

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Ferhat Abbas Sétif-1  
Faculté de **Technologie**  
Département de **Génie des Procédés**

## **MEMOIRE DE MASTER**

**DOMAINE:** Sciences et Techniques

**FILIÈRE:** Génie des Procédés

**OPTION:** Génie des procédés pharmaceutiques

**Thème :**

**Etude de l'oxydation de la carboxyméthylcellulose par divers agents oxydants et évaluation de leur réactivité biologique et physico-chimique en présence du chitosane et/ou de la gélatine.**

**Présenté Par :**

**Mme. Douib Sarra**

**Encadrée Par :**

**Pr. El Kolli Merbah Meriem**

**Date de soutenance: 22 Juin 2014**

### **Jury de Soutenance:**

<b>Président:</b>	<b>BAITICHE Milad</b>	<b>Professeure</b>	<b>Université de Sétif-1</b>
<b>Encadreur:</b>	<b>EL KOLLI Meriem</b>	<b>Professeure</b>	<b>Université de Sétif-1</b>
<b>Co-Encadreur:</b>	<b>BENGHANEM Saida</b>	<b>Doctorante</b>	<b>Université de Sétif-1</b>
<b>Examineur 1:</b>	<b>EL KOLLI Hayat</b>	<b>M A A</b>	<b>Université de Sétif-1</b>

**Année Universitaire: 2013/2014**

## **Remerciements**

*Au terme de ce modeste travail, je voudrai en premier lieu exprimer ma profonde gratitude à Dieu qui m'a donné la force et la patience pour réaliser ce travail.*

***A ma directrice de mémoire, Mme EL KOLLI MERBAH Meriem;***

*Pour l'honneur que vous m'avez fait en acceptant la direction de ce mémoire, je vous remercie également pour votre disponibilité, vos conseils avisés et le temps que vous m'avez accordé.*

*Veillez trouver en ce travail l'expression de mes sentiments les plus sincères.*

***A mon co-encadreur, Melle BENGHANEM Saida;***

*Je souhaite adresser mes remerciements les plus sincères à mon co-encadreur à qui j'exprime ma gratitude pour sa gentillesse, ainsi que pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'elle a bien voulu me consacrer.*

***Au Président de mémoire, Professeur DJERBOUA BAITICHE Milad;***

*Je suis très sensible à l'honneur que vous me faites en présidant le jury.  
Veillez trouver ici, l'expression de mon profond respect et de ma gratitude.*

***A mon examinateur, Mme El KOLLI Hayat;***

*Je vous remercie de l'honneur que vous me faites en acceptant de juger ce mémoire.  
Veillez trouver ici l'expression de mon profond respect et de ma sincère gratitude.*

***A mes collègues Randa et Hadjer;***

*Pour leur aide et pour leurs encouragements tout au long de l'élaboration de ce mémoire et je n'oublierai pas tous les moments que nous avons passés ensemble.*

## ***Dédicace***

*A la personne devant laquelle tous les mots de l'univers sont incapables d'exprimer mon amour et mon affection pour elle, à l'être qui m'est le plus cher,*

*A ma douce mère **Zineb**.*

*A ce qui a toujours été une source de tendresse, d'amour et d'encouragement, à la lune de ma vie, mon cher père **Abd Elhamid**.*

*A mon cher mari, Toufik.*

*A mes chers frères: Moussa, Abd Elmalek et Ahmed.*

*A mes chères sœurs: Razika, Djamila, Karima et Hadjer*

*A tous mes neveux et mes nièces, spécialement Rayhane*

*Aucun mot ne pourra exprimer ma gratitude pour mes très chères : Sabrina et Sonia.*

*A mes amies: Nesrine, Sara, Hadjer.*

*A tous ceux qui me sont chers.*

## Liste des figures

<b>Figure I.1:</b> La structure de l'amidon (Nair, 2006).....	05
<b>Figure I.2:</b> Motif de répétition idéal de $\lambda$ -carraghénanes (a) ( $R = H$ ou $SO_3^-$ ), (b) de $\tau$ -carraghénanes ( $R_1 = R_2 = SO_3^-$ ) et du $\kappa$ -carraghénane ( $R_1 = H$ ; $R_2 = SO_3^-$ ) (Lafargue, 2007).....	05
<b>Figure I.3:</b> Formule de structure de la chitine (Peroglio, 2008).....	06
<b>Figure I.4:</b> La structure de la chitine et de la chitosane (Shahidi, 2005).....	07
<b>Figure I.5:</b> Représentation de la chaîne de cellulose (Kamel <i>et al.</i> , 2008).....	09
<b>Figure I.6:</b> Liaisons hydrogène inter et intramoléculaires au sein de la fibre de cellulose.....	11
<b>Figure I.7:</b> Morphologie des microfibrilles constituant les fibres de cellulose.....	11
<b>Figure I.8:</b> Modifications chimiques les plus rencontrées en relation avec la structure du polymère (A Isogai, 2000).....	13
<b>Figure I.9:</b> Préparation de la méthylcellulose (Dawsey, 1994).....	14
<b>Figure I.10:</b> Synthèse des esters de cellulose à partir des dérivés des acides carboxyliques (Berlioz, 2007).....	14
<b>Figure I.11:</b> Nitration de la cellulose (Heinze, 2004).....	15
<b>Figure I.12:</b> Schéma général de la formation des nitrites de cellulose (Heinze, 2004)...	15
<b>Figure I.13:</b> Estérification de la cellulose par des groupes sulfates (Heinze, 2004).....	15
<b>Figure I.14:</b> Exemples de désoxyhalogénéation de cellulose avec DS : le degré de la substitution.....	17
<b>Figure I.15:</b> Oxydation des hydroxyles primaires en C6 de la cellulose par le système TEMPO/NaClO/NaClO <sub>2</sub> dans l'eau à pH 3,5-6,8 (Masayuki <i>et al.</i> , 2009)	19
<b>Figure I.16.</b> Oxydation de la carboxyméthylcellulose par le permanganate de potassium (Refat <i>et al.</i> , 2009).....	20
<b>Figure I.17:</b> Oxydation de la cellulose par le peroxyde d'hydrogène (Haskins <i>et al.</i> , 1960).....	22
<b>Figure I.18:</b> Oxydation de la cellulose par le periodate (Hongli <i>et al.</i> , 2011).....	23
<b>Figure I.19:</b> Structure chimique de l'oxylcellulose.....	23
<b>Figure I.20:</b> Structure de La méthylcellulose.....	24
<b>Figure I.21:</b> Structure moléculaire de la carboxyméthylcellulose sodique (Sik Hwang, 2004).....	24

<b>Figure I.22:</b> Voie de production de la carboxyméthylcellulose sodique ( <b>Fontanille, 2002</b> ).....	25
<b>Figure I.23:</b> Formule chimique générale des acides aminés.....	26
<b>Figure I.24.</b> Structure de la gélatine ( <b>Fushini, 1997</b> ).....	27
<b>Figure II.1.</b> Schéma d'un microscope électronique à balayage.....	42
<b>Figure II.2.</b> Interactions électrons-matière en MEB ( <b>Benmachou, 2005</b> ).....	43
<b>Figure.II.3.</b> Montage expérimental utilisé pour les mesures voltampérométriques.....	48
<b>Figure.III.1:</b> Titration de pH de chitosane, chitosane/carboxyméthylcellulose et chitosane/carboxyméthylcellulose oxydée.....	58
<b>Figure.III.2:</b> Titration de pH de gélatine, gélatine/carboxyméthylcellulose et gélatine /carboxyméthylcellulose.....	58
<b>Figure III.3.</b> Structure de deux unités adjacentes monomériques du sel NaCMC ( <b>Ibrahim et al., 2010</b> ).....	59
<b>Figure.III.4.</b> Spectres IR-TF de (a): la CMC, (b): la CMC oxydée par H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (13,85%) seul (c): la CMC oxydée par H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (13,85%) en présence du CuSO <sub>4</sub> (0,5%).....	61
<b>Figure.III.5.</b> Spectres IR-TF de (a) : la CMC, (b): la CMC oxydée par H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (13,85%)/ CuSO <sub>4</sub> (0,5%), (c): la CMC oxydée par H <sub>2</sub> O (27,75) / CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (0,5%), (d) : la CMC oxydée par H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (43,3%)/CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (0,5%).....	62
<b>Figure III.6.</b> Spectres IR-TF de la CMC oxydée par H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (14.2%) et CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (0.5%) en fonction du temps : (a):1h, (b):3h, (c): 5h, (d): 24 h.....	63
<b>Figure.III.7.</b> Spectres IR de la CMC oxydée par H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (13,85%) et CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (0,5%) en fonction de la température (a): CMC, (b) : 75°C, (c): 30°C, (d): 60°C.....	63
<b>Figure III.8.</b> Spectre IR de (a): la CMC, (b): la CMC oxydée par periodate, (c): la CMC oxydée par l'hypochlorite, (d): la CMC oxydée par H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (13,85%)/ CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (0,5%) .....	64
<b>Figure.III.9.</b> La réaction entre la carboxyméthylcellulose et le chitosane.....	65
<b>Figure.III.10.</b> Spectres IR-TF de (a): la CMC, (b): le chitosane, (c): la CMC/chitosane (40/60) (%).....	65
<b>Figure. III.11.</b> La réaction entre la carboxyméthylcellulose oxydée par H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> et CuSO <sub>4</sub> et le chitosane.....	66
<b>Figure. III.12.</b> Spectres IR-TF de (a): la CMCO, (b): chitosane, (c):	

CMCO/chitosane (40/60) (%).....	66
<b>Figure III.13.</b> Spectres IR-TF de (a): la CMC/chitosane (40/60)(%), (b): la CMCO/chitosane (40/60)(%).....	67
<b>Figure III.14:</b> Spectres IR-TF (a) : la gélatine (a), (b) : la CMC, (c) : la gélatine/CMC.....	70
<b>Figure III.15.</b> Spectres IR-TF de (a) : la CMCO, (b) : la gélatine, (c) : CMCO/gélatine (40/60) (%).....	71
<b>Figure III.17.</b> Spectres IR-TF de (a): la CMC/gélatine (40/60)(%), (b): la CMCO/gélatine (40/60)(%).....	72
<b>Figure.III.18.</b> Spectres UV-Vis de la CMC et la CMC oxydée par $H_2O_2$ et $CuSO_4.5H_2O_2$ en fonction de la concentration du $CuSO_4$ .....	73
<b>Figure.III.19.</b> Spectres UV-Vis de la CMC et la CMC oxydée par $H_2O_2$ et $CuSO_4.5H_2O_2$ en fonction de la concentration de peroxyde d'hydrogène	73
<b>Figure.III.20.</b> Spectres UV-Vis de la CMC et la CMC oxydée par $H_2O_2$ et $CuSO_4.5H_2O_2$ en fonction de la température.....	74
<b>Figure III.21.</b> Diffractogrammes de la CMC et la CMC oxydée par $H_2O_2$ (13,85%) et $CuSO_4.5H_2O_2$ (0.5%).....	76
<b>Figure.III.22.</b> Diffractogrammes du chitosane, (ch/CMC) (60/40) (%), (ch/CMCO) (60/40) (%).....	7
<b>Figure III.23.</b> Diffractogrammes de la gélatine, (G/CMC) (60/40) (%), (G/CMCO) (60/40) (%).....	78
<b>Figure III.24.</b> Diffractogramme de (a): (G/CMC) (60/40) (%), (b): (G/CMCO) (60/40) (%).....	78
<b>Figure III.25.</b> MEB des films (a): G/CMC (60/40) (%), (b): G/CMCO (60/40) (%)...	79
<b>Figure III.26.</b> MEB des films (a): ch/CMC (60/40) (%), (b): ch/CMCO (60/40) (%)...	79
<b>Figure III.27.</b> Essais de compatibilité avec le sang avant et après centrifugation :(a) : control négatif, (b) : control positif. (c) la CMC.....	80
<b>Figure III.28.</b> Voltammétrie cyclique d'une solution aqueuse à 0,1 M de KCl, la CMC et CMCO à $V_b$ (vitesse de balayage)= 50 mV/s sur une électrode de carbone vitreux, et électrode auxiliaire, le platine.....	82
<b>Figure III.29.</b> Voltammétrie cyclique d'une solution aqueuse à 0,1 M de KCl, à $V_b$ (vitesse de balayage)= 50 mV/s sur une électrode de carbone vitreux, et	

électrode auxiliaire, le platine.....	83
<b>Figure III.30.</b> Voltammétrie cyclique d'une solution aqueuse à 0,1 M de KCl, à $V_b$ (vitesse de balayage)= 50 mV/s sur une électrode de carbone vitreux, et électrode auxiliaire, le platine.....	84

## Liste des tableaux

<b>Tableau I.1 :</b> Teneur en cellulose de quelques espèces végétales .....	09
<b>Tableau I.2 :</b> Degré de polymérisation (DP) de la cellulose provenant de différentes espèces végétales. ....	10
<b>Tableau I.3 :</b> Production mondiale d'esters de cellulose commerciaux. ....	14
<b>Tableau II.1.</b> Volume, nombre de moles, masse et pourcentage du peroxyde d'hydrogène/CMC.....	31
<b>Tableau II.2.</b> Nombre de moles, masse et pourcentage de sulfate de cuivre utilisés. ....	33
<b>Tableau II.3:</b> Degré chlorométrique, % Chlore actif et gramme de Cl actif par L. ....	34
<b>Tableau II.4:</b> Composants du Gélose Muller – Hinton. ....	46
<b>Tableau.III.1:</b> Teneur en carbonyle de la carboxyméthylcellulose oxydée par $H_2O_2$ (13,85%) en fonction du ratio de $CuSO_4$ à $T = 45^\circ C$ , $pH = 5,5$ et $t=3h$ . ....	50
<b>Tableau.III.2:</b> Teneur en carbonyle de la carboxyméthylcellulose oxydée par $H_2O_2$ et $CuSO_4$ en fonction de la concentration de $H_2O_2$ en présence du $CuSO_4$ (0.5%) à $T = 45^\circ C$ , $pH = 5,5$ et $t=3 h$ . ....	52
<b>Tableau.III.3:</b> Teneur en carbonyle de la carboxyméthylcellulose oxydée par $H_2O_2$ (13,85%) en présence du $CuSO_4$ (0.5%) en fonction du temps à $T = 45^\circ C$ et $pH = 5,5$ . ....	52
<b>Tableau.III.4:</b> Teneur en carbonyle de la carboxyméthylcellulose oxydée par $H_2O_2$ (13,85%)/ $CuSO_4$ (0.5%) en fonction de la température à $pH = 5,5$ et $t=3 h$ .....	53
<b>Tableau.III.5.</b> Teneur en carbonyle de la carboxyméthylcellulose oxydée par $H_2O_2$ (13,85%) et du $CuSO_4$ (0.5%) en fonction du $pH$ à $T = 45^\circ C$ et $t=3h$ . ....	53
<b>Tableau.III.6:</b> Tableau d'avancement. ....	55
<b>Tableau.III.7:</b> Teneur en carbonyle et carboxylique pour l'oxydation par l'hypochlorite de sodium et le periodate de potassium. ....	57
<b>Tableau.III.8:</b> Valeurs des $G_{max}$ de différentes compositions des films gélatine, (gélatine /carboxyméthylcellulose) et (gélatine /carboxyméthylcellulose oxydée). ....	75
<b>Tableau III.9.</b> Potentiel hémolytique des hydrogels.....	80
<b>Tableau III.10.</b> Valeurs de l'activité antibactérienne des films après $t=24 h$ . ....	81



# Sommaire

Sommaire.....	i
Liste des figures .....	vii
Liste des tableaux .....	xi
Liste des abréviations.....	xii
Introduction générale. ....	01

