste pas de groupes aldéhydes dans les produits oxydés. La dépolymérisation des chaînes cas de la cellulose causée par β -élimination est évitée (Masayuki *et al.*, 2009).

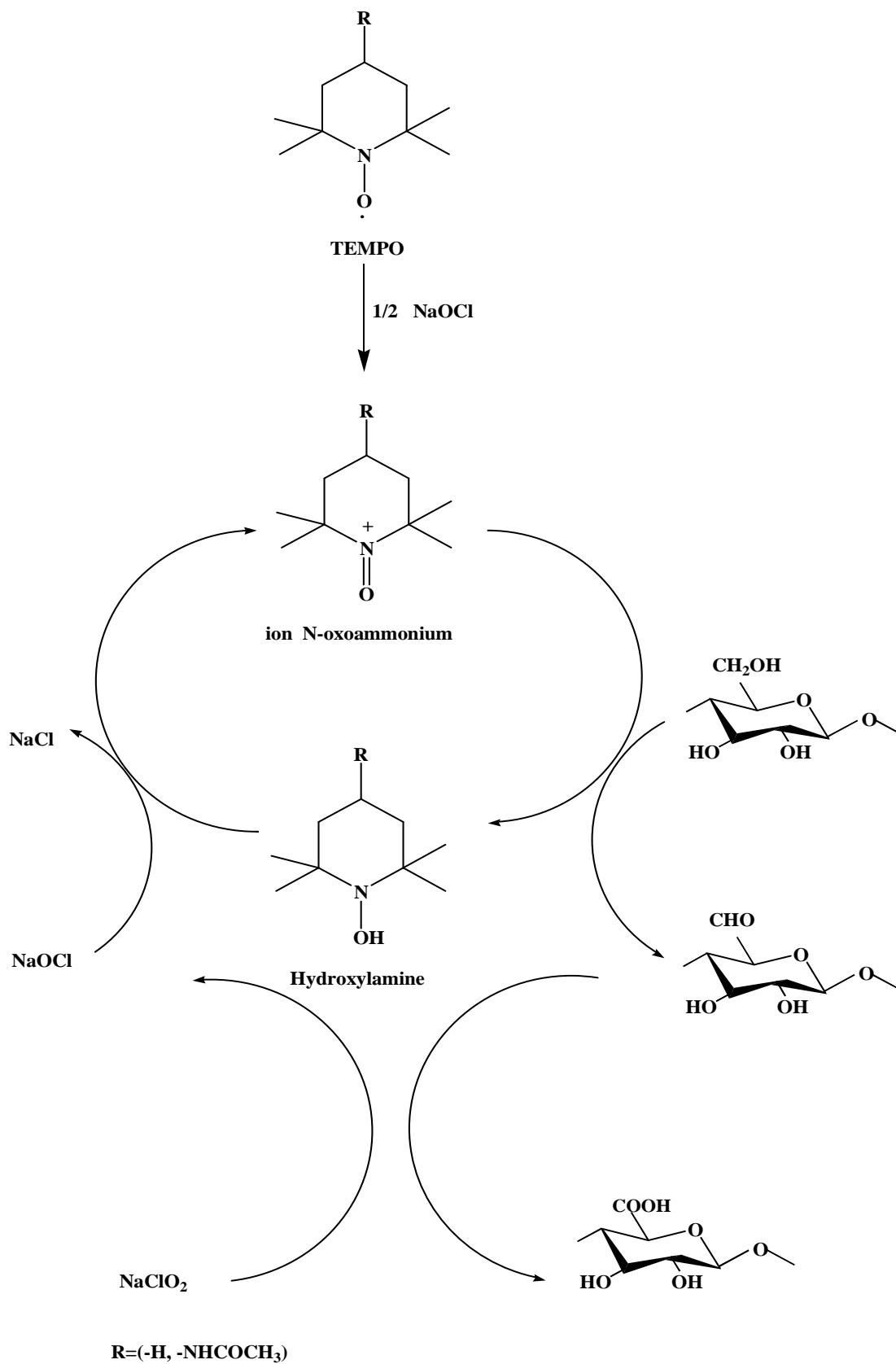


Figure I.20. Oxydation des hydroxyles primaires en C6 de la cellulose par le système TEMPO/NaClO/NaClO₂ dans l'eau à pH 3,5-6,8 (Masayuki *et al.*, 2009).

I.3.5. Oxydation par le H₂O₂

Lewin et Ettinger (1969) ont fait une étude approfondie de la réaction entre le peroxyde d'hydrogène et la cellulose sous forme de fibres de coton purifié. Ce dernier contient une petite quantité de fer. Si le fer est extrait du coton purifié avec HCl (0,1 M), la décomposition sera relativement forte tandis que l'oxydation restera lente. Aussi, ils ont suggéré que l'ion HO₂⁻ n'est pas très efficace pour l'oxydation et que les traces de fer qui se trouvent dans le coton provoquent un effet catalytique marqué peut-être par la formation de complexes actifs entre le fer et l'ion HO₂⁻. À un pH entre 9,5 à 9,7 et à une température de 80°C, les mêmes auteurs ont trouvé que la consommation d'oxygène a augmenté la teneur en carboxyle. L'oxydation a formé principalement des groupes cétoniques, ces groupes fonctionnels ont eu lieu principalement en C3. Au cours de l'oxydation, le degré de polymérisation a diminué également. Les cétones sont des carbonyles inactifs et autrement dit, ne provoquent pas une scission ; et par conséquent, il n'y avait presque pas de jaunissement du coton lors de l'extraction alcaline ou à chaud. **Zeronian et al., (1995)** ont suggéré que le radical perhydroxyl qui oxyde la cellulose dans une solution alcaline en C2 et C3 et que différentes réactions peuvent se produire, tout d'abord, en catalysant la production de radicaux libres, puis en diminuant le pH de la solution et provoquer l'hydrolyse acide (**figure I.21**) (**Zeronian et al., 1995**).

Davidson a suggéré que l'oxydation de la cellulose ne mène pas à la rupture des chaînes de molécules (**Davidson, 1940**) mais elle rend les liens des points d'attaque très sensibles au clivage alcalin (**Haskins et al., 1950**).

I.3.6. Oxydation par l'hypochlorite de sodium

L'oxydation de l'amidon par l'hypochlorite de sodium aqueux alcalin (**Figure I.22**) est un procédé industriel important dans les industries du papier, du textile et de la nourriture. L'effet principal de l'oxydation est la dégradation de la chaîne par l'intermédiaire de la β-élimination dans les résidus intermédiaires du ketoglucose. En outre, les fonctions carbonyles et carboxyles sont introduites. L'amidon reste en grande parties sous une forme granulaire (**Floor et al., 1989**).

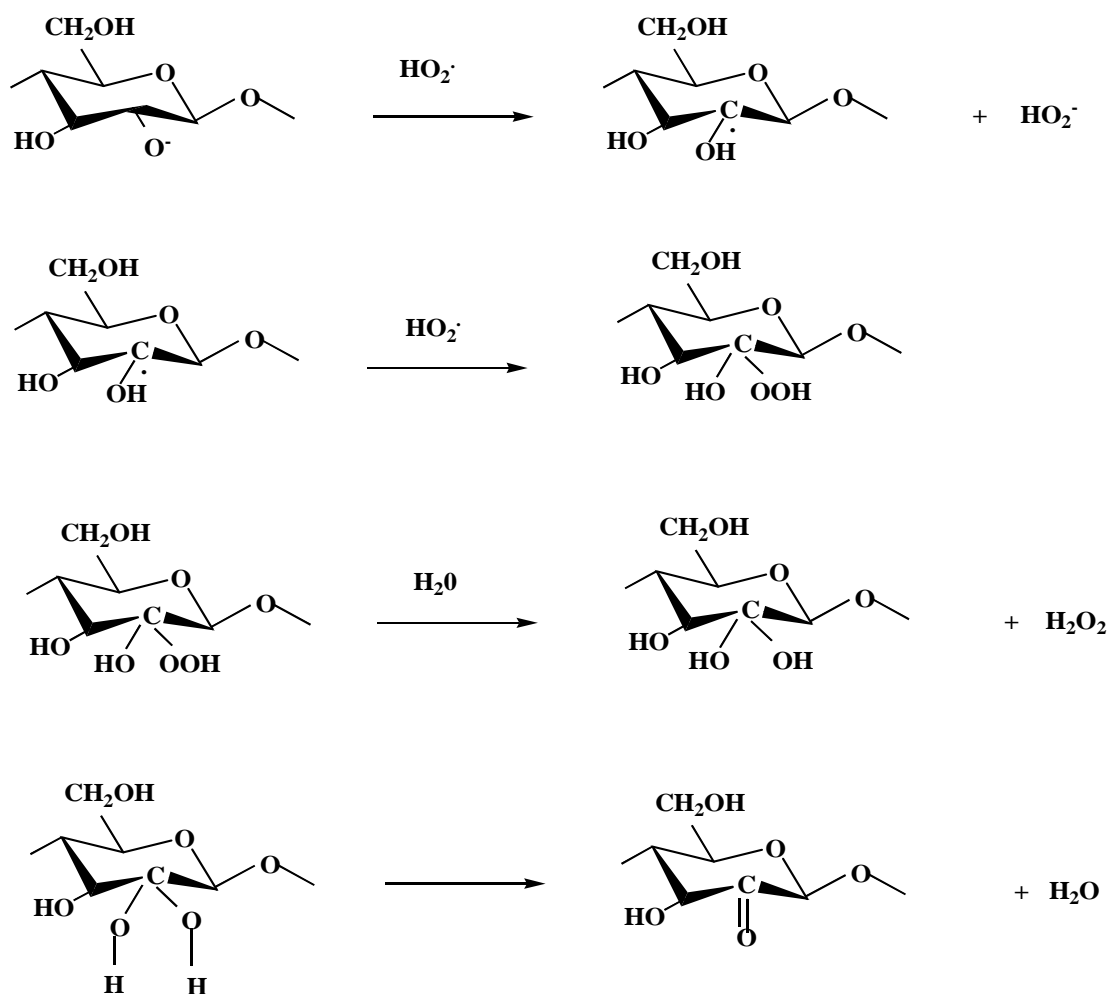


Figure I.21. Oxydation de la cellulose par le peroxyde d'hydrogène (Haskins *et al.*, 1950).

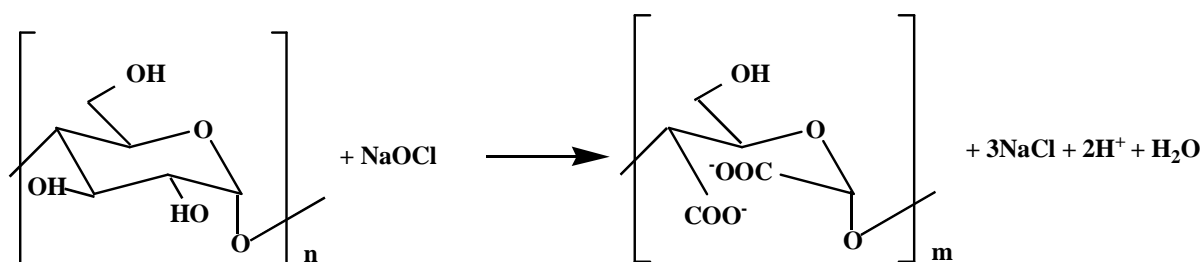


Figure I.22. Oxydation de l'amidon par l'hypochlorite de sodium (Floor *et al.*, 1989).

Cependant, Floor *et al.*, (1989) ont trouvé que les seuls fragments acides par oxydation de l'amidon en C1 et C6 sont les acides gluconiques et glucuroniques. Le mécanisme d'oxydation de polysaccharides par l'hypochlorite est alors incertain, ce qui est dû en partie à la nature complexe de l'agent oxydant dans une solution aqueuse. Le ratio HOCl/OCl^- est dépendant du pH.

Le HOCl est un acide faible ($pK_a=7,54$), **Floor *et al.*, (1989)** ont proposé une voie hétérolytique avec formation d'un groupe cétonique en C2 ou C3 suivie d'une énolisation, et enfin un clivage de C-C (**figure I.23**).

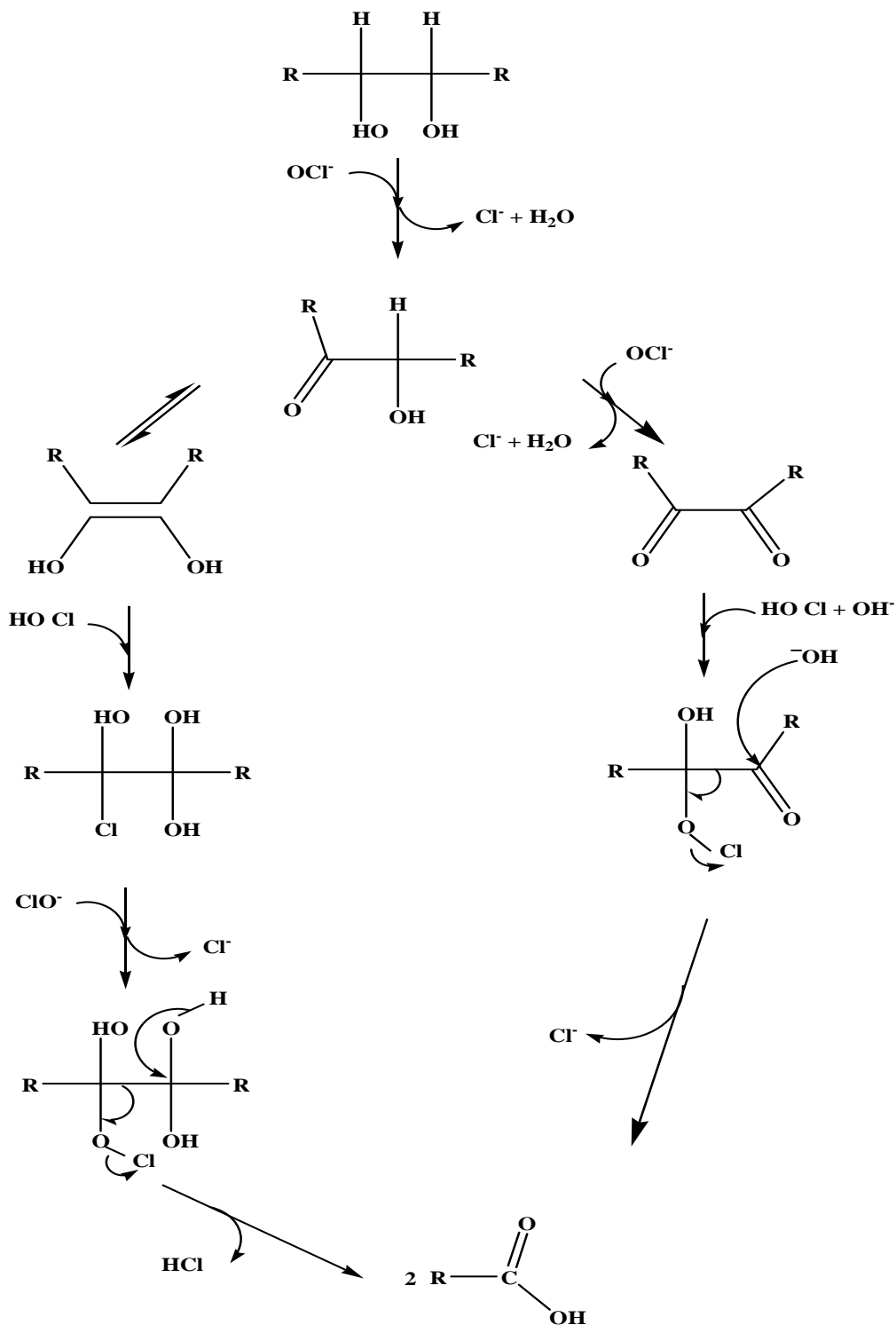


Figure I.23. Voie hétérolytique d'un clivage glycol par l'hypochlorite de sodium alcalin (**Floor *et al.*, 1989**).

CHAPITRE II :
PARTIE EXPÉRIMENTALE

II.1. Produits utilisés:

Pectine d'agrumes, $pK_a=3-4$, (Firme locale de N'Gaoues, Algérie). Gélatine en poudre de type A (peau de porc), bloom 300, $pH=5,6$, $PI=9$ (Sigma, Aldrich, USA). Chitosane, $pK_a=6,3$, viscosité 800.000 cps (Sigma, Aldrich, USA). Tous les autres produits chimiques utilisés lors de la réalisation de ces études sont de grade analytique.

II.2. Méthodes suivies:

II.2.1. Oxydation de la pectine par l'hypochlorite de sodium (NaOCl):

L'oxydation de la pectine par l'hypochlorite de sodium est menée selon la méthode décrite par **Wan *et al.*, (2003)**. 35% de pectine sont préparés en ajoutant de l'eau désionisée à 17 g de pectine pour un poids final de 48,5 g dans un bécher de 100 mL. Le contenu du bécher est maintenu à 35°C. L'agitation est faite manuellement à l'aide d'une baguette en verre. Le pH est ajusté à 9,5 avec NaOH (2N). 0,85g d'hypochlorite de sodium (0,25% de chlore actif en poids / poids) sont ajoutés lentement à la pectine pendant 30 min tout en maintenant le pH à 9,5 en l'ajustant avec du H_2SO_4 (1N). Après addition de NaOCl, le pH est toujours maintenu à 9,5 avec NaOH (1N) et cela pendant 50 minutes supplémentaires. Le tout est ensuite neutralisé à un $pH= 7,0$ avec H_2SO_4 (1N). Puis, il est isolé par centrifugation, lavé avec de l'eau distillée et enfin, séché à l'étuve à 40°C pendant 24 h. La même procédure est reprise pour les différentes concentrations de chlore actif (0,75 ; 1,5 et 3,0% en poids / poids).

Pour préparer des solutions d'hypochlorite de sodium avec des pourcentages de Chlore actif de 0,25 ; 0,75 ; 1,5 et 3%, nous avons procédé à des dilutions respectives jusqu'à 1000mL dans de l'eau distillée de 65,78mL ; 197,23mL ; 395,25mL ; 793,65mL de NaOCl (12°).

II.2.2. Oxydation de la pectine par le periodate de potassium (KIO₄):

L'oxydation de la pectine par le periodate est suivie de la même manière que celle effectuée par **Hongli *et al.*, (2011)**. Elle est menée en milieu aqueux à une température égale à 35°C et à pH égal à 4. Pour ajuster ce dernier, l'acidification du milieu est faite à l'aide de l'acide sulfurique (0,1M), alors que l'alcalinisation avec du carbonate de sodium (0,1M). La solution de pectine est de 5%. Pour ce faire, nous avons dissout cette dernière dans 60 mL d'eau distillée. Le volume du periodate est fixé à 30mL. Les temps choisis sont 1h, 2h, 3h et 4h. Par contre, les concentrations de KIO_4 sont 0,026 ; 0,052 et 0,078M.

La réaction est portée dans un ballon de 100 mL sous agitation magnétique à l'abri de la lumière dans du papier d'aluminium afin d'éviter l'auto oxydation.

Pour stopper la réaction, 80 mL d'éthanol sont versés dans le contenu du ballon. En plus de son action inhibitrice de la réaction d'oxydation, l'éthanol favorise la gélification de la pectine. Un lavage à l'eau est aussi effectué. Le composé formé est versé dans des boîtes de pétries en polystyrène.

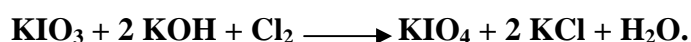
Nous devons mentionner que le periodate est préparé selon **Willard *et al.*, (1934)** à partir de la solubilisation complète de 8g de KIO₃ et 14g de KOH dans 140 mL d'eau distillée à T=75°C jusqu'à l'obtention d'une solution limpide, c'est à dire solubilisation totale des différents réactifs, d'une part.

D'autre part, dans un erlenmeyer de 500 mL, 30 mL d'acide chlorhydrique à 36% sont ajoutés à 40g de permanganate de potassium. Ensuite, le col de l'erlenmeyer est fermé hermétiquement et rapidement avec un bouchon conique préperforé en caoutchouc surmonté d'une tige en verre afin de laisser échapper le gaz formé qui est le dichlore, Cl₂.

Ce dernier est conduit à travers la tige rallongée par un tuyau plongé dans la solution préalablement préparée de KIO₃ et de KOH.

Le barbotage est assuré pendant 1 heure. Le chauffage s'effectue sur bec bunsen jusqu'à ébullition et formation d'un précipité blanc. Enfin, 10 mL de HNO₃ concentré sont ajoutés progressivement afin de générer le métaperiodate sous forme de cristaux blancs.

La réaction est exprimée comme suit:



II.2.3. Dosages chimiques :

II.2.3.1. Détermination de la teneur en carbonyle:

La teneur en carbonyle est déterminée en suivant la méthode titrimétrique de **Kuakpetoon *et al.*, (2001)**. Dans un bécher de 500 mL, quatre grammes de pectine oxydée par le chlore actif sont mis en suspension dans 100 mL d'eau distillée. La suspension est laissée gélifier dans un bain d'eau bouillante pendant 20 min. Ensuite, la température est ramenée à 40°C et le pH à 3,2 avec HCl (0,1 N). Puis, 15 mL du chlorhydrate d'hydroxylamine sont ajoutés. Le ballon est fermé et placé dans un bain d'eau à T=40°C pendant 4 h sous faible agitation. L'excès d'hydroxylamine est déterminé par titrage rapide du mélange réactionnel à un pH de 3,2 avec l'HCl (0,1 N). Un essai à blanc avec le réactif d'hydroxylamine seul est réalisé de la même manière. Le réactif d'hydroxylamine est préparé par dissolution de 25 g de

chlorhydrate d'hydroxylamine dans 100 mL de NaOH (0,5 N) avant que le volume final ne soit ajusté à 500 mL avec de l'eau distillée. La teneur en carbonyle est calculée comme suit.

$$\text{Teneur en carbonyle (\%)} = \frac{[(V_1 - V_2)\text{ml} \times \text{Normalité d'acide} \times 0,028 \times 100]}{\text{poids sec de l'échantillon en g}} \%$$

Avec V_1 : est le volume de l'essai à blanc en (mL) et V_2 : est le volume de l'échantillon en (mL)

II.2.3.2. Détermination de la teneur en dialdéhyde (DA) des pectines oxydées par le periodate

Méthode 1:

Le dosage de groupements aldéhyde peut se faire par la solution d'hydroxyde de sodium en utilisant la phénolphthaléine comme indicateur coloré selon la méthode décrite par **Zhang et al., (2011)**. Dans un erlenmeyer de 125mL, 0,15 g de pectine oxydée sont solubilisés dans 10 mL de NaOH (0,25M). Le tout est placé dans un bain marie à $T=70^\circ\text{C}$ pendant 2 min. Puis, il est refroidi à $T=25^\circ\text{C}$. Au bout d'une minute, 15 mL d'acide sulfurique (0,125M), 30 mL d'eau distillée et 1mL de la phénolphthaléine (0,2%) sont ajoutés. Enfin, le dosage de la solution se fait avec du NaOH (0,25M) jusqu'à l'apparition de la couleur rose. On note le volume de NaOH correspondant au dosage des aldéhydes formés. Le pourcentage de dialdéhyde est donné par la relation suivante :

$$\text{DA (\%)} = \frac{C_1 V_1 - 2C_2 V_2}{\frac{m}{173} \times 1000} \times 100\%$$

Avec C_1 : est la concentration de NaOH en (M); C_2 : est la concentration de H_2SO_4 en (M); V_1 : est le volume de NaOH en (mL); V_2 : est le volume de H_2SO_4 en (mL) et 173: est la masse molaire de l'unité répétitive de l'acide galacturonique.

Méthode 2:

Une autre méthode de dosage des aldéhydes par l'action de chlorhydrate d'hydroxylamine pour former l'oxime selon le mode opératoire décrit par **Hongli et al., (2011)** a aussi été utilisée. Dans un bécher de 100 mL enveloppé dans un papier en aluminium, 0,5g de la pectine oxydée sont dissous dans 25mL d'eau distillée. Le pH est ajusté à 5 avec NaOH (1,0 M). Puis, 20mL de chlorhydrate d'hydroxylamine (0,72 M) ajustés par NaOH à pH=5 sont ajoutés à la pectine oxydée. L'agitation est laissée pendant $t=4\text{h}$ à $T=40^\circ\text{C}$. Le titrage d'acide chlorhydrique est suivi avec du NaOH (1,0 M). La consommation de la solution de NaOH est enregistrée en tant que V_1 .

La même concentration de pectine à un pH=5 est utilisée comme témoin et la consommation de la solution alcaline est enregistrée comme V_2 . La quantité d'aldéhyde dans la pectine oxydée peut être calculée par :

$$DA(\%) = \frac{C_{NaOH} (V_1 - V_2)}{\frac{m}{173}} \times 100\%$$

Avec $C_{NaOH}=1,0$ M, m: est le poids sec de la pectine oxydée (g) et 173: est la masse molaire de l'unité répétitive de l'acide galacturonique.

II.2.3.3. Détermination de la teneur en carboxyle:

Les teneurs en carboxyle des pectines oxydées par le chlore et par le periodate sont déterminées selon un mode opératoire reporté par **Chattopadhyay et al., (1997)**. Dans un ballon de 100 mL, deux grammes de pectine oxydée sont ajoutés à 25 mL de HCl (0,1 N). L'agitation magnétique est maintenue pendant 30 min. On centrifuge et on lave avec de l'eau distillée. Le volume total du lavage est de 400 mL. Puis, le résidu récupéré est soigneusement placé dans un bécher de 500 mL. Le volume est ajusté à 300 mL avec de l'eau distillée. Le chauffage dans un bain marie est porté à l'ébullition sous agitation continue pendant 15 min jusqu'à sa gélatinisation complète. Le volume est ajusté encore une fois à 450 mL avec de l'eau distillée et le pH à 8,3 avec NaOH (0,01 N).

Un essai à blanc est réalisé avec de la pectine non modifiée. Le taux en carboxyle est calculé comme suit :

$$\frac{\text{Milliéquivalents d'acidité}}{100\text{g de pectine}} = \frac{[(V_1 - V_2)\text{mL} \times \text{Normalité de NaOH} \times 100]}{\text{poids sec de l'échantillon en g}} \%$$

Avec V_1 : est le volume de l'échantillon en (mL) et V_2 : est le volume de l'essai à blanc en mL).

$$\text{La teneur en carboxyle } (\%) = \frac{\text{Milliéquivalents d'acidité}}{100\text{g de pectine}} \times 0,045\%$$

II.2.3.4. Détermination du degré d'estérification:

Le degrés d'estérification est déterminé suivant la méthode suivie par **Munarin et al., (2012)**. Dans un bécher de 500mL, 0,5g de la pectine sont dissous dans 100mL d'eau distillée. 5 gouttes de phénolphthaléine sont ajoutées. Le mélange est titré avec du NaOH (0,1M) jusqu'à l'obtention d'une couleur rose. Le volume obtenu est enregistré (**IT**). Puis, 20mL de NaOH (0,5M) sont ajoutés à la solution. L'agitation est laissée pendant 15min. Ensuite, 20mL d'acide chlorhydrique (0,5M) sont additionnés. L'agitation est maintenue jusqu'à la

disparition totale de la couleur rose. Et enfin, le titrage se fait par NaOH (0,1M) jusqu'à la réapparition de la couleur rose. Le volume obtenu (FT) est enregistré.

On procède de la même manière que précédemment, en utilisant des pectines oxydées à différentes concentrations en chlore actif et des pectines oxydées par le KIO₄ en fonction du temps.

Le pourcentage du degré d'estérification est donné par la relation suivante:

$$DE(\%) = \frac{FT}{IT + FT} \times 100 \%$$

II.2.4. Préparation de la 2,3-dihydrazone pectine:

Le dérivé hydrazone est préparé selon le mode opératoire donné par **Vipin et al., (2008)**. Dans un ballon de 100 mL, 20 mL d'hydrazine aqueuse (0,2 M) sont ajoutés à 1 g de pectine oxydée. La réaction se fait à une température ambiante sous agitation magnétique pendant 24 h. Après arrêt de la réaction, 10mL d'éthanol sont additionnés au contenu du ballon. Un précipité blanc apparaît. Il est centrifugé à 6000 tours/min et lavé à l'éthanol trois fois pour entrainer l'hydrazine qui n'a pas réagi. Le séchage se fait alors à 40°C pendant 24h. La masse obtenue est de 0,6g.

II.2.5. Préparation des films:

II.2.5.1. Préparation de films de gélatine, gélatine/pectine, gélatine/pectine oxydée par le periodate, gélatine/pectine oxydée par le chlore et gélatine/glutaraldehyde:

a. Préparation des films de gélatine, gélatine/pectine, gélatine/pectine oxydée par le periodate et gélatine/pectine oxydée par le chlore :

La préparation de films se fait en solubilisant séparément sous faible agitation afin d'éviter la formation des bulles d'air la pectine à T=60°C et la gélatine à T=40°C dans de l'eau distillée. Le mélange de deux biopolymères est de 5%. Le pH est égal à 5.

b. Films de gélatine réticulée par le glutaraldehyde:

La réticulation se fait directement en versant l'agent réticulant, le GTA, sur le film de gélatine déjà préparé et séché. Pour ce faire, 20 mL de GTA (2%) sont utilisés. Au bout de 24h, ils sont rincés plusieurs fois à l'eau distillée. Les films ainsi obtenus sont séchés dans du papier absorbant et placés entre deux plaques en verre pour éviter toute déformation et retrait du film.

Les différentes formulations préparées ont les compositions suivantes :

- Gélatine 100%
(G/P) (100/00) (%);
- Gélatine/pectine:
(G/P) (95/05) (%);
(G/P) (60/40) (%);
(G/P) (40/60) (%);
- Gélatine/pectine oxydée par le periodate:
(G/POP) (95/05) (%);
(G/POP) (60/40) (%);
(G/POP) (40/60) (%);
- Gélatine/pectine oxydée par le chlore:
(G/POCl) (95/05) (%);
(G/POCl) (60/40) (%);
(G/POCl) (40/60) (%);
- Gélatine réticulée par le glutaraldehyde
(G/GTA)(100/02)(%).

II.2.5.2. Préparation de films de chitosane, chitosane/pectine, chitosane/ pectine oxydée par le periodate et chitosane/ glutaraldehyde:

a. Préparation des films de chitosane, chitosane/pectine et chitosane/ pectine oxydée par le periodate :

Au départ, on doit noter que la préparation des films CH/P et CH/PO se fait de la même manière que ceux préparés avec la gélatine. La solubilisation du chitosane est effectuée à $T=60^{\circ}\text{C}$ et par acidification à $\text{pH}=4,5$ avec du HCl (0,1M). Le mélange de deux matrices polymériques est maintenu à $\text{pH}=4,5$.

b. Films de chitosane réticulé par le glutaraldehyde:

La réticulation des films de chitosane est faite de la même manière que celle décrite pour la gélatine.

Les formulations préparées sont comme suit:

- Chitosane 100% :
(CH/P) (100/0) (%);
- Chitosane/pectine:
(CH/P) (95/05) (%);
(CH/P) (60/40) (%);
(CH/P) (40/60) (%);
(CH/P) (05/95)(%)
- Chitosane/pectine oxydée par le periodate:
(CH/POP) (95/05) (%);
(CH/POP) (60/40) (%);
(CH/POP) (40/60) (%);
(CH/POP) (05/95) (%);
- Chitosane réticulé par le glutaraldehyde :
(CH/GTA)(100/02)(%).

A fin de mieux optimiser et d'améliorer notamment les propriétés mécaniques des films de chitosane, CH/P et CH/PO, nous avons étudié ces matrices en présence du glycérol. L'ajout de ce dernier se fait lors de la préparation des films, c'es à dire il est additionné directement au mélange de deux biopolymères après leur solubilisation. Les compositions des films préparés sont comme suit :

- Chitosane/pectine/glycerol
(CH/P/Gly) (45/30/25) (%) ;
(CH/P/Gly) (36/24/40) (%) ;
(CH/P/Gly) (30/20/50) (%) ;
(CH/P/Gly) (25/18/57) (%) ;
- Chitosane/pectine oxydée/glycerol
(CH/POP/Gly) (45/30/25) (%) ;
(CH/POP/Gly) (36/24/40) (%) ;
(CH/POP/Gly) (30/20/50) (%) ;
(CH/POP/Gly) (25/18/57) (%) ;

II.2.6. Etude structurale:

II.2.6.1. Spectrophotométrie infrarouge (IR-TF):

L'appareil utilisé est un spectrophotomètre à transformée de fourrier (FTIR) de type SHIMADZU 84005. Les spectres des films sont directement enregistrés alors que les poudres sont dissoutes à 3% (p/p) dans le KBr.

II.2.6.2. Radiocristallographie par diffraction des rayons X (DRX):

L'appareil utilisé est un diffractomètre de type D 8-ADVANCE-BRUKER-AXS. Les Rayons X sont produits par une anticathode de cuivre alimentée sous 40KV et 40mA. La radiation $\text{Cu}_{K\alpha}$ ($\lambda = 1,54184 \text{ \AA}$) séparée au moyen d'un monochromateur arrière en graphite courbé. Les fentes de divergence et d'antidiffusion sont programmables. Le diagramme des échantillons est enregistré sur un domaine angulaire compris: $5-60^\circ$ (2θ) par pas de 0,02. Le temps de comptage est de 1 seconde par pas. Le goniomètre vertical $\theta-2\theta$ en géométrie *Bragg Brentano*. Le détecteur est à scintillation.

La loi de *Bragg* établit la condition essentielle à la diffraction, à savoir : deux rayons diffusés par un cristal sont en phase et s'additionnent si la différence entre leurs chemins parcourus au sein du cristal est égale à n fois ($n =$ nombre entier) leur longueur d'onde :

$$2 d_{hkl} \cdot \sin\theta = n\lambda$$

Avec λ : la longueur d'onde du rayonnement utilisé ; θ : l'angle de réflexion ; d : la distance réticulaire entre deux plans atomiques adjacents d'une même famille et n : l'ordre de réflexion.

II.2.7. Etude thermique:

II.2.7.1. Analyses thermiques (ATG/ATD):

Les mesures thermogravimétriques (ATG) associées aux analyses thermiques différentielles (ATD) sont réalisées au moyen d'un appareil de type TGA 4000 Perkin Elmer couvrant une gamme de température allant de l'ambiante à 500°C . Un balayage de gaz (inerte ou réactif) est assuré dans l'enceinte expérimentale qui comprend une nacelle en platine de $20 \mu\text{L}$. La vitesse de chauffage de $10^\circ\text{C min}^{-1}$ est appliquée.

II.2.8. Etudes mécaniques:

II.2.8.1. Test de gonflement:

Le gonflement est l'une des caractéristiques les plus importantes des gels. Il peut être expliqué par la pénétration graduelle de l'eau dans les particules solides, suivie d'une plastification, et ensuite, du gonflement de la matrice (**Degenis, 1994**).

Les tests de gonflement sont réalisés dans des béchers en verre de 25 mL. La masse initiale du film est de 0,08g. Les mesures du poids se font en fonction du temps à température ambiante.

Le taux de gonflement exprimé en pourcentage massique "G" est calculé à partir de l'expression suivante :

$$G(\%) = \frac{M_t - M_0}{M_0} \times 100\%$$

Avec M_t : Masse du film gonflé dans le solvant pendant un temps t en (g) ; M_0 : Masse initiale du film (à t=0) en (g).

Ce test a été évalué dans trois milieux pseudo physiologique et/ou *in vitro* dont les compositions sont les suivantes.

Solution 1:

Eau distillée (pH=6,8).

Solution 2:

C'est une solution tampon PBS. La préparation commune est décrite selon **Lihong et al., (2012)** comme suit :

Pour un litre d'une solution PBS utilisée, on additionne 9g de NaCl, 17,97g de Na_2HPO_4 , 5,73g de NaH_2PO_4 . On procède ensuite à leur dissolution en même temps dans 800 mL d'eau distillée. On ajuste alors le pH à 7,4 avec l'acide chlorhydrique (1N) ou NaOH (1N). Et enfin, on complète avec de l'eau distillée à un litre.

Solution 3:

C'est un milieu pseudo-fluide extracellulaire (PFEC) qui est similaire au fluide de blessure. Il est préparé par la dissolution de 0,68g de NaCl, 0,22g de KCl, 2,5g de NaHCO_3 et 0,35g de NaH_2PO_4 dans 100mL d'eau distillée. Le pH est à 8,2 (**Baljit et al., 2008**).

II.2.8.2. Essais de traction:

Les courbes contraintes-déformations réalisées sur les différents films à différentes compositions sont enregistrées. Le module de Young, la déformation et la contrainte à la rupture mis en jeu pour rompre l'échantillon sont aussi calculés pour tous les échantillons étudiés.

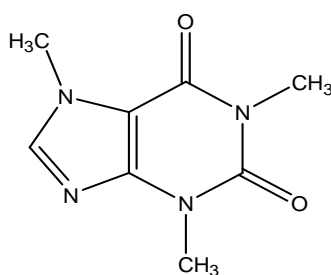
L'appareil utilisé est de type Zwick /Roell Z.0.1. Les échantillons soumis au test sont coupés sous forme d'éprouvettes rectangulaires de 50 mm de longueur, de 20 mm de largeur et de 0,26 mm d'épaisseur. L'échantillon est placé entre les deux mors de l'appareil. Le démarrage s'effectue automatiquement à une vitesse de 5mm/min jusqu'à ce que la rupture de

l'échantillon soit atteinte. A ce moment, la traverse s'arrête et la courbe force-allongement est alors enregistrée. L'essai est repris trois fois.

II.2.9. Libération de principes actifs :

Libération de la caféine :

L'étude de la libération de la caféine ($pK_a=14$; $MM=194,19g/mol$) s'est faite durant 4 heures à partir des systèmes de délivrance : Gélatine, (G/P) (60/40) (%), (G/POCl) (60/40) (%) et (G/POP) (60/40) (%).



Caféine

Avant de procéder au suivi de la cinétique de la libération de la caféine, nous avons au départ tracé la courbe d'étalonnage $A=f(C)$ à $\lambda_{max}=272nm$ à partir des solutions aqueuses contenant de la caféine à 2 % m/v (**figure II.1**).

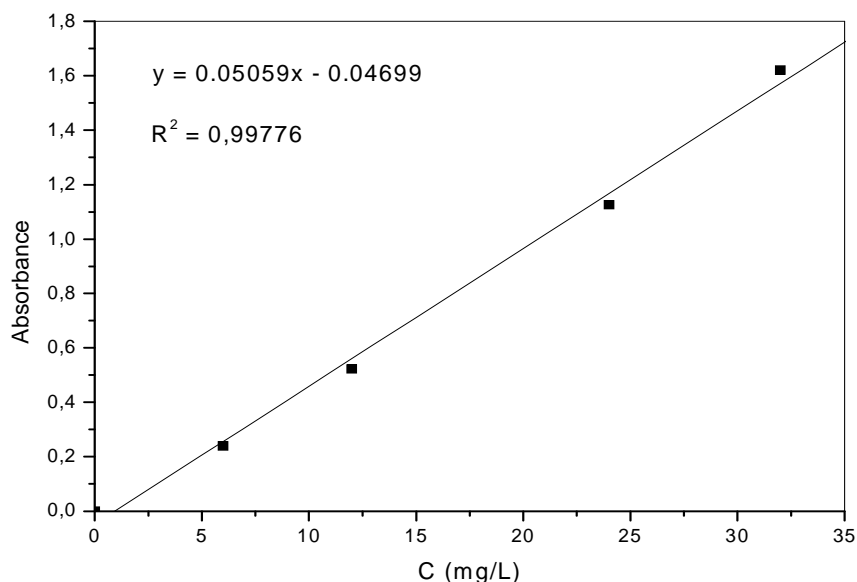


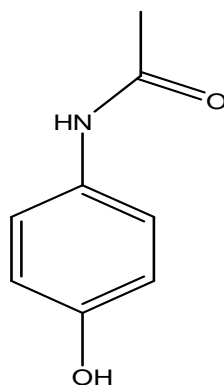
Figure II.1. Courbe d'étalonnage $A=f(C)$ de la solution aqueuse de la caféine à $\lambda_{max}=272nm$.

Ensuite, l'incorporation du principe actif dans les films est réalisée en imprégnant le gel sec dans une solution aqueuse à 2% m/v de caféine dans un bécher de 30 mL pendant 24h (**Buhus *et al.*, 2009**).

La libération est alors étudiée dans des conditions statiques à des intervalles de temps variables pendant 4 heures. Pour ce faire, 0,1 mL de la solution sont prélevés puis dilués dans l'eau distillée jusqu'à 10 mL. La concentration de la caféine libérée est déterminée par extrapolation à partir de la courbe d'étalonnage $A=f(C)$ à $\lambda_{\max} = 272$ nm.

Libération du paracétamol :

Dans le cas de l'étude de libération de paracétamol ($pka=9,5$; $MM=151,162g/L$), les systèmes de délivrance étudiés sont : la gélatine, (G/P) (60/40) (%), (G/POCl) (60/40) (%), le chitosane, (CH/P)(60/40)(%) et (CH/POP)(60/40)(%). Les temps des suivis des libérations dans le cas des systèmes contenant la gélatine et du chitosane sont fixés respectivement à $t=4h$ et $t=24$ heures.



Paracétamol

Le même mode opératoire utilisé dans le cas de la libération de la caféine est suivi pour le paracétamol.

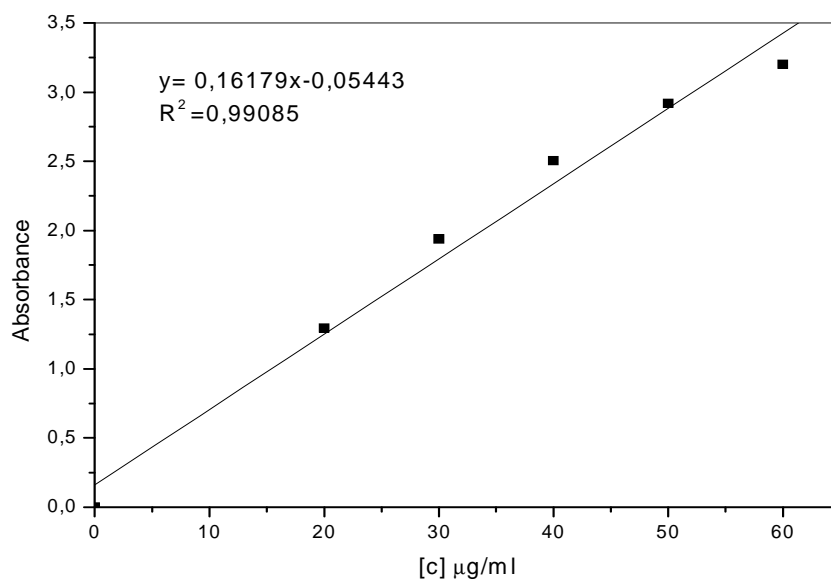
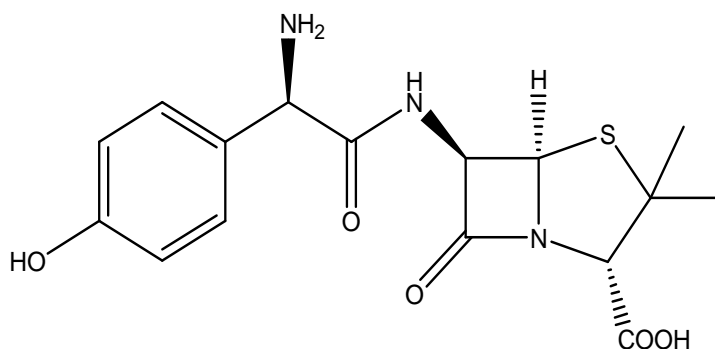


Figure II.2. Courbe d'étalonnage $A=f(C)$ de la solution aqueuse du paracétamol à $\lambda_{\max}=244\text{nm}$.

Libération de l'amoxicilline

Le tracé de la courbe d'étalonnage $A=f(C)$ se fait à partir des solutions dissoutes d'amoxicilline ($pK_a=2,8$; $MM=365\text{g/mol}$) dans l'eau distillée à $\lambda_{\max}=272\text{nm}$ durant 4 heures (**figure II.3**).



Amoxicilline.

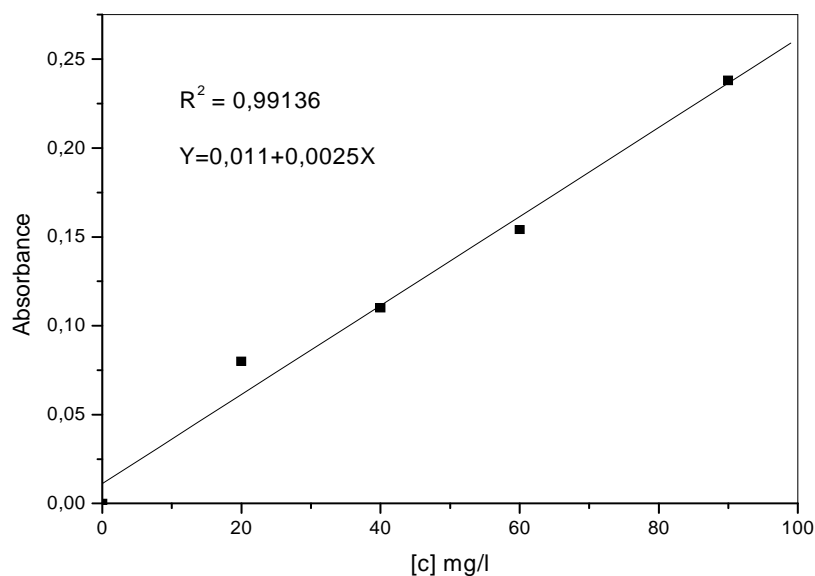


Figure II.3. Courbe d'étalonnage $A=f(C)$ de la solution aqueuse de l'Amoxicilline à $\lambda_{\max} = 272\text{nm}$.

L'incorporation de l'amoxicilline est réalisée selon le même processus de diffusion de la caféine. Les hydrogels testés sont le chitosane, (CH/P) (40/60) (%) et (CH/POP) (40/60) (%).

II.2.9.1. Modélisation mathématique des profils de libération:

La cinétique de la libération de la substance active à partir de la matrice à base de polymère est contrôlée par diffusion. Un processus simple de libération est considéré en supposant qu'il y a seulement transfert du produit vers la solution aqueuse.

Les phénomènes de diffusion sont caractérisés par des modèles mathématiques les plus utilisés par les pharmaciens:

Les trois modèles de cinétique qui ont été sollicités : premier ordre, équation d'Higuchi et l'équation de Korsmeyer.

Le modèle du premier ordre a été décrit pour la diffusion à travers la matrice de polymère. Le modèle Higuchi pourrait expliquer le mécanisme de la diffusion du principe actif à travers le réseau poreux créé par le solvant dans la matrice. L'équation de Korsmeyer est une relation qui décrit la libération du médicament à partir d'une matrice polymérique (**Peerapattana et al., 2010**).

$$1. \text{ Equation du premier ordre} \quad \log C = \log C_0 + K t$$

$$2. \text{ Equation d'Higuchi} \quad C = K_H t^{1/2}$$

3. Equation de Korsmeyer $M_t / M_\infty = K_k t^n$

Avec C : est la concentration du principe actif libéré à l'instant t ; C_0 : est la concentration initiale du principe actif libérée à l'instant t_0 ;

K , K_H et K_k : sont les constantes de l'équation du premier ordre, d'Higuchi et Korsmeyer, respectivement; M_t / M_∞ : est la fraction du principe actif libéré ; t : est le temps de libération et n : est l'exposant indiquant le mécanisme de la libération.

L'équation de Korsmeyer peut être utilisée pour analyser les premiers 60% de la courbe de libération où celle-ci est linéairement reliée à t^n , sans pour cela considérer la forme géométrique du système.

Le fitting des données de ces trois modèles mathématiques est évalué par la méthode des moindres carrées (Peerapattana *et al.*, 2010).

II.2.10. Etudes biologiques:

II.2.10.1. Biocompatibilité des films avec le sang humain:

Le potentiel hémolytique est la mesure de l'étendue de l'hémolyse qui peut être causée par le matériau quand il entre en contact avec le sang. Le potentiel hémolytique des hydrogels est déterminé selon Lihong *et al.*, (2012). 0,1 mL du sang humain anticoagulé par le citrate sont ajoutés à 7,5 mL de PBS contenant 0,15g du gel dans différents tubes à essai. Un control positif (100% hémolysé induit par remplacement du PBS avec 7,5 mL de solution Na_2CO_3 0,1%) et un autre négatif (0% d'hémolyse, PBS sans ajout d'hydrogel) ont également été mis. Chaque série d'expériences est réalisée en duplication. Tous les tubes à essai contenant les échantillons et les témoins sont incubés pendant 1 h à 37°C. Après incubation, les tubes sont centrifugés à 300 rpm pendant 5 min. Le pourcentage d'hémolyse est calculée en mesurant la densité optique (DO) de surnageant de la solution à 545 nm dans un UV/Vis-1700 spectrophotomètre selon la formule suivante:

$$\text{Hémolyse (\%)} = \left(\frac{\text{DO de l'échantillon} - \text{DO du control négatif}}{\text{DO du control positif}} \right) \times 100\%.$$

II.2.10.2. Activité antibactérienne:

Les tests de l'activité antibactérienne ont été réalisés au Laboratoire de Microbiologie – Université de Ferhat Abbas, El Bez à Sétif. Nous nous sommes basés lors de l'évaluation de l'activité antibactérienne de nos films sur les travaux réalisés par Bindu *et al.*, (2010).

a. Souches bactériennes :

Quatre souches de bactéries sont utilisées : deux à Gram positif (*Bacillus subtilis* ATCC 21332, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) et deux à Gram négatifs (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853).

b. Préparation du milieu de culture:

Le milieu de culture utilisé est la gélose Muller–Hinton, qui est le milieu microbiologique de croissance le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens. La préparation du milieu de culture se fait selon **Benzeggouta (2005)**.

On met en suspension 38 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée. On porte lentement le milieu à ébullition sous agitation constante jusqu'à l'obtention d'une solution qui est ensuite répartie dans des flacons. La stérilisation se fait à l'autoclave à 115°C pendant 15 minutes. La solution est versée dans des boîtes de pétrie de telle façon à obtenir une couche de 4 mm.

Les bactéries sont conservées et maintenues en vie par des repiquages continus, sur divers milieux de culture solides et liquides. La concentration minimale des bactéries utilisées est de 10^6 .

CHAPITRE III :
RÉSULTATS ET DISCUSSION

III.1. Oxydation de la pectine

III.1.1. Oxydation par l'hypochlorite de sodium :

III.1.1.1. Teneur en carbonyle et en carboxyle :

D'après la **figure III.1.1** et le **tableau III.1.1**, nous remarquons qu'après oxydation de la pectine, la teneur en carbonyles diminue alors que celle en carboxyle augmente lorsque la concentration en chlore actif augmente.

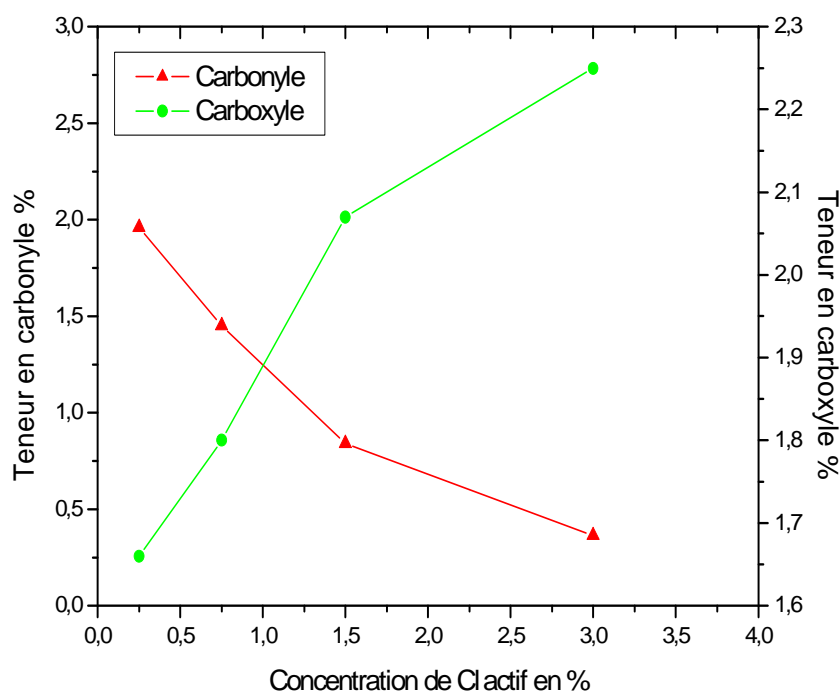


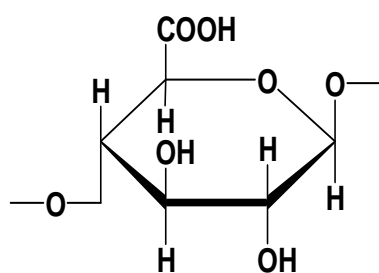
Figure III.1.1. Teneur en groupements carbonyle et carboxyle.

Tableau III.1.1. Résultats du dosage des groupes carbonyles et des groupements carboxyliques.

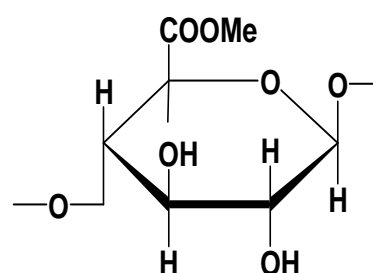
Concentration du Cl actif (%)	0,25	0,75	1,5	3
Teneur en groupements carbonyle (%)	1,96	1,45	0,84	0,36
Teneur en groupements carboxyle (%)	1,66	1,81	2,07	2,25

III.1.1.2. Degré d'estérification (DE):

Les pectines appartiennent à un des trois groupes définis par leurs degrés d'estérification qui sont exprimés par leur proportion de la fonction ester $-\text{COOCH}_3$ par rapport à la fonction acide $-\text{COOH}$. Il existe donc des pectines hautement méthoxylées ou HM dont le degré de méthylation est supérieur à 50 %, des pectines faiblement méthoxylées ou FM dont le degré de méthylation est compris entre 5 et 50 %, et des acides pectiques dont le degré de méthylation est inférieur à 5 %. Les unités répétitives qui sont prises en considération pour cette mesure sont données ci dessous (Combo *et al.*, 2011).



Acide galacturonique



Galacturonate de méthyle

Dans notre cas et d'après le **tableau III.1.2.**, la pectine utilisée possède un degré de méthylation égal à 73,8%. Elle est alors hautement méthylée. Après oxydation, le degré de méthylation de la pectine oxydée reste toujours supérieur à celui de la pectine mais il diminue avec l'augmentation de la concentration de l'agent oxydant.

Tableau III.1.2. Degrés d'estérification de la pectine et des pectines oxydées par le chlore actif

Composés	Pectine	POCl 0,25%	POCl 0,75%	POCl 1,5%	POCl 3%
DE	73,8	86	85	82,7	81

Deux questions principales se posent : Est ce que ces nombres élevés en groupements carboxyles nouvellement formés suite à l'oxydation sont dus à des réactions d'estérification intramoléculaire au sein même de la pectine, ou bien encore, est ce que cette méthode devient désormais inadéquate quant à son application aux dérivés oxydés par le chlore actif.

III.1.1.3. Spectroscopie infrarouge IR-TF :

La **figure III.1.2** illustre les spectres IR-TF de la pectine et des pectines oxydées à différentes concentrations de chlore actif. Des modifications structurales sont observées et de nouveaux groupements fonctionnels chimiques sont identifiés.

La région entre 1114 et 1013 cm^{-1} correspond à la vibration d'élongation des groupements latéraux C-OH et à la vibration glycosidique C-O-C (**Lin, 2010**). La bande à 914 cm^{-1} représente la vibration de déformation angulaire de COO^- (**Synytsya et al., 2003**). Le pic à 1383 cm^{-1} est lié à la vibration de déformation des OH (**Mishra, 2011**).

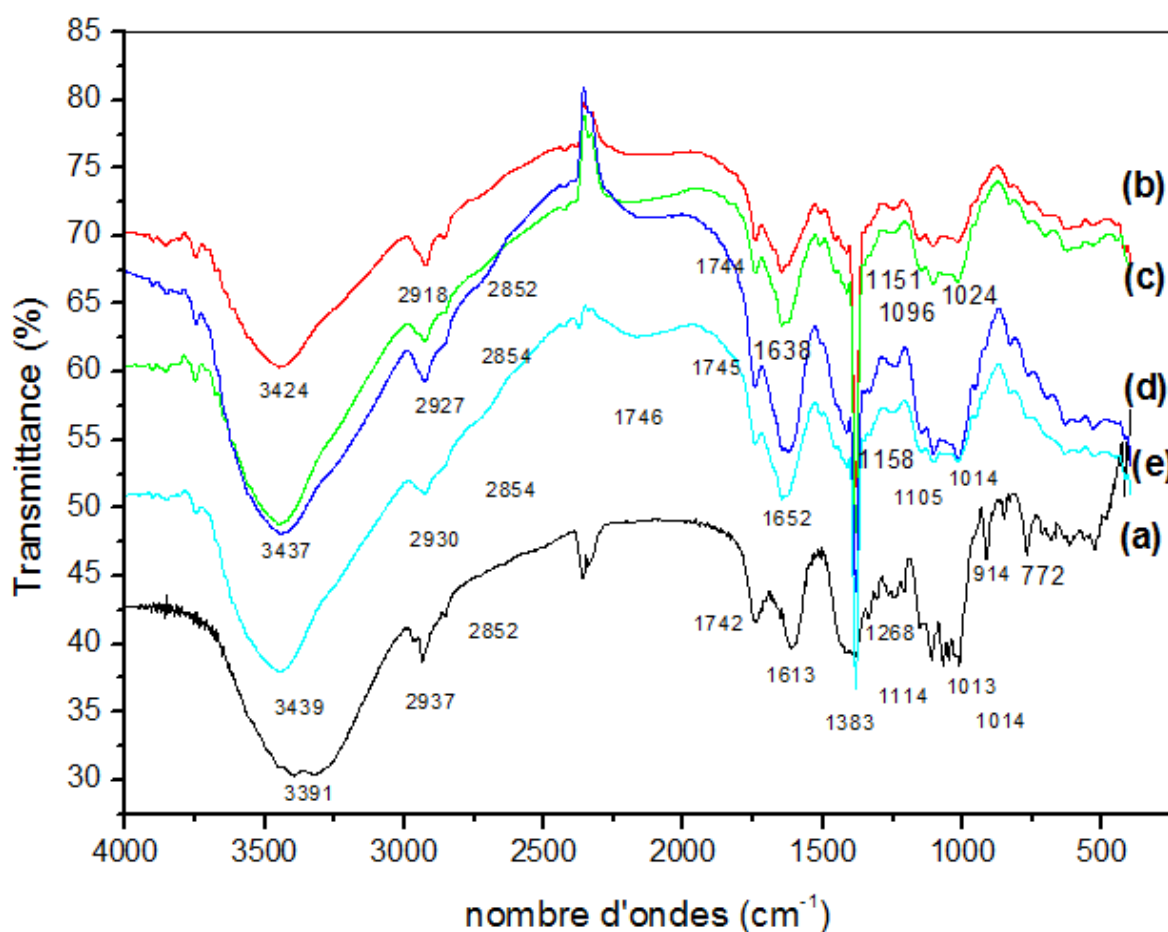


Figure III.1.2. Spectres IR-TF de la pectine (a), POCl à 0,25% (b), POCl à 0,75% (c), POCl à 1,5% (d), POCl à 3 % (e) (voir suite en page suivante).

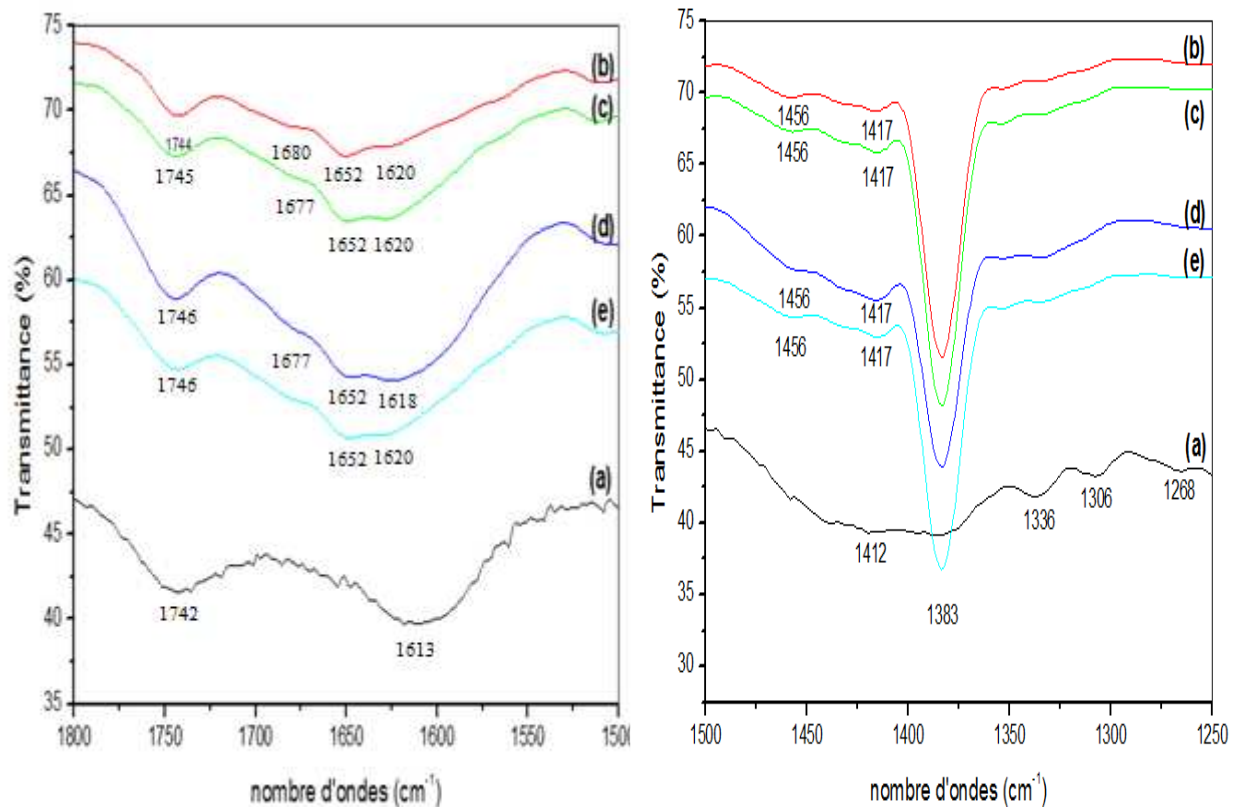


Figure III.1.2. Spectres IR-TF de la pectine (a), POCl à 0,25% (b), POCl à 0,75% (c), POCl à 1,5% (d), POCl à 3 % (e).

Le domaine entre 1600 et 1800 cm^{-1} est particulièrement intéressant dans l'identification et la quantification des pectines. Deux bandes à 1742 et 1613 cm^{-1} (**figure III.1.2**) sont attribuées aux vibrations de valence des carbonyles appartenant à des carboxyles estérifiés et libres respectivement (**Chatjigakis *et al.*, 1998**).

Après oxydation, la bande à 1742 cm^{-1} subit un déplacement vers des fréquences inférieures pour atteindre 1746 cm^{-1} . Ce n'est qu'une indication sur la formation des esters aliphatiques (**Silverstein *et al.*, 1998**).

Concernant le pic à 1613 cm^{-1} appartenant au carboxylate COO^- , il se déplace progressivement jusqu'à 1656 cm^{-1} pour la pectine oxydée à 3% de NaOCl.

Nous devons signaler que suite à l'oxydation, le pic à 1742 cm^{-1} diminue en intensité par rapport à celui de 1613 cm^{-1} au fur et à mesure que la concentration en agent oxydant augmente.

Par ailleurs, entre 1450-1350 cm^{-1} , nous avons l'apparition d'un nouveau pic fin et intense pour la pectine oxydée à 1383 cm^{-1} qui est associé à l'élongation symétrique de l'anion

carboxylate $C(=O)_2^-$ et sans doute à celles des O-H des acides carboxyliques (**Silverstein et al., 1998**).

Le pic d'absorption à 2937 cm^{-1} est attribué aux vibrations d'élongation des CH aliphatiques. Ce pic se déplace aussi d'une manière évolutive de 2918 cm^{-1} pour la pectine oxydée à 0,25% de NaOCl jusqu'à 2930 cm^{-1} pour la pectine oxydée à 3% de chlore actif.

Trois réactions possibles peuvent être proposées. Il y a l'oxydation des hydroxyles en carbonyles, des carbonyles en carboxyles et la dépolymérisation de la pectine (**figure III.1.3**).

Une étude menée par **Rodrigue (2008)** sur l'oxydation de la cellulose par l'hypochlorite de sodium a pu démontrer que différentes réactions d'oxydation sont non sélectives et se font particulièrement en position 1,2- et 2,3- du cycle osidique.

Les produits de la réaction susceptibles de se former dans notre cas sont donnés ci-dessous.

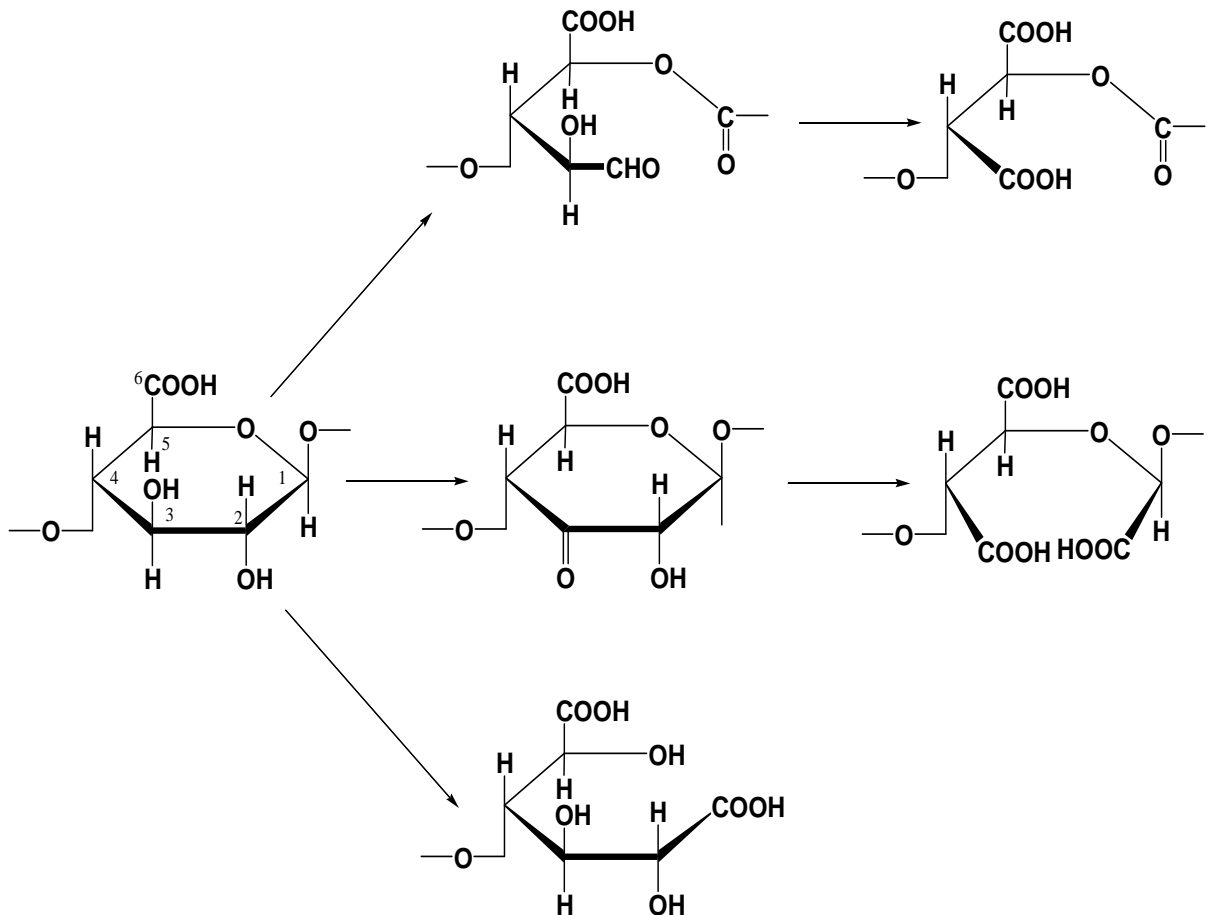


Figure III.1.3. Conversions oxydatives par l'hypochlorite de sodium les plus plausibles de la pectine.

III.1.1.4. Diffraction des rayons X :

Le diffractogramme des rayons X de la pectine présente des pics dont les principaux selon **Manoj *et al.*, (2010)** sont à des angles de 2θ égaux à $9,17^\circ$; $12,76^\circ$; $18,54^\circ$; $28,1^\circ$ et $40,11^\circ$. Ce qui montre clairement que la pectine possède une structure cristalline (**Figure III.1.4**).

L'oxydation de la pectine entraîne la disparition progressive avec le chlore actif de la structure cristalline. Les diffractogrammes (**figure III.1.4.b-d**) sont différents de celui de la molécule mère.

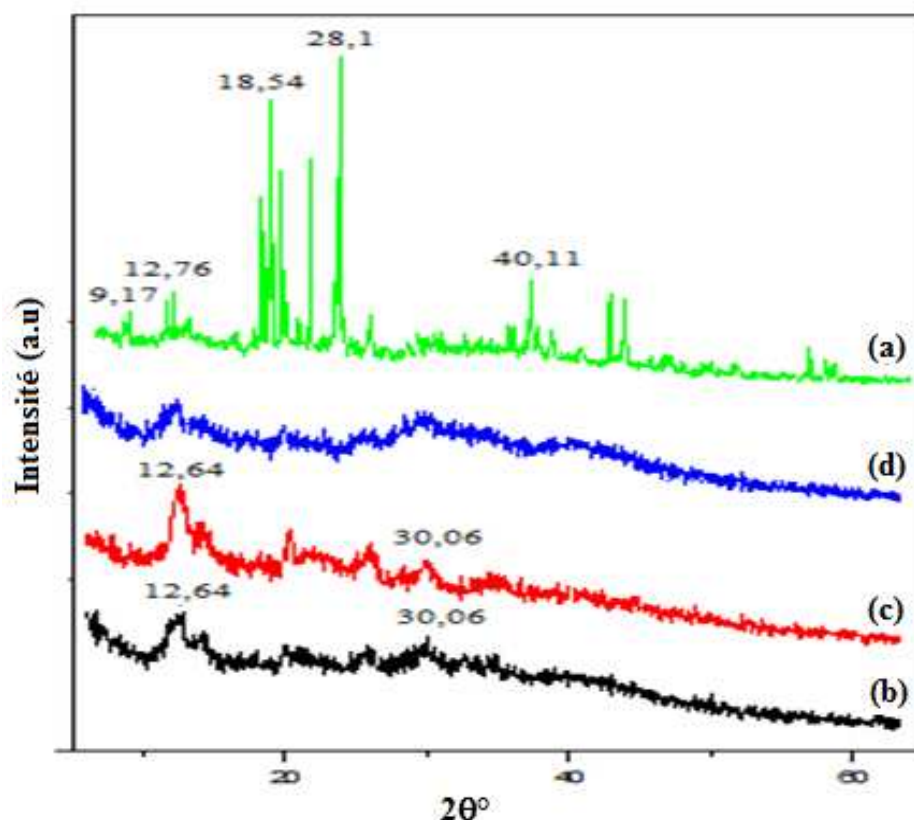


Figure III.1.4. Diffractogrammes de la pectine (a) ; POCl à 0,25% (b); POCl à 1,5% (c) et POCl à 3% (d).

III.1.2. Oxydation par le periodate:

III.1.2.1. Teneur en aldéhyde et en carboxyle:

L'oxydation de la pectine par le periodate favorise la formation de groupes dialdéhydes, suite à une scission homolytique de la liaison C_2-C_3 (**figure III.1.5**).

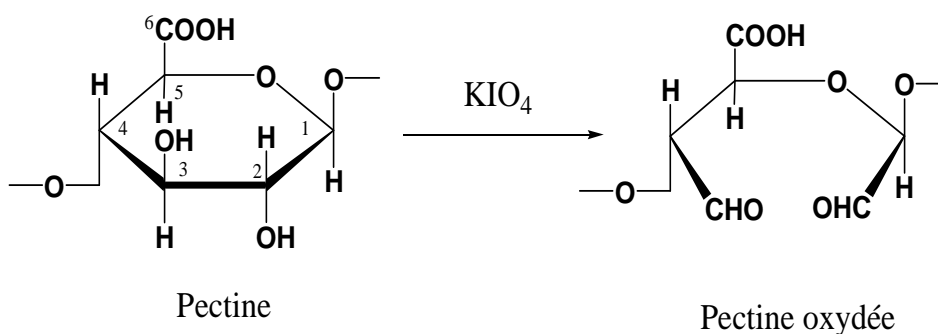


Figure III.1.5. Représentation schématique de l'oxydation de la pectine par le periodate.

La méthode de dosage où on utilise l'indicateur coloré, la phénolphtaléine montre que l'augmentation des groupements aldéhyde se fait d'une manière drastique (**tableau III.1.3**). Elle passe de 14,41 à 72,08% pour $C_1=0,026M$, de 8,65 à 43,25% pour $C_2=0,052$ et enfin de 5,67% à 28,83% pour une concentration de KIO_4 égale à $C_3=0,078M$.

Aussi, nous constatons que le taux en aldéhyde diminue considérablement en fonction de la concentration du periodate de potassium. Par exemple à $t=4h$, nous passons de 72,08% pour $C_{KIO_4}=0,026M$ à 28,83% pour une concentration $C_3=0,078 M$ à $t=4h$ (**Tableau III.1.3, Figure III.1.6**).

Pour ce qui est des ratios des carboxyles, ils augmentent avec le temps. Cette augmentation n'est qu'une indication sur la conversion des aldéhydes en carboxyles, de l'hydrolyse de la fonction ester et aussi de la dégradation des chaînes de pectine.

Tableau III.1.3. Résultats du dosage des groupes aldéhydes et des groupements carboxyliques.

	Temps (h)	1	2	3	4
	[KIO_4] (M)				
Teneur en aldéhyde (%) (méthode 1)	0,026	14,41	28,83	57,63	72,08
	0,052	8,65	14,41	28,83	43,25
	0,078	5,67	8,65	20,18	28,83
Teneur en carboxyle (%)	0,026	2,58	2,92	3,10	3,15

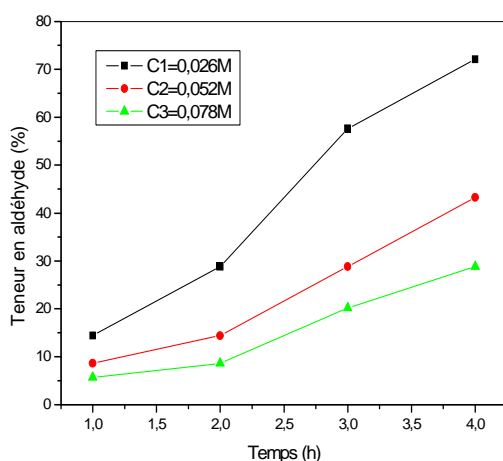
Aussi, nous avons tenté d'estimer la teneur en aldéhyde selon la méthode N°2 qui conduit à la formation d'oxime. Cette méthode nous révèle que les taux en aldéhydes sont totalement différents à ceux trouvés selon la première méthode (**tableau III.1.4**).

A l'exception à $t=2h$ où le pourcentage en CHO diminue, la teneur en aldéhyde augmente avec le temps. De même que précédemment, nous remarquons une diminution des CHO quand la concentration de KIO_4 augmente.

Tableau III.1.4. Résultats du dosage des groupes aldéhydes (méthode 2)

	Temps (h)	1	2	3	4
	[KIO_4] (M)				
Teneur en aldéhyde (%) (méthode 2)	0,026	69,2	51,9	77,8	86,5
	0,052	43,25	43,25	60,55	69,2

a)



b)

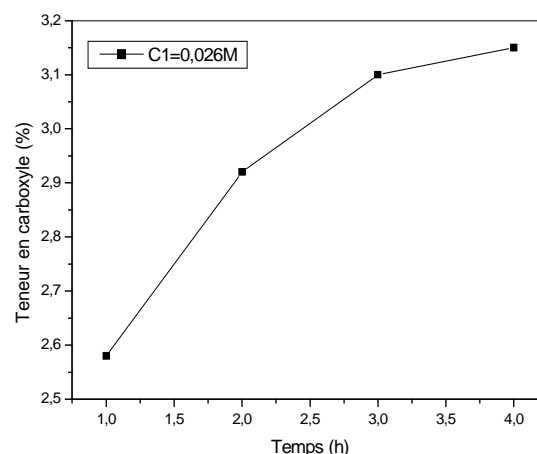


Figure III.1.6. Les teneurs en dialdéhydes (méthode 1) (%) (a) et carboxyles (%) (b) en fonction du temps

III.1.2.2. Degrés d'estérification :

D'après le tableau III.1.5, le degré d'estérification diminue avec le temps de la réaction d'oxydation. Il atteint des valeurs inférieures à 50%. La pectine devient faiblement méthylée alors qu'elle était avant oxydation hautement méthylée avec un $DE=73,8\%$. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Munarin et al., (2012)**.

Tableau III.1.5. Degrés d'estérification de la pectine oxydée par le periodate

Composés	Pectine avant oxydation	Pectine après oxydation			
		1	2	3	4
t (h)	0				
DE (%)	73,8	50,63	41,09	46,15	46,15

III.1.2.3. Spectroscopie IR-TF :

La **figure III.1.7** illustre les spectres IR-TF de la pectine et de la pectine oxydée par le periodate de potassium.

Nous avons constaté selon **la figure III.1.7** que les pics à 1742 et 1613 cm^{-1} attribués aux carboxyles estérifiés $-\text{COOR}$ et aux carboxylates $-\text{COO}^-$ (**Chatjigakis et al., 1998**) se déplacent respectivement vers 1739 et 1627 cm^{-1} , d'une part.

D'autre part, en comparant les pectines (**figure III.1.7.a et b**), le pic à 1739 cm^{-1} devient un épaulement et diminue en intensité par rapport à celui à 1627 cm^{-1} . Le déplacement vers 1739 cm^{-1} est une indication que la réaction d'oxydation a bien eu lieu, et que cette fréquence se trouve dans la gamme de vibrations d'élongation du lien carbonyle ($\text{C}=\text{O}$) des aldéhydes aliphatiques qui absorbent entre 1740 et 1720 cm^{-1} (**Silverstein et al., 1998**).