## *Chapitre I: rappel bibliographique sur les biopolymères*

I. Les polysaccharides. ....	03
I.1. L'amidon. ....	04
I.2. La carraghénane.....	05
I.3. La chitine et le chitosane.....	06
I.3.1. La chitine.....	06
I.3.2. Le chitosane.....	06
• Solubilité.....	08
I.4. La cellulose.....	08
I.4.1. Propriétés et caractéristiques. ....	10
I.4.2. Le gonflement de la cellulose.....	11
I.4.3. Modifications chimiques. ....	12
I.4.3.1. Ethérification. ....	13
I.4.3.2. Estérification.....	14
• Nitrate de cellulose.....	15
• Nitrites de cellulose .....	15
• Sulfates de cellulose .....	15
• Acétates de cellulose. ....	16
I.4.3.3. Désoxycelluloses.....	16
I.4.3.4. Les différentes réactions d'oxydation de la cellulose. ....	17

• Oxydation par le chlorite de sodium. ....	17
• Oxydation par le TEMPO. ....	18
• Oxydation par le permanganate de potassium de la carboxyméthylcellulose. ....	19
• Oxydation par le H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> . ....	21
• Oxydation par le periodate. ....	22
I.4.4. Les dérivés de la cellulose. ....	23
• L'oxycellulose. ....	23
• La méthylcellulose ....	23
• La carboxyméthylcellulose. ....	24
a. Propriétés de la carboxyméthylcellulose sodique. ....	25
b. Utilisation de la carboxyméthylcellulose ....	26
II. les protéines. ....	26
II.1. La gélatine. ....	26
II.1.1 Structure. ....	27
II.1.2. Propriétés. ....	27
• Solubilité. ....	27
• Gélification. ....	27
II.1.3. Le pouvoir filmogène de gélatine. ....	28
<b><i>Chapitre II: Partie expérimentale</i></b>	
II. Matériels et Méthodes. ....	29
II.1. Matériels. ....	29
II.2. Méthodes ....	30
II.2.1. Oxydation de la carboxyméthylcellulose par H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> . ....	30
II.2.2. Oxydation de la carboxyméthylcellulose par le periodate de potassium(KIO <sub>4</sub> ). ....	32
II.2.3. Titrage indirect de l'eau de javel. ....	32
II.2.4. Oxydation de la carboxyméthylcellulose par l'hypochlorite de sodium (NaOCl). ....	34
II.2.5. Préparation des films de la chitosane/ CMC et/ou CMC oxydée. ....	34

II.2.6. Préparation des films de gélatine/CMC et/ou gélatine/CMC oxydée.....	35
II.3. Identification. ....	36
II.3.1. Dosages chimiques. ....	36
II.3.1.1. Détermination de la teneur en carbonyle. ....	36
II.3.1.2. Détermination de la teneur en carboxyle. ....	36
II.3.1.3. Détermination des amino-groupes libres. ....	37
II.3.2. Spectrophotométrie infrarouge (IR-TF).....	37
a. Principe. ....	37
b. Appareil. ....	38
II.3.3. La spectrophotométrie UV-Vis. ....	38
a. Principe. ....	38
b. Appareil. ....	39
c. Analyse des poudres par UV-Vis. ....	39
II.3.4. Tests de gonflement.....	39
II.3.5. Radiocristallographie par diffraction des rayons X (DRX). ....	40
a. Principe. ....	40
b. Appareil. ....	41
II.3.6. Microscopie électronique à balayage (MEB).....	41
a. Principe. ....	41
b. Appareil. ....	42
II.3.7. Activité antihémostatique in vitro.....	42
II.3.8. Activité antibactérienne. ....	43
II.3.8.1. Bactéries. ....	43
II.3.8.2. Amoxicilline.....	43
II.3.8.3. Gentamicine.....	44
II.3.8.4. Trim-sulfa.....	44

II.3.8.5. Préparation du milieu de culture.....	45
II.3.8.6. Souches bactériennes et milieux de culture.....	46
II.3.8.7. Ensemencement.....	46
II.3.9. Etude de l'activité antioxydante par méthode électrochimique.....	46
a. Appareillage.....	47
b. Solutions.....	47
c. Mode opératoire.....	48

### ***Chapitre III: Résultats et discussions***

III.1. Dosage chimique.....	49
III.1.1. Oxydation de la CMC par $H_2O_2/CuSO_4$ .....	49
III.1.1.1. Détermination de la teneur des groupements carbonyles.....	49
III.1.1.1.1. Effet de la concentration du catalyseur $CuSO_4.5H_2O$ .....	49
III.1.1.1.2. Effet de la concentration de l'agent oxydant $H_2O_2$ .....	50
III.1.1.1.3. Effet du temps.....	51
III.1.1.1.4. Effet de la température.....	51
III.1.1.1.5. Effet du pH.....	52
III.1.2. Oxydation de la CMC par l'hypochlorite de sodium et par le periodate de potassium....	53
III.1.2.1. Titrage indirect de l'eau de Javel.....	53
III.1.2.2. Détermination de la teneur en carbonyle et en carboxyle.....	56
III.1.3. Détermination des amino-groupes libres dans les hydrogels.....	56
III.2. Spectroscopie IR-TF.....	58
III.2.1. Spectroscopie IR-TF de la carboxyméthylcellulose oxydée par le peroxyde d'hydrogène et sulfate e cuivre.....	58
III.2.1.1. Effet de la concentration de l'agent oxydant $H_2O_2$ .....	60
III.2.1.2. Effet du temps.....	61
III.2.1.3. Effet de température.....	61

III.2.2. Spectroscopie IR-TF de la carboxyméthylcellulose oxydée par l'hypoclorite de sodium et le periodate.....	62
III.2.3. Spectroscopie IR-TF du mélange CMC/ chitosane (40/60) (%). ....	63
III.2.4. Spectroscopie IR-TF du mélange CMCO/ chitosane (40/60) (%). ....	65
III.2.5. Spectroscopie IR-TF des mélanges (Chitosane/ carboxyméthylcellulose) et (Chitosane/ carboxyméthylcellulose oxydée). ....	66
III.2.6. Spectroscopie IR-TF des mélanges (gélatine/carboxyméthylcellulose). ....	67
III.2.7. Spectroscopie IR-TF de mélange (gélatine/carboxyméthylcellulose oxydée) ....	70
III.2.8. Spectroscopie IR-TF des mélanges (gélatine/carboxyméthylcellulose) et (gélatine/ carboxyméthylcellulose oxydée). ....	71
III.3. Spectres UV-Vis.....	71
III.3.1. Effet de la concentration du CuSO <sub>4</sub> . ....	71
III.3.1. Effet de la concentration de peroxyde d'hydrogène.....	72
III.3.3. Effet de la température. ....	73
III.4. Taux de gonflement.....	73
III.5. Diffraction des rayons X.....	74
III.5.1. DRX de la carboxyméthylcellulose et carboxyméthylcellulose oxydée. ....	74
III.5.2. DRX du Chitosane.....	75
III.5.3. DRX de la chitosane/carboxyméthylcellulose et chitosane/ carboxyméthylcellulose oxydée. ....	75
III.5.4. DRX de gélatine/carboxyméthylcellulose et gélatine/carboxyméthylcellulose oxydée. .	76
III.6. Microscopie électronique à balayage (MEB). ....	78
III.7. Evaluation de l'activité antihémolytique in vitro.....	79
III.8. Activité antibactérienne. ....	80
III.9. L'activité antioxydante par voie électrochimique.....	81
III.9.1. L'activité antioxydante de carboxyméthylcellulose et carboxyméthylcellulose oxydée.	81

III.9.2. L'activité antioxydante de chitosane/carboxyméthylcellulose et chitosane/ carboxyméthylcellulose oxydée.....	82
III.9.3. L'activité antioxydante de gélatine /carboxyméthylcellulose et gélatine/ carboxyméthylcellulose oxydée.....	83
Conclusion.....	84
Références bibliographiques. ....	86
Annexes.....	95

### III.1. Dosage chimique :

#### III.1.1. Oxydation de la CMC par $\text{H}_2\text{O}_2/\text{CuSO}_4$ :

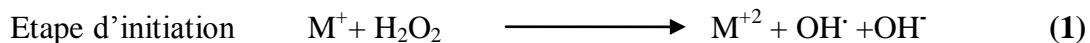
##### III.1.1.1. Détermination de la teneur des groupements carbonyles :

###### III.1.1.1.1. Effet de la concentration du catalyseur $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ :

Le mécanisme de la réaction d'oxydation de la carboxyméthylcellulose par le peroxyde d'hydrogène est très complexe. Il a été démontré suite aux différentes études sur la cellulose (Zeronian *et al.*, 1995; Neevel, 2002) que la réaction est radicalaire. Le **tableau III.1** indique une teneur en carbonyle suite à la réaction de  $\text{H}_2\text{O}_2$  seul égale à 0,97%.

La réaction conduit à la production d'entités radicalaires comme les  $\text{OH}^\bullet$ . La méthode usuelle d'activation de ces derniers est l'utilisation des sels ou d'oxydes métalliques qui catalysent la réaction de décomposition. Ils sont à base du fer ou de cuivre (Roques, 1990).

Toutefois, le couple  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$  est appelé **réactif de Fenton**. Dans notre travail, nous avons utilisé comme catalyseur, le cuivre. Et selon la bibliographie (Zeronian *et al.*, 1995), les principales réactions mises en jeu sont:



Le **tableau III.1** montre l'effet de la variation de la concentration du catalyseur, le  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  sur la teneur en carbonyle (%).

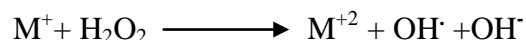
On observe que la teneur en carbonyle augmente avec la concentration de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  pour atteindre à 1% de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  une teneur élevée à une valeur égale à 5,31% d'oxydation. La concentration du peroxyde d'hydrogène est maintenue à 13,85%.

**Tableau III.1.** Teneur en carbonyle de la carboxyméthylcellulose oxydée par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (13,85%) en fonction du ratio de CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O à T =45°C, pH= 5,5 et t=3 h.

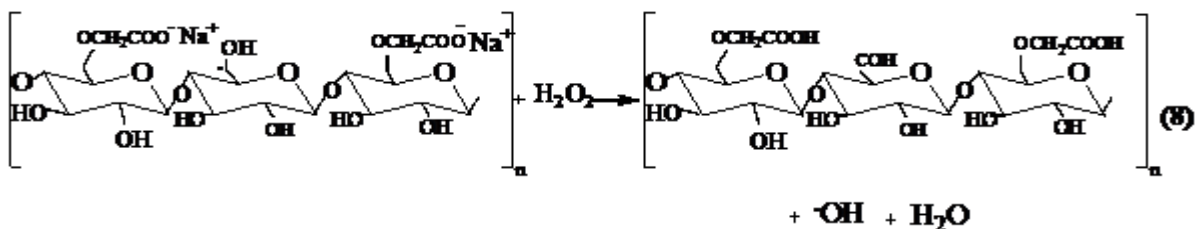
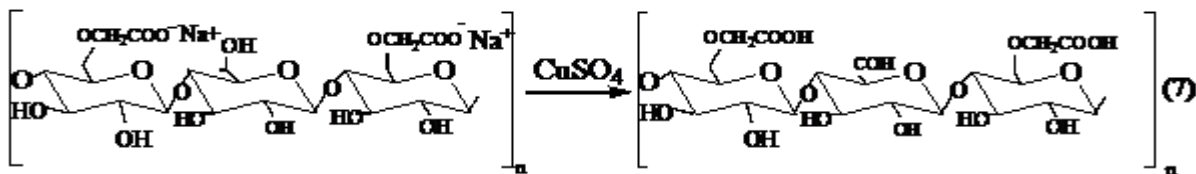
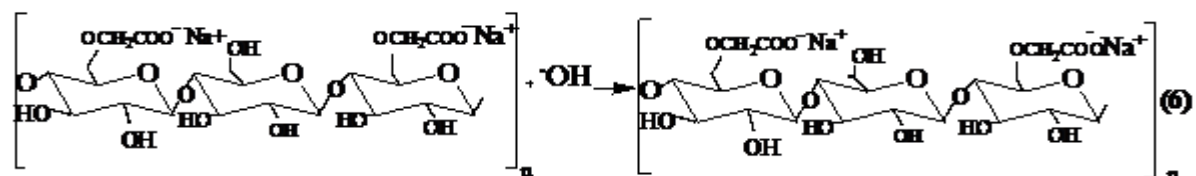
Masse de CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O(g)/2g CMC (%)	0	0,25	0,5	0,75	1
Teneur en carbonyle(%)	0,97	2,12	3,19	4,68	5,31

#### III.1.1.1.2. Effet de la concentration de l'agent oxydant H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:

En présence d'un catalyseur métallique, le peroxyde d'hydrogène se décompose rapidement pour donner des radicaux hydroxyles libres OH<sup>•</sup>.



Les OH<sup>•</sup> possèdent une très grande réactivité. Ils oxydent l'unité du glucopyranose en arrachant l'hydrogène à partir du C-H appartenant au cycle du sucre. Le radical qui se forme par la suite (R<sup>•</sup>CHOH) réagit avec l'ion métallique ou le peroxyde d'hydrogène pour donner des groupements carbonyles.





Les résultats obtenus sur l'étude de l'effet de la concentration de  $\text{H}_2\text{O}_2$  sont donnés dans le tableau suivant:

**Tableau III.2 :** Teneur en carbonyle de la CMC oxydée par  $\text{H}_2\text{O}_2$  et  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (0,5%) à  $T = 45^\circ\text{C}$ ,  $\text{pH} = 5,5$  et  $t = 3 \text{ h}$ .

Masse de $\text{H}_2\text{O}_2$ (g)/2g CMC (%)	13,85	27,75	43,35	58,95
Teneur en carbonyle (%)	3,19	3,72	4,68	4,89

Lorsque la quantité de l'agent oxydant augmente de 13,85 à 58,95 %, la teneur varie de 3,19 à 4,89 respectivement, tout en maintenant la quantité du catalyseur constante à 0,5%.

#### III.1.1.1.3. Effet du temps:

D'après le **tableau III.3**, la teneur en carbonyle augmente avec le temps de la réaction. Il passe de 1,12% à 4,16% quand le temps de la réaction s'étend de 1h à 24h, où les quantités du peroxyde d'hydrogène et le sulfate de cuivre sont constantes. On peut conclure que plus le temps de la réaction est long, la teneur en carbonyle est évolutive.

**Tableau III.3 :** Teneur en carbonyle de la carboxyméthylcellulose oxydée par  $\text{H}_2\text{O}_2$  (13,85%) / $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (0.5%) en fonction du temps à  $T = 45^\circ\text{C}$  et  $\text{pH} = 5,5$ .

Temps	1h	3h	5h	24h
Teneur en carbonyle(%)	1,12	3,19	3,98	4,16

#### III.1.1.1.4. Effet de la température:

**Le tableau III.4** représente la variation de la teneur en carbonyle avec la température. Quand la température de la réaction augmente de  $30^\circ\text{C}$  à  $60^\circ\text{C}$ , la teneur en carbonyle évolue de 3,11% à 4,16%.

Par contre, quand la température est  $75^\circ\text{C}$ , la teneur en carbonyle se trouve diminuée. Ceci est dû probablement à plusieurs phénomènes. Par exemple, une augmentation de la température aura

comme conséquence l'évolution de l'activité du peroxyde d'hydrogène qui entraîne une dégradation de la macromolécule.

**Tableau III.4 :** Teneur en carbonyle de la carboxyméthylcellulose oxydée par  $\text{H}_2\text{O}_2$  (13,85%)/  
 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (0,5%) en fonction de la température à pH= 5,5 et t=3 h.

Température	30°C	45°C	60°C	75°C
Teneur de carbonyle(%)	3,11	3,19	4,16	3,98

**Isbeell *et al.*, (Isbeell *et al.*, 1981)** ont aussi démontré qu'une contribution de la réaction en chaîne pour la décomposition de  $\text{H}_2\text{O}_2$  augmente avec la température. La réaction peut être initiée par des traces d'un catalyseur.

#### III.1.1.1.5. Effet du pH:

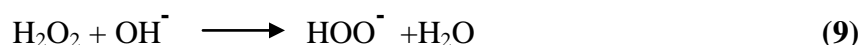
Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau ci-dessous. Quand le milieu est à pH=4, la teneur en carbonyle est la plus faible et égale à 1,07. Elle augmente progressivement jusqu'au pH= 9. Puis, à des valeurs supérieures à ce dernier, cette teneur diminue.