Des changements dans la région de 1424 à 1326 cm^{-1} sont associés à l'absorption des aldéhydes aliphatiques (**Silverstein et al., 1998**). Nous observons précisément à 1385 cm^{-1} la formation d'un nouveau pic fin et fort qui est assigné à la vibration de C-H dans le plan du carbonyle et de déformation angulaire du lien C-H. L'absorption à cette fréquence est un moyen pour mettre en évidence la présence d'aldéhyde.

Un pic d'absorption vers 2937 cm^{-1} attribué à la vibration d'élongation du groupe méthyle des esters méthyliques de l'acide galacturonique (**Lin, 2010**) se déplace après oxydation à 2925 cm^{-1} vers les nombres d'ondes les plus faibles.

Aussi, la bande à 3391 cm^{-1} correspondant à la vibration d'élongation des OH devient moins large et son sommet se déplace vers 3394 cm^{-1} , ce qui probablement indique que le nombre des hydroxyles se réduit au détriment des carbonyles aldehydiques. Cette dernière remarque ne peut être prise en compte puisque les carbonyles de façon générale sont aptes à former des liaisons hydrogène et de là la vibration d'élongation des OH ne peut être quantifiée.

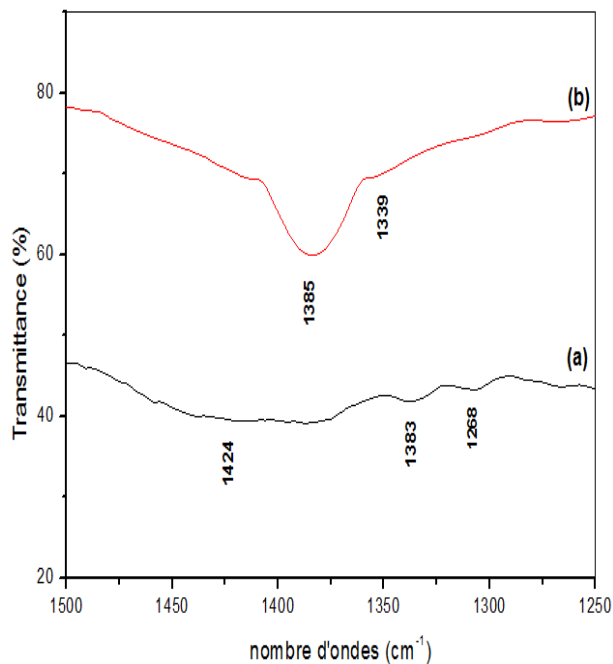
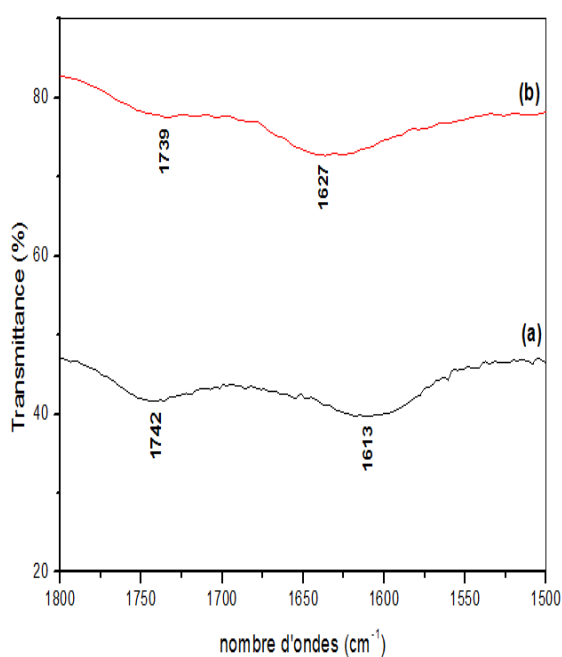
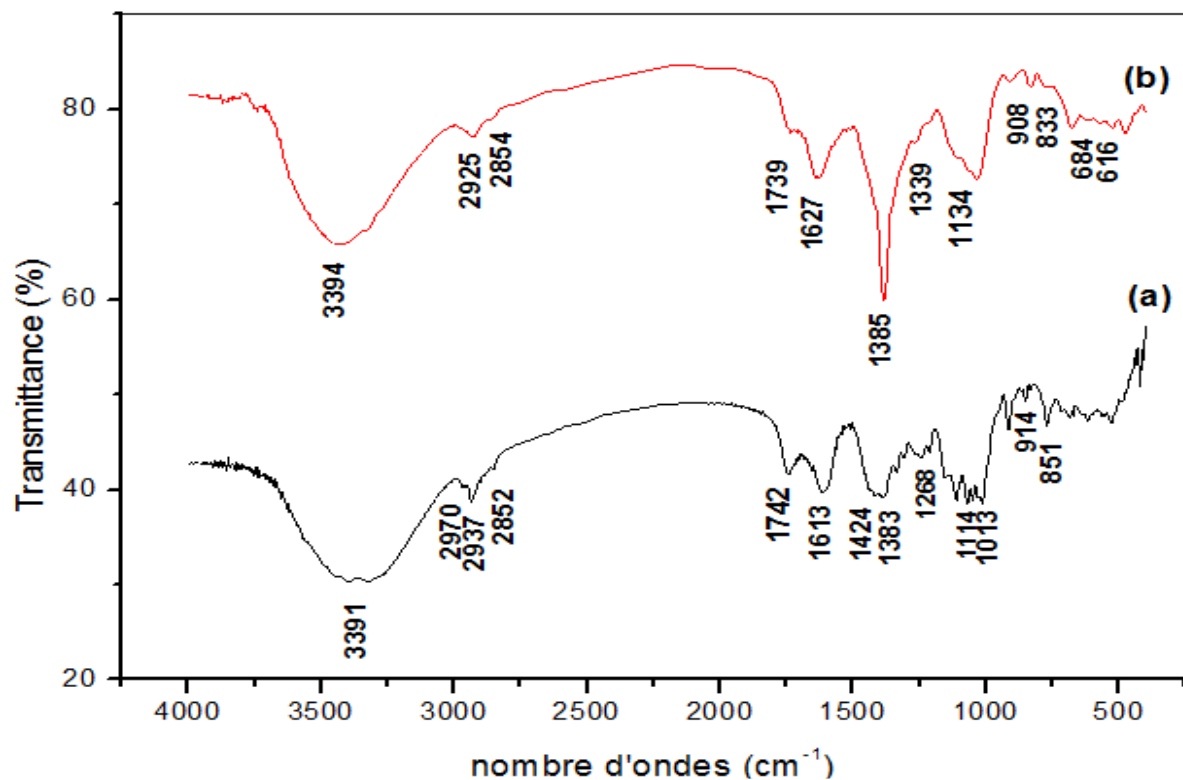
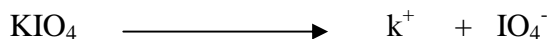


Figure III.1.7. Spectres IR-TF dans le KBr de la pectine (a), la pectine oxydée par le KIO_4 pendant $t=4\text{h}$ (b).

Un aperçu sur le mécanisme réactionnel de l'oxydation de la pectine par le periodate de sodium est proposé suite à une recherche bibliographique variée. Il est à noter que l'anion periodate favorise la formation d'aldéhyde suite à une scission de la liaison carbone-carbone porteurs des OH (Krausz et al., 2008).

Le mécanisme généralement proposé fait intervenir la dissociation du periodate puis l'anion IO_4^- forme un intermédiaire cyclique qui conduit aux aldéhydes.



La réaction donne lieu à un intermédiaire réactionnel ionique de type ester cyclique (**Figure III.1.8**). A ce niveau de la réaction, il n'y a pas de réduction de l'espèce périodate mais une perte d'eau et fixation de l'alcool pinacolique.

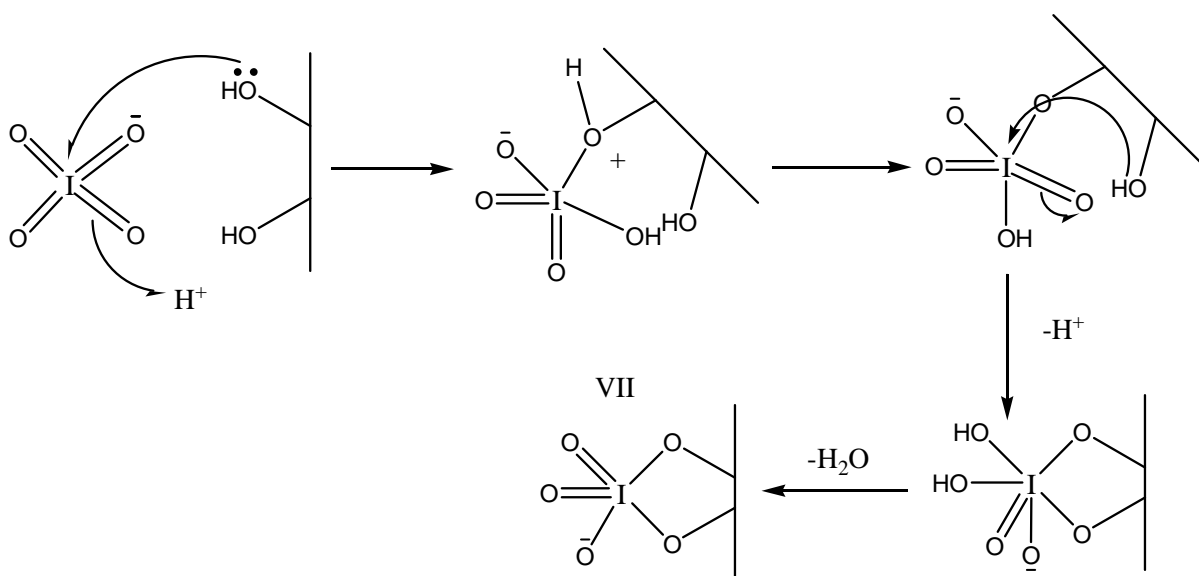


Figure III.1.8. Première étape du mécanisme d'oxydation des alcools pinacoliques par le periodate de sodium (**Le Roux, 2003**).

L'espèce cyclique à 5 chaînons se décompose immédiatement par réarrangement électronique. Le mécanisme concerté conduit à deux réductions successives de l'halogène, en le faisant passer du degré d'oxydation VII à V, et à l'oxydation des deux carbones porteurs des fonctions alcools. La particularité de ce mécanisme est qu'il induit une coupure de la liaison C-C (**figures III.1.8-9**).

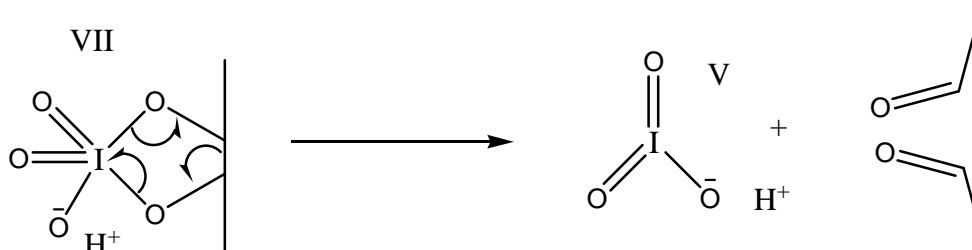


Figure III.1.9. Mécanisme concerté de l'intermédiaire réactionnel cyclique à 5 chaînons (**Le Roux, 2003**).

L'oxydation des diols vicinaux dans le polysaccharide donne des dérivés dialdéhydes avec ouverture du cycle.

Pour confirmer la formation de carbonyle, nous avons voulu voir simplement par infrarouge s'il y a la condensation entre le groupe aldéhyde formé après oxydation par le KIO_4 et l'hydrazine.

III.1.2.4. Spectroscopie IR-TF de pectine 2,3-dihydrazone :

En milieu acide, la fonction aldéhyde réagit sans équivoque avec l'hydrazine pour donner des liaisons hydrazone. Des travaux antérieurs (**El Meligy *et al.*, 2005; Andrzej *et al.*, 2004**) reposent sur l'étude de la formation de ce type de liaison. Il a été montré que la réaction conduisant à la formation d'hydrazones dépend du pH, du temps mais n'est pas quantitative. Il s'avère que cette réaction est réversible (**Christie *et al.*, 2010**) et que l'hydrazone n'est pas stable en milieu acide puisqu'elle s'hydrolyse partiellement lorsque le pH est inférieur à 5.

Le spectre infrarouge du dérivé hydrazone ne décèle aucune information sur la réaction dans le domaine des nombres d'onde supérieur à 2000 cm^{-1} , mis à part le pic à 3394 cm^{-1} pour la pectine oxydée par le periodate (**figure III.1.10.a**) qui devient plus large avec un déplacement du sommet vers 3428 cm^{-1} . Cette bande est caractéristique de la vibration de valence des O-H, des N-H et des NH_2 .

Par contre, à des fréquences inférieures à 2000 cm^{-1} , nous avons la disparition du pic à 1385 cm^{-1} qui est attribué à la vibration dans le plan des C-H aldéhyde et l'apparition d'un nouveau pic moins intense à 1405 cm^{-1} (**figure III.1.10.b**). La diminution de l'intensité du pic à 1741 cm^{-1} et le déplacement du pic à 1627 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$) vers 1618 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=N}}$) de l'hydrazone (**Belkheiri, 2010**) confirment que l'hydrazone s'est établie. La région inférieure à 1250 cm^{-1} se trouve elle aussi complètement modifiée.

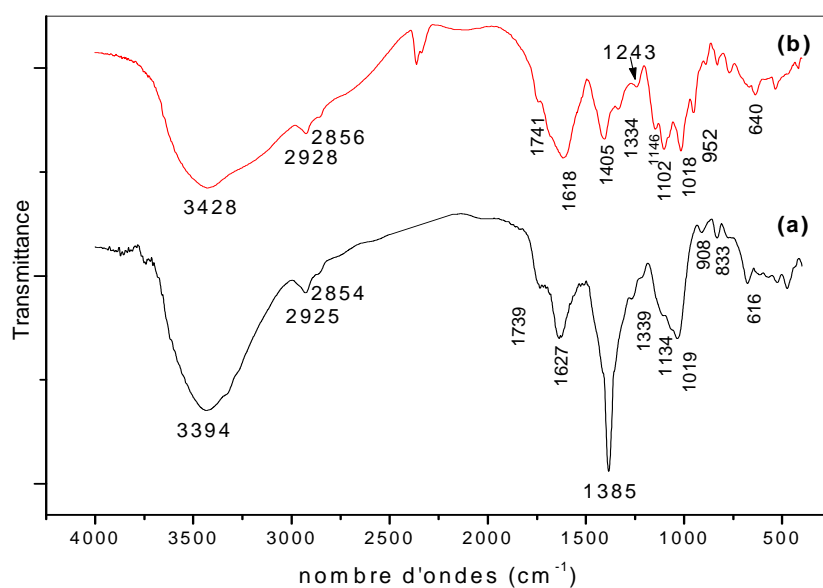


Figure III.1.10. Spectres IR-TF de la POP à t=4h (a) et de la 2,3-dihydrazone (b)

Un schéma présentant la réaction entre la pectine oxydée et l'hydrazine est présenté ci après.

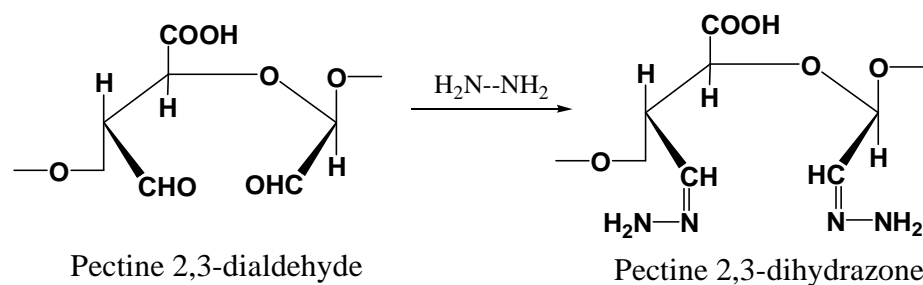


Figure III.1.11. Conversion de la pectine 2,3-dialdehyde en pectine 2,3-dihydrazone

III.1.2.5. Diffraction des rayons X :

L'oxydation de la pectine par le periodate entraine là aussi une modification notoire de la structure cristalline de la macromolécule qui se traduit surtout par la disparition et les déplacements des pics caractéristiques de cette dernière. La pectine oxydée perd alors de sa cristallinité et devient amorphe (**Figure III.1.12**).

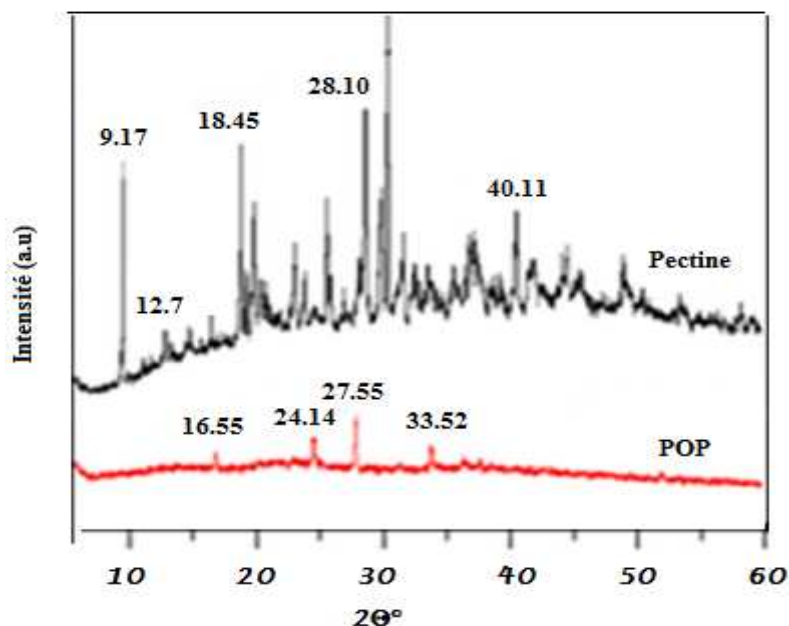


Figure III.1.12. Diffractogrammes des rayons X de la pectine et la pectine oxydée par le $[KIO_4]=0,026M$ à $t=4$ h.

III.1.2.6. Analyse thermogravimétrique

Les thermogrammes (TG) de la pectine et de la pectine oxydée par le periodate sont présentés dans la **figure III.1.13**. Les données principales sont résumées dans le **tableau III.1.6**.

Entre $35^{\circ}C$ à $140^{\circ}C$, nous avons une perte en poids de 3,8% dans le cas de la pectine et la pectine oxydée. Cela est attribué à l'évaporation de l'eau.

En revanche, la décomposition commence à partir de $190^{\circ}C$, le maximum se trouve alors à $245^{\circ}C$. Ce qui est associé selon **Ghaffari et al., (2007)** à la dépolymérisation de la chaîne de pectine. Il faut souligner que la dégradation thermique de la pectine se fait en une seule étape. Par contre, pour la pectine oxydée, nous décelons deux étapes de décomposition qui se produisent au cours de la dégradation thermique. Les vitesses de perte de poids respectives sont de 28 et 4,4 %/min (**figure III.1.13**).

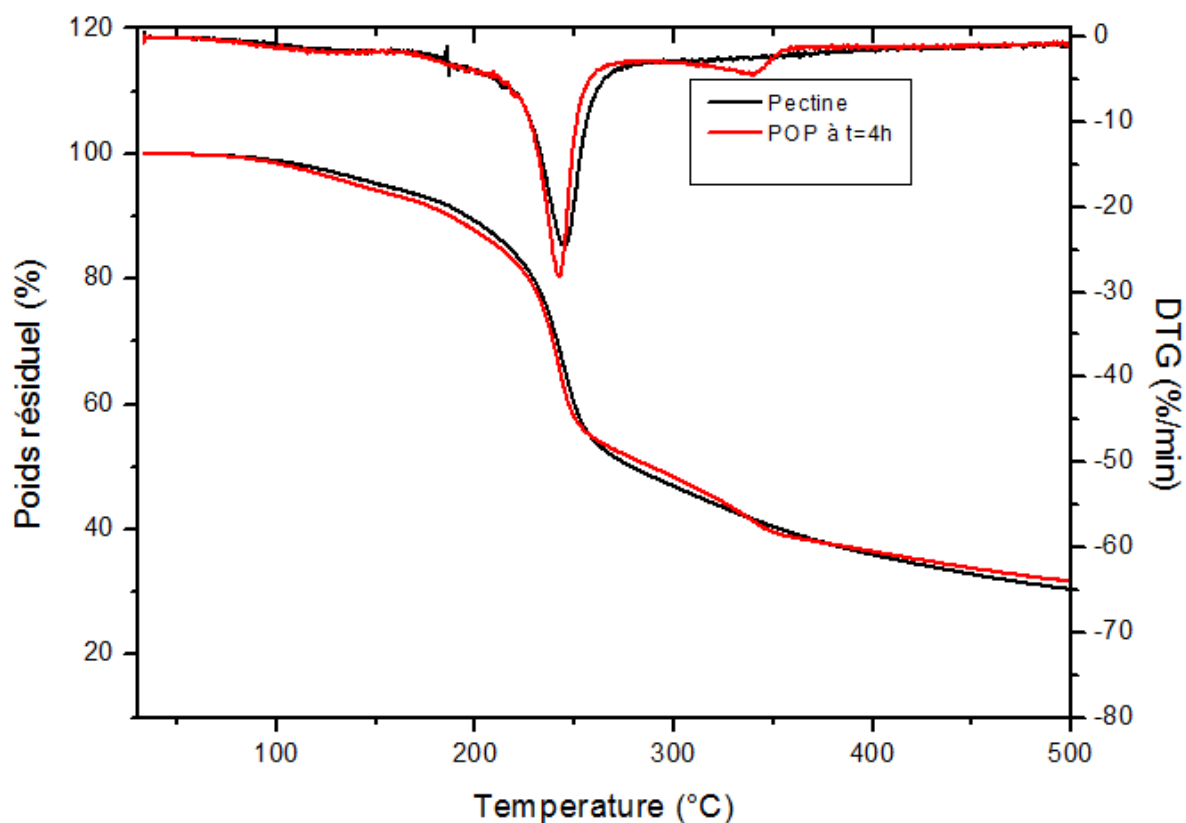


Figure III.1.13. Thermogrammes TG et DTG de la pectine et la pectine oxydée par le periodate à t=4h

Tableau III.1.6. TG et DTG de la pectine et la pectine oxydée par $[KIO_4]=0,026$ M à t=4h

	Pectine	Pectine oxydée (POP)
Poids résiduel (%) 35-140°C	3,8	3,8
Tmax ₁ (°C)	245	241,5
Tmax ₂ (°C)	-	341
Vitesse ₁ (%/min)	24,4	28
Vitesse ₂ (%/min)	-	4,4
Fraction résiduelle (wt %) at 500°C	30,5	31,7

III.2. Etude de l'interaction physicochimique entre la gélatine et la pectine avant et/ou après son oxydation par le chlore actif et/ou par le périodate.

III.2.1. Spectroscopie infrarouge IR-TF :

III.2.1.1. (Gélatine/Pectine) (60/40) (%):

Nous devons signaler avant l'interprétation des résultats par spectroscopie infrarouge, une étude sur la gélatine est donnée dans les travaux menés dans le cadre du magister (**Chetouani, 2011**) et publiés en 2014 (**Chetouani et al., 2014a-c**).

L'ajout de la gélatine à la pectine a visiblement entraîné des changements structuraux des deux matrices (**Figure III.2.1**). À des nombres d'onde supérieurs à 2000 cm^{-1} , nous avons sur le spectre du mélange G/P, la présence des CH aromatiques appartenant à la gélatine qui se manifestent à 3073 cm^{-1} .

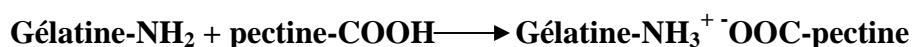
Le pic des CH aliphatiques subi un déplacement vers 2933 cm^{-1} dans le cas du mélange alors qu'il était pour la gélatine à 2942 cm^{-1} et pour la pectine à 2937 cm^{-1} .

La région inférieure à 2000 cm^{-1} fournit plus d'indications sur l'interaction entre les deux polymères. Le pic à 1742 cm^{-1} (**figure III.2.1.b**) attribué aux COOR de la pectine disparaît et réapparaît sous forme d'un épaulement à 1737 cm^{-1} (**figure III.2.1.c**). Selon la bibliographie (**Silverstein et al., 1998**), la bande d'absorption des esters aliphatiques saturée se situe entre 1750 et 1735 cm^{-1} . *A priori*, cela nous laisse penser à la possibilité de nouvelles réactions d'estérification entre la gélatine et la pectine.

Par ailleurs, la bande à 1546 cm^{-1} diminue en intensité par rapport à celle à 1650 cm^{-1} (**figure III.2.1.c**) en les comparant avec celles qui appartiennent à la gélatine (**figure III.2.1.a**).

La bande à 1650 cm^{-1} provient des vibrations d'élongation du lien C=O des amides (**Centeno et al., 2004 ; Pal et al., 2007**) alors qu'à 1546 cm^{-1} , cette bande résulte de l'interaction entre la déformation angulaire du lien N-H et l'élongation du lien C-N du groupe C-N-H. Les bandes plus faibles à 1239 cm^{-1} (**figure III.2.1.a**) et à 1237 cm^{-1} (**figure III.2.1.c**) proviennent également suite à cette interaction.

Aussi, les sels d'acides aminés absorbent entre 1755 et 1730 cm^{-1} (**Silverstein et al., 1998**). L'interaction physique dans ce cas entre les ammoniums des acides aminés de la gélatine et les carboxylates sont plausibles.



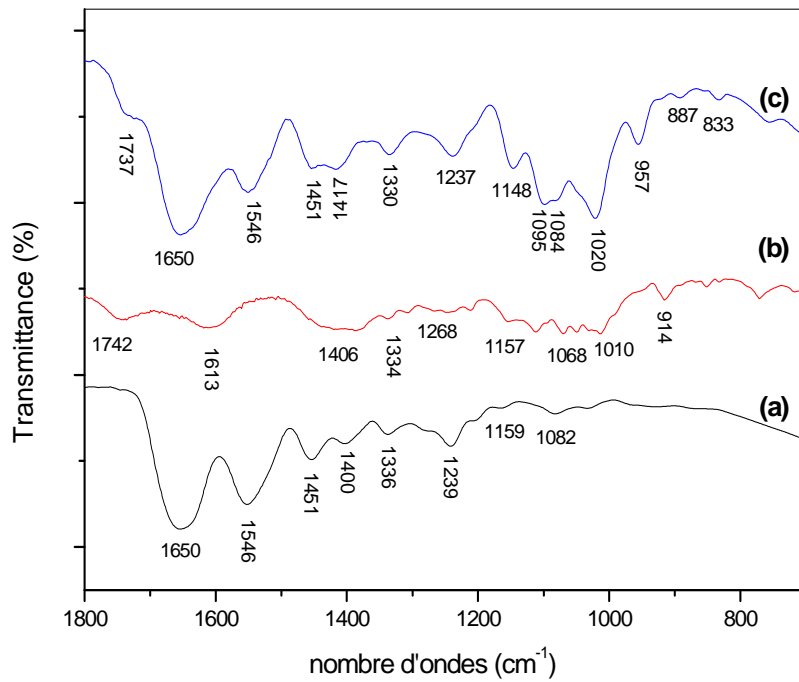
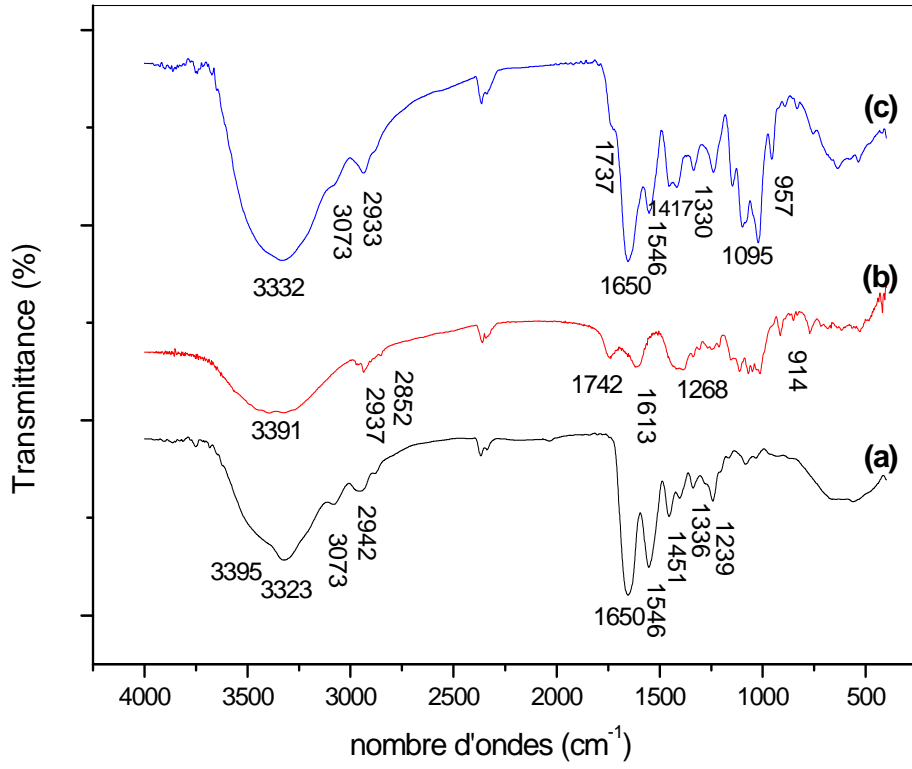


Figure III.2.1. Spectres IR-TF des films de gélatine **a)**, pectine **b)** et (G/P) (60/40)(%) **c)**

III.2.1.2. (Gélatine/ Pectine oxydée par le chlore actif) (60/40)(%) :

Si on compare le spectre de la gélatine avec celui de la gélatine additionnée à la pectine oxydée par le chlore (**Figure III.2.2**), nous constatons les mêmes phénomènes que précédemment concernant le pic à 1746 cm^{-1} qui subit une diminution avec un shifting vers 1737 cm^{-1} , d'une part.

D'autre part, nous observons la disparition du pic à 1383 cm^{-1} et l'intensification de celui à 1650 cm^{-1} . La réaction de transamidation de la pectine est alors envisageable. Les réactions les plus possibles sont schématisées dans la **figure III.2.3**.

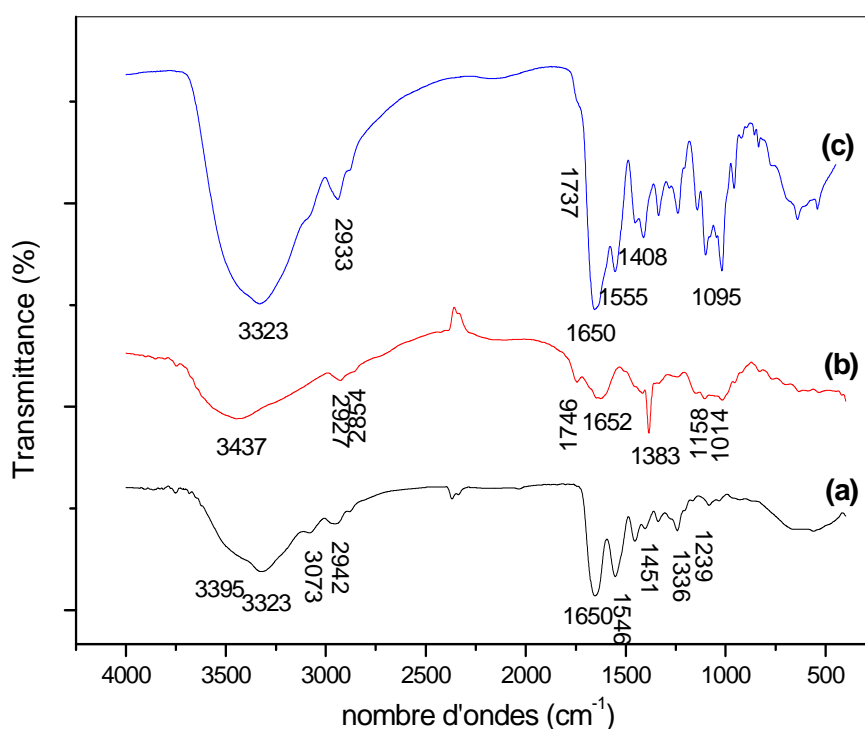


Figure III.2.2. Spectres IR-TF des films de gélatine **a)**, POCl **b)** et (G/POCl) (60/40)(%) **c)** (voir suite en page suivante).

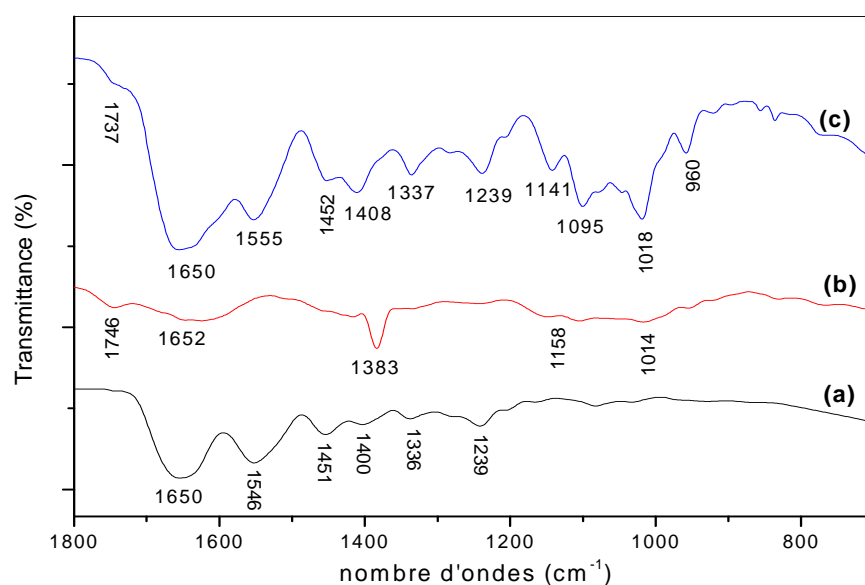


Figure III.2.2. Spectres IR-TF des films de gélatine **a)**, POCl **b)** et (G/POCl) (60/40)(%) **c)**.

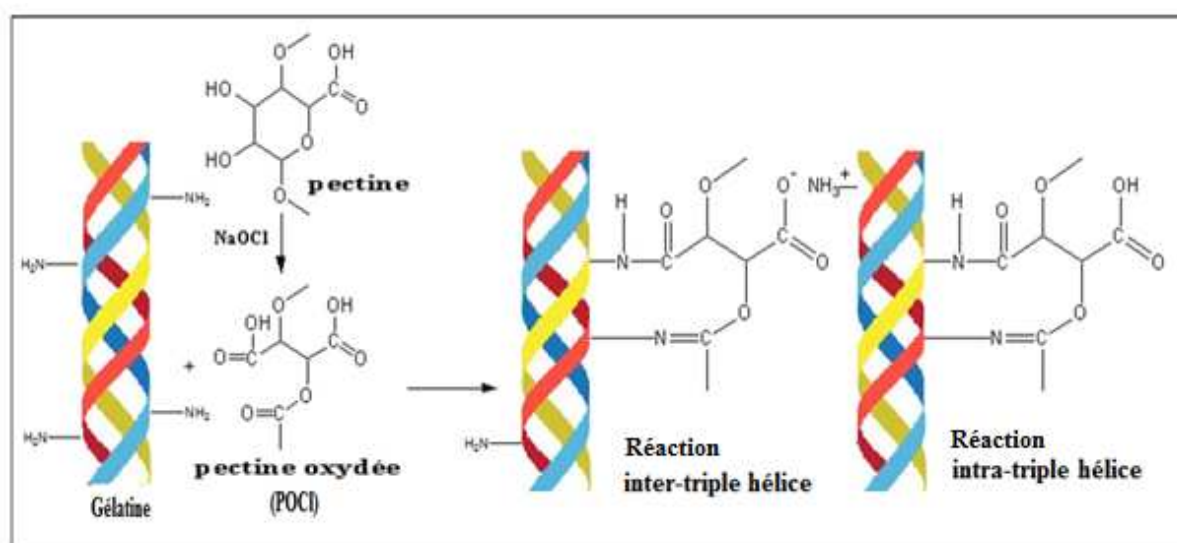


Figure III.2.3. Réactions entre la gélatine et la pectine oxydée par le chlore.

III.2.1.3. (Gélatine / Pectine oxydée par le periodate) (60/40) (%):

D'après la **figure III.2.4**, nous avons la disparition des pics à 1739 et 1385 cm^{-1} qui étaient présents dans le spectre de la pectine oxydée par le periodate et une intensification du pic à 1650 cm^{-1} . On observe également le déplacement du pic de la gélatine à 1546 vers 1554 cm^{-1} . Ce qui nous confirme qu'il y a formation de la base de schiff ($-\text{C}=\text{N}$) (**figure III.2.5**).

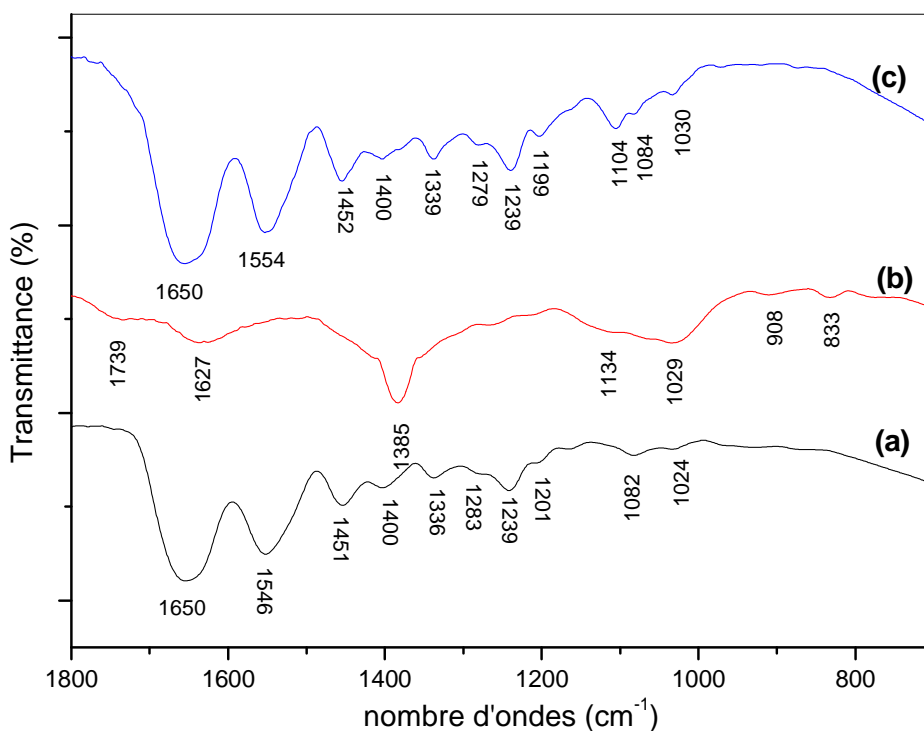
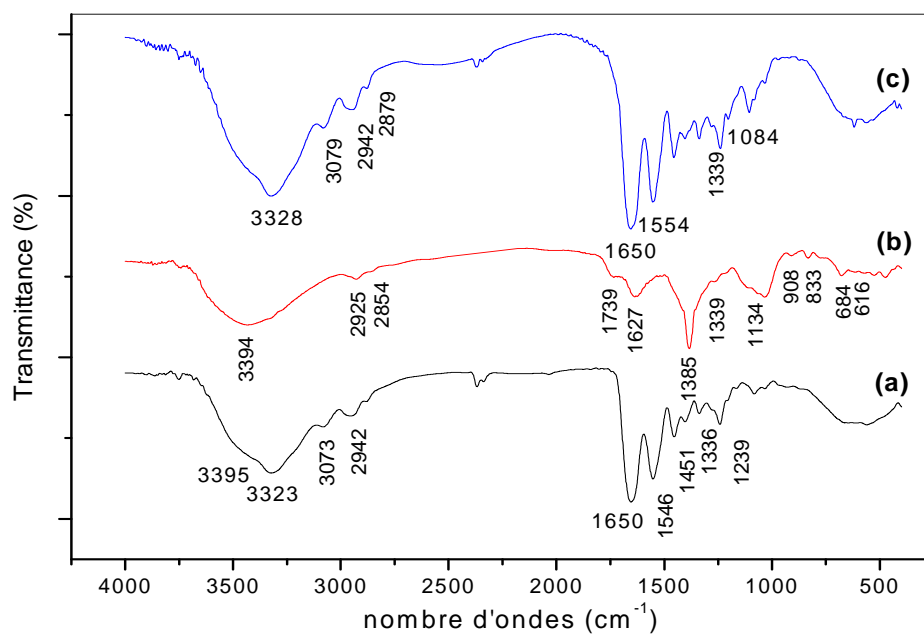


Figure III.2.4. Spectres IR-TF des films de gélatine **a)**, POP **b)** et (G/POP) (60/40)(%) **c)**.