**Tableau III.5 :** Teneur en carbonyle de la carboxyméthylcellulose oxydée par  $\text{H}_2\text{O}_2$  (13,85%) et  
du  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (0,5%) en fonction du pH à T = 45°C et t=3 h.

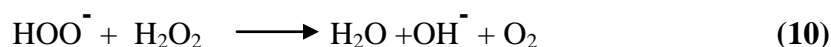
pH	4	5,5	9	11
Teneur en carbonyle(%)	1,07	3,19	6,81	4,92

Cette diminution peut être expliquée comme suit:

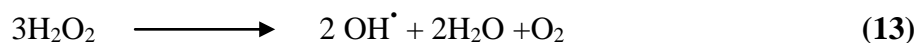
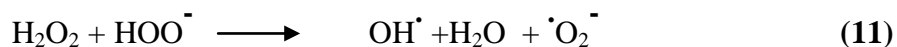
En milieu basique, le  $\text{H}_2\text{O}_2$  réagit avec l'ion hydroxyle pour donner un ion perhydroxyde  $\text{OOH}^-$  selon le schéma :



L'anion perhydroxyde, très réactif, réagit spontanément avec une autre molécule de peroxyde en absence d'autres réactifs selon la réaction :



D'autres réactions sont aussi possibles :



Ces réactions expliquent donc l'instabilité toujours observée en milieu basique ainsi que le dégagement d'oxygène.

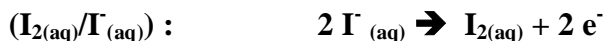
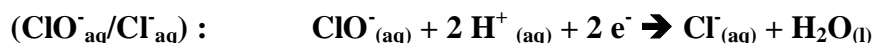
Il apparaît d'après les résultats obtenus, que le pH a un effet important dans la réaction d'oxydation de la CMC en présence de  $\text{H}_2\text{O}_2$  et  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .

Avant d'entamer l'étude des effets des agents oxydants autres que le peroxyde d'hydrogène à savoir l'hypochlorite de sodium et le periodate de potassium, nous devons signaler que le dosage des groupes carboxyles n'a pas pu être mené en présence de  $\text{H}_2\text{O}_2$  et  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  à cause de l'hydrosolubilité de la CMC oxydée dans le HCl.

### III.1.2. Oxydation de la CMC par l'hypochlorite de sodium et par le periodate de potassium :

#### III.1.2.1. Titrage indirect de l'eau de Javel:

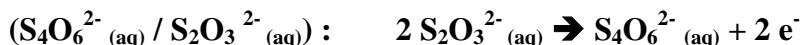
- Les demi-réactions:



- La réaction des ions hypochlorites avec les ions iodures en milieu acide :



- Les demi-réactions:



- La réaction du diiode avec les ions thiosulfates :



- Les caractéristiques des deux transformations elles peuvent: rapides, totales et spécifiques.
- **Quantité de matière  $n(\text{I}_2)$  de diiode formé**

On utilise l'équation de la réaction (2)

$$n(\text{I}_2) / 1 = n(\text{S}_2\text{O}_3^{2-}) / 2 \rightarrow n(\text{I}_2) = C_2 \cdot V_{\text{eq}} / 2$$

- **Application numérique :**

Pour une mesure ayant donné  $V_{\text{eq}} = 11 \text{ ml}$ , on a :

$$n(\text{I}_2) = (1 \cdot 10^{-2} * 11 \cdot 10^{-3}) / 2 \rightarrow n(\text{I}_2) = 5,5 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$$

A l'équivalence, on consomme la totalité de la quantité  $n(\text{I}_2)$  de diiode formé avec la quantité juste nécessaire  $n(\text{S}_2\text{O}_3^{2-})$  d'ions thiosulfates versée. Le mélange réalisé est alors stœchiométrique.

**Remarque :** on peut retrouver ce résultat à l'aide d'un tableau d'avancement en traduisant qu'à l'équivalence, les quantités de matière de diiode et d'ions thiosulfates versées sont nulles.

- **Quantité de matière  $n(\text{ClO}^-)$  d'ions hypochlorites contenus dans la solution :**

On suppose que les ions iodures  $\text{I}^-(\text{aq})$  contenus dans le volume  $V_1$  de solution  $\text{S}_1$  et les ions  $\text{H}^+(\text{aq})$  contenus dans la solution d'acide sulfurique, sont en excès par rapport aux ions hypochlorites  $\text{ClO}^-(\text{aq})$  de la prise d'essai de solution  $\text{S}$ .

En déduire la quantité  $n(\text{ClO}^-)$  d'ions hypochlorites contenus dans la prise d'essai. On pourra, si on le désire, justifier à l'aide d'un tableau d'avancement.

**Tableau III.6 :** Tableau de l'état d'avancement de la conversion du chlore actif.

	$2 \text{I}^-$	+	$\text{ClO}^-$	+	$2 \text{H}^+$	=	$\text{Cl}^-$	+	$\text{I}_2$	+	$\text{H}_2\text{O}$
$t=0$	/		N		/		0		0		/
$t_{\text{eq}}$	/		$n - x_e$		/		$x_e$		$x_e$		/
$t_f$	/		$n - x_f$		/		$x_f$		$x_f$		/

Lorsque l'on rajoute des ions iodures en excès, en milieu très acide, à la prise d'essai de solution  $S$ , on consomme totalement la quantité  $n(\text{ClO}^-)$  d'ions hypochlorites qu'elle contient suivant la réaction totale d'équation (1).

L'écriture de cette réaction montre que la disparition totale de  $n(\text{ClO}^-)$  est suivie de l'apparition d'une quantité de matière égale de diiode, car pour 1 mole de  $\text{ClO}^-_{(\text{aq})}$  disparue il y a 1 mole  $\text{I}_2_{(\text{aq})}$  apparu.

On a donc :  $n(\text{ClO}^-) = n(\text{I}_2) = 5,5 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$

**Remarque :** on peut retrouver ce résultat en traduisant que dans l'état final, la quantité de matière finale de réactif limitant  $\text{ClO}^-_{(\text{aq})}$  est nulle, soit :  $n_{\text{finale}} \text{ClO}^-_{(\text{aq})} = n(\text{ClO}^-) - x_f = 0$ .

En tenant compte d'autre part que  $n(\text{I}_2) = x_f$ , on en déduit bien que  $n(\text{ClO}^-) = n(\text{I}_2)$ .

- **Détermination du degré chlorométrique :**

a. Détermination la quantité  $n'(\text{ClO}^-)$  d'ions hypochlorites présents dans un volume  $V' = 1 \text{ L}$  d'eau de Javel commerciale.

Dans notre prise d'essai de 10 ml, on a  $5,5 \cdot 10^{-5}$  moles d'ions  $\text{ClO}^-_{(\text{aq})}$ . Donc dans 10 ml de solution  $S$ , on a  $5,5 \cdot 10^{-5} \times 10^2 \text{ mol}$  d'ions  $\text{ClO}^-_{(\text{aq})}$ , car  $S$  a été obtenue en diluant 100 fois. Il en résulte que dans 1 L de solution commerciale, on a la quantité

$$n'(\text{ClO}^-) = 5,5 \cdot 10^{-5} \times 10^2 \times 10^2 = 5,5 \cdot 10^{-1} \text{ moles.}$$

- **Valeur du degré chlorométrique :**

La définition du degré chlorométrique repose sur la réaction totale d'équation :



Le degré chlorométrique est le volume  $V(\text{Cl}_2)$  de dichlore gazeux, mesuré en litre, dans les conditions normales de pression et de température, qui se dégage lorsque l'on consomme totalement la quantité de matière  $n'(\text{ClO}^-) = 5,5 \cdot 10^{-2}$  moles, contenue dans un volume de 1 L de solution commerciale, par un excès d'acide.

On a :  $v(\text{Cl}_2) = n(\text{Cl}_2) \times V_m$

$n(\text{Cl}_2) = n'(\text{ClO}^-)$ .      Donc :  $v(\text{Cl}_2) = n'(\text{ClO}^-) \times V_m$

$n(\text{Cl}_2)$ : la quantité de matière de dichlore gazeux qui se dégage lorsque  $n'$  ( $\text{ClO}^-$ ) est totalement consommée ;  $V_m$ : volume du gaz parfait.

**A.N:**  $\text{chl} = 5,5.10^{-1} \times 22,4 \approx 12^\circ \text{ chl}$

Ce qui est bien conforme à l'étiquette.

### III.1.2.2. Détermination de la teneur en carbonyle et en carboxyle :

D'après le **tableau III.7**, nous remarquons qu'après l'oxydation de la carboxyméthylcellulose par l'hypochlorite de sodium et le periodate de potassium, une augmentation de groupement carbonyle et carboxyle, respectivement.

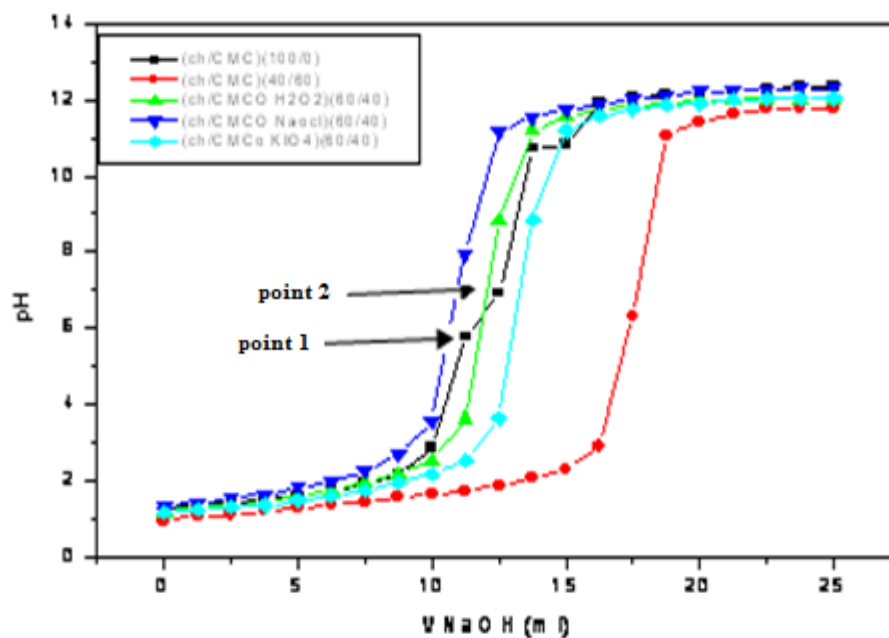
**Tableau III.7 :** Teneur en carbonyle et en carboxyle après oxydation par l'hypochlorite de sodium et le periodate de potassium.

Concentration	0,25% de Cl actif	0,75% de Cl actif	1,5% de Cl actif	3% de Cl actif	31% de $\text{KIO}_4$
Teneur en carbonyle(%)	0,616	0,700	0,810	0,890	1,120
Teneur en carboxyle(%)	0,0787	0,200	0,220	0,238	0,450

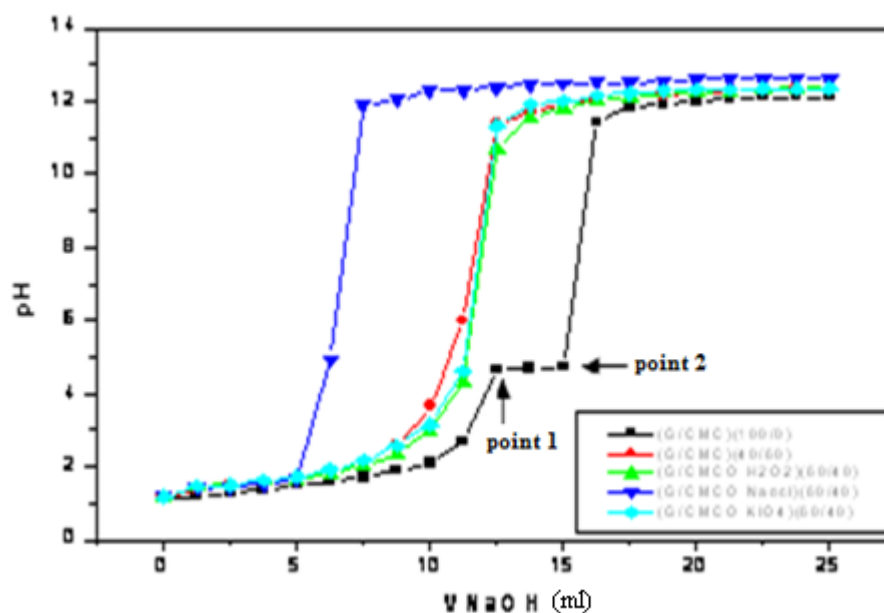
### III.1.3. Détermination des amino-groupes libres dans les hydrogels :

La teneur des groupements amines libres dans les hydrogels avant et après réticulation a été estimée en employant la méthode titration de pH (**Gómez-Mascaraque *et al.*, 2014**).

Les résultats sont montrés dans **les figures III.1-2**. Les quantités de NaOH entre le premier et le deuxième point sur la courbe du chitosane (100%) et celle de la gélatine (100%) (**Voir figures III.1-2**) correspondent aux groupes amino libres. Il apparait que les amino-libres du chitosane et de la gélatine ont totalement interagi avec les groupes présents dans les différentes CMC. C'est une indication majeure sur la réaction entre les différentes macromolécules. Et on se penche beaucoup plus dans ces cas aux réticulations chimiques, c'est-à-dire à la formation d'un réseau chimique avec les liaisons covalentes telles que l'imine et/ou l'amide.



**Figure III.1 :** Titration de pH du chitosane, chitosane/carboxyméthylcellulose et chitosane/carboxyméthylcellulose oxydée.



**Figure III.2 :** Titration de pH de la gélatine, gélatine/carboxyméthylcellulose et gélatine/carboxyméthylcellulose.

## III.2. Spectroscopie IR-TF :

### III.2.1. Spectroscopie IR-TF de la carboxyméthylcellulose oxydée par le peroxyde d'hydrogène et le sulfate de cuivre:

La figure III.4 illustre les spectres IR-TF de la carboxyméthylcellulose sodique et de la carboxyméthylcellulose sodique qui a été soumise à une réaction d'oxydation à priori sélective par le peroxyde d'hydrogène. Une discussion subjective et en même temps objective sur la modification structurale de la molécule mère, la carboxyméthylcellulose sodique, a été entreprise.

Nous avons selon les spectres enregistrés tantôt des disparitions et tantôt des apparitions des pics avec des changements dans leur intensité.

Pour la carboxyméthylcellulose, il est évident qu'il existe une large bande d'absorption à  $3441\text{cm}^{-1}$  correspondant aux vibrations d'élongation des O-H.

La bande à  $2928\text{cm}^{-1}$  est due à la vibration d'élongation (C-H) des chaînes aliphatiques.

La présence d'une bande d'absorption forte à  $1600\text{cm}^{-1}$  ( $\text{COO}^-$ ) confirme la présence du groupe carboxylate  $\text{COO}^-$  (Muzzarelli, 1982).

La bande autour de  $1423\text{cm}^{-1}$  est assignée à la vibration asymétrique du groupement  $\text{COO}^-$  (LiuYun Jiang, 2009).