La réaction entre la gélatine et la pectine oxydée (POP) peut être schématisée comme suit :

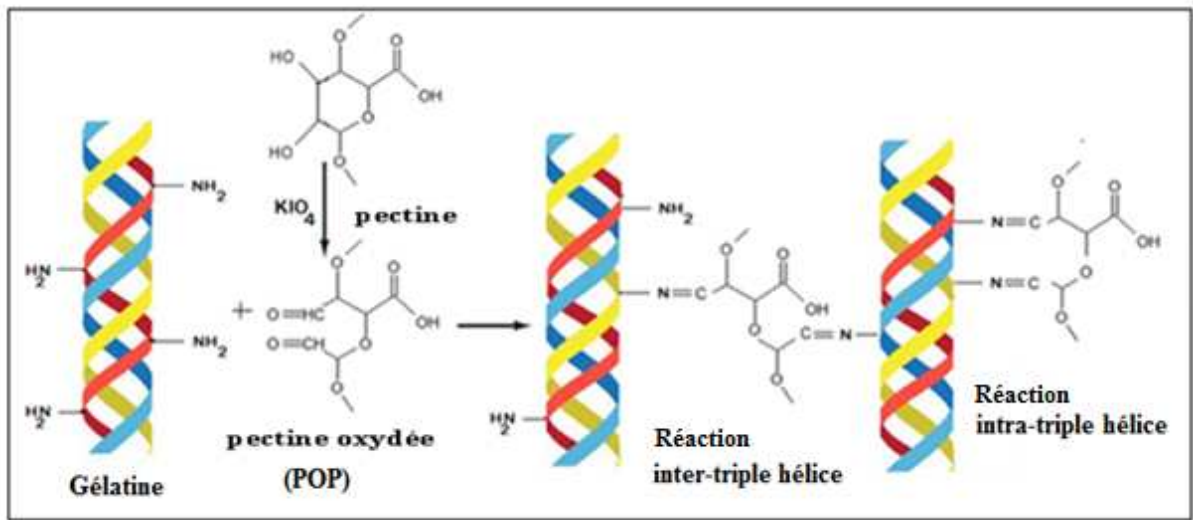


Figure III.2.5. Réactions entre la gélatine et la pectine oxydée par le periodate.

III.2.1.4. (Gélatine/ Glutaraldehyde)(%):

La réticulation de la gélatine par le glutaraldehyde entraîne des augmentations des intensités des pics correspondant aux C-H_{aliphatiques} (**Figure III.2.6**).

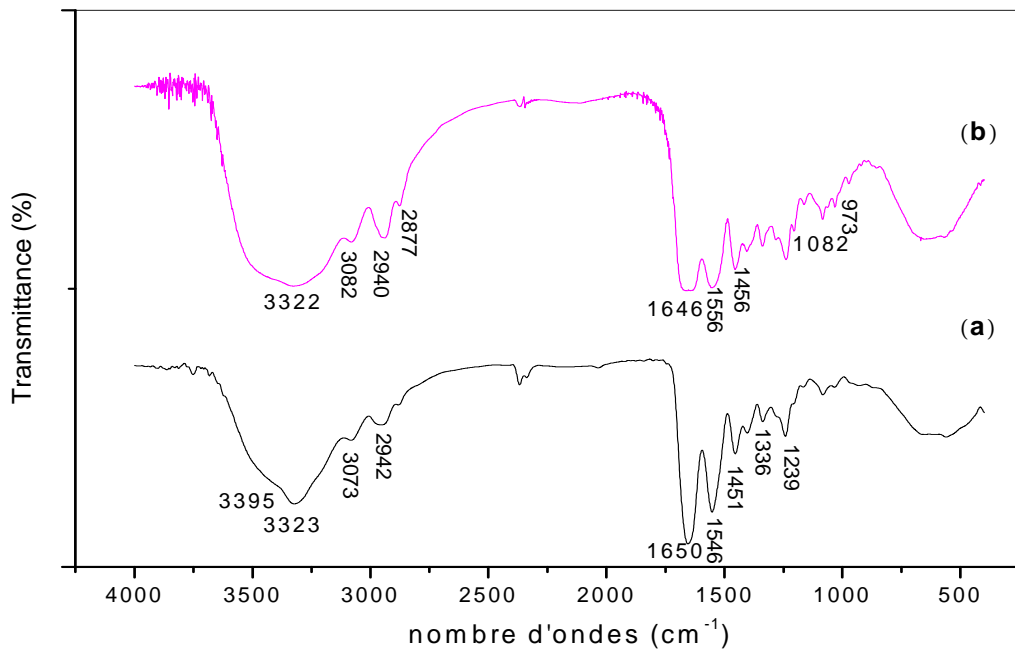


Figure III.2.6. Spectres IR-TF des films de gélatine **a)**, (G/GTA) (100/02)(%) **b)** (voir suite dans la page suivante).

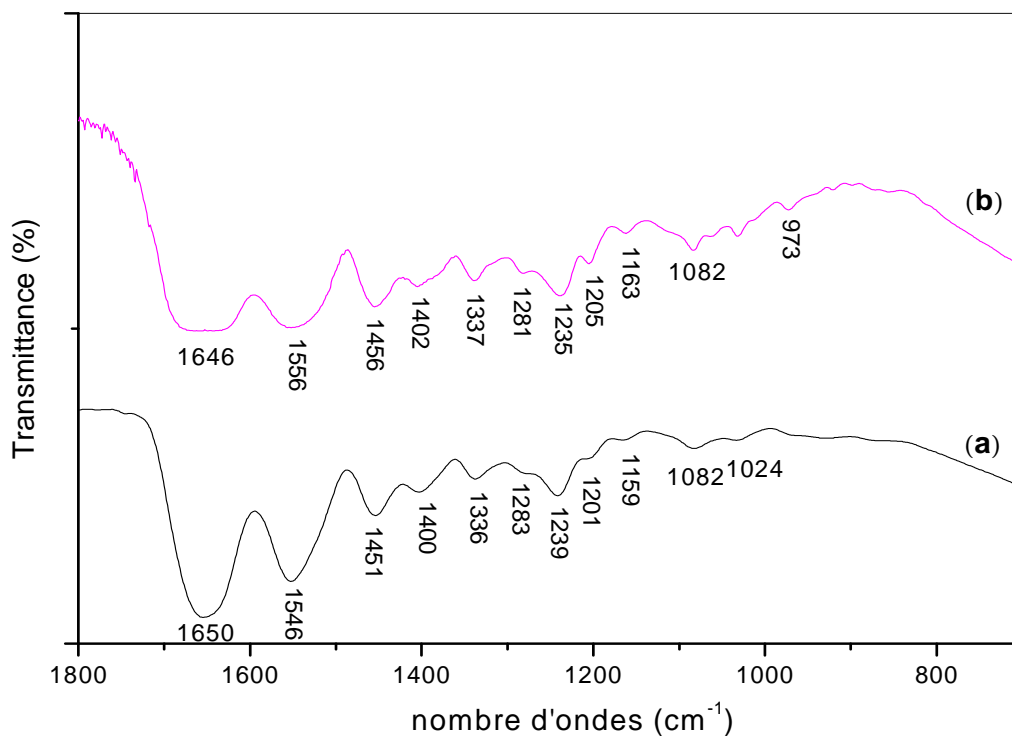


Figure III.2.6. Spectres IR-TF des films de gélatine **a)**, (G/GTA) (100/02)(%) **b)**.

Il est à rappeler que les C-H_{aliphatiques} du GTA apparaissent à 2960 et 2878 cm⁻¹ respectivement pour $\nu_{C-H \text{ asy}}$ et $\nu_{C-H \text{ sym}}$, alors que le C=O de l'aldéhyde du GTA est à 1716 cm⁻¹ (SDBS data base).

Le glutaraldehyde est l'agent de réticulation des protéines le plus utilisé. Sa simple structure n'est pas indicative de la complexité de son comportement en solution aqueuse et de sa réactivité (**Figure III.2.7**) (Migneault *et al.*, 2004).

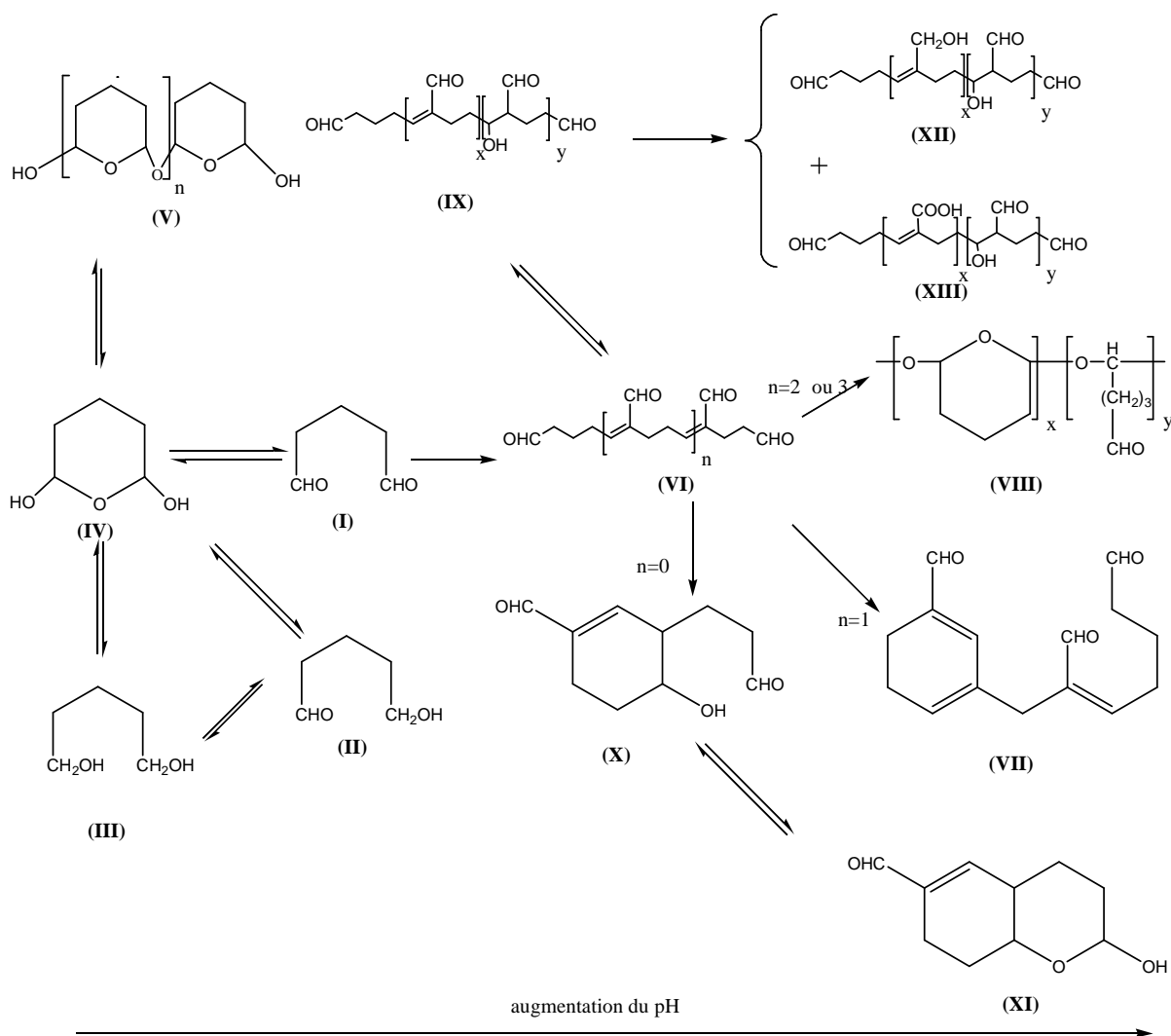


Figure III.2.7. Modifications structurales possibles du glutaraldéhyde (I) en fonction du pH (Migneault *et al.*, 2004).

Dans notre cas, le spectre IR de la gélatine réticulée exhibe une intensification du pic à 1650 cm^{-1} qui était déjà fin et fort. Il devient après réticulation plus intense et large et couvre la région de 1656 à 1633 cm^{-1} . Ce qui correspond probablement à la formation de l'imine «base de schiff». Aussi, le pic à 1456 correspondant au $\nu_{\text{C-N}}$ «vibration de déformation de C-N» s'intensifie avec la réticulation. L'apparition d'un nouveau pic à 973 cm^{-1} correspond au vibration de déformation des $-\text{OH}$ (**figure III.2.6**). Les spectres de la gélatine réticulée par la pectine oxydée par le periodate et le glutaraldéhyde sont quasi identiques.

III.2.2. Diffraction des rayons X:

Selon les différents travaux menés par **Tanioka *et al.*, (1976)**, l'analyse par diffraction des rayons X a permis de quantifier la structure cristalline en triple hélice du collagène et notamment de la gélatine dénaturée.

Il a été précisé qu'au niveau des diffractogrammes correspondants, les deux pics caractéristiques aux angles 2θ à environ $7,59^\circ$ (avec la distance inter-réticulaire d_{101} ; 11,63 Å) et à $17,02^\circ$ jusqu'à $30,78^\circ$ (d_{101} ; 5,20-2,90 Å) sont directement attribués à la structure cristalline de la protéine (**Liu *et al.*, 2010**). En outre, une étude réalisée par **Bigi *et al.*, (2004)** a montré que le pic de diffraction qui apparaît aux valeurs de 2θ égales à environ de 8° est lié directement au diamètre de la triple hélice et que son intensité est associée au taux de cette dernière.

Il a aussi été démontré que l'addition d'additifs qui sont en général, des polyols tels que le tannin (**Peña *et al.*, 2010**), le glycérol (**Rivero *et al.*, 2009**) affecte le plus souvent par une diminution l'intensité du premier pic à 8° , d'une part.

D'autre part, d'après **Yakimets *et al.*, (2005)**, le premier pic de la gélatine correspond à une teneur de 13% du taux en triple hélice. Ce qui va nous servir de référence dans nos calculs.

L'addition de la pectine à la gélatine induit une diminution du premier angle de diffraction qui était à $8,06^\circ$ dans le cas de la gélatine seule et apparaît à $7,31^\circ$. Ce phénomène correspond à une baisse du diamètre inter réticulaire de la triple hélice (**Figure III.2.8**).

En accord avec **Langmaier *et al.*, (2008)** et **Rivero *et al.*, (2009)**, ce phénomène de changement structural et de diminution de cristallinité sont attribués à l'interaction entre les deux biopolymères.

De même, l'ajout de la pectine oxydée par le chlore et/ou par le periodate à la gélatine provoque une diminution de l'intensité du pic à $2\theta = 8,06^\circ$, et par conséquent, le taux de la triple hélice avec déplacement du premier pic à des valeurs de $7,44^\circ$ et $7,50^\circ$, respectivement (**Figure III.2.8 et tableau III.2.1**).

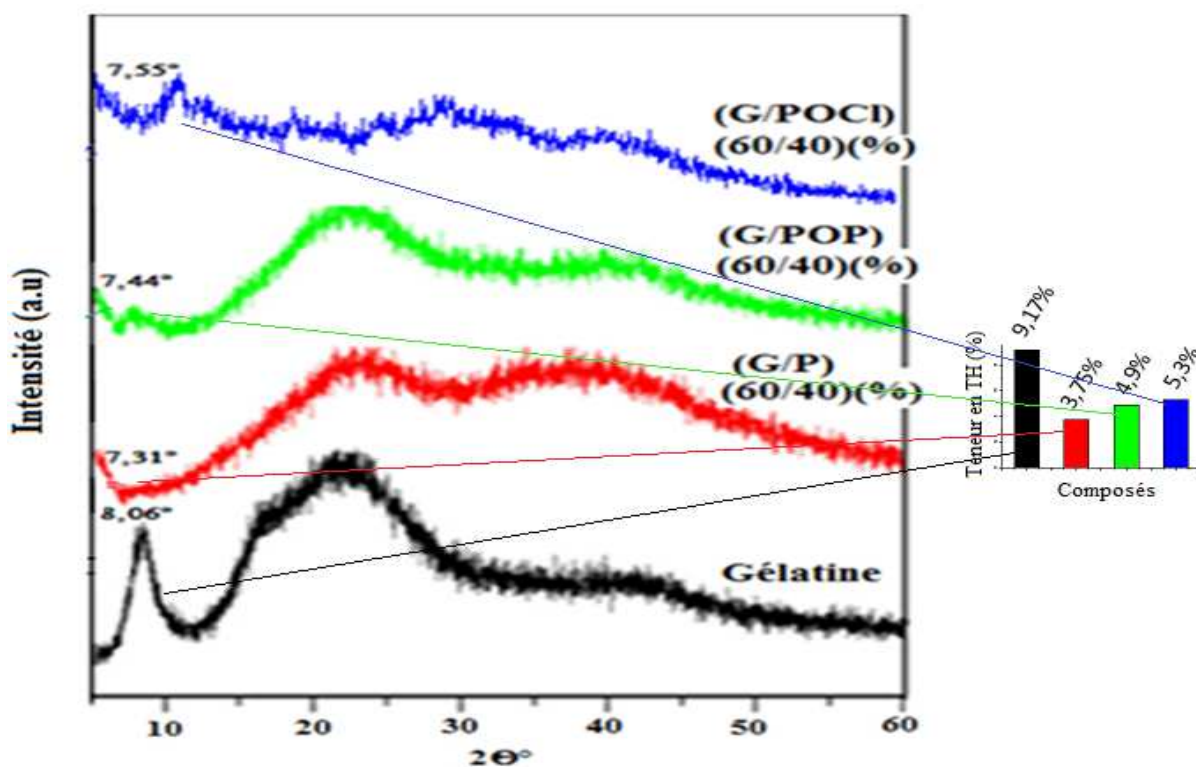


Figure III.2.8. Diffractogrammes de la gélatine, (G/P) (60/40) (%), (G/POCl) (60/40) (%) et (G/POP) (60/40) (%).

Tableau III.2.1 Diamètre inter-réticulaire et teneur en triple hélice de la gélatine, (G/P) (60/40) (%), (G/POCl) (60/40) (%) et (G/POP) (60/40) (%).

Composition	2θ (°)	d (Å)	Teneur en triple hélice (%)
Gélatine	8,06	10,95	9,17
	22,12	4,01	-
	43,54	2,07	-
(G/P) (60/40)(%)	7,31	12,07	3,75
	22,99	3,86	-
	38,15	2,35	-
(G/POCl) (60/40)(%)	7,44	11,87	4,9
	12,33	7,17	-
	16,65	5,32	-
	30,78	2,90	-
	41,9	2,15	-
(G/POP) (60/40)(%)	7,50	11,77	5,3
	22,23	3,99	-
	40,86	2,21	-

III.2.3. Analyse thermogravimétrique

Les thermogrammes (TG) de la gélatine, (G/P) et (G/POP) sont présentés dans la **figure III.2.9** et les résultats sont résumés dans le **tableau III.2.2**. La perte de poids de départ (4,9 à 5.2%) à $T=140^{\circ}\text{C}$ correspond à la libération des composés volatiles (eau libre et eau liée). La gélatine présente une seule étape de décomposition ayant une vitesse de volatilisation maximale $V_{\text{max}} = 13,5\%/ \text{min}$. La température du début de décomposition de la gélatine est associée à la rupture de la chaîne de protéines (structure hélicoïdale) et des liaisons peptidiques (**Peña et al., 2010**). Cependant, pour les deux films (G/P) et (G/POP), deux étapes de décomposition se produisent au cours de la dégradation thermique. Les vitesses de la perte de poids de G/P et G/POP sont inférieures à celles de la gélatine (**figure III.2.9**) et de la pectine (**figure III.1.14**). On peut constater que la stabilité thermique du film G/POP est due à la condensation entre le groupement $-\text{CHO}$ de la pectine oxydée et le groupement NH_2 de la gélatine pour former un nouveau groupement fonctionnel (imine). La matière non volatile qui reste sous forme de résidu à 500°C s'est avérée 32% du poids initial du film.

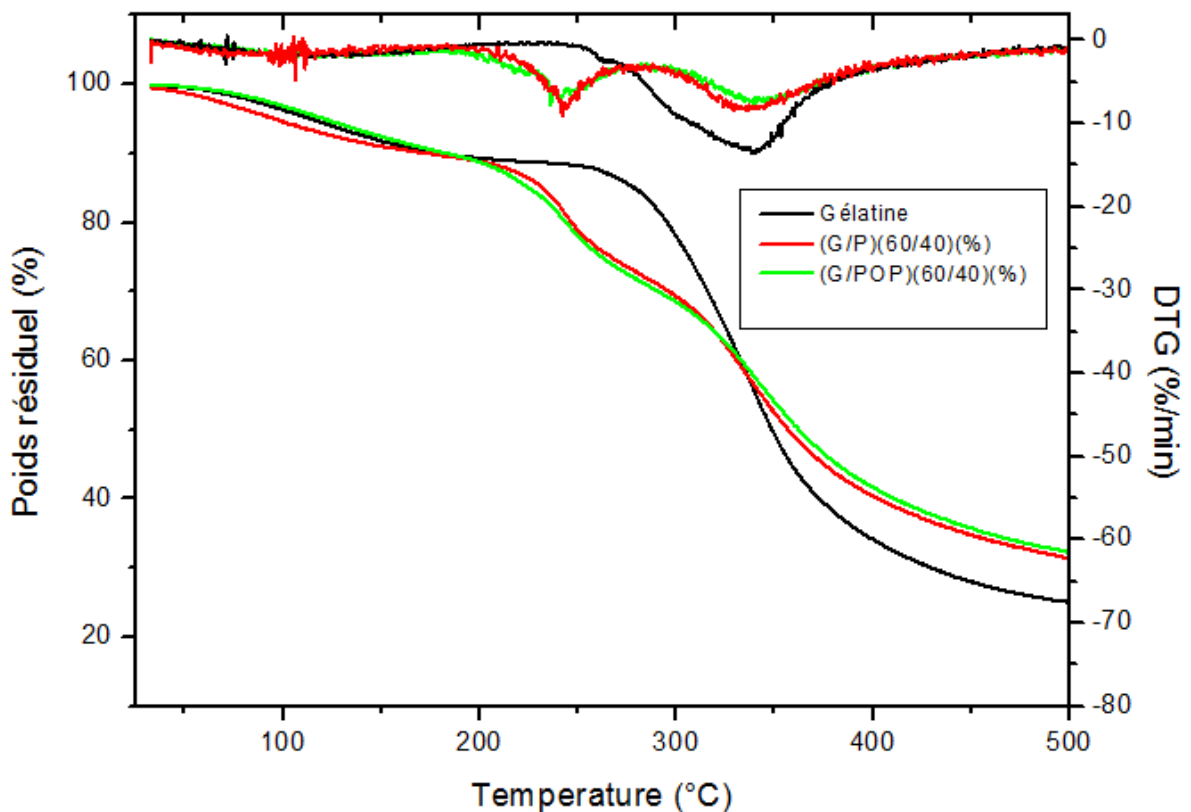


Figure III.2.9. Thermogrammes TG et DTG de la gélatine, (G/P) (60/40)(%) et (G/POP) (60/40) (%).

Tableau III.2.2. TG et DTG de la gélatine, pectine, POP, G/P et G/POP

	Gélatine	pectine	Pectine oxydée	G/P	G/ POP
Poids résiduel (%) 35-140°C	5,2	3,8	3,8	5,2	4,9
Tmax ₁ (°C)	341	245	241,5	245	237
Tmax ₂ (°C)	-	-	341	337	341
Vitesse ₁ (%/min)	13,5	24,4	28	9	7,3
Vitesse ₂ (%/min)	-	-	4,4	8,3	8,4
Fraction résiduelle (wt %) à t=500°C	24,9	30,5	31,7	32,3	31,4

III.2.4. Test de gonflement :

Le gonflement est mesuré selon différents paramètres à savoir la teneur en gélatine par rapport à la pectine et/ou à la pectine oxydée dans différents milieux.

Il a également été évalué après réticulation de la gélatine par le glutaraldehyde. Cette réticulation nous permettra d'étayer l'hypothèse des réseaux chimiques formés entre la gélatine et les pectines oxydées.

Les résultats obtenus nous montrent que :

-1- Le milieu 3 est le milieu qui permet d'obtenir un gonflement supérieur par rapport à celui du milieu 1 et 2 ;

$$G_{\max \text{ milieu } 03} > G_{\max \text{ milieu } 02} > G_{\max \text{ milieu } 01}$$

-2- La gélatine possède un G_{\max} le plus élevé par rapport aux autres formulations ;

-3- La formulation G/POCl à (95/05)(%) présente le G_{\max} le plus bas par rapport à G/P (95/05)(%) et G/POP (95/05)(%).

-4- L'ajout des pectines oxydées par le periodate à la gélatine fait diminuer le G_{\max} par rapport à celui de G/P et cela selon les formulations et les milieux respectifs ;

-5- Le taux de réticulation de la gélatine en présence de POP est plus considérable par rapport à POCl à l'exception du mélange (G/POP) (95/05) qui manifeste des G_{\max} supérieur à ceux du mélange (G/POCl)(95/05)(%).

Nous devons signaler que l'étude de gonflement est menée à T_{ambiante} mais à $T=37^{\circ}\text{C}$, le test s'est avéré impossible à cause de l'hydrosolubilité des matériaux.

Les courbes des tests de gonflement sont données dans les **Figures A.1-6 (annexe)**.

Tableau III.2.3. Valeurs des G_{max} des différentes compositions des films de gélatine, (gélatine /pectine) et (gélatine /pectines oxydées) à t=4h.

Milieux Composition	Taux de gonflement (%)		
	Milieu 01 Eau distillée	Milieu 02 pH = 7,4	Milieu 03 pH = 8,2
(G/P)(100/0)(%)	1796,25	2202,50	2655,62
(G/P)(95/05)(%)	1522,87	1966,25	2524,25
(G/P)(60/40)(%)	985,62	1715,00	2315,12
(G/P)(40/60)(%)	1078,87	1603,75	2500,62
(G/POCl)(95/05)(%)	634,25	1157,75	1654,50
(G/POCl)(60/40)(%)	1020,50	1840,62	2405,37
(G/POCl)(40/60)(%)	907,25	1603,37	1935,87
(G/POP)(95/05)(%)	938,50	1432,62	2149,75
(G/POP)(60/40)(%)	400,00	1215,37	1647,62
(G/POP)(40/60)(%)	635,12	1187,62	1807,87
(G/GTA)(100/02)(%)	824,34	943,00	1100,00

III.2.5. Essais mécaniques de traction :

Les échantillons soumis à cet essai montrent que les films manifestent de faible allongement sont rigides et fragiles (**Tableau III.2.4**).

La figure suivante illustre les résultats obtenus.

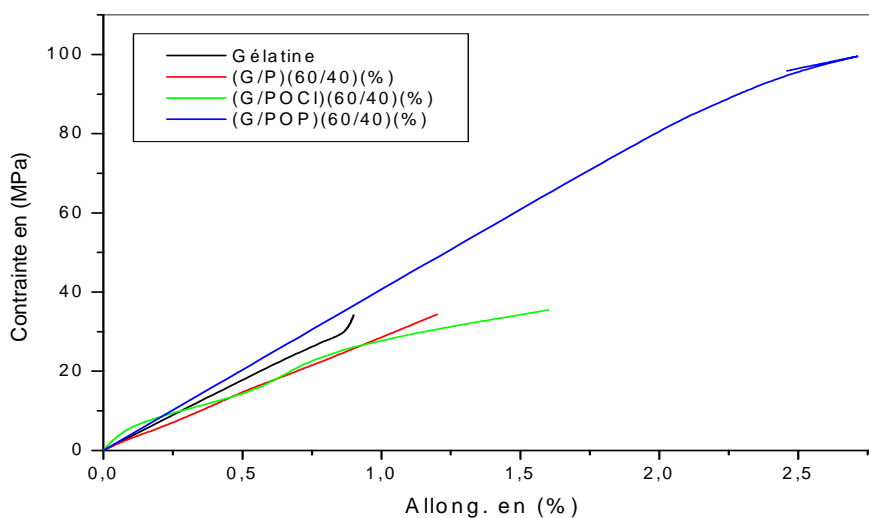


Figure III.2.10. Contrainte à la rupture en fonction de l'allongement des films.

Tableau III.2.4. Variations des caractéristiques mécaniques (σ , ε , E) des films (G/P) (100/00)(%), (G/P) (60/40) (%) et (G/PO) (60/40)(%).

Fraction	G	(G/P) (60/40)(%)	(G/POCl) (60/40)(%)	(G/POP) (60/40)(%)
σ (MPa)	34,21	34,33	35,5	103,20
ε (%)	0,9	1,2	1,6	3,03
E (MPa)	2103	2100,2	3401,6	3703,7

III.2.6. Libération de principes actifs :

III.2.6.1. Libération de la caféine :

La **figure III.2.11** traduit la variation de la libération de la caféine en fonction du temps.

A partir des différentes courbes (**figure III.2.11**), nous avons déduit que la quantité de la caféine libérée augmente avec le temps jusqu'à elle devienne constante

Les courbes sont caractérisées par deux étapes :

- Au cours de la première étape, le pourcentage du principe actif évolue avec le temps. Cette étape est très rapide surtout dans le cas de la gélatine seule.
- Par contre, durant la deuxième étape, la masse libérée par les films devient stable. Par exemple, les libérations de la caféine au bout de $t=4$ heures, temps de l'arrêt de la mesure, sont de 81,5%; 58,79%, 48,58% et 46,44% pour la gélatine, (G/P), (G/POCl) et (G/POP), respectivement.

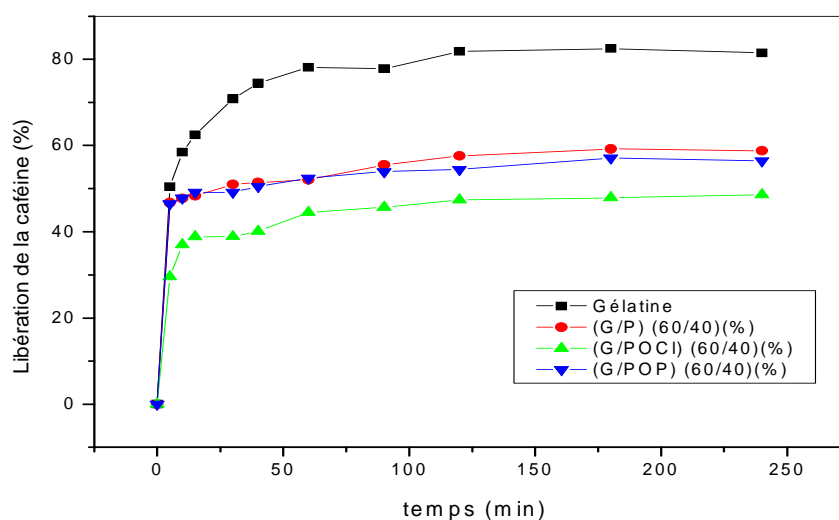


Figure III.2.11. Libération de la caféine à partir des différents films à $\lambda_{\max} = 272\text{nm}$.

III.2.6.2. Modélisation mathématique des profils de libération

Le **tableau III.2.5** représente les résultats de la modélisation cinétique concernant la libération de la caféine à partir des différentes formulations.

Les points expérimentaux vérifient la linéarité en utilisant les modèles choisis (**figures A7-8 en annexe**) :

- Le modèle de Korsmeyer pour la gélatine où le coefficient de corrélation R^2 est égal à 0,92.
- Les modèles d'Higuchi et Korsmeyer pour le mélange (G/P) (60/40) (%) où les coefficients de corrélation sont de $R^2= 0,95$.
- Le modèle de Korsmeyer pour le mélange (G/POCl) (60/40) (%) où le coefficient de corrélation $R^2= 0,91$.
- Le modèle de Korsmeyer pour le mélange (G/POP) (60/40) (%) où le coefficient de corrélation $R^2= 0,96$.

Tableau III.2.5. Modélisation de la cinétique de la libération de la caféine à partir des différentes formulations.

Formulations	Modèle cinétique	Equation de régression	R^2
Gélatine	Premier ordre	$\text{Log } C = 0,275 + 6,73 t$	0,54
	Equation d'Higuchi	$C = 1,640 + 0,065 t^{1/2}$	0,77
	l'équation de Korsmeyer	$\text{Ln } Mt/M_{\infty} = -1,338 + 0,125 \text{Ln } t$	<u>0,92</u>
(G/P) (60/40)(%)	Premier ordre	$\text{Log } C = -0,348 + 4,424 t$	0,84
	Equation d'Higuchi	$C = 0,413 + 0,00941 t^{1/2}$	<u>0,95</u>
	l'équation de Korsmeyer	$\text{Ln } Mt/M_{\infty} = -1,338 + 0,125 \text{Ln } t$	<u>0,95</u>
(G/POCl) (60/40) (%)	Premier ordre	$\text{Log } C = -0,281 + 6,666 t$	0,62
	Equation d'Higuchi	$C = 0,458 + 0,017 t^{1/2}$	0,83
	l'équation de Korsmeyer	$\text{Ln } Mt/M_{\infty} = -1,79 + 0,115 \text{Ln } t$	<u>0,91</u>
(G/POP)(60/40)(%)	Premier ordre	$\text{Log } C = 0,16128 + 3,556 t$	0,84
	Equation d'Higuchi	$C = 0,64811 + 0,01144 t^{1/2}$	0,95
	l'équation de Korsmeyer	$\text{Ln } Mt/M_{\infty} = -1,08697 + 0,05414 \text{Ln } t$	<u>0,96</u>

III.2.6.3. Libération du paracétamol :

Les résultats sont exprimés dans la **figure III.2.12**. Le suivi de la libération est fait pendant 4 heures où les pourcentages du paracétamol libérés sont de 84,34%, 72,27% et 63,96% pour la gélatine (100%), (G/P) (60/40)(%) et (G/POCl)(60/40)(%) respectivement.

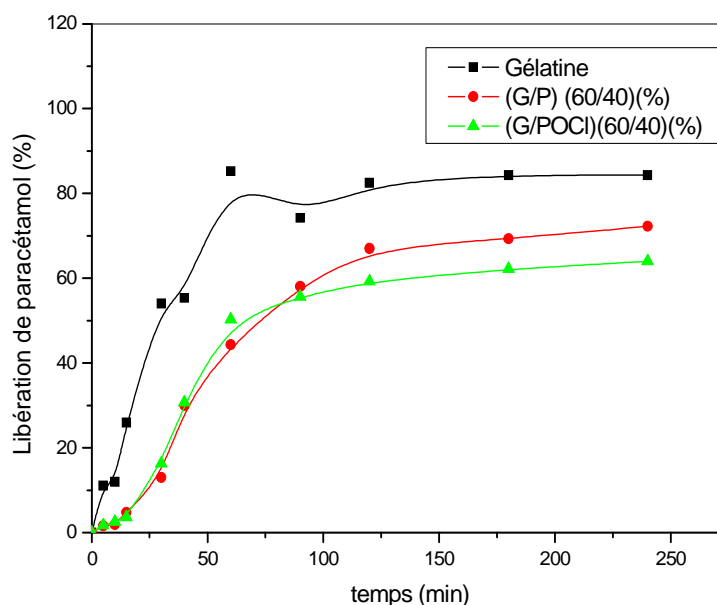


Figure III.2.12. Libération du paracétamol à 244nm des différents films.

III.2.6.4. Modélisation mathématique des profils de libération :

Le **tableau III.2.6** représente les résultats de la modélisation cinétique concernant la libération du paracétamol à partir des différentes formulations.

Les points expérimentaux vérifient la linéarité en utilisant les modèles choisis (**Voir Annexes, figure A9**). Cette linéarité est observée dans les cas suivants:

- Le modèle d'Higuchi pour la gélatine où le coefficient de corrélation R^2 est égal à 0,90. Cela atteste que le film conserve ses dimensions tout au long de l'expérience de libération (la matrice polymérique ne se dégrade pas au moins pendant la période de l'étude).
- Le modèle de Korsmeyer pour le mélange (G/P) (60/40) (%) où le coefficient de corrélation $R^2=0,93$.
- Le modèle de Korsmeyer pour le mélange (G/POCl) (60/40) (%) où le coefficient de corrélation $R^2=0,90$.

Tableau III.2.6. Différentes formulations de la modélisation de la cinétique de la libération du paracétamol.

Formulations	Modèle cinétique	Equation de régression	R ²
Gélatine	Premier ordre	$\text{Log } C = -0,266 + 0,003 t$	0,47
	Equation d'Higuchi	$C = 0,212 + 0,123 t^{1/2}$	<u>0,90</u>
	l'équation de Korsmeyer	$\text{Ln } Mt/M_{\infty} = -5,403 + 0,586 \text{Ln } t$	0,86
(G/P) (60/40)(%)	Premier ordre	$\text{Log } C = -0,266 + 0,003 t$	0,68
	Equation d'Higuchi	$C = -0,213 + 0,101 t^{1/2}$	0,92
	l'équation de Korsmeyer	$\text{Ln } Mt/M_{\infty} = -10,67 + 1,142 \text{Ln } t$	<u>0,93</u>
(G/POCl) (60/40) (%)	Premier ordre	$\text{Log } C = -1,029 + 0,006 t$	0,76
	Equation d'Higuchi	$C = -0,093 + 0,058 t^{1/2}$	0,87
	l'équation de Korsmeyer	$\text{Ln } Mt/M_{\infty} = -10,19 + 1,081 \text{Ln } t$	<u>0,90</u>

III.2.7. Evaluation de la compatibilité avec le sang :

Le test d'hémolyse a révélé que les hydrogels sont non hémolytiques dans la nature. Le potentiel hémolytique du matériau est défini par la mesure du degré d'hémolyse qui peut être causé par la matière quand il entre en contact avec le sang. Le **tableau III.2.7** montre le pourcentage d'hémolyse du sang en contact avec différents échantillons à 37 °C pendant 60 min. Tous les échantillons sont jugés non-hémolytiques. Ils ont un niveau inférieur d'hémolyse à 5% (**Brahatheeswaran et al., 2012; Muthumanickkam et al., 2013**).

Tableau III.2.7. Potentiel hémolytique des hydrogels.