La bande à  $1068\text{cm}^{-1}$  correspond à la vibration de déformation des groupements latéraux glycosidique d'éther (C-O-C) (Park, 2004; Suflet & al., 2006 ; Nadagouda, 2007; Ren & al., 2008;

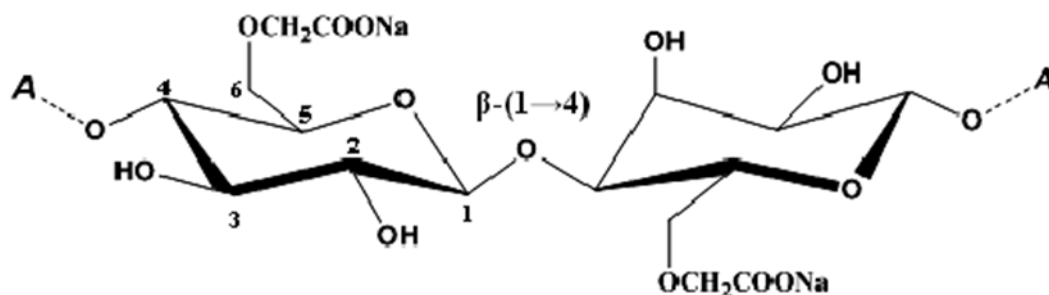


Figure III.3. Structure de deux unités adjacentes monomériques du sel NaCMC (Ibrahim et al., 2010).



L'oxydation de la CMC par le peroxyde d'hydrogène entraîne l'apparition d'un nouveau pic à  $1728\text{ cm}^{-1}$  qui est caractéristique de l'étirage de groupes carbonyliques (**Kuniak et al., 1969; Hongli Li et al., 2011; Teotia, 2012**).

Selon **Teotia (Teotia, 2012)**, la bande d'absorption à  $1728\text{ cm}^{-1}$  confirme l'oxydation de la carboxyméthylcellulose.

L'effet de peroxyde d'hydrogène en présence du catalyseur, le sulfate de cuivre entraîne aussi l'apparition de nouveaux pics plus intenses, en comparaison avec le peroxyde d'hydrogène seul.

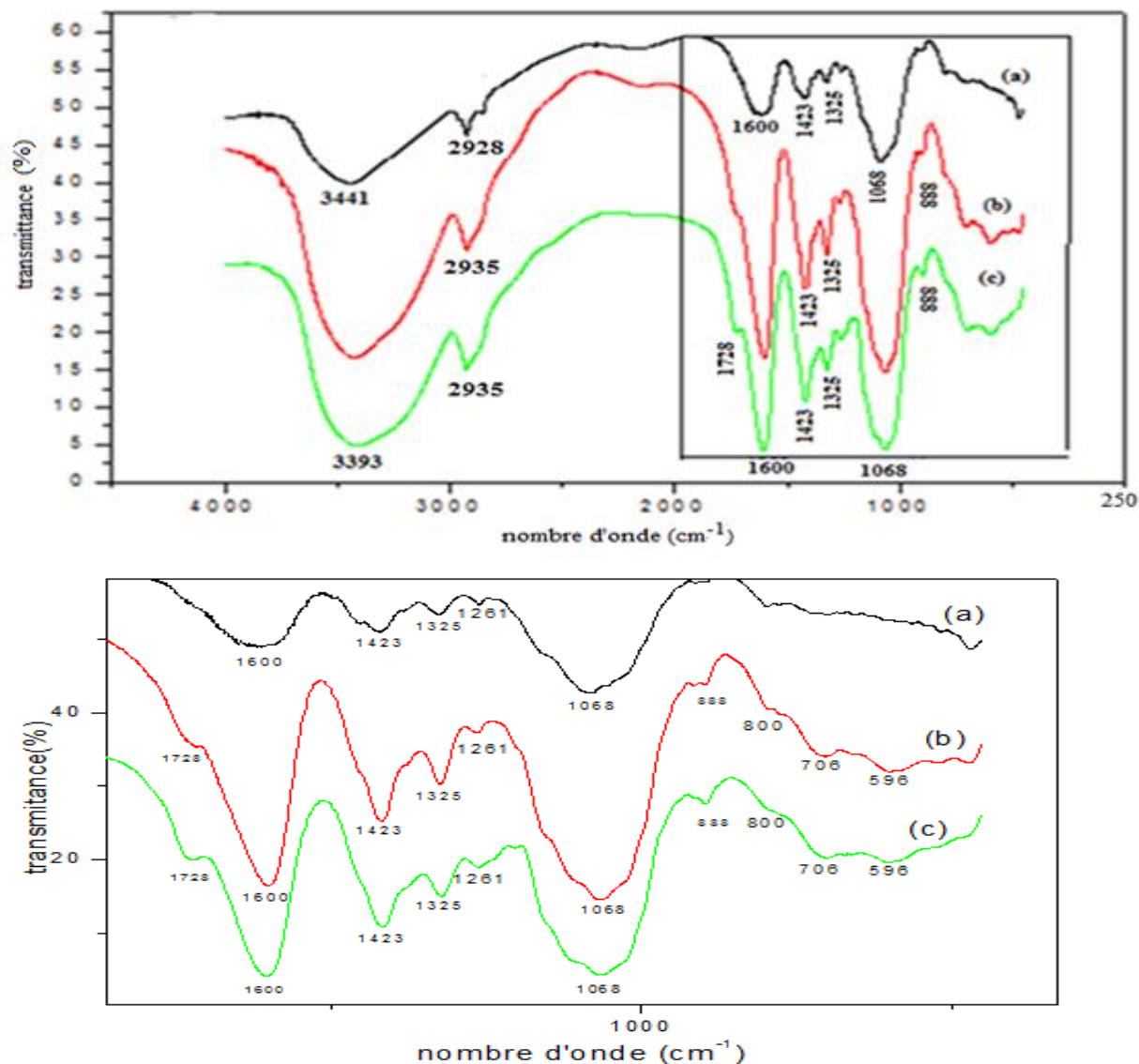
On observe aussi une intensification remarquable à  $888\text{ cm}^{-1}$  qui peut être assignée à l'hémi-acétal et à la forme hydratée des aldéhydes ou des cétones de la cellulose (**Nevell, 1963**), d'une part.

D'autre part, la région entre  $850\text{-}400\text{ cm}^{-1}$  se trouve complètement changer. Il y a apparition trois pics à  $596\text{ cm}^{-1}$ ,  $706\text{ cm}^{-1}$ ,  $800\text{ cm}^{-1}$ .

Le pic à  $2928\text{ cm}^{-1}$  est attribué aux vibrations d'élongation des C-H aliphatiques des méthylènes. Il subit un déplacement progressif avec une augmentation de l'amplitude vers  $2935\text{ cm}^{-1}$ . Ce qui indique que le nombre de C-H aliphatiques a augmenté suite à l'oxydation de CMC.

Aussi, le sommet de la bande à  $3441\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à la vibration d'élongation des OH se déplace vers  $3393\text{ cm}^{-1}$ .

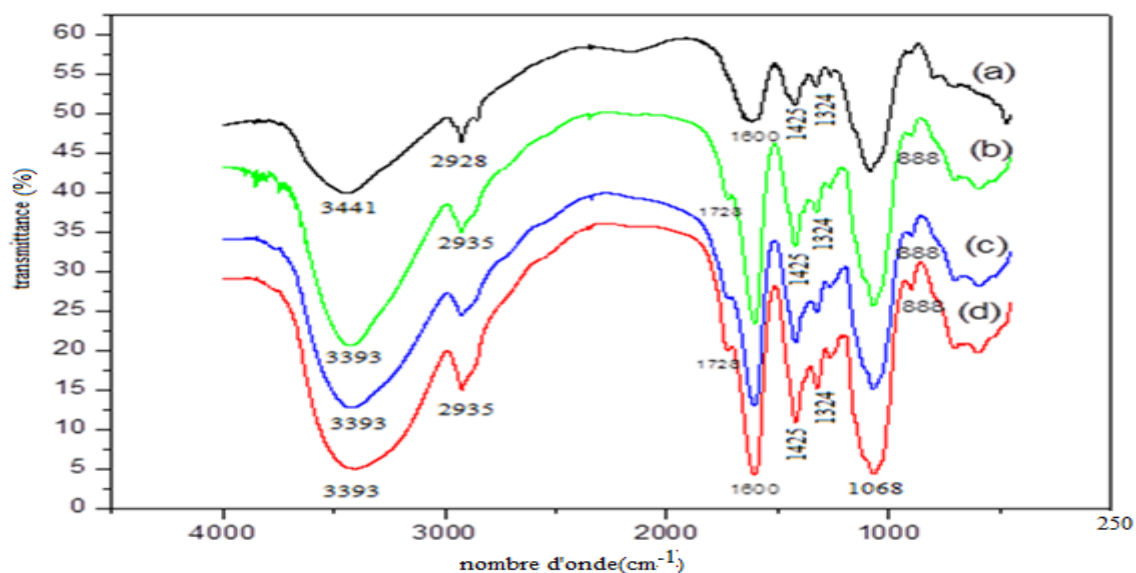
Dans le cas de la CMC, la bande à  $1068\text{ cm}^{-1}$  dépasse en intensité celle à  $1600\text{ cm}^{-1}$ , alors qu'après oxydation par la  $\text{H}_2\text{O}_2$  le pic à  $1068\text{ cm}^{-1}$  diminue de plus en plus surtout en présence de  $\text{CuSO}_4$ . C'est une confirmation de la diminution des nombre d'hydroxyles secondaires.



**Figure.III.4.** Spectres IR-TF de (a): la CMC, (b): la CMC oxydée par  $\text{H}_2\text{O}_2$  (13,85%), (c): la CMC oxydée par  $\text{H}_2\text{O}_2$  (13,85%) en présence du  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (0,5%).

#### III.2.1.1. Effet de la concentration de l'agent oxydant ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ):

La variation de la concentration de l'agent oxydant, où la concentration de  $\text{CuSO}_4$  reste constante entraine l'apparition de nouveau pics à 1728  $\text{cm}^{-1}$  et intensification de tous les pics déjà évoqués dans la partie précédente (**Figure III.5**).



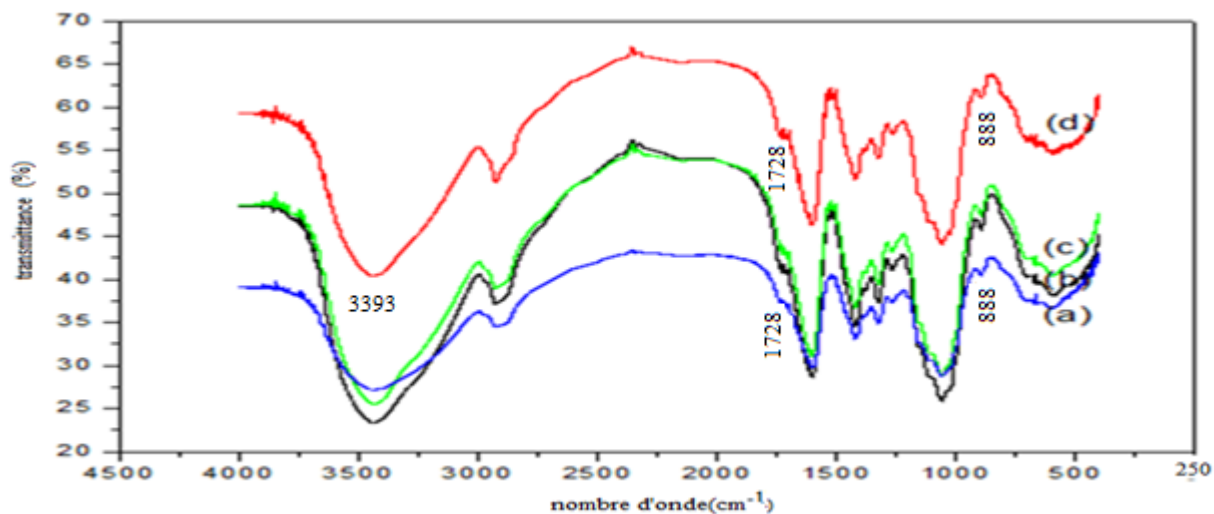
**Figure.III.5.** Spectres IR-TF de (a) : la CMC, (b): la CMC oxydée par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (13,85%)/CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (0,5%), (c): la CMC oxydée par H<sub>2</sub>O (27,75%)/CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (0,5%), (d) la CMC oxydée par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (43,35%)/CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (0,5%).

#### III.2.1.2. Effet du temps:

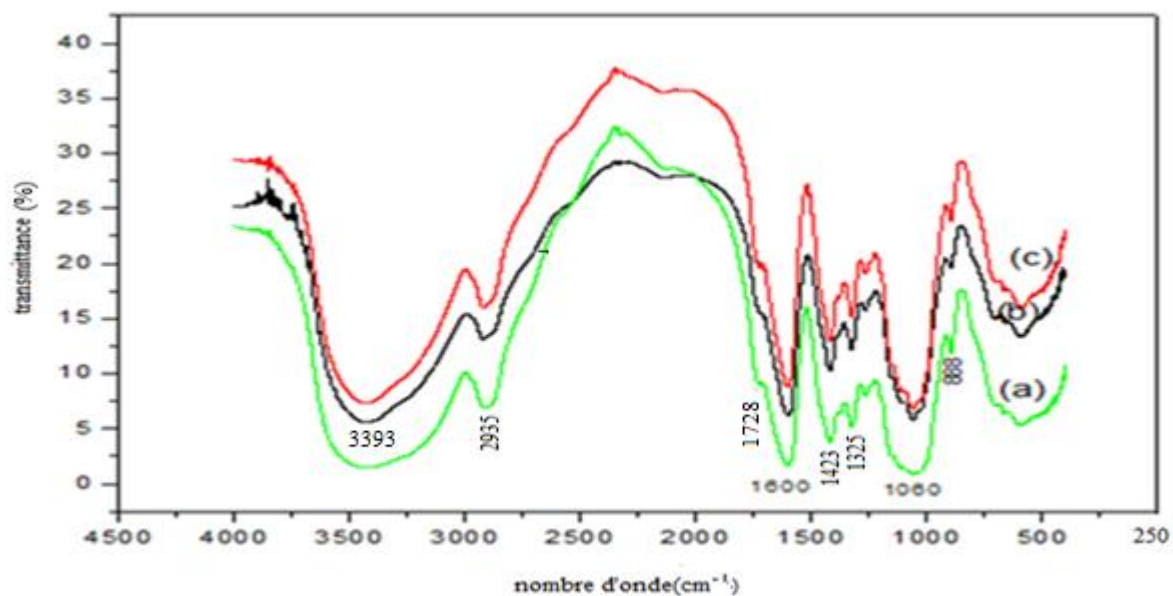
D'après la **figure III.6**, nous pouvons observer que les pics caractéristiques des groupements carbonyles C=O à 1728 cm<sup>-1</sup> et 888 cm<sup>-1</sup> devient plus intenses, lorsque le temps de la réaction d'oxydation évolue progressivement de 1h jusqu'à 24 h. Alors, on peut déduire que plus le temps augmente, plus la carboxyméthylcellulose est oxydée.

#### III.2.1.3. Effet de la température:

La température a un effet important sur la réaction d'oxydation de la CMC en présence de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (13,85%) /CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (0,5%). Lorsque la température augmente de 30°C jusqu'à 60°C, le sommet de la bande à 3341 cm<sup>-1</sup> correspondant à la vibration d'élongation des OH se déplace vers 3393 cm<sup>-1</sup> (**Figure III.7**). Aussi, l'épaule à 1728 cm<sup>-1</sup> diminue en intensité par rapport au pic à 1600cm<sup>-1</sup> surtout pour la CMC oxydée à T= 75°C.



**Figure III.6.** Spectres IR-TF des CMC oxydées par  $\text{H}_2\text{O}_2$  (13,85%) et  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (0,5%) à :  
(a):  $t = 1\text{h}$ , (b):  $t = 3\text{h}$ , (c):  $t = 5\text{h}$ , (d):  $t = 24\text{h}$ .



**Figure.III.7.** Spectres IR de la CMC oxydée par  $\text{H}_2\text{O}_2$  (13,85%)/  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (0.5%) à (a):  
 $T = 30^\circ\text{C}$ , (b) :  $T = 60^\circ\text{C}$ , (c):  $T = 75^\circ\text{C}$ .