Echantillon	Gélatine	(G/P)(60/40)(%)	(G/POCl)(60/40)(%)	(G/POP)(60/40)(%)
Hémolyse (%)	1,20	1,23	1,60	1,73

III.2.8. Activité antibactérienne

Il est déjà connu que la gélatine est un nutriment dépourvu d'activité antibactérienne. Les diamètres d'inhibition de la croissance bactérienne en présence de la gélatine sont nuls (**Bindu et al., 2010**).

L'ajout de la pectine oxydée à la gélatine montre que le film inhibe les bactéries à gram positifs (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*). Les diamètres d'inhibition sont de 23 et 30 mm respectivement (**figure III.2.13**).

Une amélioration de l'inhibition du film gélatine/pectine oxydée par le chlore (60/40)(%) contenant l'antibiotique a été observée. Les diamètres respectifs deviennent alors 33 et 46mm (**Tableau III.2.8**).

L'Amoxicilline inhibe les bactéries à Gram positif *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*, avec des diamètres d'inhibition de 27 et 40 mm respectivement (**figure III.2.14**).

On peut conclure que les produits testés sont inactifs *vis-à-vis* des bactéries à gram négatifs. Aucune inhibition n'est observée. Par contre, les bacteries à Gram positif sont plus sensibles à nos produits.

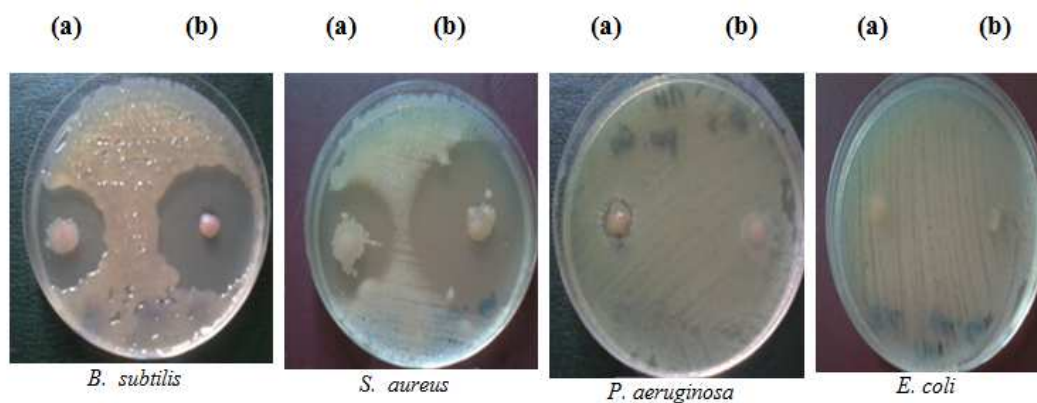


Figure III.2.13. Activités antibactériennes des films de (G/POCl) (60/40)(%) après 24 h (a) en absence d'amoxicilline (b) en présence d'amoxicilline.

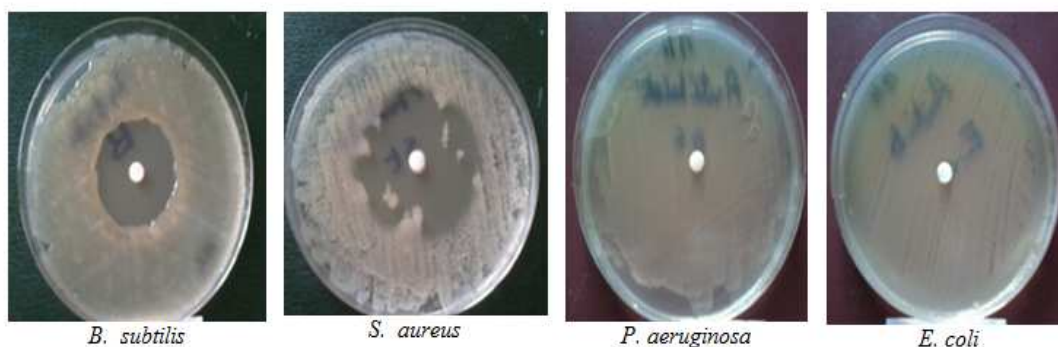


Figure III.2.14. Activité antibactérienne de l'amoxicilline après 24 h.

Tableau III.2.8. Diamètres d'inhibition de la croissance bactérienne (mm).

Microorganisme	Diamètre d'inhibition en présence de (G/POCl) (60/40)(%) (mm).		Diamètre d'inhibition en présence de l'amoxicilline (mm).
	Sans antibiotique	Avec antibiotique	
<i>Bacillus subtilis</i>	23	33	27
<i>Staphylococcus aureus</i>	30	46	40
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	02	02	00
<i>Escherichia coli</i>	00	00	00

III.3. Etude de l'interaction physicochimique entre le chitosane et la pectine avant et/ou après son oxydation par le périodate.

III.3.1. Spectroscopie infrarouge IR-TF :

III.3.1.1. Chitosane :

Le spectre infrarouge du chitosane solubilisé dans l'acide chlorhydrique est représenté dans la **figure III.3.1**. La bande d'absorption à 3427 cm^{-1} est attribuée aux vibrations d'élongation des $-\text{NH}_2$ et $-\text{OH}$.

Les pics à 2923 cm^{-1} , 2854 cm^{-1} et 1376 cm^{-1} sont dus aux vibrations d'élongation et de déformation de la liaison C-H aliphatique (**Al-Sagheer et al., 2014 ; Prabhu et al., 2014**). Il apparaît également sur le spectre deux pics d'absorption d'intensité moyenne à 1650 cm^{-1} et 1564 cm^{-1} qui correspondent à l'élongation de la double liaison C=O des amides et à la déformation angulaire (cisaillement) de la liaison N-H des amines, respectivement (**Belalia, 2006**). Selon **Serrero et al., (2010)**, ces pics à 1650 et 1564 cm^{-1} sont les plus caractéristiques du chitosane. Ils sont aussi attribués aux vibrations de déformation NH_3^+ .

Les deux absorptions autour 1152 cm^{-1} et 1027 cm^{-1} correspondent à la vibration d'élongation des groupements latéraux et à la bande glucosidique C-O-C du chitosane (**Liu et al., 2010**). La bande de vibration de déformation angulaire du lien N-H apparaît à 897 cm^{-1} (**Silverstein et al., 1998**).

A titre indicatif pour l'étude antibactérienne que nous avons faite, le degré de désacétylation (DDA) a été calculé en utilisant l'équation de la ligne de base à 1650 et 3427 cm^{-1} (**Abdulwadud et al., 2013**).

$$\text{DDA}\% = (100 - A_{1650}/A_{3450}) \times 115 = 60, 66\%.$$

Avec: 115 est le coefficient de correction de la ligne de base et A est l'absorbance.

III.3.1.2. (Chitosane/Pectine) (60/40) (%):

L'ajout du chitosane à la pectine a visiblement atteint la structure du polysaccharide et vice versa (**figure III.3.1**). Nous avons des déplacements des pics à 1742 et 1613 cm^{-1} vers 1745 et 1626 cm^{-1} qui correspondent respectivement aux carboxyles estérifiés et libres de la pectine.

On observe l'apparition de nouveaux pics à 1520 cm^{-1} et 828 cm^{-1} qui correspondent à $\gamma_{\text{C-N}}$, $\delta_{\text{N-H}}$, et à la structure saccharidique du chitosane, respectivement.

Des interactions ioniques entre les charges positives du chitosane (Chi-NH_3^+) et les charges négatives de la pectine (pect-COO^-) sont produites.

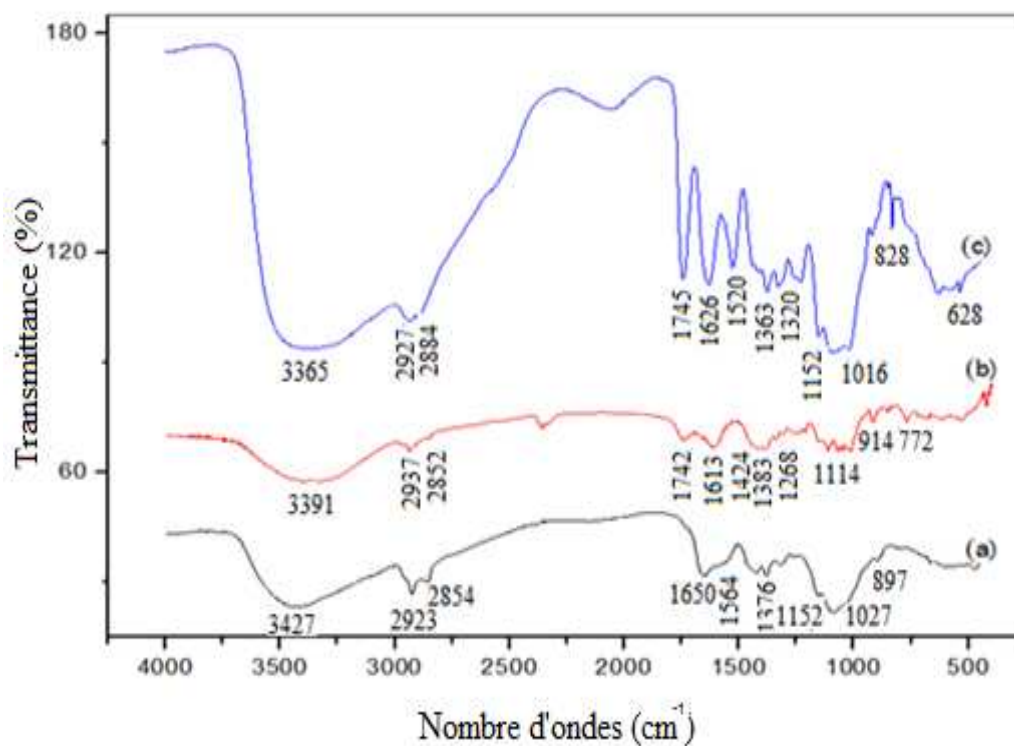


Figure III.3.1. Spectres infrarouge du chitosane (a), de la pectine (b) et du (CH/P) (60/40) (%) (c) (voir suite dans la page suivante).

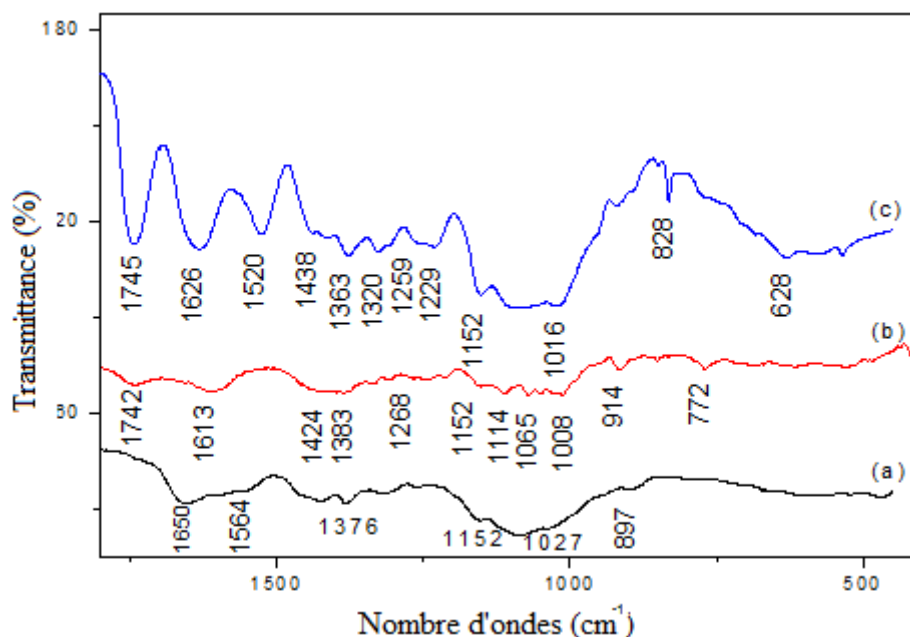


Figure III.3.1. Spectres infrarouge du chitosane (a), de la pectine (b) et du (CH/P) (60/40) (%) (c).

III.3.1.3. (Chitosane/ Pectine oxydée par le periodate) (60/40) (%):

D'après la **figure III.3.2.c**, nous avons une diminution remarquable du pic à 1385 cm^{-1} appartenant à la pectine oxydée (**Figure III.3.2.b**). Aussi un nouveau pic à 1525 cm^{-1} est observé, il correspond à l'élongation du lien C=N (**Silverstein et al., 1998**).

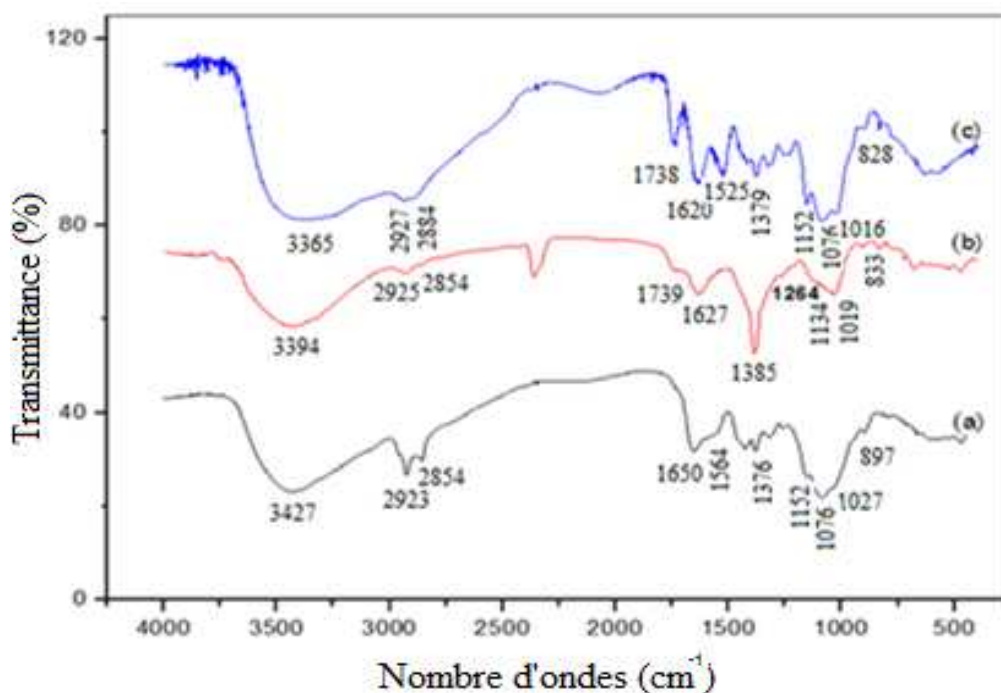


Figure III.3.2. Spectres infrarouge du chitosane (a), de la pectine oxydée par le periodate (b) et de (CH/POP) (60/40) (%) (c) (voir suite dans la page suivante).

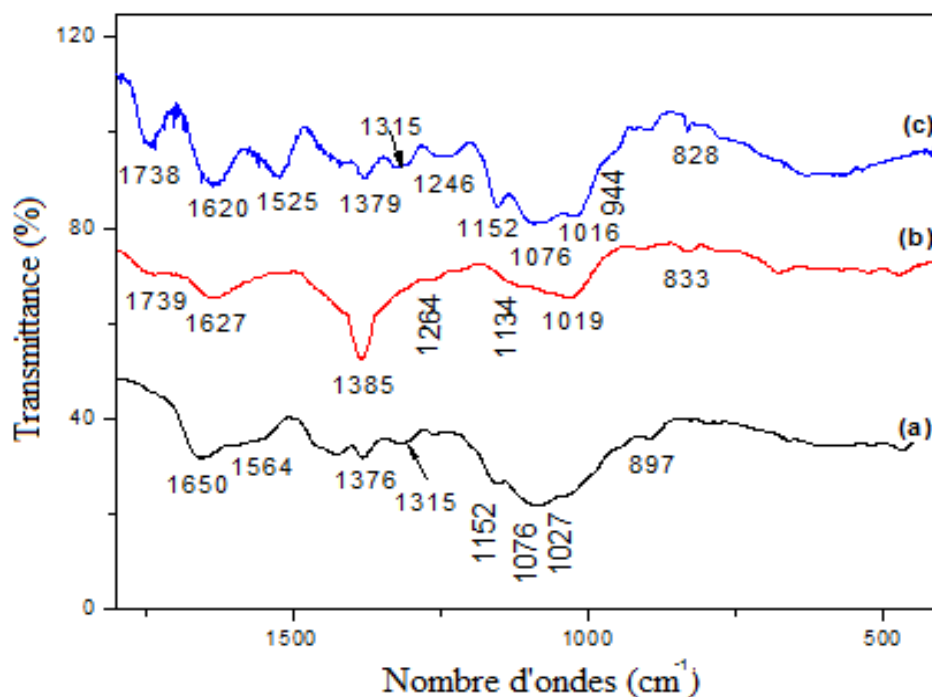


Figure III.3.2. Spectres infrarouge du chitosane (a), de la pectine oxydée par le periodate (b) et de (CH/POP) (60/40) (%) (c).

III.3.1.4. (Chitosane/ Glutaraldehyde) (100/02) (%):

Nous remarquons d'après la **figure III.3.3**, l'apparition d'un nouveau pic à 1736 cm^{-1} de faible intensité et la disparition du pic à 1564 cm^{-1} dans le spectre (CH/GTA) en raison de la perte des amines libres, ce qui indique la formation de la base de schiff après réticulation du chitosane par le glutaraldehyde. Ces résultats sont en accords avec les travaux menés par **Raghunadh et al., (2013)**.

La réaction proposée par **Aggarwal et al., (2013)** démontre la réticulation du chitosane par le glutaraldehyde (**Figure III.3.4**).

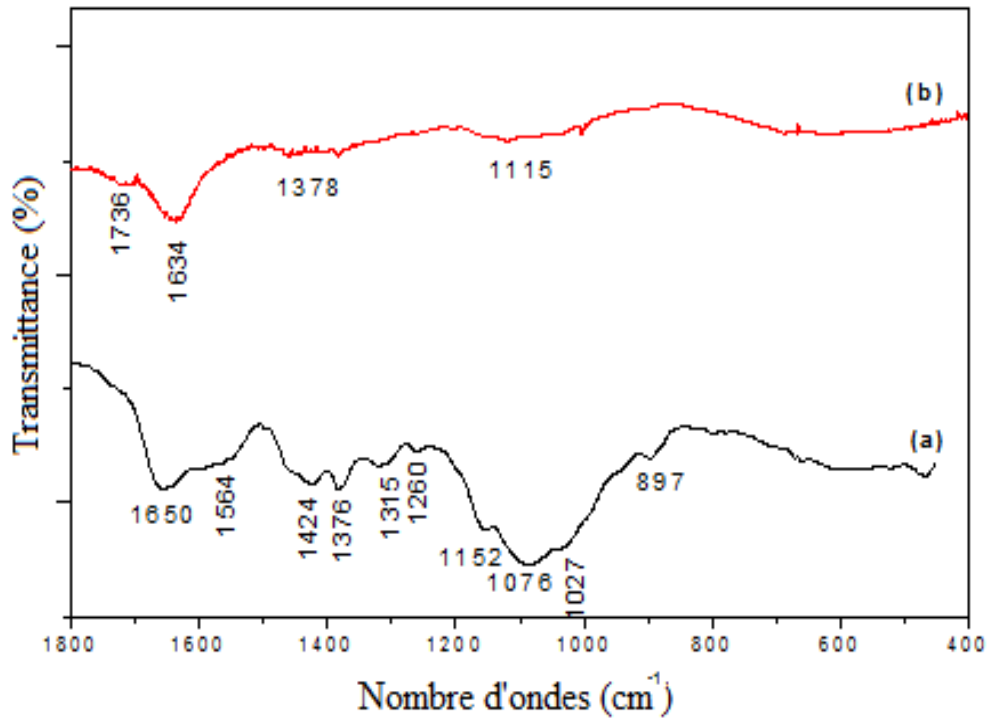
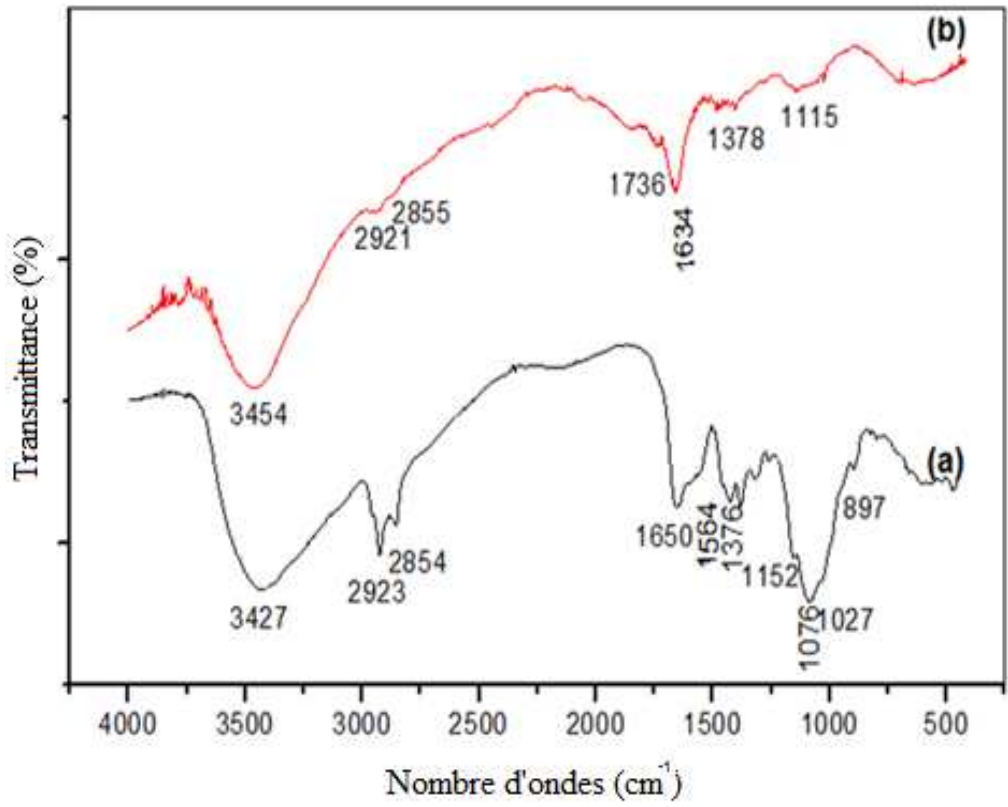


Figure III.3.3. Spectres infrarouge du chitosane (a), de (CH/GTA) (100/02) (%) (b).

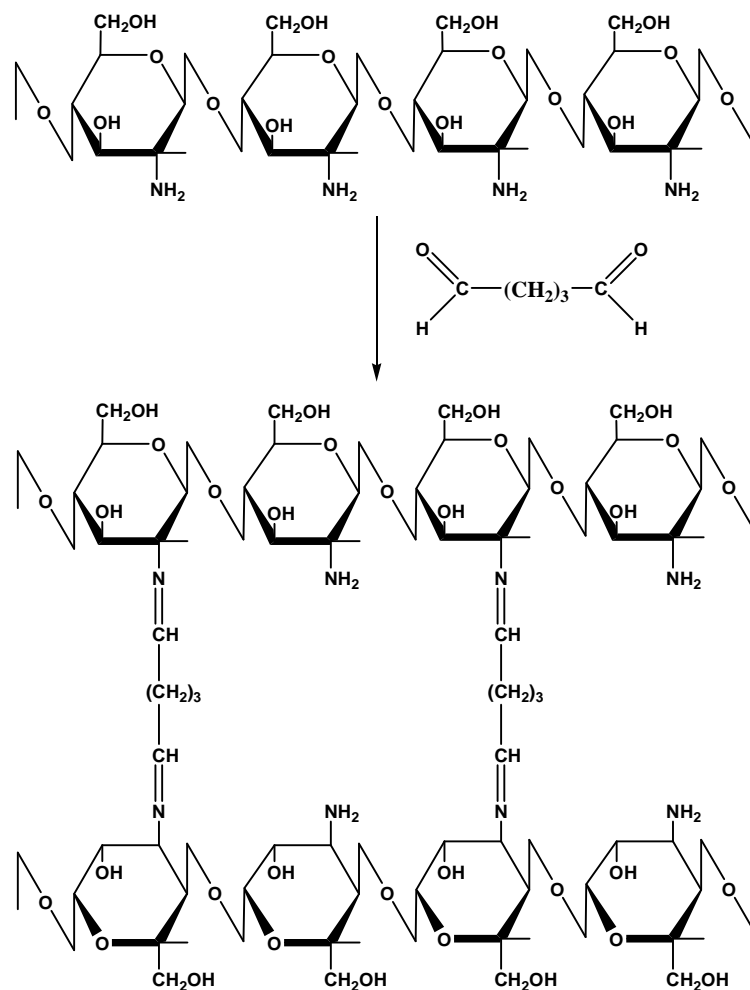


Figure III.3.4. Réticulation du chitosane par le glutaraldehyde (Aggarwal *et al.*, 2013)

III.3.2. Diffraction des rayons X :

III.3.2.1. Chitosane

Comme il a été décrit par Modrzejewska *et al.*, (2006), le chitosane présente dans notre cas deux pics caractéristiques à 9,9-10,7° et 19,8-20,7° (**figure III.3.5**).

III.3.2.2. Chitosane/Pectine (%):

L'addition de la pectine au chitosane induit la disparition du premier angle de diffraction à 9,83° et l'apparition dans le cas de (CH/P) (95/05) (%) d'un nouveau pic à 13,15° qui se déplace vers 14,38° dans le cas du (CH/P) (60/40) (%) et dans celui du (CH/P) (40/60) (%) (**figure III.1.13**), d'une part.

D'autre part, la cristallinité relative du chitosane est calculée selon l'intensité du pic à 19°. Nous avons trouvé qu'il diminue au fur et à mesure que la quantité de la pectine augmente (**Figure III.3.5**, **Tableau III.3.1**). Cette diminution de la cristallinité est attribuée probablement à l'interaction physicochimique entre les deux biopolymères.

Le Cr_{100} représente le taux de cristallinité présent dans la macromolécule (**Tableau III.3.1**). Il est calculé selon l'équation suivante (**Nurhidayatullaili et al. 2010 ; Buschle-Diller et al., 1992**):

$$Cr_{100} = [(I_{110} - I_{am}) / I_{110}] \times 100.$$

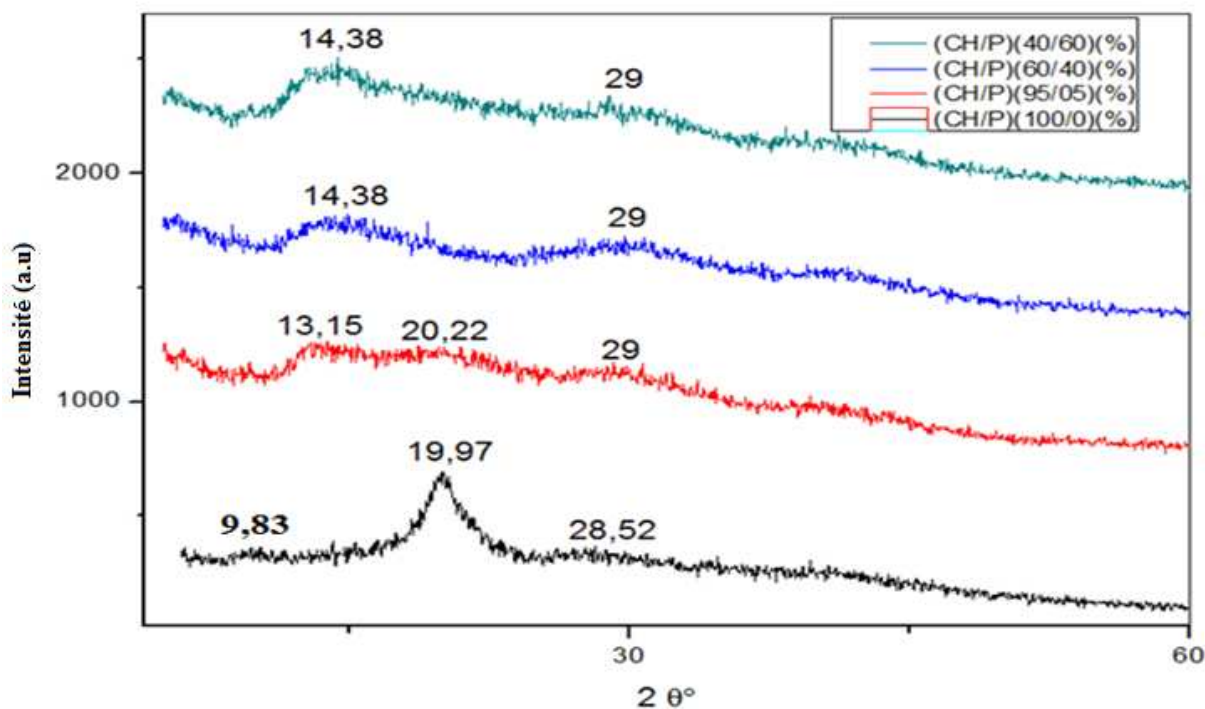


Figure III.3.5. Diffractogrammes des rayons X du chitosane, (CH/P) (95/05) (%), (CH/P) (60/40) (%) et (CH/P) (40/60) (%).

Tableau III.3.1. Cristallinité relative du chitosane, (CH/P) (95/05), (60/40) et (40/60)(%)

Composition	I_{am}		I_{110}		Cr_{100}
	2θ (°)	Intensité	2θ (°)	intensité	
Chitosane	16	369,73	19,97	693,14	46,65%
(CH/P) (95/05)(%)	16	530,77	20	550,77	3,63%
(CH/P) (60/40)(%)	-	-	-	-	0%
(CH/P) (40/60)(%)	-	-	-	-	0%

III.3.2.3. Chitosane/Pectine oxydée par le periodate (%) :

L'ajout de la pectine oxydée au chitosane conduit à la disparition du pic à $9,83^\circ$ et à l'apparition de nouveaux pics à 13° , $13,08^\circ$ et $14,28^\circ$ dans les cas de (CH/POP) (95/05),

(60/40) et (40/60) (%) respectivement. Une diminution de la cristallinité relative du chitosane est aussi observée (**Figure III.3.6, Tableau III.3.2**).

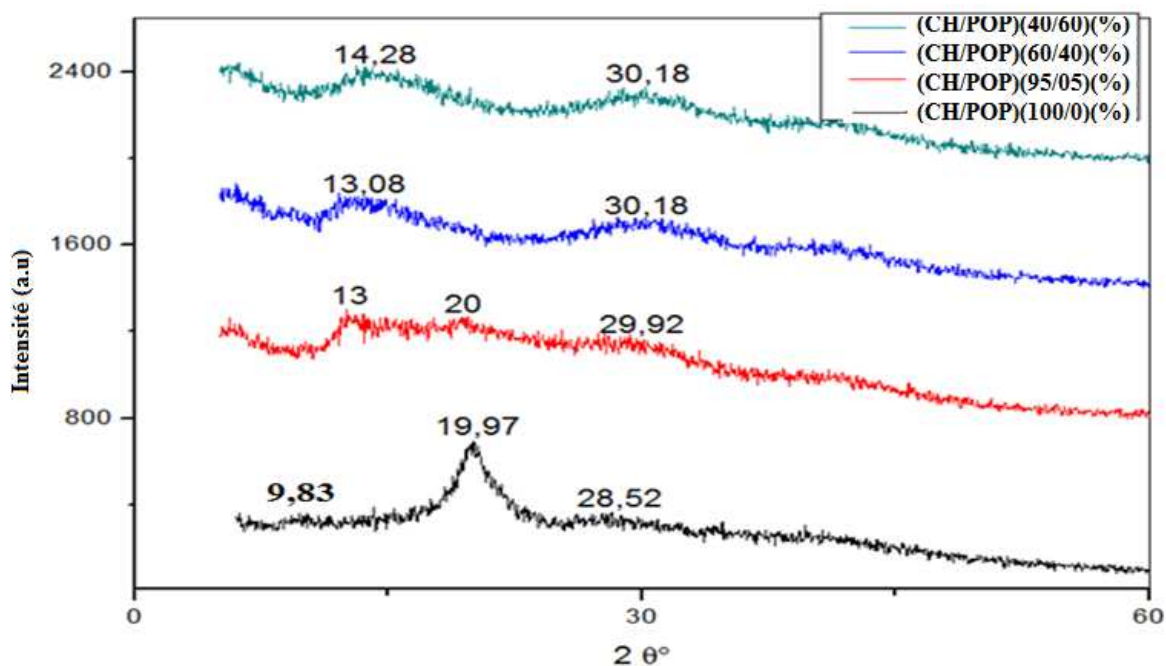


Figure III.3.6. Diffractogramme des rayons X du chitosane, (CH/POP) (95/05) (%), (CH/POP) (60/40) (%) et (CH/POP) (40/60) (%).

Tableau III.3.2 Cristallinité relative du chitosane, (CH/POP) (95/05), (60/40) et (40/60) (%).

Composition	I _{am}		I ₁₁₀		Crl ₁₀₀
	2θ (°)	Intensité	2θ (°)	Intensité	
Chitosane	16	369,73	19,97	693,14	46,65%
(CH/POP) (95/05)(%)	16	573,8	20	584,44	1,82%
(CH/POP) (60/40)(%)	-	-	-	-	0%
(CH/POP) (40/60)(%)	-	-	-	-	0%

III.3.2.4. Chitosane/Pectine/glycérol (%) et Chitosane/Pectine oxydée par le periodate/glycérol (%):

Bien que le glycérol entraîne la diminution jusqu'à la disparition totale du pic à 14,28° pour les mélanges chitosane/pectine et chitosane/pectine oxydée par le periodate, il provoque par ailleurs une apparition d'un nouveau pic à 21,51° et l'absence de celui à 29-30° (**Figure III.3.7-8**).

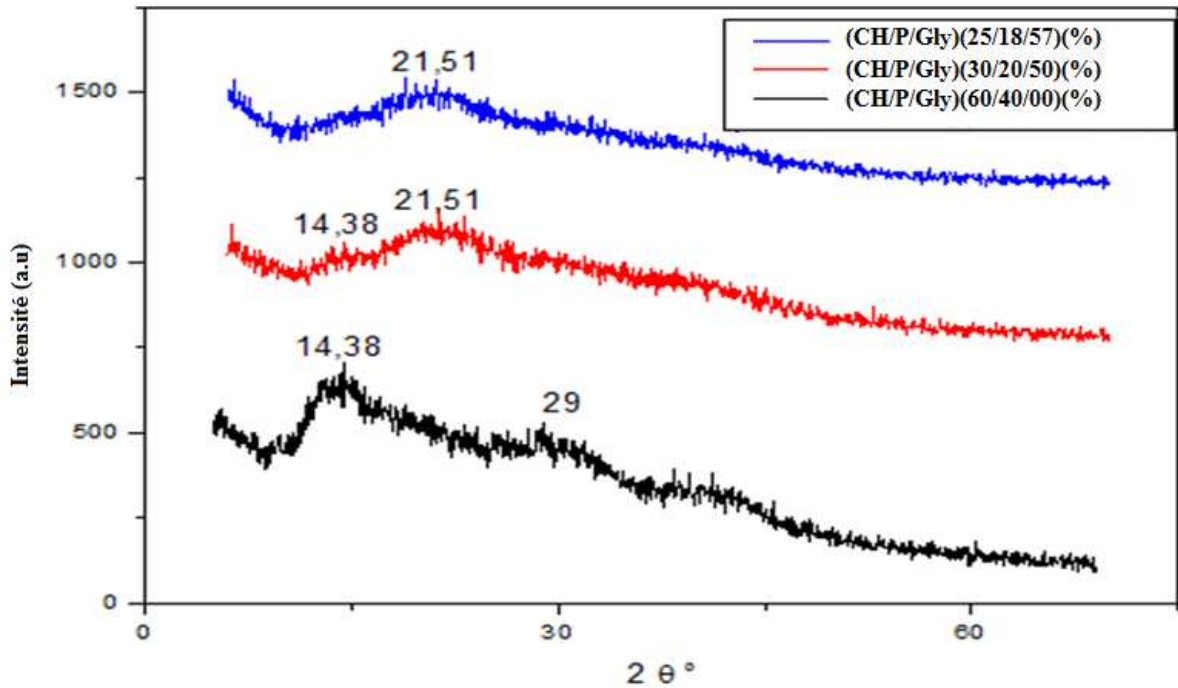


Figure III.3.7. Diffractogrammes des rayons X des films de chitosane/pectine/glycérol.

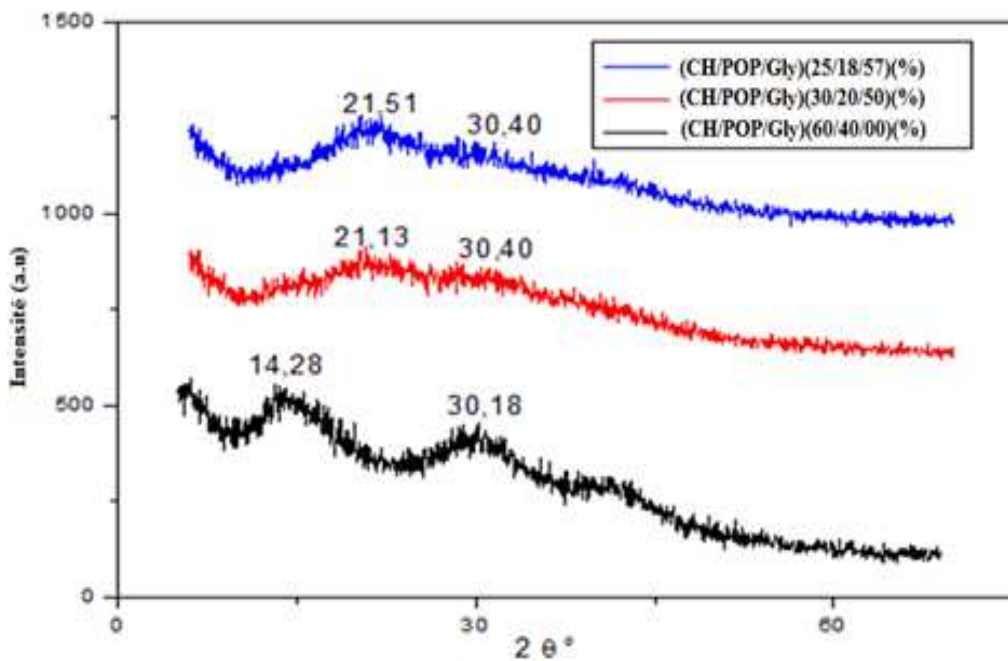


Figure III.3.8. Diffractogrammes des rayons X des films de chitosane/pectine oxydée/glycérol.

III.3.3. Gonflement :

La mesure du gonflement a été faite selon différents paramètres tels que la variation du ratio du chitosane par rapport à la pectine, la pectine oxydée, en changeant les milieux et la concentration du glycérol.