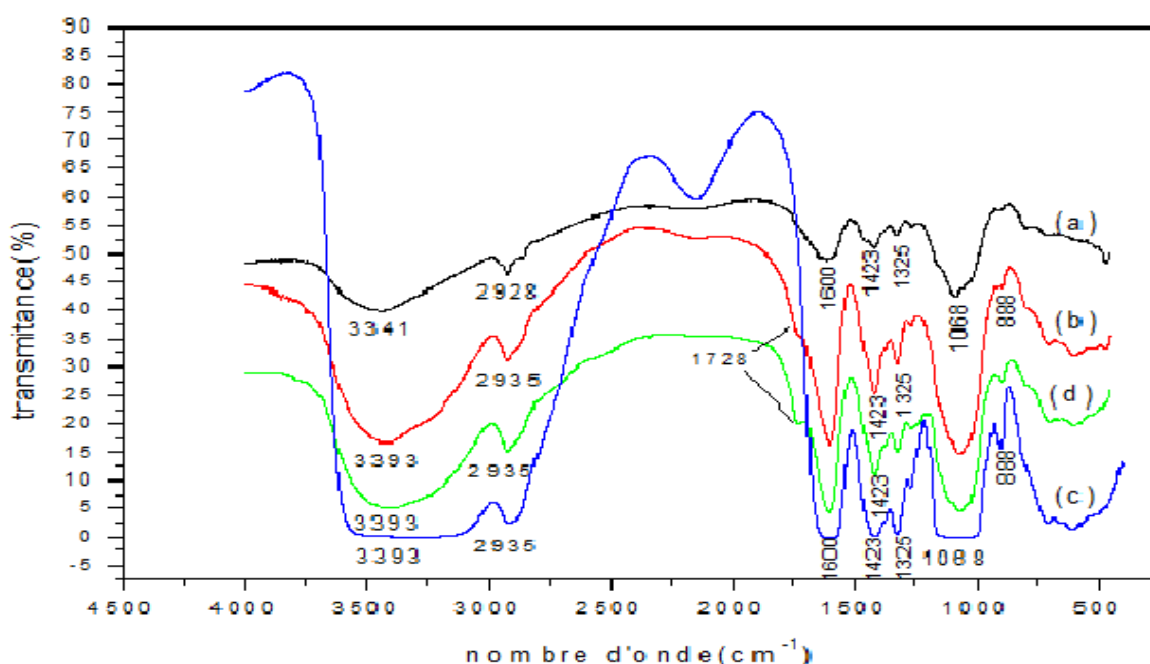
### III.2.2. Spectroscopie IR-TF de la carboxyméthylcellulose oxydée par l'hypochlorite de sodium ou par le periodate:

La figure III.8 présente les spectres infrarouge des carboxyméthylcelluloses oxydées par le l'hypochlorite de sodium et le periodate. Quand la carboxyméthylcellulose est oxydée par le

periodate de potassium, on observe l'apparition du pic caractéristique du groupement C=O à  $1728\text{ cm}^{-1}$  et aussi l'intensification de celui-ci à  $888\text{ cm}^{-1}$ .

Par contre, quand on oxyde la carboxyméthylcellulose par l'hypochlorite de sodium, le pic à  $1728\text{ cm}^{-1}$  n'apparaît pas clairement sur le spectre. Ces résultats sont en accord avec la teneur en carbonyle qui est faible.

En comparant les carboxyméthylcelluloses avant et après oxydation par les trois agents oxydants, les pics qui confirment l'oxydation sont plus intenses dans le cas de l'oxydation par le  $\text{H}_2\text{O}_2$  (14,2%) et du  $\text{CuSO}_4$  (0,5%) que ceux avec le  $\text{KIO}_4$  et  $\text{NaOCl}$ .



**Figure III.8.** Spectres IR de (a): la CMC, (b): la CMC oxydée par periodate, (c): la CMC oxydée par l'hypochlorite, (d): la CMC oxydée par  $\text{H}_2\text{O}_2$  (13,85%)/  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (0,5%)

### III.2.3. Spectroscopie IR-TF du mélange CMC/ chitosane (40/60) (%):

Au départ, à partir de la **figure III.9**, il nous a semblé judicieux de préciser les pics caractéristiques du chitosane en absence de la carboxyméthylcellulose. Sa structure versatile peut donner naissance à de nouveaux matériaux que nous tenterons de comprendre.

La large bande à  $3427\text{ cm}^{-1}$  est attribuée aux vibrations d'élongation des groupes  $\text{NH}_2$  et  $-\text{OH}$ .

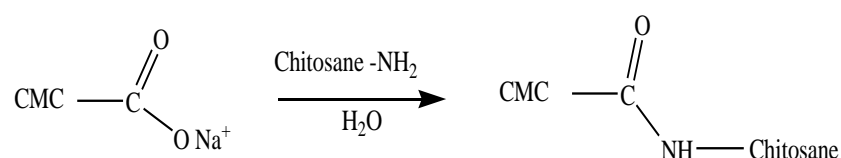
Les pics à  $1650$ ,  $1564$  et  $1076\text{ cm}^{-1}$  sont dues aux vibrations d'amide I (déformation N-H), amide II, et bandes C-O-C respectivement.

L'ajout de la carboxyméthylcellulose au chitosane induit une apparition d'un pic à  $1738\text{ cm}^{-1}$  qui correspond aux carboxyles libres  $\text{COO}^-$ .

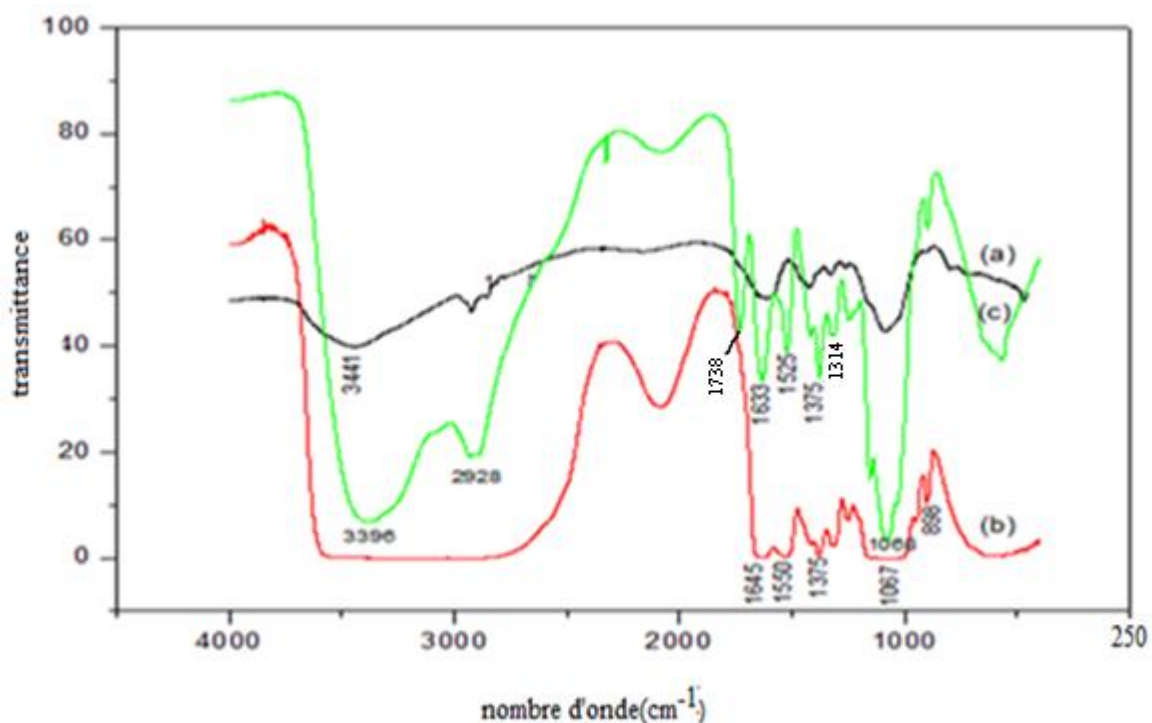
Il a été reporté par **Pal et al.**, (**Pal et al.**, 2007) que la vibration de déformation de N-H ou bien la vibration d'élongation et de déformation dans le plan de l'amide secondaire apparaît entre  $1550$  et  $1500\text{ cm}^{-1}$ .

Dans notre cas, il y a apparition d'une nouvelle bande à  $1525\text{ cm}^{-1}$  sur le spectre du chitosane/CMC. Cette vibration est attribuée au C=O de l'amide II.

Le pic à  $1148\text{ cm}^{-1}$  indique la structure de saccharide.



**Figure III.9.** Réaction entre la carboxyméthylcellulose et le chitosane.



**Figure.III.10.** Spectres IR-TF de (a): la CMC, (b): le chitosane, (c): CMC/chitosane (40/60) (%).

### III.2.4. Spectroscopie IR-TF du mélange CMCO/ chitosane (40/60) (%):

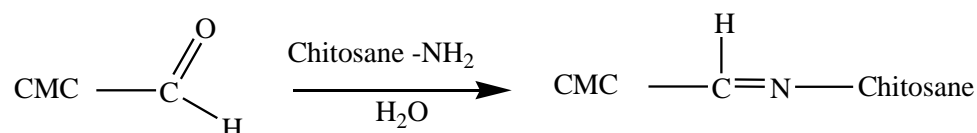
La figure ci-dessous illustre l'interaction entre la CMC oxydée et le chitosane. Le spectre du mélange chitosane/CMC montre une bande fine à  $1738\text{ cm}^{-1}$  au lieu de  $1728\text{ cm}^{-1}$  dans le cas du chitosane. Ce shifting est le résultat de la formation de nouveaux groupement tels que l'amide ou l'imine, ou encore à un réseau physique, ammonium carboxylate.

Le pic à  $1247\text{ cm}^{-1}$  (Figure III.12) correspond selon Teotia à la vibration de C=N (base de Schiff) (Teotia, 2012).

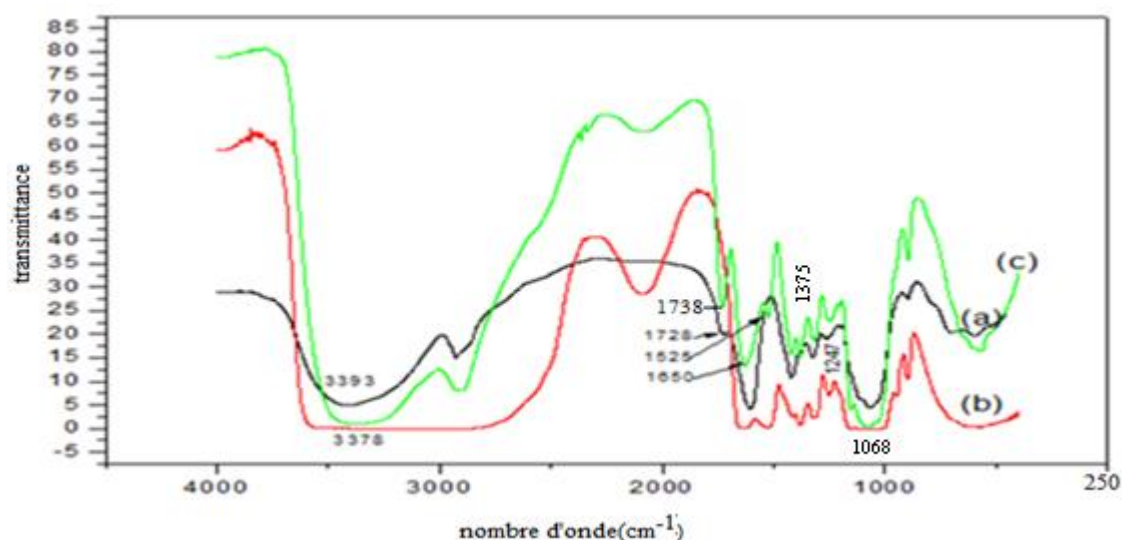
Un nouveau pic à  $1525\text{ cm}^{-1}$  est observé. Ce qui est attribué à la vibration de C=O de l'amide.

Les pics à  $1068\text{ cm}^{-1}$  et  $1375\text{ cm}^{-1}$  deviennent plus intenses.

La réaction entre la chitosane et la carboxyméthylcellulose oxydée peut être schématisée comme suit :



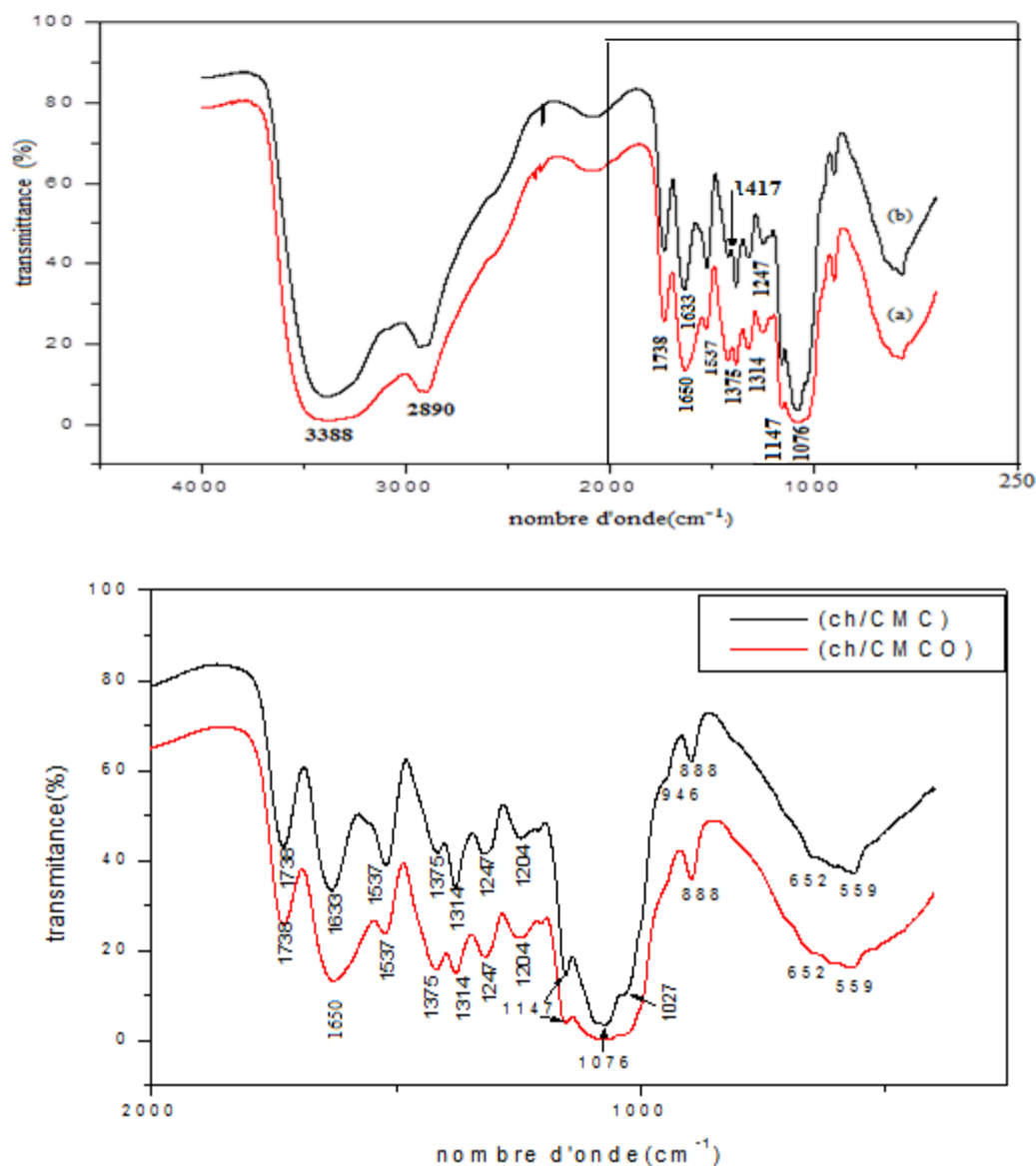
**Figure III.11.** Réaction entre la carboxyméthylcellulose oxydée par  $\text{H}_2\text{O}_2 / \text{CuSO}_4$  et le chitosane.