Tableau III.3.3. Valeurs des G_{\max} des différentes compositions des films avec ou sans glycérol dans différents milieux à T_{amb} pendant $t=4\text{h}$.

composition	M1	M2	M3	composition	M1	M2	M3
(CH/P)(100/0)(%)	115	751	388	(CH/POP)(100/0)(%)	115	751	388
(CH/P)(95/05)(%)	3328	1447	860	(CH/POP)(95/05)(%)	832	838	840
(CH/P)(60/40)(%)	3328	1535	770	(CH/POP)(60/40)(%)	3680	811	3117
(CH/P)(40/60)(%)	5678	2346	1223	(CH/POP)(40/60)(%)	4123	1382	4255
(CH/P)(05/95)(%)	6506	2697	631	(CH/POP)(05/95)(%)	4420	2842	4463
(CH/P/Gly)(45/30/25)(%)	4886	540	356	(CH/POP/Gly)(45/30/25)(%)	3027	328	356
(CH/P/Gly)(36/24/40)(%)	4123	417	352	(CH/POP/Gly)(36/24/40)(%)	1942	313	705
(CH/P/Gly)(30/20/50)(%)	1967	196	176	(CH/POP/Gly)(30/20/50)(%)	1858	320	176
(CH/P/Gly)(25/18/57)(%)	1488	1967	163	(CH/POP/Gly)(25/18/57)(%)	1777	176	136

Il a été constaté :

- 1- qu'en absence du glycérol, le biomatériau est plus gonflant et atteint un G_{\max} égal à 6506% dans le milieu 01 pour les films (CH/P)(05/95)(%);
- 2- quand les fractions de la pectine native et/ou oxydée augmentent, les G_{\max} en général augmentent aussi ;
- 3- que le milieu le plus absorbant est celui de l'eau distillée (M1) à l'exception pour le chitosane à 100%.

Les allures des différentes courbes sont présentées dans les **figures A.10-13 (en annexe)**.

III.3.4. Essais mécaniques de traction

III.3.4.1. Films de chitosane/pectine et chitosane/pectine oxydée par le periodate sans glycérol

D'après le **tableau III.3.4**, on observe que lorsque la quantité de la pectine native et oxydée augmente, le module de Young augmente, à l'opposé de l'allongement à la rupture ϵ_{\max} et à la contrainte de déformation σ_{\max} qui diminuent simultanément (**Figure III.3.9**).

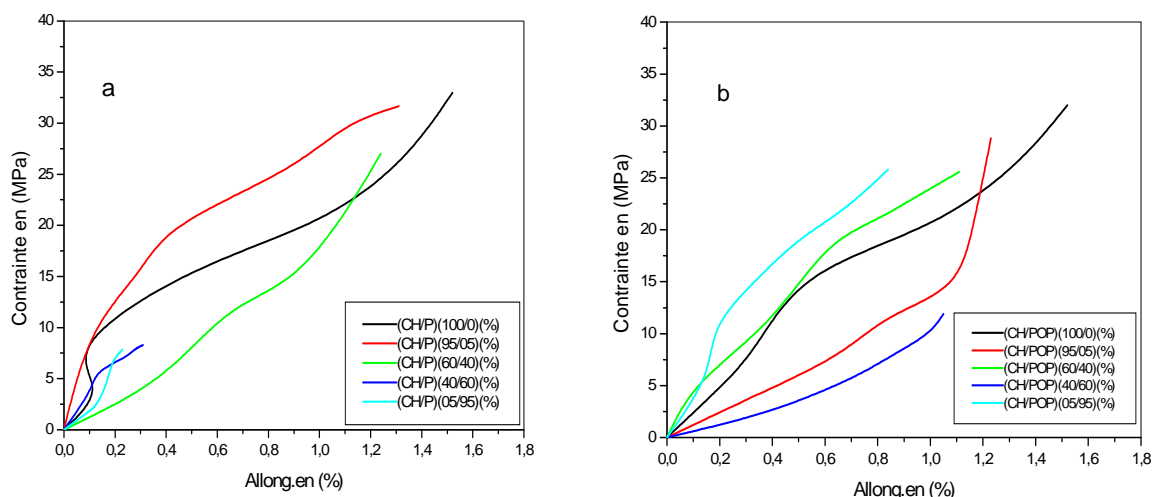


Figure III.3.9. Contraite en fonction de l'allongement des films (a) et (b).

Tableau III.3.4. Variation des caractéristiques mécaniques (σ , ε , E) des films.

Composés%	E (Mpa)	σ (Mpa)	ε %	Composés	E (Mpa)	σ (Mpa)	ε %
(CH/P)(100/0)(%)	2362,15	32,98	1,52	(CH/POP)(100/0)(%)	2362,15	32,98	1,52
(CH/P)(95/05)(%)	2440,02	31,65	1,31	(CH/POP)(95/05)(%)	2450,76	28,83	1,23
(CH/P)(60/40)(%)	2510,35	27,02	1,24	(CH/POP)(60/40)(%)	2467,69	25,58	1,11
(CH/P)(40/60)(%)	2630,67	8,29	0,31	(CH/POP)(40/60)(%)	2643,22	11,91	1,05
(CH/P)(05/95)(%)	4241,45	7,85	0,23	(CH/POP)(05/95)(%)	3083,2	27	0,84

III.3.4.2. Films de chitosane/pectine et chitosane/pectine oxydée par le periodate en présence du glycérol

Lorsqu'on ajoute le glycérol qui est avéré au cours de ce test un plastifiant des films aux mélange chitosane/pectine et chitosane/pectine oxydée par le periodate, les allongements à la rupture ε_{\max} augmentent contrairement aux modules de Young et aux contraintes à la rupture σ_{\max} qui diminuent (**Figure III.3.10 et le tableau III.3.5**).

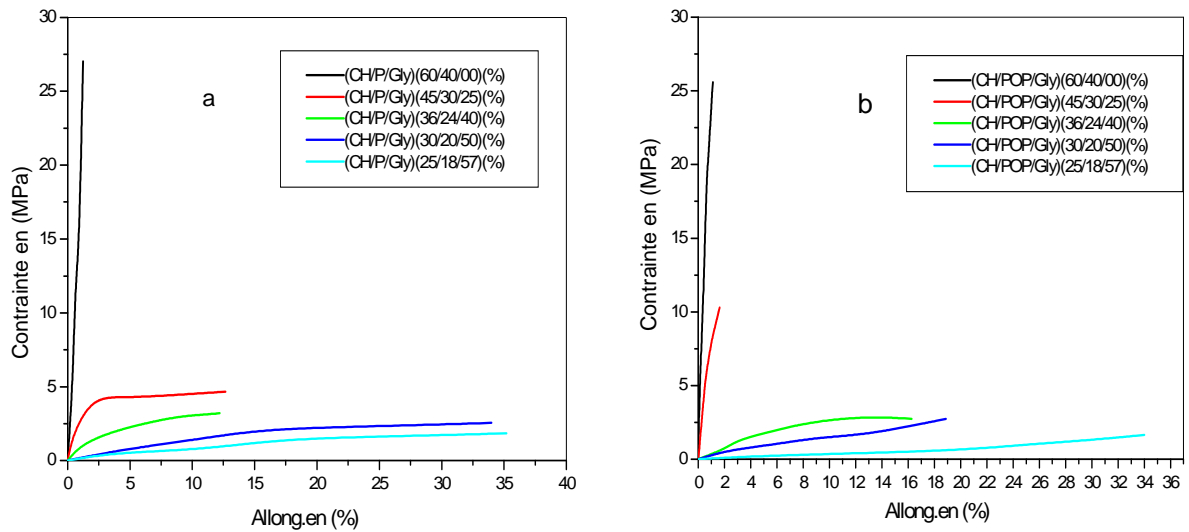


Figure III.3.10. Contraite en fonction de l'allongement des films (a) et (b).

Tableau III.3.5. Variation des caractéristiques mécaniques (σ , ε , E) des films.

Composés	E (Mpa)	σ (Mpa)	ε %	Composés	E (Mpa)	σ (Mpa)	ε %
(CH/P/Gly)(60/40/0)(%)	2510,35	27,02	1,24	(CH/POP/Gly)(60/40/0)(%)	2467,69	25,58	1,11
(CH/P/Gly)(45/30/25)(%)	1107,99	4,66	12,66	(CH/POP/Gly)(45/30/25)(%)	967,5	10,75	1,63
(CH/P/Gly)(36/24/40)(%)	91,55	3,2	13,2	(CH/POP/Gly)(36/24/40)(%)	161,63	2,75	16,26
(CH/P/Gly)(30/20/50)(%)	64,83	2,55	34,05	(CH/POP/Gly)(30/20/50)(%)	34,06	2,12	18,88
(CH/P/Gly)(25/18/57)(%)	38,36	1,85	35,19	(CH/POP/Gly)(25/18/57)(%)	27,36	1,64	36,23

III.3.5. Libération des principes actifs :

III.3.5.1. Libération de la caféine :

Nous avons tenté au départ d'inclure la caféine dans nos films de chitosane pour élucider la cinétique de la libération de cette molécule mais malheureusement, des cristaux hydrosolubles se sont formés. Ce qui a rendu le test impossible.

III.3.5.2. Libération de l'amoxicilline:

Les courbes obtenues expriment deux étapes de libération (**Figure III.3.11**):

Lors de la première étape, la libération de l'amoxicilline est très rapide dans le cas du mélange (CH/P)(60/40)(%) et (CH/POP)(60/40)(%) par contre avec le chitosane (100%), elle est lente. La deuxième est une étape de stabilisation de la masse libérée par les films.

Au temps $t=4h$, la libération de l'amoxicilline est de 55,34%; 85,42% et 88,31% pour le chitosane, (CH/P) (60/40)(%) et (CH/POP) (60/40)(%), respectivement.

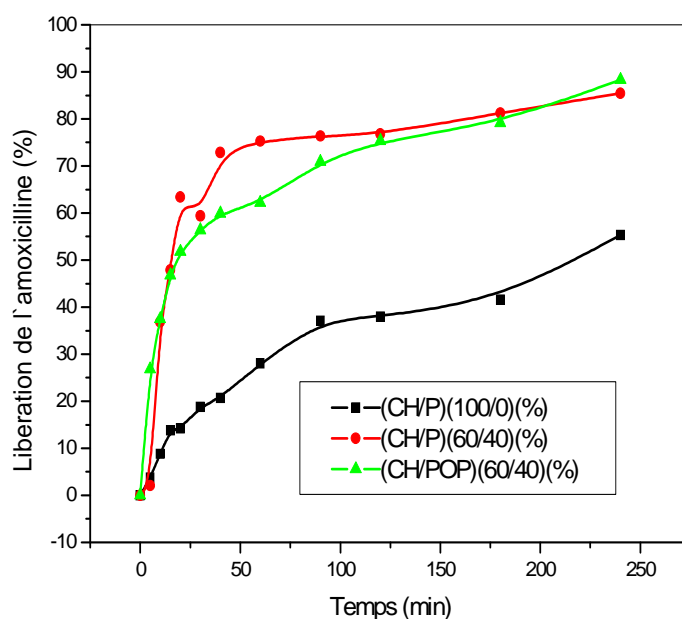


Figure III.3.11. Libération de l'amoxicilline à partir des différents films à $\lambda_{\max} = 272\text{nm}$.

III.3.5.3. Modélisation mathématique des profils de libération :

Nous avons représenté les résultats de la modélisation cinétique concernant la libération du principe actif à partir des différentes formulations (**tableau III.3.6, figure A.14 en annexe**).

Les points expérimentaux vérifient la linéarité en utilisant les modèles choisis.

- Le modèle d'Higuchi pour le chitosane (100%) où le coefficient de corrélation $R^2 = 0,97$.
- Le modèle Korsmeyer pour le mélange (CH/P) (60/40) (%) où le coefficient de corrélation $R^2 = 1$.
- Le modèle d'Higuchi pour le mélange (CH/POP) (60/40) (%) où le coefficient de corrélation $R^2 = 0,92$.

Tableau III.3.6. Modélisation de la cinétique de la libération de l'amoxicilline à partir des différentes formulations.

Formulations	Modèle cinétique	Equation de régression	R ²
Chitosane	Premier ordre	$\text{Log } C = -1,26112 + 0,00358 t$	0,80
	Equation d'Higuchi	$C = -0,00835 + 0,01799 t^{1/2}$	<u>0,97</u>
	l'équation de Korsmeyer	$\text{Ln } Mt/M_{\infty} = 0,57582 + 0,46504 \text{Ln } t$	0,89
(CH/P) (60/40)(%)	Premier ordre	$\text{Log } C = -1,26112 + 0,00358 t$	0,65
	Equation d'Higuchi	$C = 0,28492 + 0,4581 t^{1/2}$	0,63
	l'équation de Korsmeyer	$\text{Ln } Mt/M_{\infty} = 1,77636 + \text{Ln } t$	<u>1</u>
(CH/POP) (60/40) (%)	Premier ordre	$\text{Log } C = -0,50804 + 0,00269 t$	0,64
	Equation d'Higuchi	$C = 0,26821 + 0,03753 t^{1/2}$	<u>0,92</u>
	l'équation de Korsmeyer	$\text{Ln } Mt/M_{\infty} = 3,72492 + 0,20673 \text{Ln } t$	0,89

III.3.5.4. Libération du paracétamol

Les évolutions des libérations pendant 24 h du paracétamol sont respectivement de 34,48%, 83,40% et 94,04% pour le chitosane (100%), (CH/P)(60/40)(%) et (CH/POP)(60/40)(%) (**Figure III.3.12**).

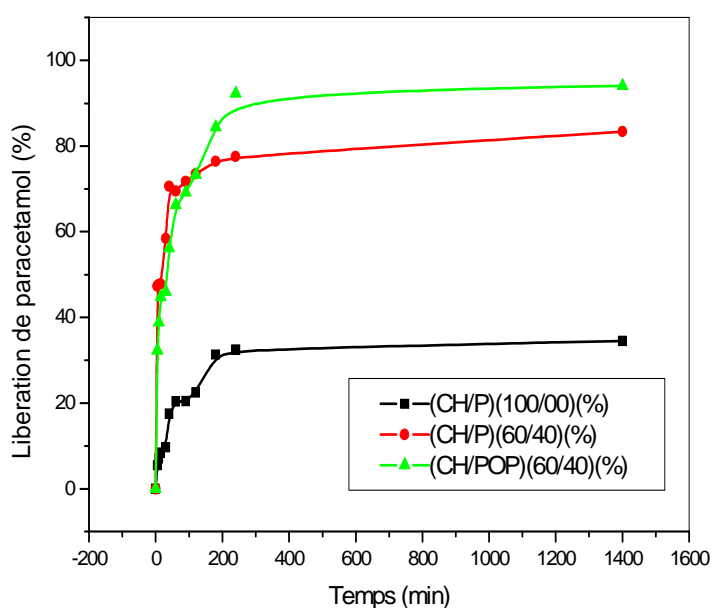


Figure III.3.12. Libération du paracétamol à partir des différents films à $\lambda_{\text{max}} = 244\text{nm}$.

III.3.5.5. Modélisation mathématique des profils de libération

Dans le **tableau III.3.7** et la **figure A.15 (annexe)**, nous avons représenté les résultats de la modélisation cinétique concernant la libération du paracétamol à partir des différentes formulations.

Tableau III.3.7. La modélisation cinétique de la libération du paracétamol à partir des différentes formulations.

Formulations	Modèle cinétique	Equation de régression	R ²
Chitosane	Premier ordre	$\text{Log } C = - 3,03488 + 0,00293 t$	0,73
	Equation d'Higuchi	$C = 1,4576 + 2,45398 t^{1/2}$	<u>0,93</u>
	l'équation de Korsmeyer	$\text{Ln } Mt/M_{\infty} = -3,10532 + 0,3832 \text{Ln } t$	0,88
(CH/P) (60/40)(%)	Premier ordre	$\text{Log } C = - 2,73743 + 8,6054t$	0,60
	Equation d'Higuchi	$C = 0,00154 + 0,20062 t^{1/2}$	0,80
	l'équation de Korsmeyer	$\text{Ln } Mt/M_{\infty} = -0,7126 + 0,12262 \text{Ln } t$	<u>0,84</u>
(CH/POP) (60/40) (%)	Premier ordre	$\text{Log } C = -2,99352 + 0,00167 t$	0,80
	Equation d'Higuchi	$C = 6,47982 + 1,1477 t^{1/2}$	<u>0,95</u>
	l'équation de Korsmeyer	$\text{Ln } Mt/M_{\infty} = -1,89883 + 0,21532 \text{Ln } t$	0,90

Nous constatons d'après les résultats du tableau ci-dessus que les modèles retenus sont:

- Le modèle d'Higuchi pour le chitosane et pour le mélange (CH/POP) (60/40) (%) où les coefficients de corrélation $R^2 = 0,93$ et $0,95$, respectivement.
- Le modèle Korsmeyer pour le mélange (CH/P) (60/40) (%) où le coefficient de corrélation $R^2 = 0,84$.

III.3.6. Evaluation de la compatibilité avec le sang :

Le test d'hémolyse a montré que les hydrogels sont non hémolytiques. Le potentiel hémolytique du matériau est défini par la mesure du degré d'hémolyse qui peut être causé par la matière quand il entre en contact avec le sang. **Le tableau III.3.8** révèle le pourcentage d'hémolyse du sang en contact avec les différents échantillons à 37 °C pendant 60 min. Tous les échantillons sont non-hémolytiques. Ils ont un niveau inférieur d'hémolyse à 5% (**Lihong et al., 2012**).

Il a été trouvé antérieurement (**Crini et al., 2007**) que l'hémocompatibilité du chitosane se manifeste par son caractère antithrombogène. Il trouve de ce fait des applications en tant que revêtement d'objets mis en contact avec le sang comme les prothèses vasculaires ou les valves cardiaques.

Tableau III.3.8. Potentiel hémolytique des hydrogels.

Echantillon	Chitosane	(CH/P)(60/40)(%)	(CH/POP)(60/40)(%)
Hémolyse (%)	4,20	4,22	4,63

III.3.7. Activité antibactérienne :

Des travaux antérieurs menés par **Bindu et al., (2010)** ont révélé que le chitosane possède une activité antimicrobienne qui dépend de plusieurs facteurs à savoir le poids moléculaire, le pH, la température et le degré de désacétylation.

Le mécanisme d'action antimicrobienne du chitosane n'est pas encore bien connu mais différentes hypothèses ont été proposées. Les charges positives du chitosane peuvent interagir avec la charge négative des membranes de la cellule microbienne. Ce qui induit la libération du matériel protéique et les autres constituants intracellulaires. À faibles concentrations, le chitosane polycationique se lie probablement à la surface des cellules chargées négativement causant ainsi leur agglomération. Par contre à des concentrations élevées, le grand nombre de charges positives va donner une charge positive nette à la surface des bactéries pour les garder en suspension. Le chitosane interagit avec la membrane des cellules pour altérer sa perméabilité par entrave à l'entrée de certains nutriments (**Sudarshan et al., 1992**).

Il ressort à partir des **figures III.3.13-14** et du **tableau III.3.9** que les diamètres d'inhibition du chitosane vis-à-vis du *Staphylococcus aureus* augmentent avec l'ajout de la pectine, de la pectine oxydée et encore plus en présence de l'antibiotique.

Il n'en demeure pas moins que le pouvoir inhibiteur dépend de la souche bactérienne. Ainsi, chez le *Bacillus subtilis*, l'inhibition est plus prononcée dans le cas du mélange chitosane/pectine oxydée notamment en présence de l'antibiotique.

A l'égard des bactéries à gram négatif (*Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*), aucune activité n'a été décelée.

Il faut souligner que l'antibiotique choisi agit seulement sur les bactéries à Gram positif étudiées (**figure III.2.14**).

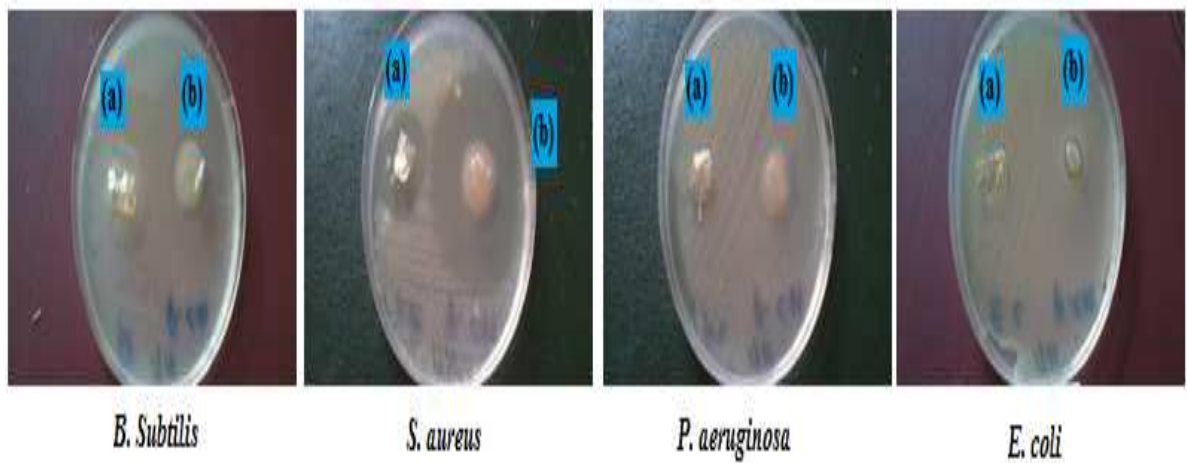


Figure III.3.13. Activités antibactériennes après t=24 h du (CH/P) (60/40) (%) sans antibiotique (a), (CH/P) (60/40) (%) avec antibiotique (b).

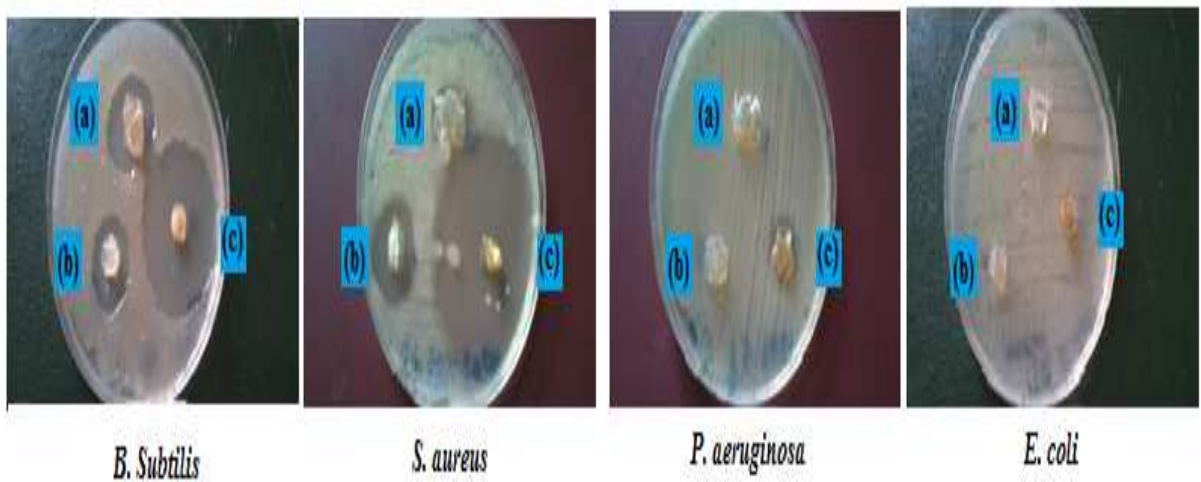


Figure III.3.14. Activités antibactériennes après t=24 h du chitosane sans antibiotique (a) (CH/POP)(60/40)(%) sans antibiotique (b) et (CH/POP)(60/40)(%) avec antibiotique (c).

Tableau III.3.9. Diamètres d'inhibition des films après t=24 h.

Microorganisme	Chitosane	(Chitosane/pectine) (60/40)(%)		(Chitosane/pectine oxydée) (60/40)(%)		Amoxicilline
	Sans antibiotique	Sans antibiotique	Avec antibiotique	Sans antibiotique	Avec antibiotique	
<i>Bacillus subtilis</i>	13mm	5mm	12mm	16mm	27mm	35mm
<i>Staphylococcus aureus</i>	5mm	16mm	40mm	18mm	40mm	49mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0mm	1mm	5mm	0mm	0mm	1mm
<i>Escherichia coli</i>	1mm	1mm	2mm	0mm	0mm	0mm

CONCLUSION

L'ensemble des travaux que nous avons présentés concerne au départ l'étude de l'oxydation de la pectine par deux agents oxydants et ensuite celle des films préparés à base de gélatine ou du chitosane réticulés par les pectines préalablement oxydées ou par le glutaraldehyde.

Des dosages des groupements carbonyles et carboxyles montrent que lorsque la concentration en agent oxydant, l'hypochlorite de sodium, augmente, le taux des carbonyles (%) diminue alors que celui des carboxyles augmente.

En revanche, l'oxydation par le periodate de potassium (KIO_4) favorise l'augmentation avec le temps des teneurs en aldéhydes et en carboxyles simultanément mais une diminution des teneurs en aldéhydes en fonction de la concentration de KIO_4 .

La mesure du degré de méthylation qui est de l'ordre de 74% indique que la pectine est hautement méthylée. En présence de NaOCl , ce degré d'estérification augmente après oxydation mais regresse ensuite avec la concentration de NaOCl .

Par contre, le periodate de potassium a pour action de diminuer avec le temps le degré d'estérification pour atteindre une valeur de 46% indiquant ainsi que la pectine est devenue faiblement méthylée.

L'analyse par spectroscopie infrarouge a permis selon les études visées d'identifier les groupements fonctionnels nouvellement formés à travers les positions et les intensités des différentes bandes d'absorption présentes sur les différents spectres enregistrés. L'oxydation par le NaOCl indique que les groupements principaux renferment différents dérivés carboxylés en raison du *split* en trois distinctes bandes entre 1700 et 1560 cm^{-1} , d'une part. D'autre part, l'apparition du pic fin et intense à 1383 cm^{-1} qui est lié à l'élongation symétriques de l'anion carboxylate.

Pour ce qui est de l'oxydation par le KIO_4 , les pics à 1742 et 1613 cm^{-1} subissent des déplacements respectifs à 1739 et 1627 cm^{-1} .

Nous notons aussi l'apparition d'une bande à 1385 cm^{-1} qui correspond aux C-H liés aux carbonyles (CO-H). Indications de l'élongation des alcools pinacoliques par l'anion periodate.

L'addition des pectines avant et après oxydation à la gélatine et/ou au chitosane révèle cependant que de nouvelles matrices polymériques sont obtenues.

Avant oxydation, les interactions majoritaires avec la pectine non oxydée sont de nature ionique alors que suite à l'oxydation, le NaOCl favorise la formation de l'amide, l'imine surtout des liaisons ioniques (entre les ions carboxylates et les ions ammoniums) et le KIO_4 l'établissement de l'imine essentiellement.

Les diffractogrammes des rayons X montrent quand à eux que l'oxydation de la pectine soit par le NaOCl soit par le KIO₄ affectent la structure cristalline de la macromolécule ainsi que celles de la gélatine et du chitosane. Par ailleurs, la teneur en triple hélice de la gélatine se trouve diminuée considérablement mais d'une manière erratique suite à l'addition de différentes pectines.

Les thermogrammes obtenus après l'analyse thermogravimétrique des films de gélatine en présence de la pectine et/ou de la pectine oxydée par le KIO₄ révèlent que la composition en (G/POP) possède une stabilité thermique meilleure par rapport à celles de la gélatine et du mélange (Gélatine/Pectine).

Pour ce qui est du taux de gonflement, les films de gélatine et/ou du chitosane réticulés par la pectine oxydée et notamment par le periodate montrent avec quelques exceptions des G_{max} les plus bas par rapport à ceux des matrices renfermant de la pectine non oxydée.

Aussi, nous avons étudié les propriétés mécaniques de tractions des films qui se sont avérées fragiles. Mais, une tentative d'ajout de plastifiant, le glycérol, au chitosane entraîne une amélioration dans le comportement des films qui deviennent alors souples.

A partir des résultats de la libération de principes actifs incorporés dans les différents hydrogels, nous avons remarqué que la masse de principes actifs libérés évolue avec le temps et devient ensuite constante.

Les formulations qui nous paraissent alors assez convenantes pour de futures formulations dans les libérations prolongée et rapide respectivement sont celles à base de (Gélatine/Pectine oxydée par le chlore) (60/40) (%) et du (Chitosane/Pectine oxydée par le periodate) (60/40) (%).

Les essais de l'hémocompatibilité nous laissent en conséquent prédire de leurs éventuels usages internes. L'approche antibactérienne a aussi permis de révéler que ces matériaux sont munis d'un pouvoir inhibiteur des bactéries à gram positif.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Abdel-Hamid M. I., Khairou K. S., Hassan R. M. ; «Kinetics and mechanism of permanganate oxidation of pectin polysaccharide in acid perchlorate media». *European Polymer Journal*, (2003), 39(2), pp. 381–387.

Abdulwadud A., Muhammed T., Surajudeen A., Abubakar J. M., Alewo O. A. ; «Extraction and Characterisation of Chitin and Chitosan from Mussel Shell». *Civil and Environmental Research*, (2013), 3(2), pp. 108-114.

Aggarwal S., Pahuja S. ; «Pharmaceutical relevance of crosslinked chitosan in microparticulate drug delivery». *International research journal of pharmacy*, (2013), 4(2), pp. 45-51.

Al-Sagheer F. A., Ibrahim E. I., Khalil K. D. ; «Crystallinity, antimicrobial activity and dyeing properties of chitosan-g-poly(N-acryloyl morpholine) copolymer». *European Polymer Journal*, (2014), 58, pp. 164-172.

Andrzej P., Stanisława K., Maciej F. ; «Dihydrazone of dialdehyde starch and its metal complexes». *Carbohydrate Polymers*, (2004), 56(2), pp. 187–193.

Atalla R. H., Isogai A. ; «Celluloses», *Comprehensive Natural Products II*, (2010), 6(16), pp.493-539.

B

Baljit S., Lok P. ; «Development of sterculia gum based wound dressings for use in drug delivery». *European Polymer Journal*, (2008), 44(10), pp. 3222-3230.

Bartouilh L. ; «Caractérisation et modification de viscocellulose macroporeuse en vue de son utilisation comme matériau de comblement osseux». (2004), *Thèse de Doctorat*. Université Bordeaux I. France.

Bekhouche F. ; «Bactéries lactiques du lait cru de vache et Microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes : 1. Isolement et Identification biochimique. 2. Evaluation et Optimisation de la production d'enzyme polygalacturonase». (2006), *Thèse de Doctorat*. Université Mentouri de Constantine. Algérie.

- Belalia R. ; «Synthese d'une biocide par modification chimique de chitosane : Presentation du bois preservation des aliments». (2006), *Thèse de Doctorat*. Université bordeaux I. France.
- Belkheiri N. ; «Dérivés phénoliques a activités antiathérogènes». (2010), *Thèse de Doctorat*. Université de Toulouse. France
- BeMiller J., Whistler R. ; «Starch, Chemistry and Technology». *Food science and technology, international series*. USA, (2009), pp. 151.
- Benzeggouta N. ; «Etude de l'Activité Antibactérienne des Huiles Infusées de Quatre Plantes Médicinales Connues Comme Aliments». (2005), *Mémoire de Magister*. Université Mentouri de Constantine. Algérie.
- Berand J. ; «Le technicien d'analyses biologiques». Guide théorie et pratique. (2001), *Tec et Doc*. Paris, pp. 34
- Berrada S. ; «Les glucides : structure, propriétés et applications technologiques», *biochimie appliquée PLP Biotechnologies* disponible sur : http://sti.ac-montpellier.fr/IMG/pdf/Glucides_SBSSA.pdf, (2009).
- Bigi A., Panzavolta S., Rubini K. ; «Relationship between triple-helix content mechanical properties of gelatin films». *Biomaterials*, (2004), 25(25), pp. 5675–5680.
- Bindu T. V. L., Vidyavathi M., Kavitha K., Sastry T. P., Suresh Kumar R. V. ; «Preparation and Evaluation of Chitosan-Gelatin Composite Films for Wound Healing Activity». *Trends in Biomaterials & Artificial Organs*, (2010), 24(3), pp. 123-130.
- Brahatheeswaran D., Varghese S., Ravindran G. A., Yasuhiko Y., Toru M., Sakthikumar D. ; «Evaluation of antithrombogenicity and hydrophilicity on Zein-SWCNT electrospun fibrous nanocomposite scaffolds». *International Journal of Biomaterials*, (2012), 1, pp. 1–10.
- Brudieux V. ; «Extraction, modification enzymatique et caractérisation chimique de nouvelles structures pectiques. Application de la relation structure / activité à la dermocosmétique». (2007), *Thèse de Doctorat*. Université de Limoges. France.
- Buhus G., Popa M., Desbrieres J. ; «Hydrogels Based on Carboxymethylcellulose and Gelatin for Inclusion and Release of Chloramphenicol». *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, (2009), 24(6), pp. 525-545.

Buschle-Diller G., Zeronian S. H. ; «Enhancing the reactivity and strength of cotton fibers». *Journal of Applied Polymer Science*, (1992), 45(6), pp. 967–979.

C

Centeno A. S., Guzman M. I, Yamazakikleps A., Vedova C. D. ; «Characterisation by FTIR of the effect of lead white on some properties of proteinaceous binding media». *Journal of the American Institute for Conservation*, (2004), 43(2), pp. 139-150.

Changxing J., Qingping X., Songlin L., Xirong Z., Xiaoxiong Z. ; «Structural characterization, sulfation and antitumor activity of apolysaccharide fraction from *Cyclina sinensis*». *Carbohydrate Polymers*, (2015), 115, pp. 200–206.

Chatjigakis A. K., Pappas C., Proxenia N., Kalantzi O., Rodis P., Polissiou M. ; «FT-IR spectroscopic determination of the degree of esterification of cell wall pectins from stored peaches and correlation to textural changes». *Carbohydrate Polymers*, (1998), 37(4), pp. 395–408.

Chattopadhyay S., Singhal R. S., Kulkarni P. R. ; «Optimisation of conditions of synthesis of oxidised starch from corn and ama-ranth for use in film-forming applications». *Carbohydrate Polymers*, (1997), 34(4), pp. 203-212.

Chetouani A. ; «Développement dans le génie tissulaire d'un complexe polyionique à base de gélatine/carboxyméthylcellulose», (2011), *Mémoire de Magistère*. Université Ferhat Abbas Sétif. Algérie.

Chetouani A.^a, Elkolli M., Bounekhel M., Benachour D. ; «Physicochemical characterization of gelatin-cmc composite edibles films from polyion-complex hydrogels». *Journal of the Chilean Chemical Society*, (2014), 59(1), pp. 2279-2283.

Chetouani A.^b, Elkolli M., Bounekhel M., Benachour D. ; «Synthesis and properties of novel hydrogels from oxidized pectin crosslinked gelatin for biomedical applications». *Polymer Bulletin*, (2014), 71(9), pp.2303–2316.

Chetouani A.^c, Elkolli M., Bounekhel M., Benachour D. ; « Characterization and Bioevaluation of New Class of Hydrogels Based on Oxidized Pectin Crosslinked to Gelatin». *Journal of Biomaterials and Tissue Engineering*, (2014), 4(6), pp. 465–470.

Christie R. J., Anderson D. J., Grainger D. W. ; «Comparison of Hydrazone Heterobifunctional Crosslinking Agents for Reversible Conjugation of Thiol-Containing Chemistry». *Bioconjugate Chemistry*, (2010), 21(10), pp. 1779–1787.

Combo A. M. M., Aguedo M., Paquot M. ; «Les oligosaccharides pectiques : production et applications possibles». *Biotechnologie Agronomie Societe et Environnement*, (2011), 15(1), pp.153–164.

Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires, Organisation des Nations Unies pour l'alimentation, agriculture, & Organisation mondiale de la santé. (1986). *Normes d'identité et de pureté des additifs alimentaires: antiagglutinants*. Food & Agriculture Org..

Crini G., Badot P., Guibal E. ; «Chitine et chitosane, du biopolymère à l'application». *Presses universitaires de Franche Comité*. France, (2007), pp. 26.

Cumpstey I. ; «Review Article Chemical Modification of Polysaccharides», *ISRN Organic Chemistry*, (2013), pp.1-27. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/417672>

Cunha A. G., Gandini A., Brownlee I. A., Allen A., Pearson J. P., Dettmar P. W., Havler M. E., Atherton M. R. ; «Turning polysaccharides into hydrophobic materials: a critical review. Part 2. Hemicelluloses, chitin/chitosan, starch, pectin and alginates». *Rev Food Sci.*, (2010), 45(6), pp. 497–510.

D

Davidson G. F. ; «The properties of the oxycellulose formed in the early stages of the oxidation of cotton cellulose by periodic acid and metaperiodate». *Journal of Textile Institute*, (1940), 31(7), pp. 81–96.

Degenis G. A, Gold T. B., Shah V. P. ; «Cross-Linking of gelatine capsules and its relevance to their *in vitro*- *in vivo* performance». *Journal of pharmaceutical science*, (1994), 83(7), pp. 915-921.

Donato L. ; «Gélification et séparation de phase dans les mélanges protéines globulaires/pectines faiblement méthylées selon les conditions ioniques », (2004), *Thèse de Doctorat*. Université de Limoges. France.

E

El Meligy M. G., El Rafie S., Abu-Zied M. K. ; «Preparation of dialdehyde cellulose hydrazone derivatives and evaluating their efficiency for sewage wastewater treatment». *Desalination*, (2005), 173(1), pp. 33-44.

Embuscado M. E., Huber K. C. ; «Edible Films and Coatings for Food Applications». *Springer*. New york, (2009), pp. 82.

F

Fishman M. L., Jen J. J. ; «Chemistry and Function of Pectins», *American Chemical Society*. Washington, (1986), pp. 6

Floor M., Kieboom A. P. G., Bekkum H. V. ; «Preparation and Calcium Complexation of Polysaccharides Part I: Oxidation of Maltodextrins and Starch with Alkaline Sodium Hypochlorite ». *Starch*, (1989), 41(9), pp. 348–354.

Fox S. C., Li B., Xu D., Edgar K. J. ; «Regioselective Esterification and Etherification of Cellulose: A Review». *Biomacromolecules*, (2011), 12(6), pp. 1956–1972.

G

Gamal A., Khalid S., Refat M. ; «Kinetics and mechanism of Oxidation of Chitosan Polysaccharide by Permanganate Ion in Aqueous Perchlorate Solutions». *Journal of chemical research*, (2003), 2(4), pp. 182-183.

Ghaffari A., Navaee K., Oskoui M., Bayati K., Rafiee-Tehrani M. ; «Preparation and characterization of free mixed-film of pectin/chitosan/Eudragit® RS intended for sigmoidal drug delivery». *European Journal of pharmaceutics and Biopharmaceutics*, (2007), 67(1), pp. 175-186.

Gharsallaoui A. ; «Microencapsulation d'un système lipidique par des macromolécules végétales (protéine de pois+pectine)», (2008), *Thèse de Doctorat*. Université de Bourgogne. France.

Gomez C. G., Rinaudo M., Villar M. A. ; «Oxidation of sodium alginate and characterization of the oxidized derivatives». *Carbohydrate Polymers*, (2007), 67(3), pp. 296–304.

Gosselink R. J. A., Dam J. E. G., Jong E. D., Gellerstedt G., Scott E. L., Sanders J. P. M. ; «Effect of periodate on lignin for wood adhesive application». *Holzforschung*, (2011), 65(2), pp. 155–162.

Guibet M. ; «Analyse structurale des carraghénanes par hydrolyse enzymatique», (2007), *Thèse de Doctorat*. Université de Bretagne Occidentale. France.

H

Haskins J. F., Hogsed M. J. ; «The alkaline oxidation of cellulose.I. mechanism of the degradative oxidation of cellulose by hydrogen peroxide in presence of alkali». *Journal of Organic Chemistry*, (1950), 15(6), pp. 1264-1274.

Hongli L., Bo W., Changdao M., Wei L. ; «Concomitant degradation in periodate oxidation of carboxymethyl cellulose». *Carbohydrate Polymers*, (2011), 84(3), pp. 881–886.