**Figure III.12.** Spectres IR-TF de (a): la CMCO, (b): le chitosane, (c): CMCO/chitosane (40/60)(%).

### III.2.5. Spectroscopie IR-TF des mélanges (Chitosane/carboxyméthylcellulose) et (Chitosane/ carboxyméthylcellulose oxydée):

Nous n'avons pas pu déceler une différence remarquable entre les deux spectres du chitosane/CMC et du chitosane/CMCO à l'exception des intensités des pics qui augmentent dans la 2eme formulation surtout à  $1375\text{ cm}^{-1}$ .



**Figure III.13.** Spectres IR-TF de (a): la CMC/chitosane (40/60)(%),  
 (b): la CMCO/chitosane (40/60)(%).



### III.2.6. Spectroscopie IR-TF des mélanges (gélatine/carboxyméthylcellulose):

Pour ce qui est de l'identification par IR-TF des mélanges CMC/Gélatine, nous nous sommes inspirés des travaux déjà réalisés au laboratoire par **Chetouani (Chetouani, 2011)**.

La gélatine présente plusieurs bandes d'absorptions qui peuvent être résumés comme suit : Deux régions d'absorption à  $3395$  et  $3317\text{cm}^{-1}$  qui correspondent respectivement aux vibrations de valence des OH et des NH.

Il existe aussi, selon **Centeno et Guzma (2004)**, deux zones bien spécifiques :

- une première à environ  $1655\text{cm}^{-1}$  qui représente le carbonyle C=O de l'amide primaire avec la contribution de vibration d'élongation C-N et de déformation CCN.
- une deuxième à  $1550\text{cm}^{-1}$  de l'amide II correspondant à l'élongation C-N et à sa déformation dans le plan, d'une part.

D'autre part, selon une étude exhaustive menée par **Karim et al., (Karim et al., 2005)**, la triple hélice de la molécule mère qui est le collagène absorbe à  $1660\text{ cm}^{-1}$  et l'hélice- $\alpha$  s'étend en général de  $1650$  à  $1640\text{ cm}^{-1}$ . Il a aussi été trouvé que quand le taux d'hélice augmente, il peut atteindre  $1661\text{ cm}^{-1}$  alors qu'en solution, la gélatine perd son degré d'ordre qui est représenté par le taux en triple hélice. La bande d'absorption correspondante baissera jusqu'à  $1643\text{cm}^{-1}$ . Par contre, la région de l'amide secondaire peut augmenter jusqu'à  $1560\text{ cm}^{-1}$  et diminuer jusqu'à  $1500\text{cm}^{-1}$ . Cette dernière bande est moins sensible à la structure secondaire de l'amide I.

Il a été reporté par **Pal (2010)** que la vibration de déformation de N-H ou bien la vibration d'élongation et de déformation dans le plan de l'amide secondaire apparait entre  $1550$  et  $1500\text{ cm}^{-1}$ .

L'apparition des deux bandes à  $1651$  et  $1554\text{ cm}^{-1}$  confirme ce qui a été décrit dans la littérature (**Figure III.14**).

Il est intéressant de donner un petit aperçu sur les différentes structures de la protéine :

**1- Structure primaire :** composée de chaînes d'acides aminés ;

**2- Structure secondaire :** qui peut être à son tour soit :

- i- Structure en feuillets plissés ou aussi appelée structure  $\beta$

Les plans des liaisons successifs sont disposés en zig zag et font des angles voisins de  $160^\circ$ . Les chaînes latérales sont réparties alternativement de part et d'autre des plans. Les liaisons

s'effectuent par pont hydrogène situés dans les plans du feuillet plissé entre des CO d'une liaison et des -NH d'une autre liaison peptidique

#### ii- Structure en hélice $\alpha$

Ici, la chaîne peptidique est enroulée en hélice. Les plans font entre eux des angles de  $80^\circ$ . Les chaînes latérales sont dirigées vers l'extérieur de l'hélice. On a 18 résidus aminés pour 5 tours d'hélice. Les ponts hydrogène sont orientés parallèlement à l'axe de l'hélice, séparés par 3 acides aminés

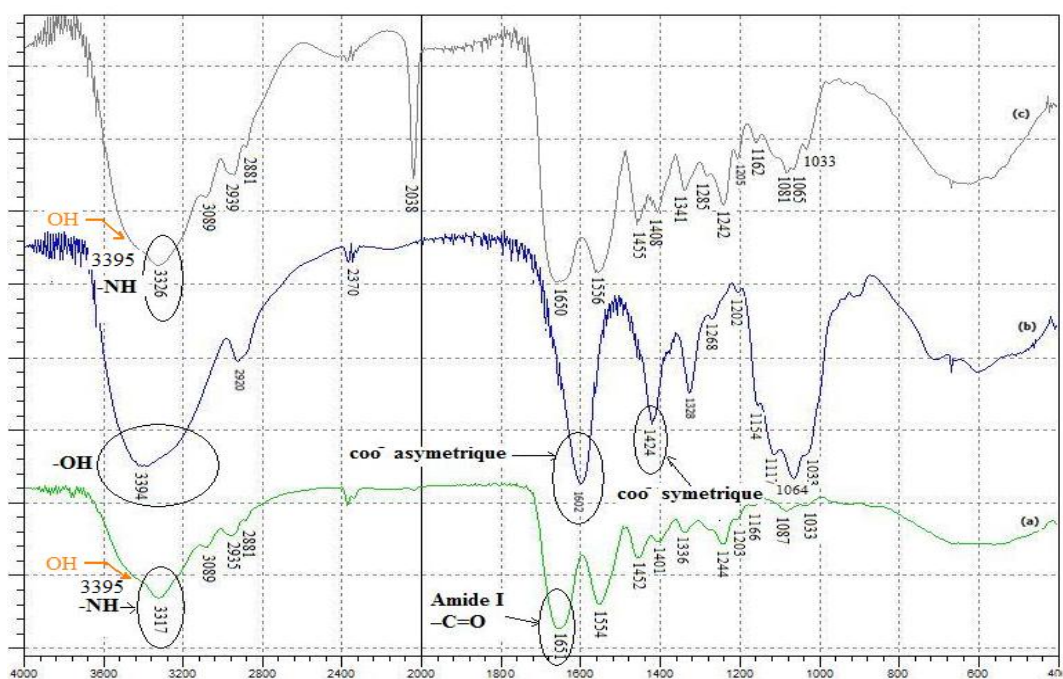
**3- Structure tertiaire :** résulte de l'interaction entre les acides aminés en différent point de la structure.

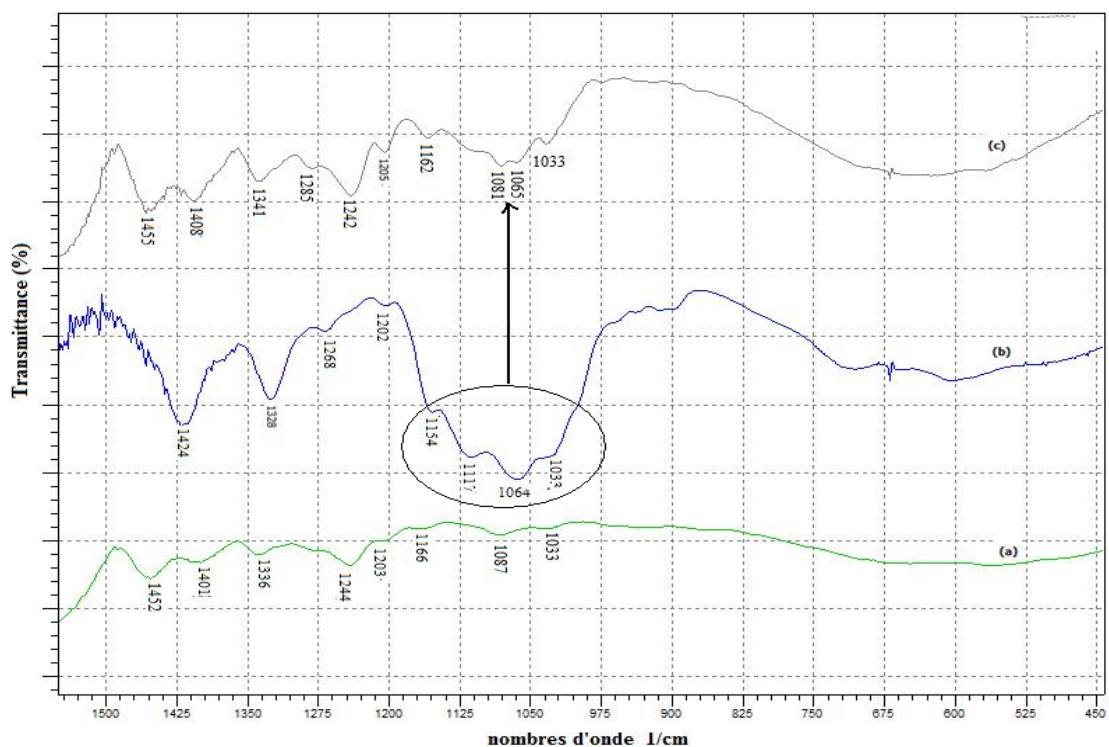
**4- Structure quaternaire :** s'associent pour former une molécule de grande taille.

A côté des ces bandes, la bande à  $3389\text{ cm}^{-1}$  de faible intensité nous confirme la présence de  $\text{C-H}_{\text{aromatiques}}$ . Il apparaît également deux pics d'absorption d'intensités moyennes à  $2935$  et  $2881\text{ cm}^{-1}$  des  $\text{C-H}_{\text{aliphatiques}}$  asymétriques et symétriques respectivement.

Par ailleurs, les vibrations de déformation de ces derniers groupements sont à  $1452$  et  $1401\text{ cm}^{-1}$ . Les pics à  $1166$  et  $1087\text{ cm}^{-1}$  correspondent à la vibration d'élongation C-O. La région de la bande de l'amide III apparaît entre  $1210$  et  $1240\text{ cm}^{-1}$ .

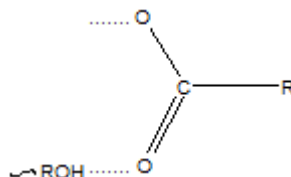
À  $670\text{ cm}^{-1}$ , correspondent les vibrations de balancement des N-H (voir **figure III.14**).





**Figure III.14:** Spectres IR-TF (a) : la gélatine (a), (b) : la CMC, (c) : la gélatine/CMC.

L'étude de l'effet de l'ajout de la CMC sur la gélatine en spectroscopie infrarouge montre, en accord avec les travaux menés par **Pal et al.**, (**Pal et al.**, 2010), un déplacement bathochrome de  $3317$  vers  $3326\text{cm}^{-1}$  de la bande des N-H. Il est à noter aussi que la position de la bande maximale correspondant aux vibrations d'élongation des groupes hydroxyles non carboxylés dans le cas de la CMC subit un déplacement hypsochromes de  $3394$  vers  $3326\text{ cm}^{-1}$ . Ceci est du à l'implication du groupement hydroxyle de la CMC dans la complexation.



Cette dernière bande inclue aussi les  $\text{-OH}$  des alcools secondaires et de l'eau absorbée ; alors que l'extension de ce pic de  $3660$  jusqu'à  $2700\text{ cm}^{-1}$  indiquent qu'il y a établissement de liaisons hydrogène inter et intramoléculaires (**Biswal et al.**, 2003 ; **Kutsenko et al.**, 2005).

À  $2920\text{ cm}^{-1}$ , ce ne sont que les  $\gamma_{\text{C-H}}$  aliphatiques (Lii *et al.*, 2002). Le pic à  $1602\text{ cm}^{-1}$  fort et fin du CO du carboxylate de la CMC subit un shifting hypsochrome vers  $1650\text{ cm}^{-1}$ . De même pour le  $\gamma_{\text{sym}}$  à  $1424\text{ cm}^{-1}$  réapparaît à  $1455\text{ cm}^{-1}$  avec diminution d'intensité.

Les bandes à  $1154$  et  $1064\text{ cm}^{-1}$  caractérisent le C-O-C des unités glucosidiques et  $\beta$ -(1-4) glucoside (Suflet *et al.*, 2006 ; Ma *et al.*, 2007 ; Ren *et al.*, 2008).

### III.2.7. Spectroscopie IR-TF du mélange (gélatine/carboxyméthylcellulose oxydée):

Selon la figure III.16, nous avons une disparition de la bande à  $1728\text{ cm}^{-1}$  dans le mélange CMCO/gélatine, ce qui correspond au groupement carbonyle de la carboxyméthylcellulose oxydée. Ce qui indique l'interaction chimique entre ces deux bipolymères.

La réaction entre la gélatine et la carboxyméthylcellulose oxydée peut être schématisée comme suit :

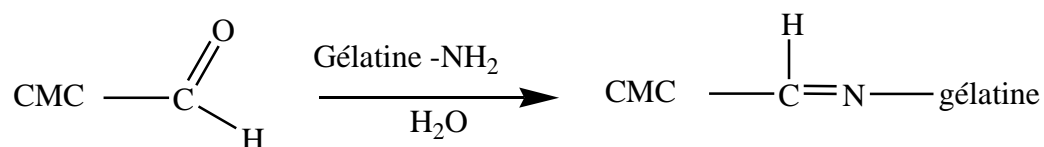


Figure III.15. La réaction entre la carboxyméthylcellulose oxydée et la gélatine.

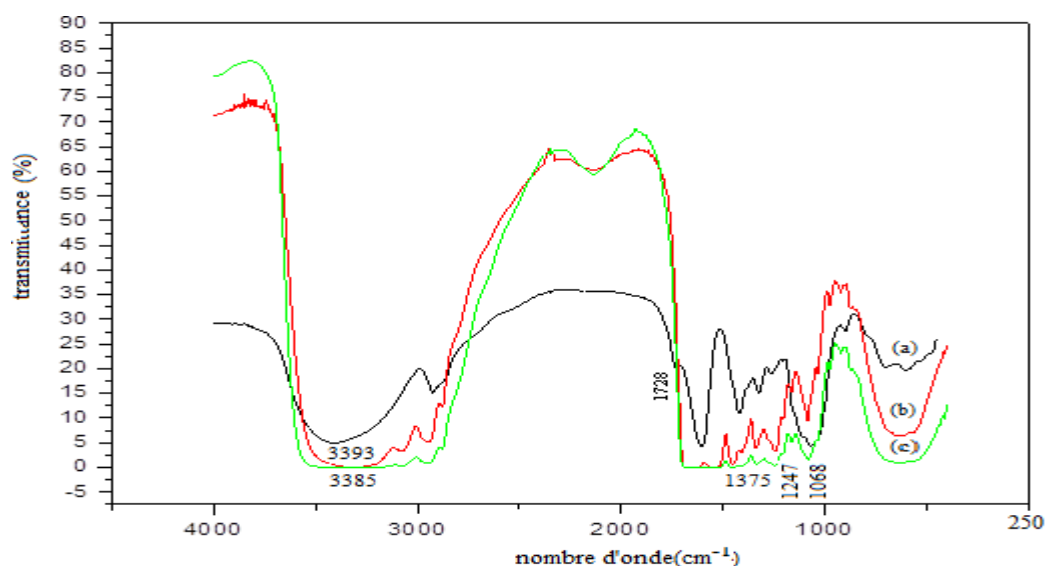
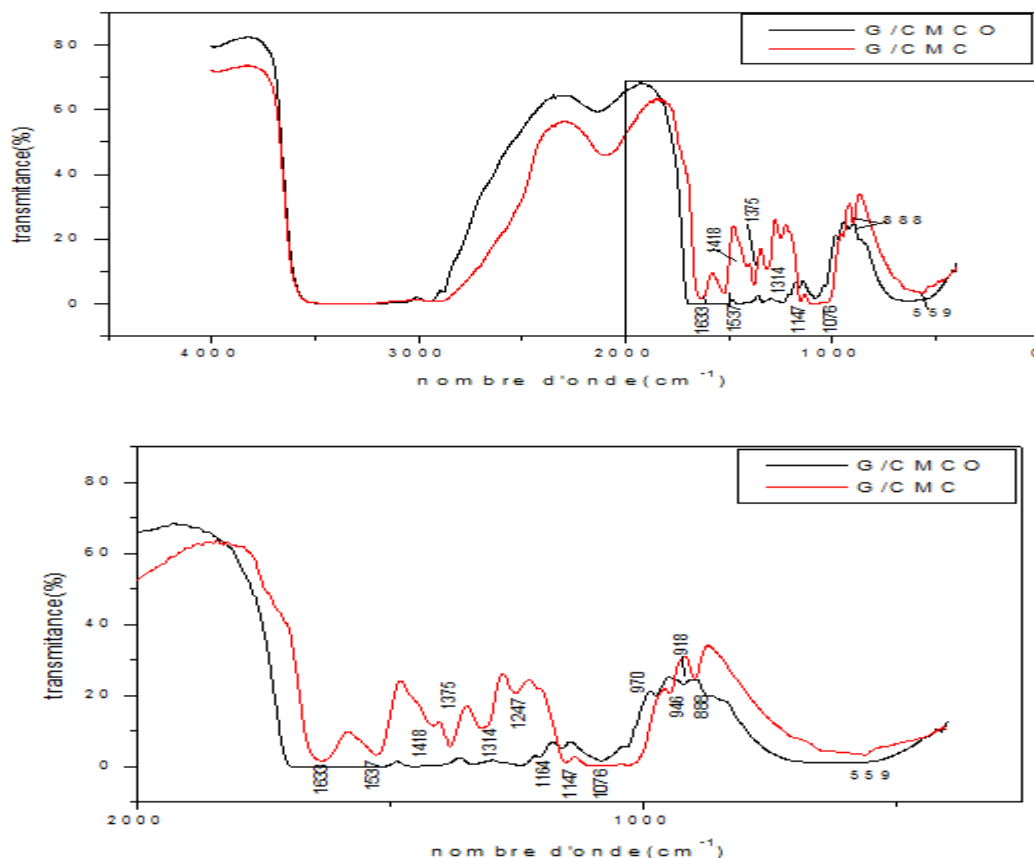


Figure III.16. Spectres IR-TF de (a) : la CMCO, (b) : la gélatine, (c) : la CMCO/gélatine (40/60)(%).