Hui Y. H., Khachatourians G. G. ; «Food Biotechnology: Microorganisms». *Wiley publishers*. Canada, (1995), pp. 590-591.

K

Kamel S., Ali N., Jahangir K., Shah S. M., El-Gendy A. A. ; «Pharmaceutical significance of cellulose: A review». *Express Polymer Letters*, (2008), 2(11), pp. 758-778.

Krausz P., Benhaddou R., Granet R. ; «Mini manuel de chimie organique», *Dunod*, Paris, (2008), pp. 64.

Kuakpetoon D., Wang Y. J. ; «Characterization of different starches oxidized by hypochlorite». *Starch – Stärke*, (2001), 53(5), pp. 211-218.

Kuen L .Y., Mooney D. J. ; «Alginate: Properties and biomedical applications». *Progress in Polymer Science*, (2012), 37(1), pp. 106-126.

Kumar M. N. ; «A review of chitin and chitosan applications». *Reactive and functional polymers*, (2000), 46(1), pp. 1-27.

L

Langmaier F., Mokrejs P., Kolomaznik K., Mladek M. ; «Plasticizing collagen hydrolysate with glycerol and low-molecular weight poly (ethylene glycols)». *Termochimical Acta*, (2008), 469(1), pp. 52–58.

Le Roux J. ; «Modification des fibres cellulosiques amelioration des proprietes hydrophiles des pates bisulfites», (2003), *Thèse de Doctorat*. Université bordeaux I. France.

Lewin M., Ettinger A. ; «Oxidation of cellulose by hydrogen peroxide». *Cellulose Chemistry and Technology*, (1969), 3(1), pp. 9-20.

Lihong F., Yi S., Weiguo X., Hua Z., Shuhua L. ; «Oxidized pectin cross-linked carboxymethyl chitosan: a new class of hydrogels». *Journal of Biomaterials Science Polymer Edition*, (2012), 23(16), pp. 2119–2132.

Lin L., Jing C., Jian H., Yurong C., Juming Y. ; «Extraction of pectins with different degrees of esterification from mulberry branch bark». *Bioresource Technology*, (2010), 101(9), pp. 3268–3273.

Lingbin L., Ping Z., Yang C., Qiang L., Sujuan P., Huaming W. ; «Study on Partially Oxidized Sodium Alginate with Potassium Permanganate as the Oxidant». *Applied Polymer Science*, (2009), 113(6), pp. 3585–3589.

Lishuai M., Haixia C., Yu Z., Ning Z., Lingling F. ; «Chemical modification and antioxidant activities of polysaccharide from mushroom *Inonotus obliquus*». *Carbohydrate Polymers*, (2012), 89(2), pp. 371– 378.

Liu L., Cao J., Huang J., Cai Y., Yao J. ; «Extraction of pectins with different degrees of esterification from mulberry branch bark». *Bioresource Technology*, (2010), 101(9), pp. 3268–3273.

Liu L., Fishman M. L., Kost J., Hicks K. B ; «Pectin-based systems for colon-specific drug delivery via oral route». *Biomaterials*, (2003), 24(19), pp. 3333-3343.

M

Manoj K., Rakesh K. M., Ajit K. B. ; «Developpement of pectin based hydrogel membranes for biomedical applications». *International Journal of Plastics Technology*, (2010), 14(2), pp. 213-223.

Masayuki H., Naoyuki T., Tsuguyuki S., Akira I. ; «Oxidation of regenerated cellulose with NaClO catalyzed by TEMPO and NaClO under acid-neutral conditions». *Carbohydrate Polymers*, (2009), 78(2), pp. 330–335.

Migneault I., Dartiguenave C., Bertrand M. J., Waldron K. C. ; «Glutaraldehyde: behavior in aqueous solution, reaction with proteins, and application to enzyme crosslinking». *BioTechniques*, (2004), 37(5), pp. 790-802.

Mishra R., Majeed A., Banthia A. ; «Development and characterisation of pectin/gelatin hydrogel membranes for dressing». *International Journal of Plastics Technology*, (2011), 15(1), pp. 82-95.

Modrzejewska Z., Maniukiewicz W., Wojtasz-pajak A. ; «Determination of hydrogel chitosan membrane structure». *Polish Chitin Society XI*, (2006), pp. 113-121.

Munarin F., Petrini P., Tanzi M. C., Barbosa M. A., Granja P. L. ; «Biofunctional chemically modified pectin for cell delivery», *Soft Matter*, (2012), 8(17), pp. 4731–4739.

Murinov K. Y., Kuramshina A. R., Khisamutdinov R. A., Murinov Y. I., Kabal'nova N. N. ; «IR Study on chitosan oxidation with sodium chlorite». *Russian Journal of General Chemistry*, (2010), 80(1), pp. 27-30.

Muthumanickam A., Subramanian S., Niladrinath P., Gowri M., Winfred S. B., Ganesh V., Pramanik K. ; «Electrospun eri silk fibroin scaffold coated with hydroxyapatite for bone tissue engineering applications». *Progress in Biomaterials*, (2013), 2(6), pp. 3–11.

N

Nurhidayatullaili M. J., Zulkifli A., Hazizan M. A. ; «X Ray Diffraction studies of Cross Linked Chitosan with Different Cross Linking Agents for waste water treatment application». *AIP Conference Proceedings*, (2010), 1202, 106.

O

Onesippe C. ; «Etude des systèmes polyelectrolyte /tensioactif en phase aqueuse et a l'interface liquide / gaz», (2005), *Thèse de Doctorat*. Université Montpellier II. France.

Oosterveld A., Beldman G. B., Schols H. A., Voragen A. J. ; «Arabinose and ferulic acid rich pectic polysaccharides extracted from sugar beet pulp». *Carbohydrate Research*, (1996), 288(19), pp. 143-153.

P

Pal K., Ajit K., Dipak K. ; «Preparation and Characterization of Polyvinyl Alcohol–Gelatin Hydrogel Membranes for Biomedical Applications». *Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, (2007), 8(1), pp. 21-75.

Paquot M., Aguedo M., Combo A. M. M. ; «Analyse structurale des carraghénanes par hydrolyse enzymatique», (2007), *Thèse de Doctorat*. Université de Bretagne Occidentale. France.

Peerapattana J., Phuvarit P., Srijesdaruk V., Preechagoon D., Tattawasart A. ; «Pregelatinized glutinous rice starch as a sustained release agent for tablet preparations». *Carbohydrate Polymers*, (2010), 80(2), pp. 453–459.

Peña C., Caba K., Eceiza A., Ruseckaite R., Mondragon I. ; «Enhancing water repellence and mechanical properties of gelatin films by tannin addition». *Bioresource Technology*, (2010), 101(17), pp. 6836–6842.

Pensé-Lhéritier A. M. ; «Conception des produits cosmétiques : la formulation». *Lavoisier*. Paris, (2014), pp. 129.

Prabhu S. M., Meenakshi S. ; «Enriched fluoride sorption using chitosan supported mixed metal oxides beads: synthesis, characterization and mechanism». *Journal of water process engineering*, (2014), 2, pp. 96–104.

Pranati S., Rishabha M. ; «Sources of pectin, extraction and its applications in pharmaceutical industry– an overview». *Indian Journal of Natural Products and Resources*, (2011), 2(1), pp. 10-18.

R

Raghunadh A. S., Gomathi T., Sudha P. N. ; «Physico-chemical characterization of cross linked chitosan-polyacrylonitrile polymer blends». *Der Pharmacia Lettre*, (2013), 5(2), pp. 354-363.

Renard C. ; «Les pectines dans la paroi végétale», (2010), Université Avignon. France.

Rivero S., García M. A., Pinotti A. ; «Composite and bi-layer films based on gelatin and chitosan». *Journal of Food Engineering*, (2009), 90(4), pp. 531–539.

Rodrigue J. ; «Oxydation de matériel lignocellulosique par le système NaOCl/NiO(OH)», (2008), *Thèse de Doctorat*. Université du Québec à Trois-Rivières. Canada.

S

Salisu A., Naim A. A., Sanagi M. M. ; «Chemical Modification of Marine Polysaccharide (Alginate) By Free-Radical Graft Copolymerization— a Short Review». *Journal of Applied Chemistry*, (2013), 4(3), pp. 39-44.

Sang-Ho Y., Ji-Soo L., Seung Y. P., Young-Suk K., Pahn-Shick C., Hyeon Gyu L. ; «Effects of selective oxidation of chitosan on physical and biological properties». *International Journal of Biological Macromolecules*, (2005), 35(2), pp. 27–31.

Serguschenko I., Kolenchenko E., Khotimchenko M. ; «Low esterified pectin accelerates removal of lead ions in rats». *Nutrition Research*, (2007), 27(10), pp. 633–639.

Serrero A., Trombotto S., Cassagnau P., Bayon Y., Gravagna P., Montanari S., David L. ; «Polysaccharide gels based on chitosan and modified starch : structural characterization and linear viscoelastic behavior». *Biomacromolecules*, (2010), 11(6), pp. 1534-1543.

Shahidi F., Synowiecki J. ; «Isolation and characterization of nutrients and value-added products from snow crab (*Chionoecetes opilio*) and shrimp (*Pandalus borealis*) processing discards ». *Agricultural and Food Chemistry*, (1991), 39(8), pp. 1527-1532.

Shahidi F., Arachchi J. K. V., Jeon Y. J. ; «Food applications of chitin and chitosans». *Trends in Food Science & Technology*, (1999), 10(2), pp. 37-51.

Siddhesh N. P., Kevin J. E. ; «Review Alginate derivatization: A review of chemistry, properties and applications». *Journal of Biomaterials*, (2012), 33(11), pp. 3279-3305.

Silverstein R. M., Basler G. C., Morill T. C. ; «Identification spectrométrique de composés organiques». *DeBoeck université*. Belgique, (1998), pp. 142, 158

Source : base de donnée SDBS

Sriamornsak P. ; «Chemistry of Pectin and Its Pharmaceutical Uses, A Review», *Silpakorn University International Journal*, (2003), 3, pp. 206-228.

Sudarshan N. R., Hoover D. G., Knorr D. ; «Antibacterial action of chitosan». *Food Biotechnology*, (1992), 6(3), pp. 257-272.

Synytsya A. J., opikova C., Matejka P., Machovic V. ; «Fourier transform Raman and infrared spectroscopy of pectins». *Carbohydrate Polymers*, (2003), 54(1), pp. 97–106.

T

Tang A., Zhang H., Chen G., Xie G., Liang W. ; «Influence of ultrasound treatment on accessibility and regioselective oxidation reactivity of cellulose». *Ultrasonics Sonochemistry*, (2005), 12(6), pp. 467–472.

Tanioka A., Miyasaka A., Ishikawa K. ; «Reconstitution of collagen fold structure with stretching gelatine film». *Biopolymers*, (1976), 15(8), pp. 1505–1511.

Teotia A. ; «Modification of carboxymethyl cellulose through oxidation». *Carbohydrate Polymers*, (2012), 87(1), pp. 457– 460.

V

Vignon S. M., Montanari D. S., Condoret J. S. ; «Method for the controlled oxidation of polysaccharides», (2006), WO 2006/018552.

Vipin V., Poonam V., Pratima R., Alok R. R. ; «2,3-Dihydrazone cellulose: Prospective material for tissue engineering scaffolds». *Materials Science and Engineering C*, (2008), 28(8), pp. 1441–1447.

Voragen F., Schols H., Visser R. ; «Advances in Pectin and Pectinase Research». *Kluwer Academic Publishers*. The Netherlands, (2003), pp. 76.

W

Wan Y., Linfeng W. ; «Physicochemical properties of common and waxy corn starches oxidized by different levels of sodium hypochlorite». *Carbohydrate Polymers*, (2003), 52(3), pp. 207-217.

[www.bibliomer.com /documents/ fiches/Chitine et chitosan vf.pdf](http://www.bibliomer.com/documents/fiches/Chitine_et_chitosan_vf.pdf). Chitine et chitosan ; (2010) ; Ifremer

Willard H. H., Thompson J. J. ; «Qualitative tests for periodate and iodate in the presence of each other». *Journal of the American Chemical Society*, (1934), 56(9), pp. 1827–1828.

Y

Yakimets I., Wellner N., Andrew C. S., Reginald W., Imad F., John M. ; «Mechanical properties with respect to water content of gelatin films in glassy state». *Polymer*, (2005), 46(26), pp. 12577–12585.

Z

Zeronian S. H., Inglesby M. K. ; «Bleaching of cellulose by hydrogen peroxide ». *Carbohydrate Polymers*, (1995), 2(4), pp. 265-272.

Zhang L., Liu P., Wang Y., Gao W. ; «Study on physico-chemical properties of dialdehyde yam starch with different aldehyde group contents». *Thermochimica Acta*, (2011), 512(2), pp. 196–201.

Zhang N., Chen H., Ma L., Zhang Y. ; «Physical modifications of polysaccharide from *Inonotus obliquus* and the antioxidant properties». *International Journal of Biological Macromolecules*, (2013), 54, pp. 209-215.

Ziad D., Mihir S., Roula M. A. M. ; «Pectin shows antibacterial activity against *Helicobacter pylori*». *Advances in Bioscience and Biotechnology*, (2013), 4(2), pp. 273-277.

Zugenmaier P. ; «Crystalline cellulose and cellulose derivatives, characterization and structure». *Springer series in wood science*. Germany, (2008), pp. 8.

ANNEXES

Annexe 1 : Gonflement

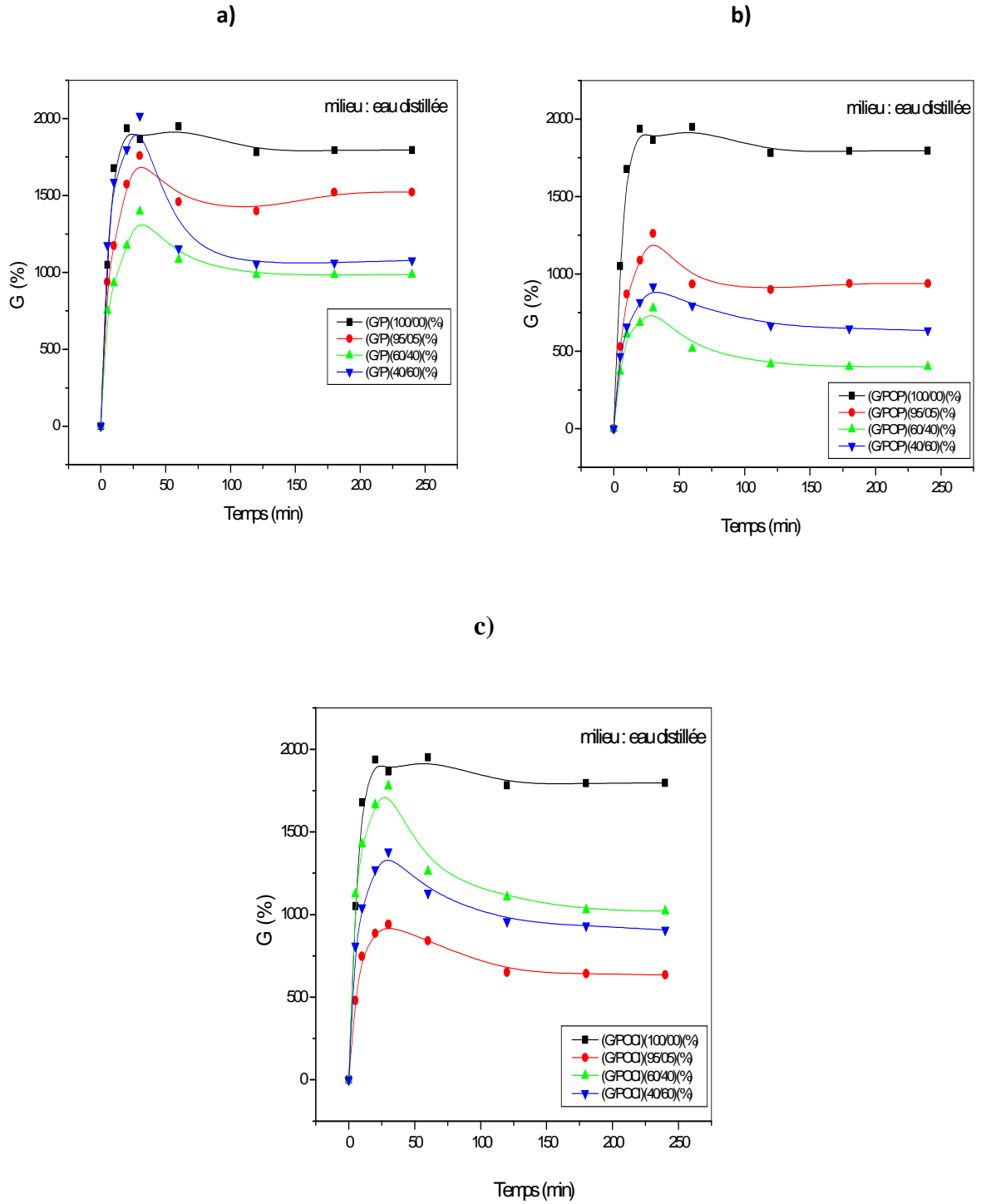


Figure A.1. Variation du taux de gonflement (%) des différents films à une T_{amb} en fonction du temps dans l'eau distillée : (G/P) (%) (a), (G/POP) (%) (b) et (G/POCl) (%) (c).

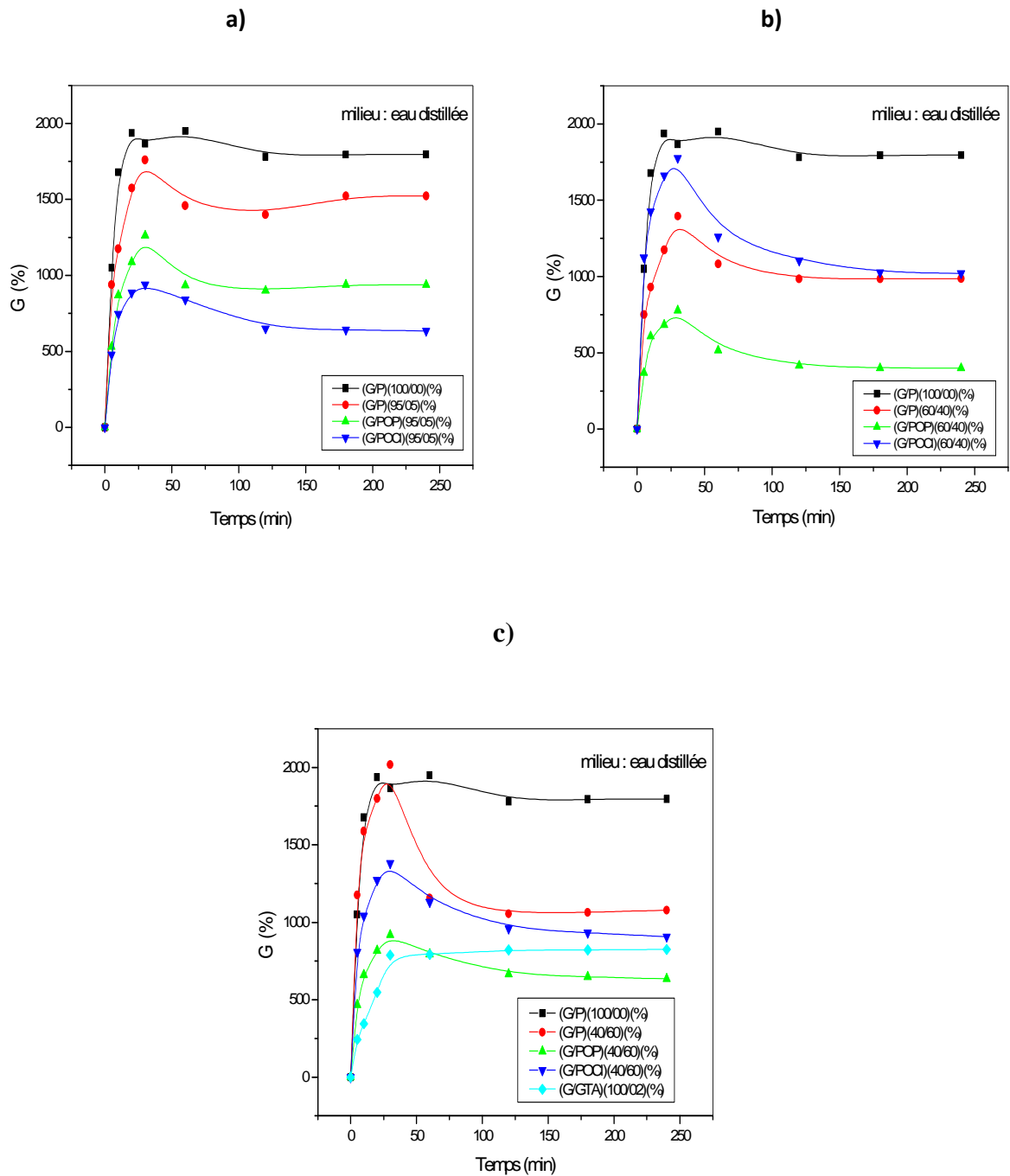


Figure A.2. Variation du taux de gonflement (%) des différents films à une T_{amb} en fonction du temps dans l'eau distillée : (95/05) (%) (a), (60/40) (%) (b), (40/60) (%) et (G/GTA) (100/02) (%) (c).

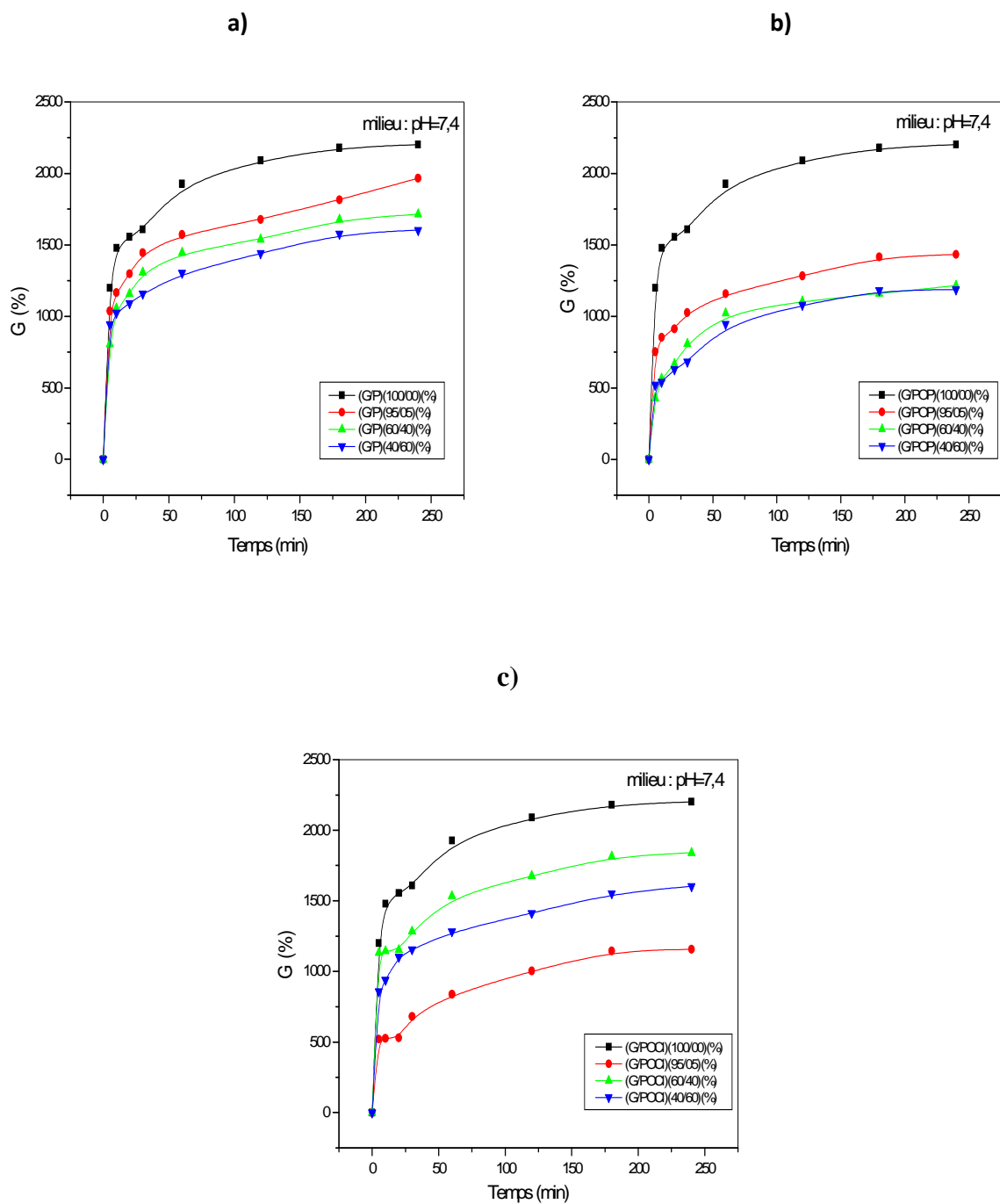


Figure A.3. Variation du taux de gonflement (%) des différents films à une T_{amb} en fonction du temps dans un pH=7,4: (G/P)(%) (a), (G/POP)(%) (b) et (G/POCl)(%) (c).

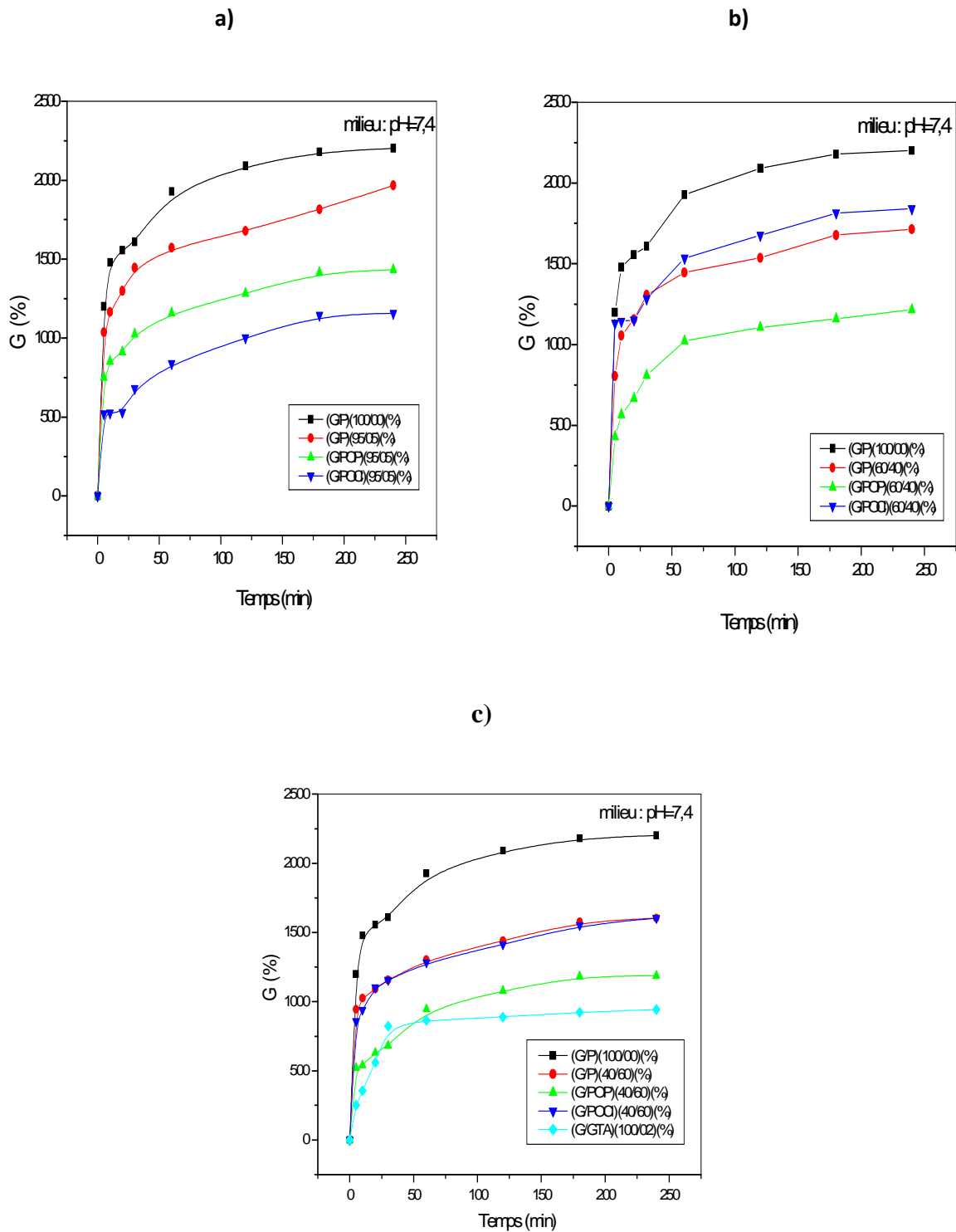


Figure A.4. Variation du taux de gonflement (%) des différents films à une T_{amb} en fonction du temps dans un pH=7,4 : (95/05)(%) (a), (60/40)(%) (b), (40/60)(%) et (G/GTA)(100/02)(%) (c).

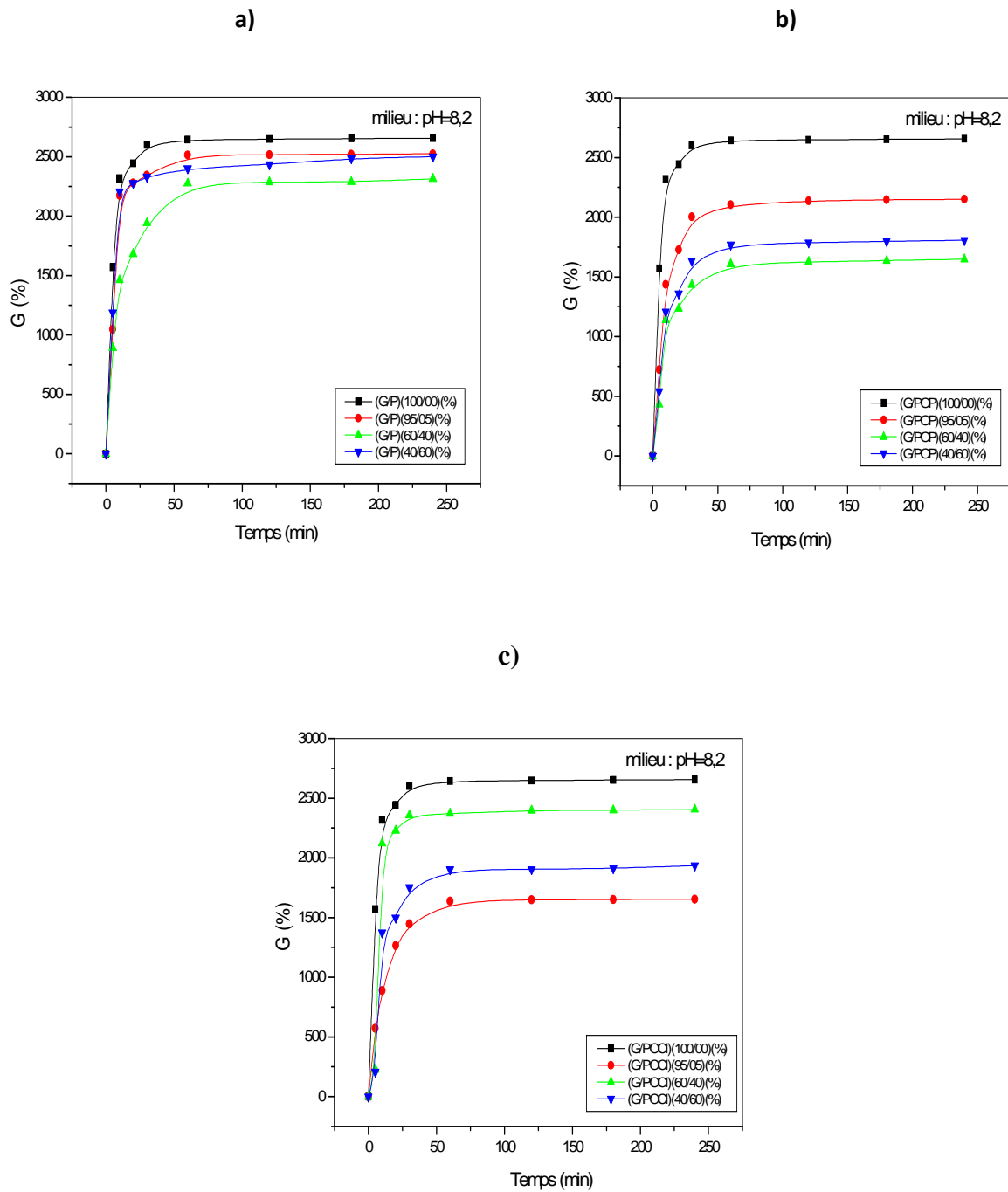


Figure A.5. Variation du taux de gonflement (%) des différents films à une T_{amb} en fonction du temps dans un pH=8,2: (G/P)(%) (a), (G/POP)(%) (b) et (G/POCl)(%) (c).

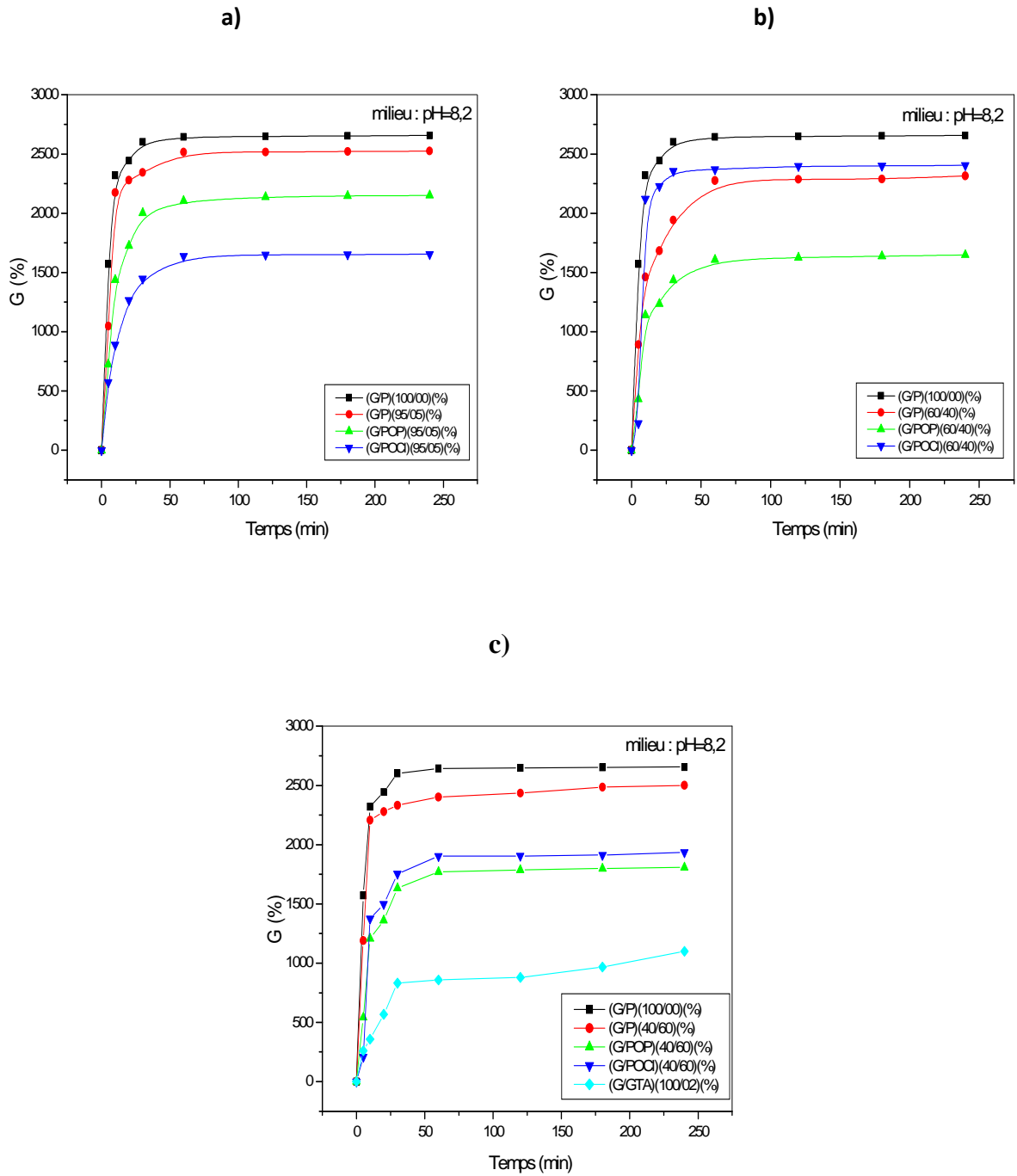


Figure A.6. Variation du taux de gonflement (%) des différents films à une T_{amb} en fonction du temps dans un pH=8,2: (95/05)(%) (a), (60/40)(%) (b), (40/60)(%) et (G/GTA)(100/02)(%) (c).

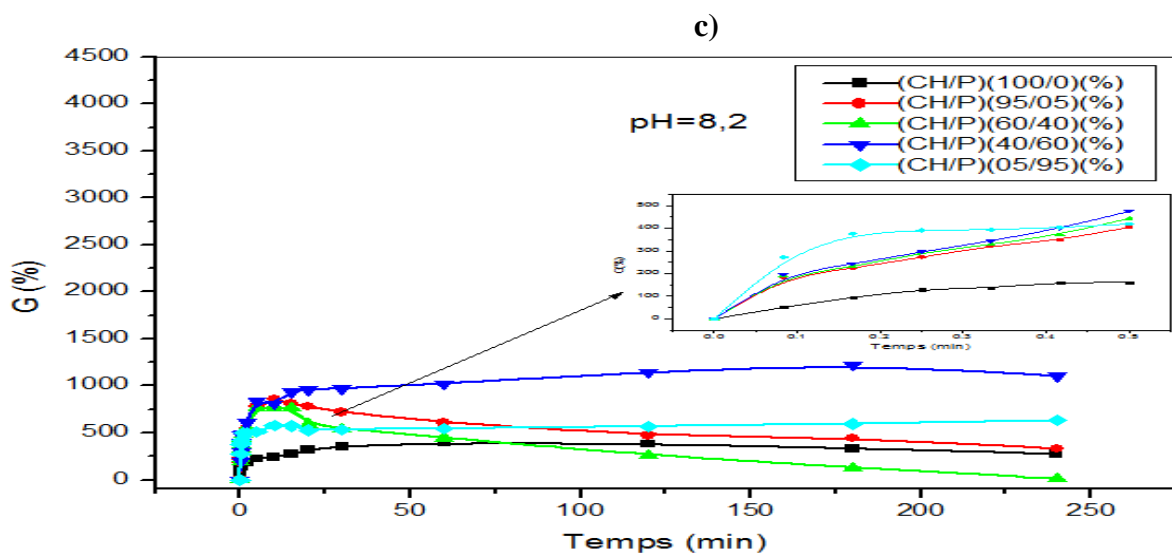
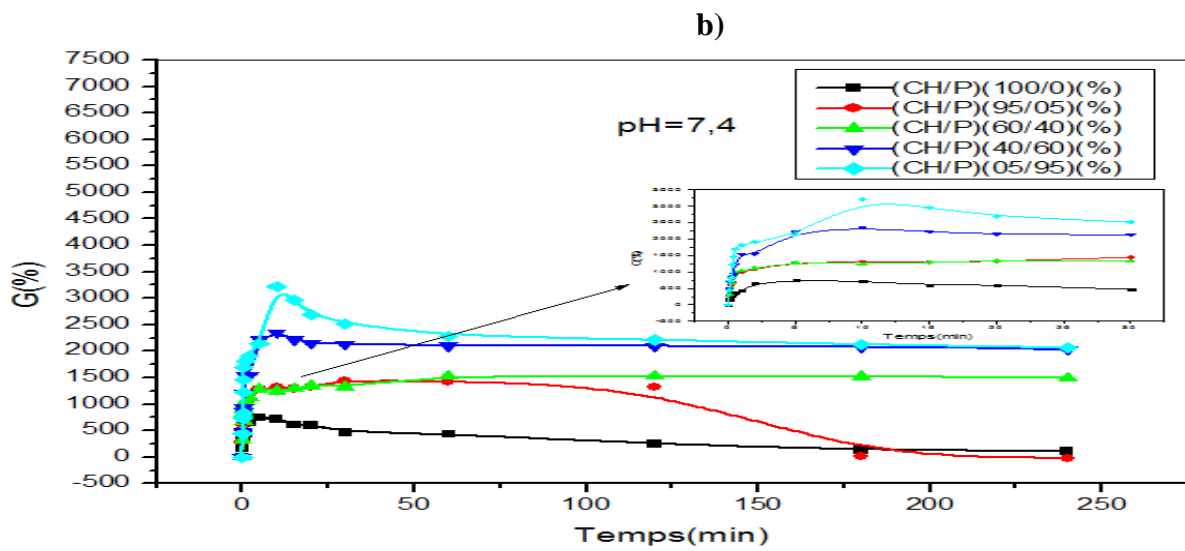
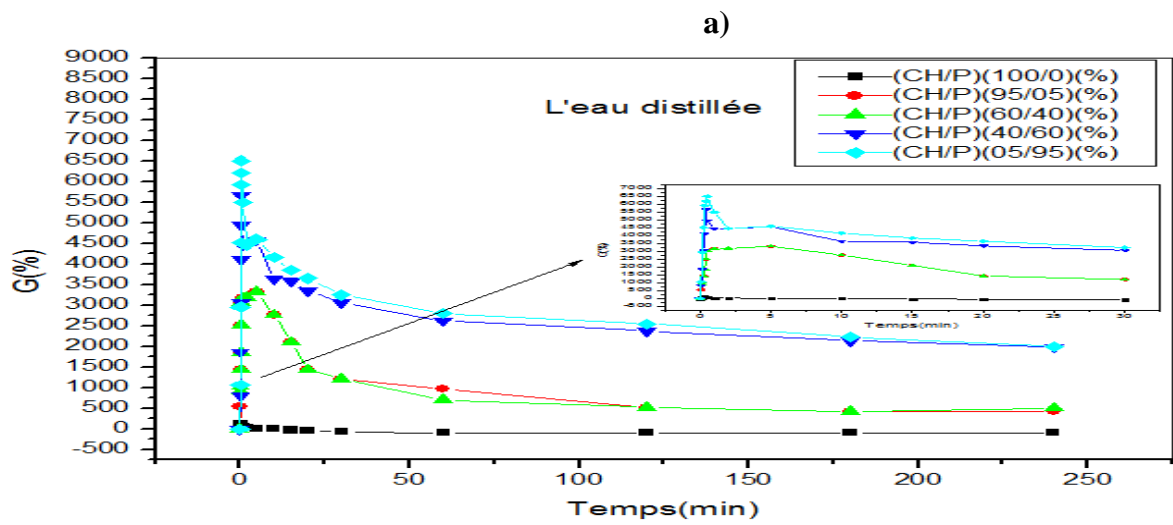
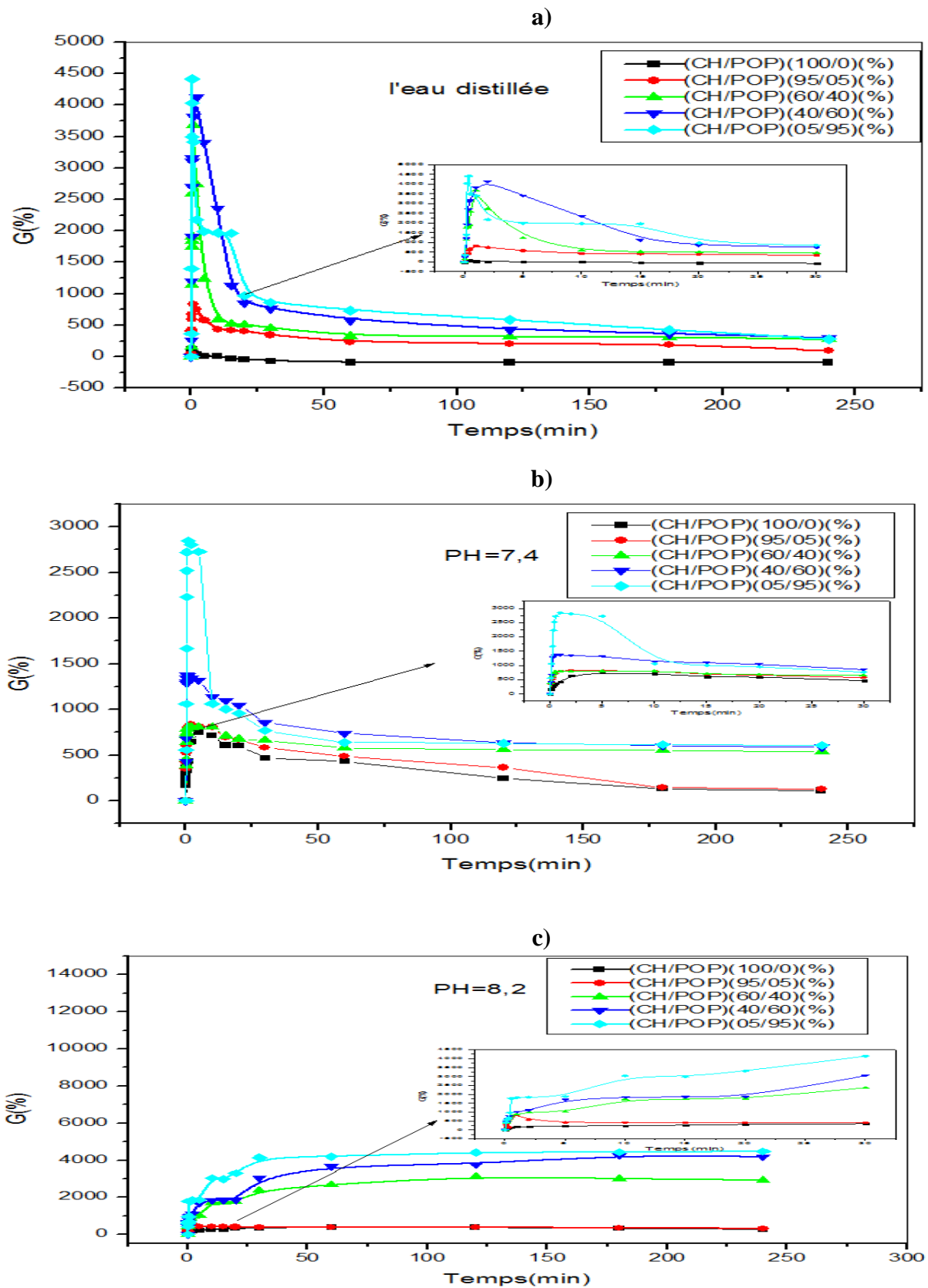


Figure A.10. Variation du gonflement des Films à T_{amb} en fonction du temps dans différents milieux.



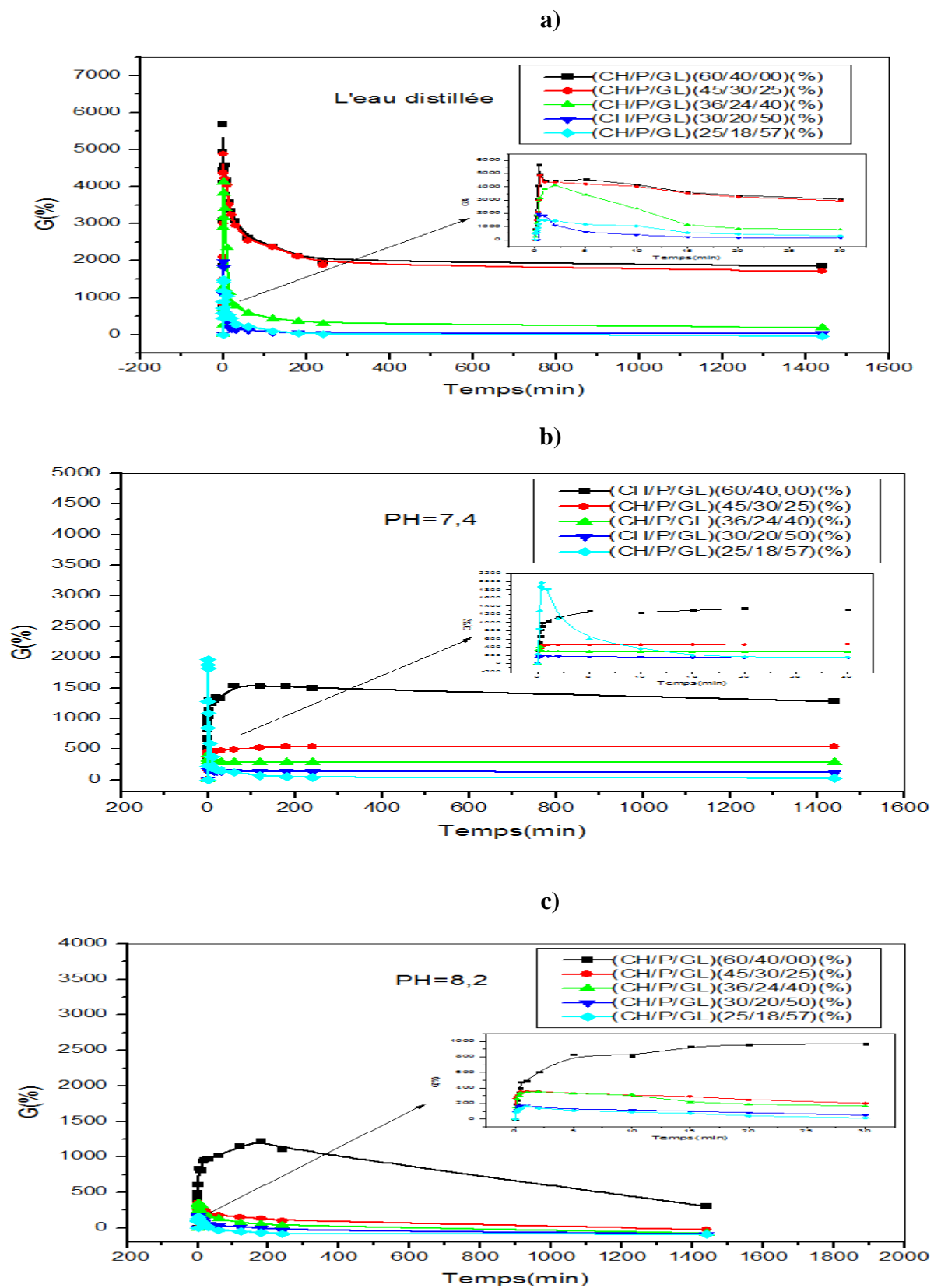


Figure A.12. Variation du gonflement des Films à T_{amb} en fonction du temps dans différents milieux.

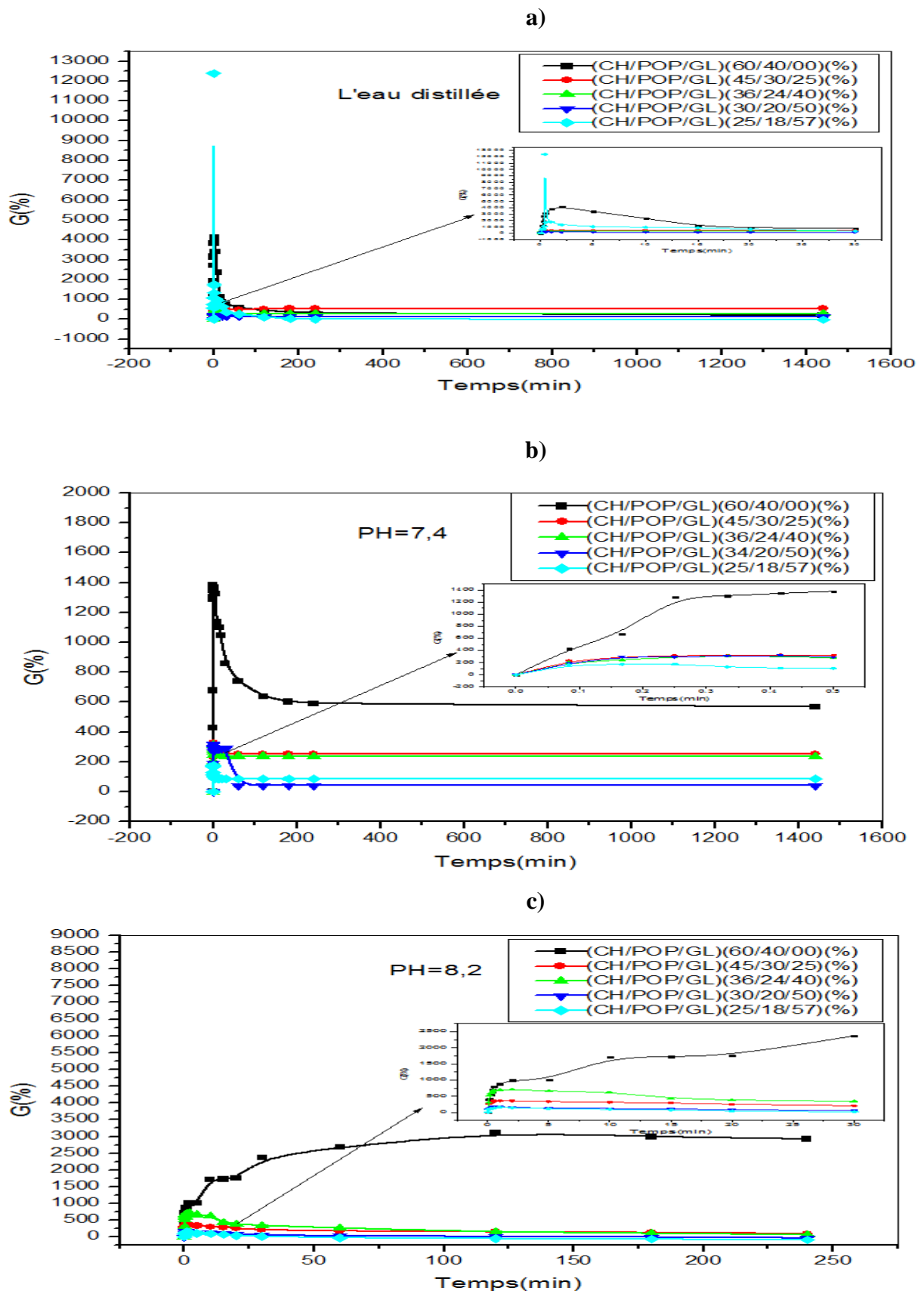


Figure A.13. Variation du gonflement des Films à T_{amb} en fonction du temps dans différents milieux.

Annexe 2 : Modélisation mathématique des profils de libération

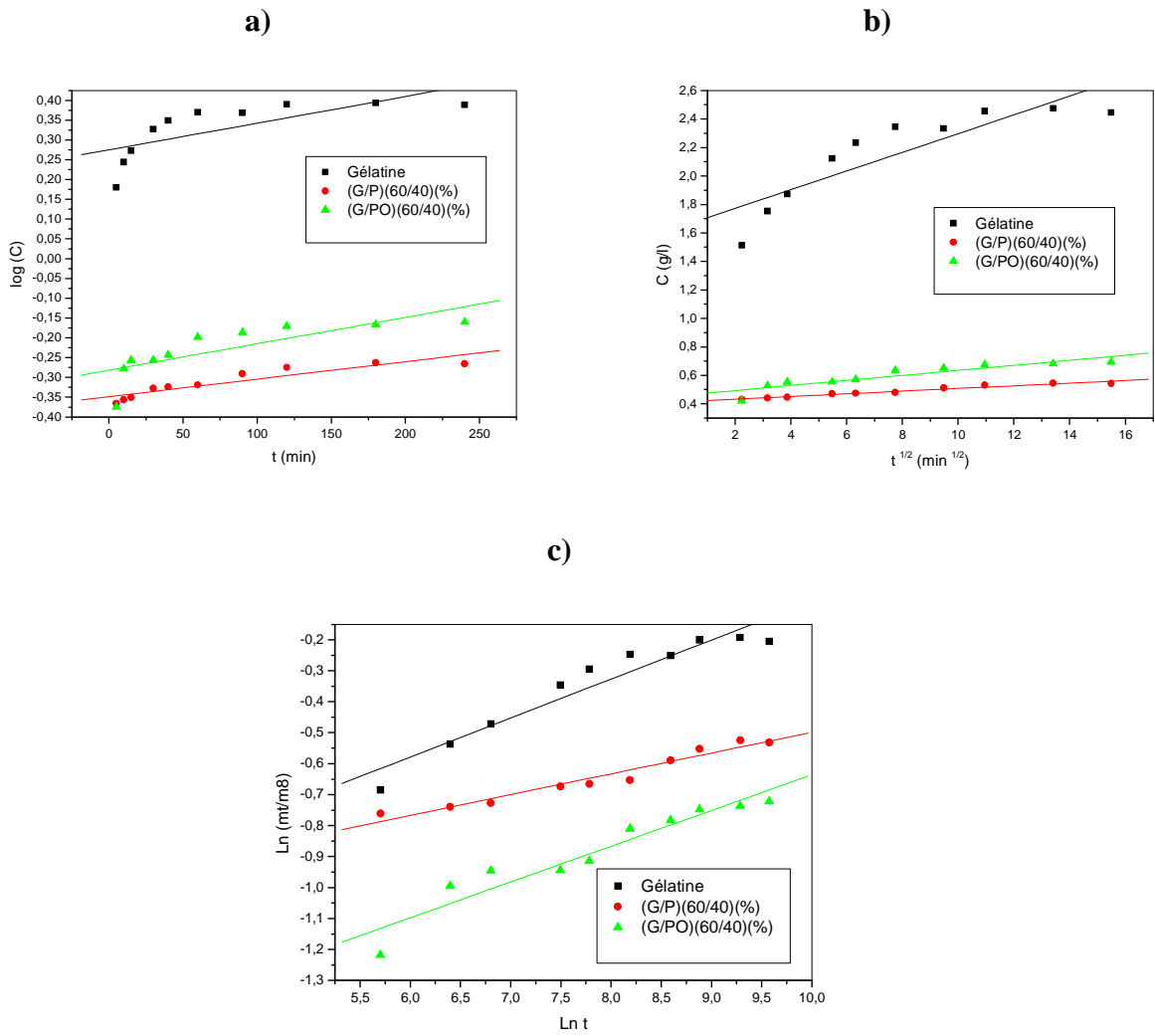
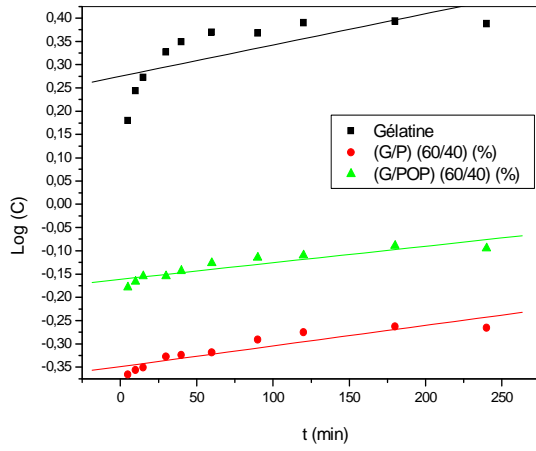
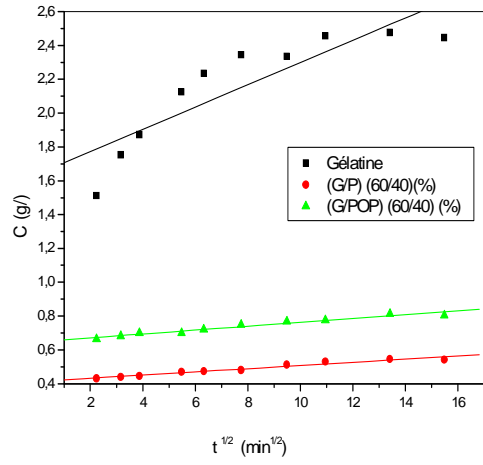


Figure A.7. Cinétique de la libération de la caféine à partir des films à base de gélatine, premier -ordre (a), Modèle d'Huguchi (b), l'équation de Korsmeyer (c).

a)



b)



c)

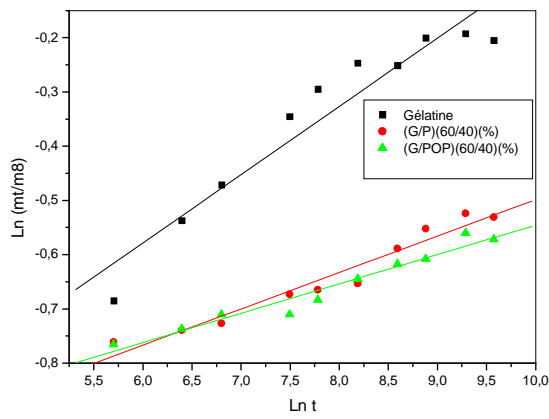


Figure A.8. Cinétique de libération de la caféine à partir des films à base de gélatine, premier-ordre (a), Modèle d'Huguchi (b), et l'équation de Korsmeyer (c).

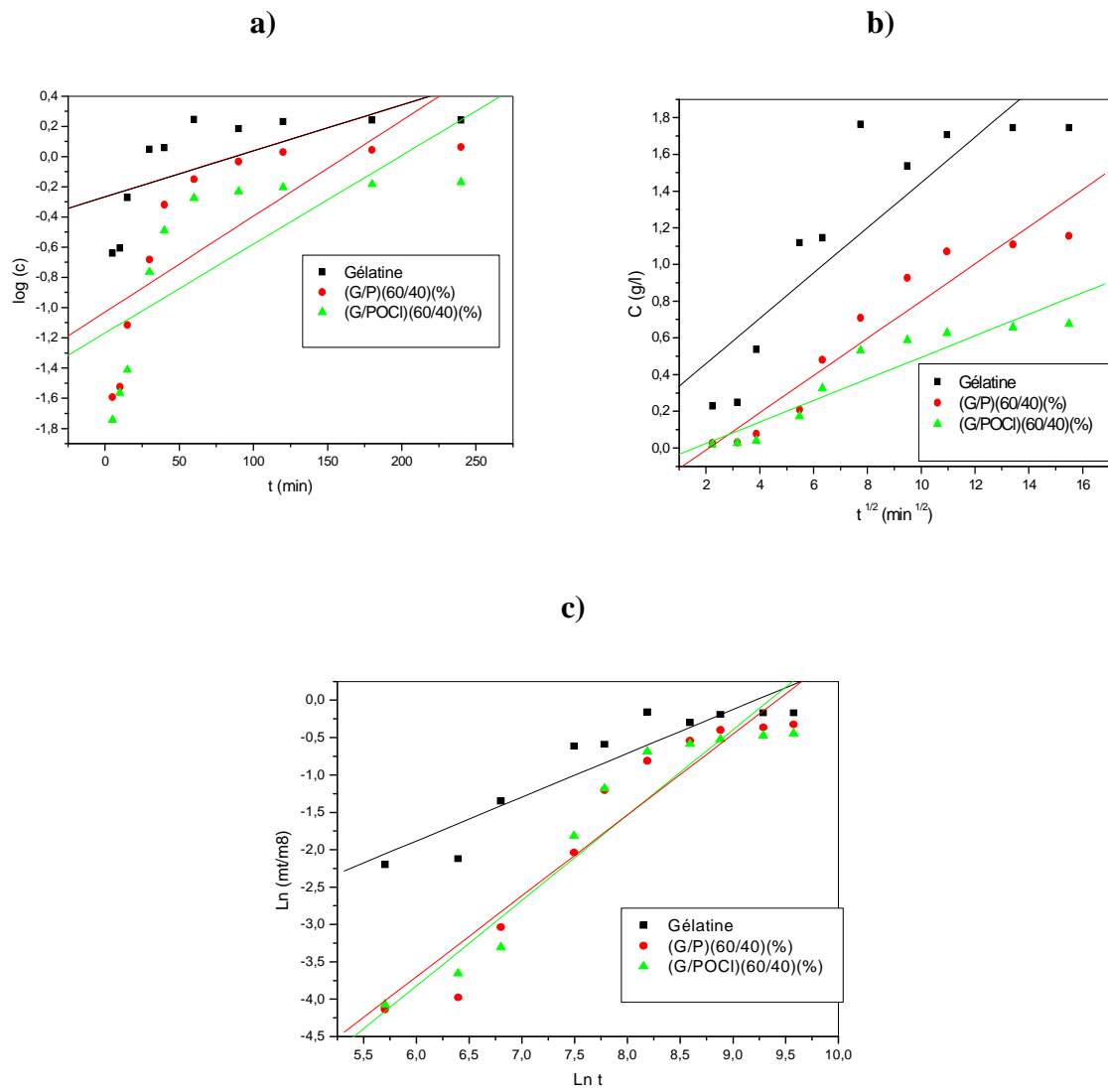
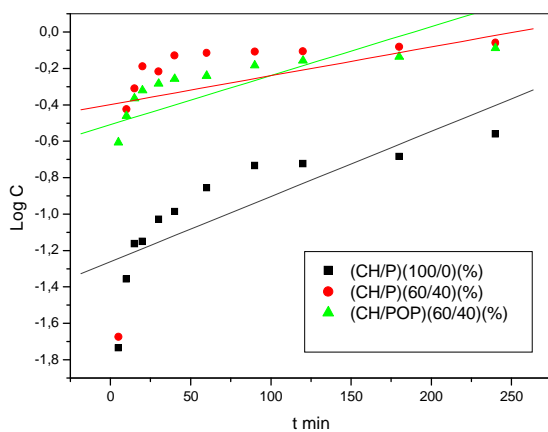
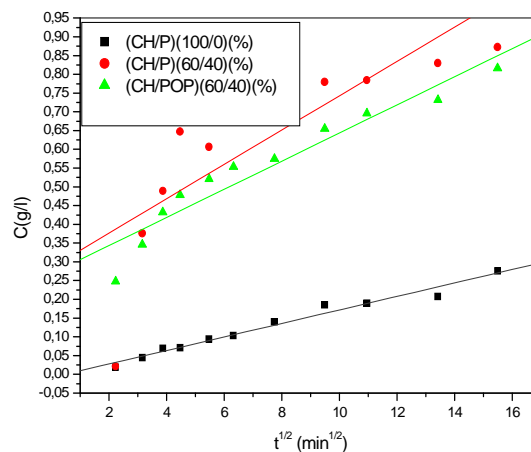


Figure A.9. Cinétique de la libération du paracétamol à partir des films à base de gélatine, premier -ordre (a), Modèle d'Huguchi (b), l'équation de Korsmeyer (c).

a)



b)



c)

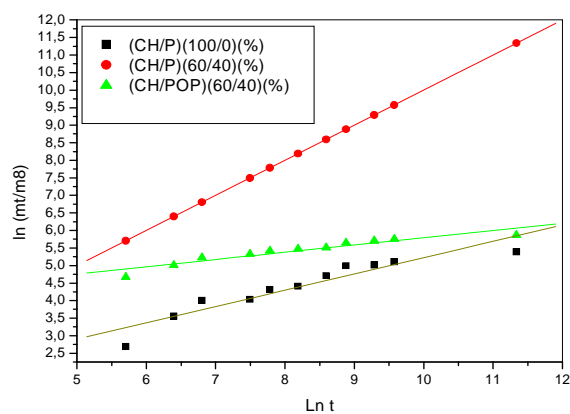
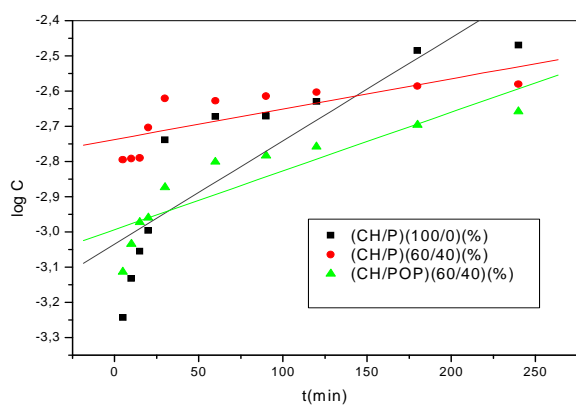
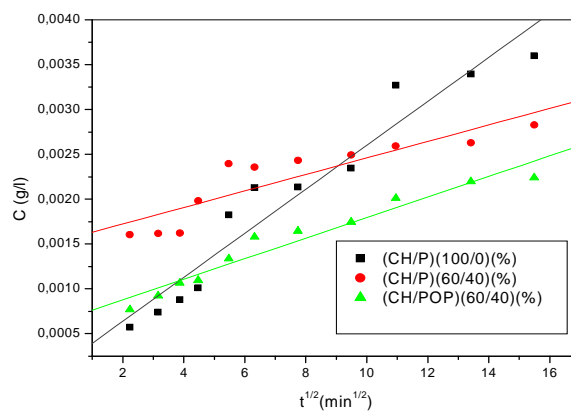


Figure A.14. Cinétique de libération de l'amoxicilline à partir des films à base du chitosane, premier -ordre (a), Modèle d'Huguchi (b), équation de Korsmeyer (c).

a)



b)



c)

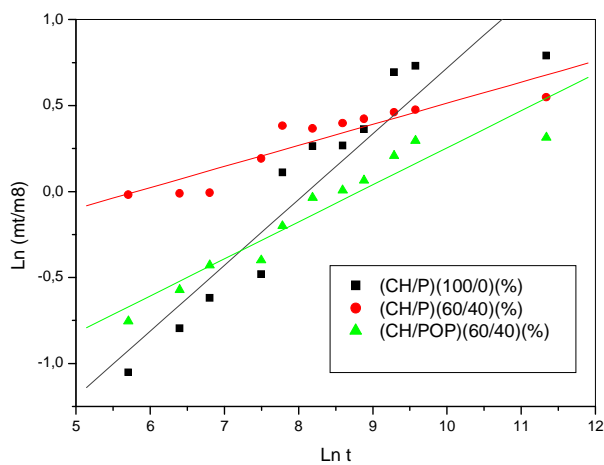


Figure A.15. Cinétique de libération du paracétamol à partir des films à base du chitosane, premier -ordre (a), Modèle d'Huguchi (b), l'équation de Korsmeyer (c).

TRAVAUX PUBLIÉS :

Publications internationales :

- **Chetouani A.**, Elkolli M., Bounekhel M., Benachour D. ; (2014) ; «Synthesis and properties of novel hydrogels from oxidized pectin crosslinked gelatin for biomedical applications». *Polymer Bulletin*, 71 (9), pp.2303-2316.
- **Chetouani A.**, Elkolli M., Bounekhel M., Benachour D. ; (2014) ; « Characterization and Bioevaluation of New Class of Hydrogels Based on Oxidized Pectin Crosslinked to Gelatin». *Journal of Biomaterials and Tissue Engineering*, 4 (6), pp. 465-470.
- **Chetouani A.**, Elkolli M., Bounekhel M., Benachour D. ; (2014) ; «Physicochemical characterization of gelatin-cmc composite edibles films from polyion-complex hydrogels». *Journal of the Chilean Chemical Society*, 59 (1), pp. 2279-2283.

Communications internationales :

- **Chetouani Asma**, Elkolli Meriem, Bouanane Zohra, Soltani Elkhamssa, «Caractérisation physicochimique des films contenant la gélatine et la CMC pour application dans le domaine biomatériau » ; communication oral, 2nd international symposium of chemistry on the organic Materials and renewable Energies 28 et 29 mai 2012Tebessa, Algérie.
- **Chetouani Asma**, Elkolli Meriem, Zaher Karima, « Physicochemical interaction between the proteins and polysaccharides » ; communication par affiche, 2nd african congress on biology and health, ACBH2012 10-12novembre 2012 Sétif, Algérie.
- Zaher Karima, **Chetouani Asma**, Elkolli Meriem, « Préparation et caractérisation de films biopolymères a base de gélatine en présence de deux polysaccharides le K-Caraghénane/Alginate de sodium » ; communication par affiche, 2nd african congress on biology and health, ACBH2012 10-12novembre 2012 Sétif, Algérie.
- **Chetouani Asma**, Elkolli Meriem, «Biodegradable gelatin microcarriers : the biocompatibility of a scaffolds or matrix for tissue engineering», communication par affiche, 4th international workshop on industrial Biotechnology, 10-11 Avril 2013. Telemcen, Algérie.

- **Chetouani Asma**, Elkolli Meriem, Bouanane Zohra, Soltani Elkhamsa, « Propriétés physico-chimique des films hydrocolloïdes à base de NaCMC et de gélatine en vue d'applications dans le domaine des biomatériaux », 5^{ème} congrès Maghrébin de génie des procédés, 2-4 juin **2013**. Boumerdes, Alger.
- **Chetouani Asma**, Elkolli Meriem, «Synthèse et caractérisations d'une nouvelle classe des biomatériaux pour la préparation de la peau», communication par affiche, 9^{ème} congrès Francophone de Génie des Procédés, 28-30 Avril **2014**. Agadir, Maroc.
- **Chetouani Asma**, Elkolli Meriem, «Caractérisation et bioévaluation d'une nouvelle classe d'hydrogels à base de gélatine réticulée par la pectine oxydée», communication par affiche, 35^{ème} journées du groupe Français d'Etude et d'Application des Polymères, 12-13 Juin **2014**. Rouen, France.

Communications nationales :

- **Chetouani Asma**, Elkolli Meriem, « Recherche de nouveaux biomatériaux dans le génie tissulaire » ; communication orale, 1ere journée d'étude des Doctorants (1^{ère} JED'11) 25 mai **2011**Sétif, Algérie.
- **Chetouani Asma**, Elkolli Meriem, « L'étude de l'effet de la NaCMC sur les propriétés de la gélatine » ; communication par affiche, 1ere journée d'étude des Doctorants (1^{ère} JED'11) 25 Mai **2011**Sétif, Algérie.
- **Chetouani Asma**, Elkolli Meriem, « Développement dans le génie tissulaire d'un biomatériau polyionique à base de gélatine/carboxyméthylcellulose » ; 4^{ème} séminaire Nationale sur les polymères (SNP4) ; 21 et 22 septembre **2011** Bejaia, Algérie
- **Chetouani Asma**, Elkolli Meriem ; « Etude des phénomènes d'hydroabsorption de diffusion et de décomposition des films hydrocolloïdes » ; communication par affiche, première journée nationales sur les matériaux JNMK2011 Novembre **2011** Khenchla, Algérie.
- **Chetouani Asma**, Elkolli Meriem, « Elaboration et études structurales des films à base de gélatine/carboxyméthylcellulose » ; communication Orale, 2^{ème} journée du Doctorant (2ème JD'12) 24 avril **2012** Sétif, Algérie.
- **Chetouani Asma**, Elkolli Meriem, « Caractérisation physico-chimique des films hydrocolloïdes à base de polysaccharides et de protéines en vue d'application dans le

domaine des biomatériaux» ; communication par affiche, 2^{ème} journée du Doctorant (2^{ème} JD'12) 24 avril **2012** Sétif, Algérie.

- **Chetouani Asma**, Elkolli Meriem, Bouanane Zohra, Soltani Elkhamsa, « L'étude quantitative et qualitative des interactions entre la gélatine et la CMC pour des applications dans le domaine des biomatériaux » ; communication par affiche, 2^{ème} séminaire Nationale sur les matériaux et leurs applications, SENAMAP'12 22-24 mai **2012** USTHB, Algérie.
- Soltani Elkhamsa, Baitiche Milad, **Chetouani Asma**, « Développement de nouveaux systèmes à base de polymères biodégradables pour la libération prolongée d'anti-inflammatoires » ; communication par affiche, 8^{ème} Symposium national de chimie organique industrielle et pharmaceutique, SNCOIP 8, 07-08 novembre **2012** Sidi-Fredj, Alger.
- **Chetouani Asma**, Elkolli Meriem, « Etude et élaboration de biofilms à base de polysaccharides et protéines pour des applications pharmaceutiques », communication par affiche, 5^{ème} journées de chimie, JCH'5, 26-27 mars **2013**. Bordj El Bahri, Alger.
- **Chetouani Asma**, Elkolli Meriem, « Modification chimique d'un polysaccharide et étude des propriétés physico-chimique », 3^{ème} journée du Doctorant (3^{ème} JD'13) 28 avril **2013** Sétif, Algérie.
- **Chetouani Asma**, Elkolli Meriem, « Préparation et dosage des protéines par les films à base de gélatine/carboxyméthylcellulose sodique réticulés par le glutaraldehyde », First seminar in engineering, Health and Analysis, 5 mai **2013**. USTHB, Alger.
- Bouanane Zohra, Teniou Abderahmen, Bounekhel Mahmoud, **Chetouani Asma**, « A practical and efficient synthesis of 1,2,4-Triazoles Quinoxalines Derivatives catalyzed by Ferric Chloride », First seminar in engineering, Health and Analysis, 5 mai **2013**. USTHB, Alger.
- **Chetouani Asma**, Elkolli Meriem, « Activité antibactérienne d'une nouvelle classe d'hydrogel à base de pectine et du chitosane », 40^{ème} Anniversaire de la création de l'U.S.T.H.B, 20-24 Avril **2014**. USTHB, Alger.
- **Chetouani Asma**, Elkolli Meriem, « Caractérisation des hydrogels à base de Gélatine/Pectine réticulée par le glutaraldehyde » ; communication par affiche, 4^{ème} journée du Doctorant (JD'14) 7 mai **2014**. Sétif, Algérie.

Résumé :

L'étude des interactions physique et chimique entre la pectine avant et après son oxydation est réalisée en présence de la gélatine et/ou le chitosane. L'oxydation de la pectine est obtenue par action de l'hypochlorite de sodium ou du periodate de potassium. Les nouveaux groupements carbonyles et carboxyles ainsi formés sont quantifiés. Les degrés de méthylation sont mesurés. La caractérisation des matériaux préparés est faite par IR-TF, DRX et ATG. Cependant, les propriétés mécaniques de traction et la capacité d'hydroabsorption sont étudiées. Les cinétiques des libérations de principes actifs possédants différents pka et différentes structures sont toutefois estimées. L'hémocompatibilité avec le sang humain aussi bien l'activité antibactérienne sont réalisées.

Mots clés : Pectine, Oxydation, Gélatine, Chitosane, Propriétés physico-chimiques et mécaniques, Libération médicamenteuse, Activité antibactérienne.

Summary:

The study of chemical and physical interaction between pectin before and after its oxidation is carried out with gelatin and/or chitosan. The oxidation of pectin is obtained from action of sodium hypochlorite or potassium periodate. Carbonyl and carboxyl groups which are formed are quantified. The degree of esterification is determined. The characterization of new materials is specially made by FTIR, XRD and TGA. Mechanical tensile properties and capacity of swelling are studied. Also, the release kinetic of drugs with different pka and structure are estimated. Finally, the biocompatibility of hydrogels with human blood and the antibacterial activity are realized.

Key words: Pectin, Oxidation, Gelatin, Chitosan, Chemical, physical and mechanical properties, Drug release, antibacterial activity.