### III.2.8. Spectroscopie IR-TF des mélanges (gélatine/carboxyméthylcellulose) et (gélatine/carboxyméthylcellulose oxydée):

La différence entre les deux spectres réside principalement dans l'intensité de pic à  $1375\text{cm}^{-1}$  qui est plus intense dans le mélange de la gélatine/CMC que celui dans la gélatine/CMCO.



**Figure III.17.** Spectres IR-TF de (a): la CMC/gélatine (40/60)(%),  
(b): la CMCO/gélatine (40/60)(%).

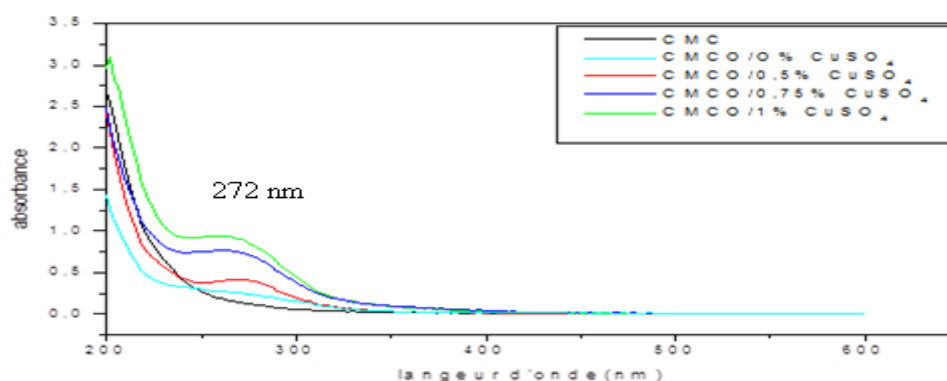
### III.3. Spectres UV-Vis:

#### III.3.1. Effet de la concentration du $\text{CuSO}_4$ :

La spectroscopie UV-Vis peut être une méthode intéressante pour l'analyse qualitative et le suivi des réactions chimiques.

La figure III.18 montre que la carboxyméthylcellulose ne présente aucune bande d'absorption dans les spectres UV-Vis.

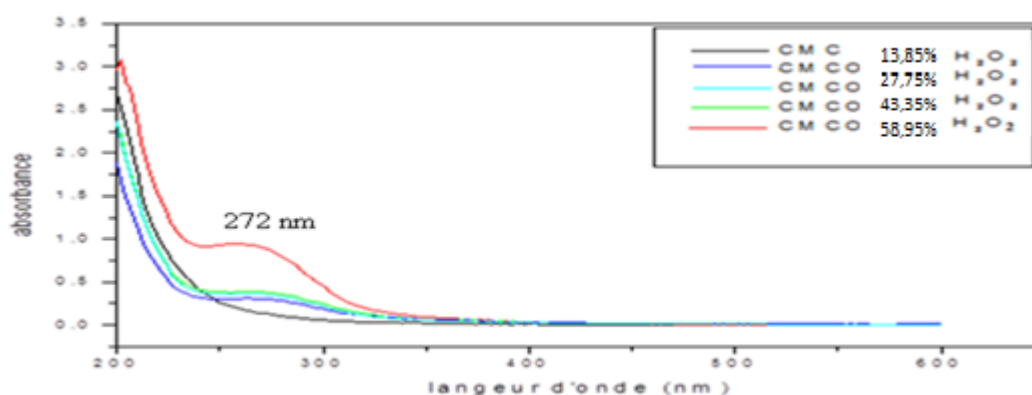
Après l'oxydation par le peroxyde d'hydrogène, on observe l'apparition d'un nouveau pic situé entre 270 et 280 nm qui correspond à la transition de  $n-\pi^*$  du groupement  $C=O$  appartenant soit à une cétone soit à un aldéhyde (**technique de l'ingénieur**). Ainsi, après l'oxydation par le peroxyde d'hydrogène et le sulfate de cuivre, on constate que plus la concentration du  $CuSO_4$  augmente de 0,5 à 1%, plus l'intensité de ce pic augmente. Cela indique que la réaction d'oxydation a bien eu lieu, et le nombre de groupement carbonyle évolue avec la concentration de  $CuSO_4$ .



**Figure.III.18.** Spectres UV-Vis de la CMC et la CMC oxydée par  $H_2O_2/CuSO_4.5H_2O$ .

### III.3.1. Effet de la concentration du peroxyde d'hydrogène :

La variation de la concentration du peroxyde d'hydrogène où la quantité de  $CuSO_4$  est maintenue constante (0,5%) influence considérablement l'intensité des bandes d'absorption (**Figure III.19**). Le pic caractéristique des groupements carbonyles augmente progressivement avec la concentration de  $H_2O_2$ .

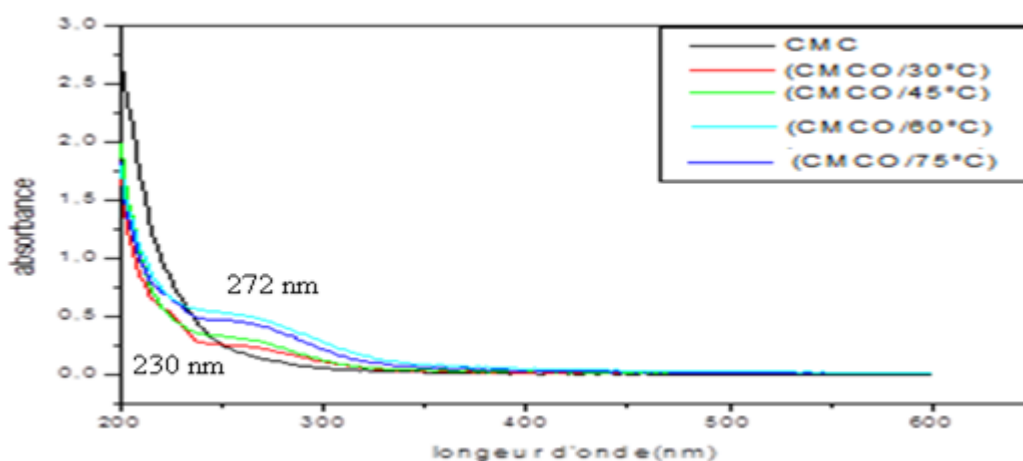


**Figure.III.19.** Spectres UV-Vis de CMC et la CMC oxydée par  $H_2O_2$  et  $CuSO_4.5H_2O$  en fonction de la concentration de peroxyde d'hydrogène.

### III.3.3. Effet de la température:

L'augmentation de la température de la réaction d'oxydation par le peroxyde d'hydrogène en présence du sulfate de cuivre de 30°C à 60°C, entraîne une augmentation de l'intensité du pic à 270-280 nm (**Figure III.20**). Ce qui exprime l'augmentation des nombres des groupements carbonyles. Par contre, ce pic se trouve diminuer si la température passe à 75°C. Ces résultats concordent avec ceux obtenus pour la détermination de la teneur en carbonyle.

Aussi, nous constatons un épaulement voire un pic à des fréquences plus faible à 272 nm aux alentours de 230 nm pour les différentes CMC oxydées.



**Figure.III.20.** Spectres UV-Vis de la CMC et la CMC oxydée par  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  selon la température.

### III.4. Taux de gonflement :

Tous les résultats obtenus du taux de gonflement à l'équilibre dans l'eau sont donnés dans le tableau ci dessous.

Il faut mentionner que les mesures du taux de gonflement des films à base de chitosane/carboxyméthylcellulose et/ou carboxyméthylcellulose oxydée sont difficiles à réaliser.

Seuls les films à base de gélatine additionnée aux différentes carboxyméthylcelluloses ont été soumis à ce test.

**Tableau III.8:** Valeurs des  $G_{\max}$  des différentes compositions de film gélatine, gélatine /carboxyméthylcellulose et gélatine /carboxyméthylcellulose oxydée.

composition	Taux de gonflement (%)				
	Gélatine	G/CMC (95/5) (%)	G/CMCO (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) (95/5) (%)	G/CMCO (NaOCl) (95/5) (%)	G/CMCO (KIO <sub>4</sub> ) (95/5) (%)
$G_{\max}(\%)$	1186	765	900	1005	765

On constate que :

- 1- La gélatine est la plus gonflante et atteint un  $G_{\max}$  égal à 1186% ;
- 2- Quand on ajoute la CMC et/ou les CMC oxydées par différents agents oxydants, les  $G_{\max}$  diminuent.

### III.5. Diffraction des rayons X:

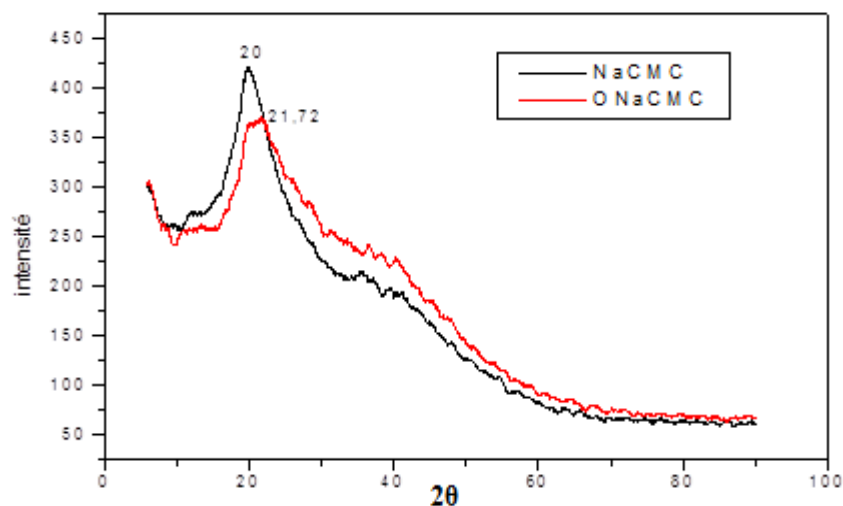
#### III.5.1. DRX de la carboxyméthylcellulose et la carboxyméthylcellulose oxydée par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> :

Selon les différents travaux menés par **NadezhdaRangelov (NadezhdaRangelov, 2014)**, le diffractogramme des rayons X de la carboxyméthylcellulose montre la présence d'un pic à  $2\theta = 20^\circ$ , ce qui indique la nature semi-cristalline de la CMC (**Figure III.21**). Cette nature semi-cristalline de la carboxyméthylcellulose est principalement attribuée aux ponts hydrogène intra et intermoléculaire (**Dobrynina et Rubinstein, 2005**).

L'ajout de l'agent oxydant entraîne une modification de la structure cristalline de la carboxyméthylcellulose. Il y a une diminution de l'intensité du pic à  $2\theta = 20^\circ$  et déplacement vers  $2\theta = 21,72^\circ$ .

On peut conclure alors que l'oxydation par le peroxyde d'hydrogène et en présence du sulfate de cuivre rend la structure moins cristalline comparée à celle de la CMC. Cette perte de la cristallinité peut être due à l'ouverture des anneaux de glucopyranose.





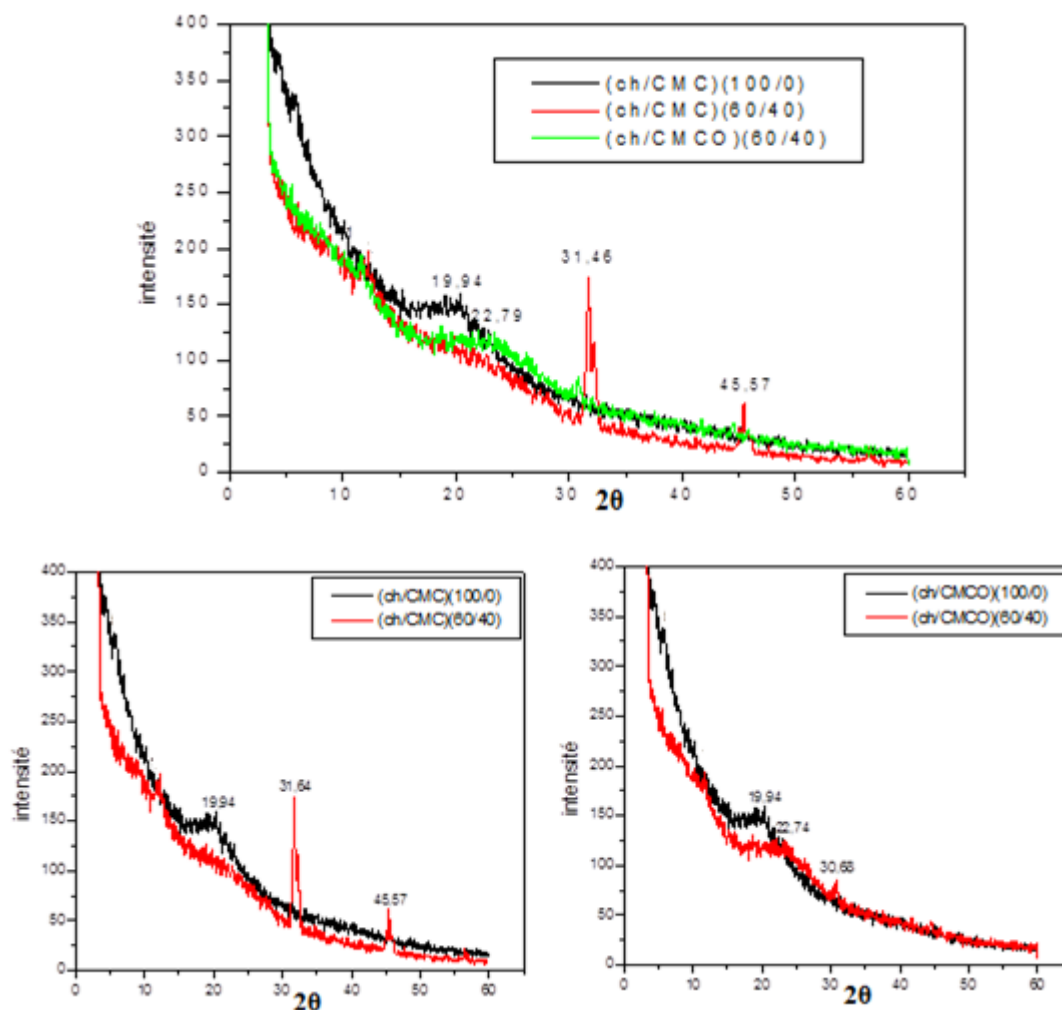
**Figure III.21.** Diffractogrammes de la CMC et la CMC oxydée par  $\text{H}_2\text{O}_2$  (13,85%)  
et  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (0.5%).

### III.5.2. DRX du Chitosane

Le diffractogramme des rayons X du chitosane exhibe un pic large de diffraction à  $2\theta = 19,97^\circ$  (Figure III.22). Alors que, Selon **Paraxuio**, le chitosane présente deux pics caractéristiques à  $9,9^\circ$ - $10,7^\circ$  et  $19,8^\circ$ - $20,7^\circ$  (**Monarul et al., 2011**).

### III.5.3. DRX du chitosane/carboxyméthylcellulose et chitosane/ carboxyméthylcellulose oxydée:

L'addition de la carboxyméthylcellulose au chitosane induit une diminution de l'intensité du pic à  $2\theta = 19,97^\circ$  et aussi l'apparition de nouveaux pics fins à  $31,46^\circ$ ,  $45,57^\circ$  indiquant une modification structurale avec augmentation de la cristallinité.



**Figure III.22.** Diffractogrammes du chitosane (100/0)(%), (ch/CMC) (60/40)(%), (ch/CMCO) (60/40)(%).

Par ailleurs, l'ajout de la carboxyméthylcellulose oxydée conduit à la disparition du pic à  $19,97^\circ$  et apparition d'un autre  $22,74^\circ$  appartenant probablement à la CMC oxydée. On signale par contre l'apparition d'un nouveau pic fin à  $30,68^\circ$ .

#### III.5.4. DRX de gélatine/carboxyméthylcellulose et gélatine/carboxyméthylcellulose oxydée :

Selon les différents travaux menés par **Miyasaka et al.**, (**Miyasaka et al.**, 1996), 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.

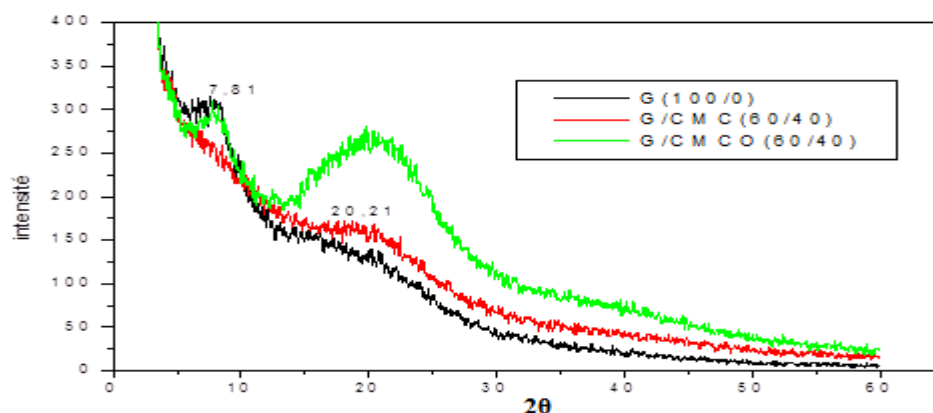
Il a été précisé qu'au niveau du diffractogramme de la gélatine, les deux pics caractéristiques aux angles  $2\theta$  à environ  $7,81^\circ$ ,  $20,21^\circ$  sont directement attribués à la structure cristalline de la

protéine (**Figure III.23**). En outre, une étude réalisée par **Bigi et al.**, (**Bigi et al.**, 2004) a montré que le pic de diffraction qui apparaît aux valeurs de  $2\theta$  égale à environ de  $8^\circ$  est lié directement au diamètre de la triple hélice et que son intensité est associée au taux de cette dernière.

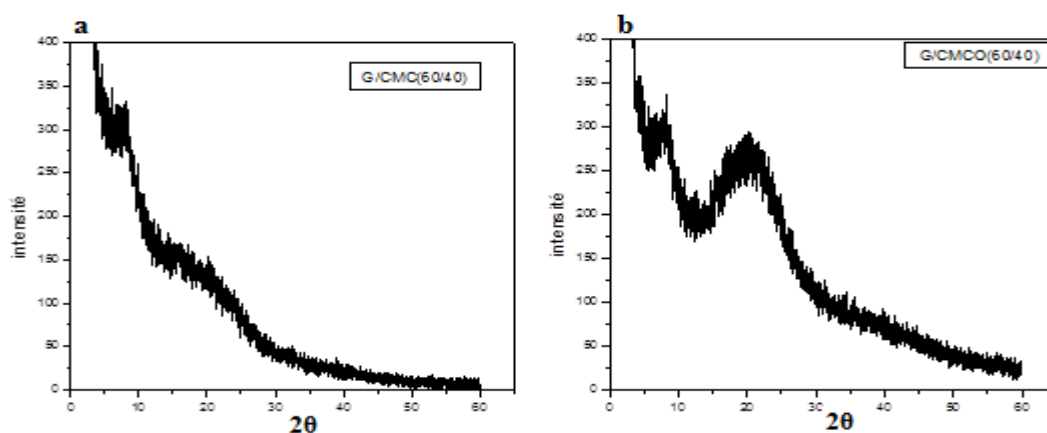
Il a aussi été démontré que l'addition d'additifs qui sont en général, des polyols tels que le tannin (**Peña et al.**, 2010), le glycérol (**Rivero et al.**, 2009) affecte le plus souvent par une diminution l'intensité du premier pic à  $8^\circ$ .

En accord avec ces résultats, l'addition de la carboxyméthylcellulose à la gélatine entraine une diminution de premier pic à  $7,81^\circ$  (**Figures III.23-24**).

L'ajout de la carboxyméthylcellulose oxydée à la gélatine conduit aussi à la diminution du premier pic à  $2\theta=7,81^\circ$  et à l'augmentation de celui à  $20,72^\circ$  (**Figure III.23-24**).



**Figure III.23.** Diffractogrammes de la gélatine, (G/CMC) (60/40)(%), (G/CMCO) (60/40)(%).

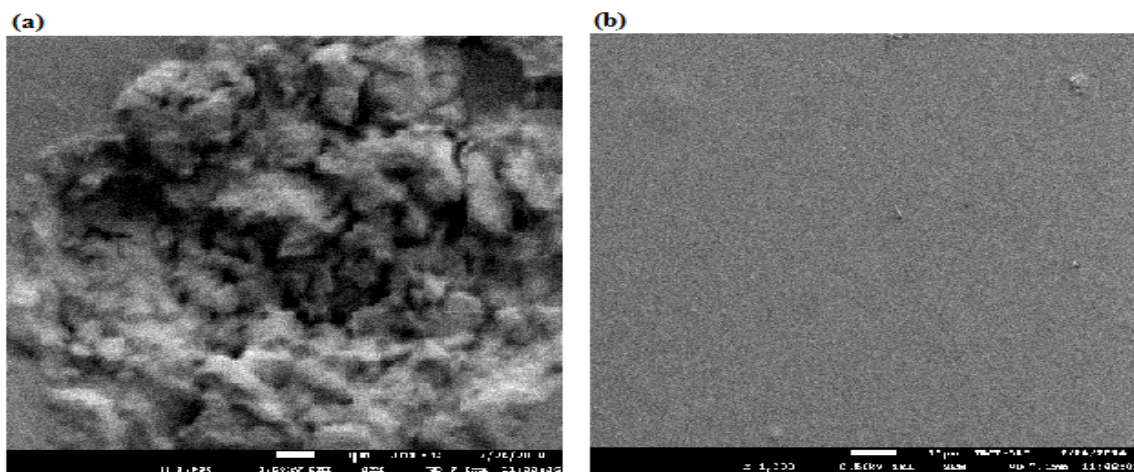


**Figure III.24.** Diffractogramme de (a): (G/CMC) (60/40)(%), (b): (G/CMCO) (60/40)(%).

### III.6. Microscopie électronique à balayage (MEB):

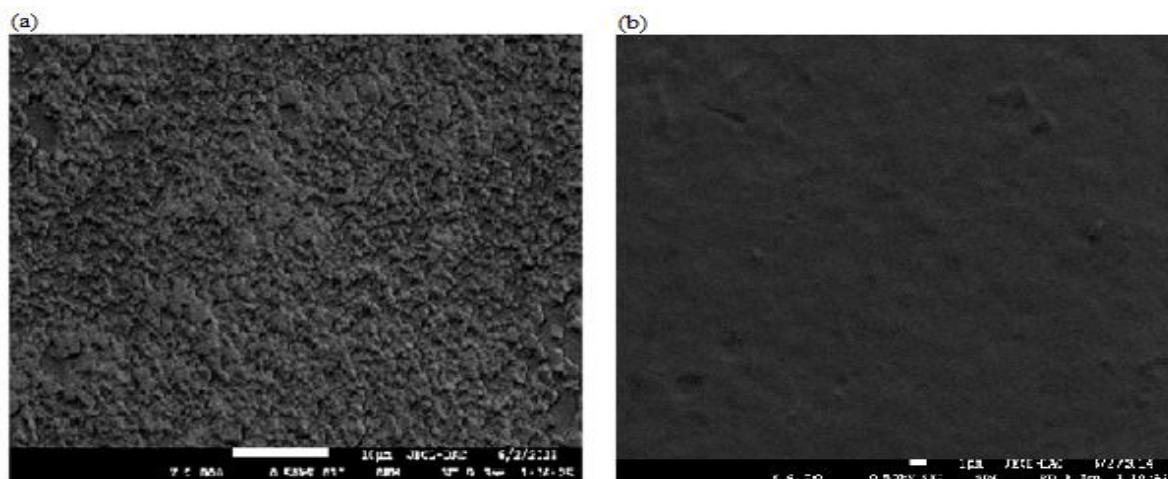
Les résultats de la microscopie électronique à balayage (MEB) représentés dans la **figure III.25** montrent que le film de la carboxyméthylcellulose /gélatine présente des agrégats. Quand au film du mélange carboxyméthylcellulose oxydée/gélatine, il présente une surface plus ou moins homogène.

D'après ces résultats, on peut dire que l'oxydation de carboxyméthylcellulose entraîne une modification de la morphologie du film.



**Figure III.25.** MEB des films (a): G/CMC (60/40)(%), (b): G/CMCO (60/40)(%).

La figure ci dessous présente le MEB des mélanges ch/CMC et ch/CMC oxydée par le  $H_2O_2$  / $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ . On observe une différence morphologique entre les deux films.



**Figure III.26.** MEB des films (a): ch/CMC (60/40)(%), (b): ch/CMCO (60/40)(%).

### III.7. Evaluation de l'activité antihémolytique in vitro:

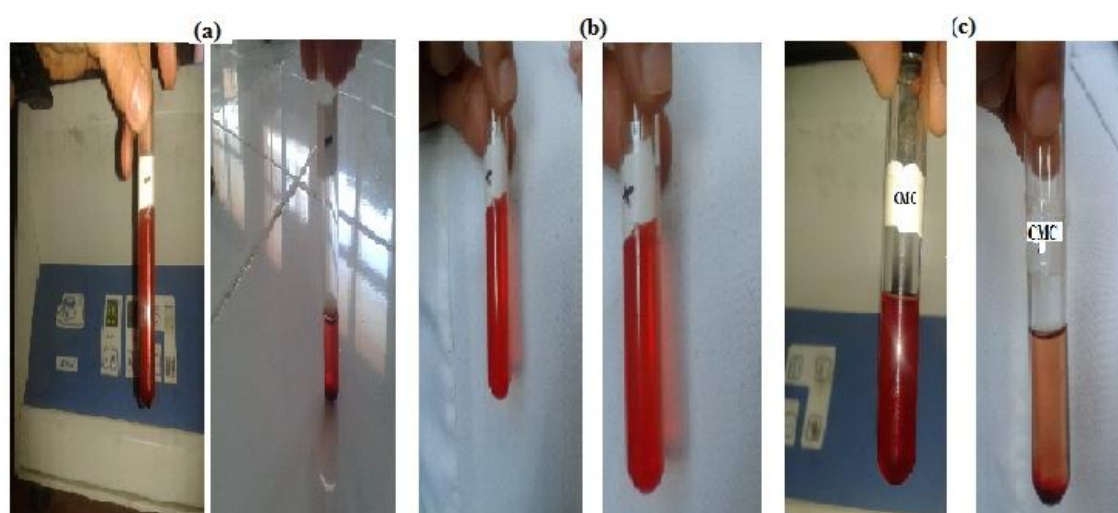
L'hémolyse du sang est un problème important lié à la bio-incompatibilité des matériaux. Le test d'hémolyse a montré que les hydrogels sont non hémolytiques dans la nature.

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.9** montre le pourcentage d'hémolyse du sang en contact avec les différents échantillons à 37 °C pendant 1h. Tous les échantillons ont été jugés non-hémolytiques (**Figure III.27**).

Cependant, l'activité hémolytique observée est inférieure à 10%. Ce qui exprime la marge de biocompatibilité avec le sang, indiquant la possibilité de leur l'administration par voie intraveineuse (**Yanyan et al., 2011**).

**Tableau III.9.** Potentiel hémolytique des hydrogels.

Echantillon	CMC	CMCO	ch/CMC (60 /40) (%)	ch/CMCO (60/40) (%)	G/CMC (60/40) (%)	G/CMCO (60/40) (%)
Hémolyse(%)	0,3	3,125	4,85	4,9	5	4,49



**Figure III.27.** Essais de compatibilité avec le sang avant et après centrifugation : **(a)**, control négatif, **(b)**, control positif. **(c)**, la CMC.

### III.8. Activité antibactérienne :

Le chitosane possède une activité antimicrobienne contre les bactéries et les levures, (**Cuero et al., 1991; Yalpani et al., 1992; Gao et al., 2007**). Il est utilisé comme additif alimentaire pour éviter la détérioration des aliments, la mélanose et le noircissement des crustacés et des mollusques (**Kovonalova et al., 2004**).

De plus, le chitosane peut agir comme un agent séquestrant de certains métaux, pouvant interférer dans la formation de toxines et la croissance microbienne.

Il ressort à partir du **tableau III.10**, que les diamètres d'inhibition de mélange ch/CMC vis-à-vis du *Pseudomonas aeruginosa* et du *Escherichia coli* sont inférieurs à celui du chitosane et de la carboxyméthylcellulose. Par contre, il augmente dans le ch/CMC oxydé. On observe aussi que l'activité antibactérienne dépend de la nature du microorganisme et de l'hydrogel, dans le cas chitosane/carboxyméthylcellulose est inactif à l'égard des bactéries telles que le *staphylococcus aureus* et le *Bacillus subtilis*.

D'après **Bindu et al., (Bindu et al., 2010)**, la gélatine ne peut pas inhiber la croissance des bactéries. L'activité antibactérienne de la gélatine est nulle.

En revanche, on note que l'ajout de la gélatine à la carboxyméthylcellulose et/ou à la carboxyméthylcellulose oxydée n'entraîne aucune amélioration de l'activité antibactérienne (**voir annexe**). Les diamètres d'inhibition de la croissance des bactéries sont presque identiques, Ils deviennent nuls pour la bactérie à gram positif (*Bacillus subtilis*).

**Tableau III.10.** Valeurs de l'activité antibactérienne des films après t=24 h.

Organisme	Diamètre d'inhibition (mm)					
	Ch (100%)	CMC (100%)	Ch/CMC (60/40)	Ch/CMCO (60/40)	G/CMC (60/40)	G/CMCO (60/40)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12	11	7	15	13	11
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	11	0	16	11	12
<i>Bacillus subtilis</i>	10	10	0	10	0	0
<i>Escherichia coli</i>	11	13	10	14	9	9

### III.9. L'activité antioxydante par voie électrochimique:

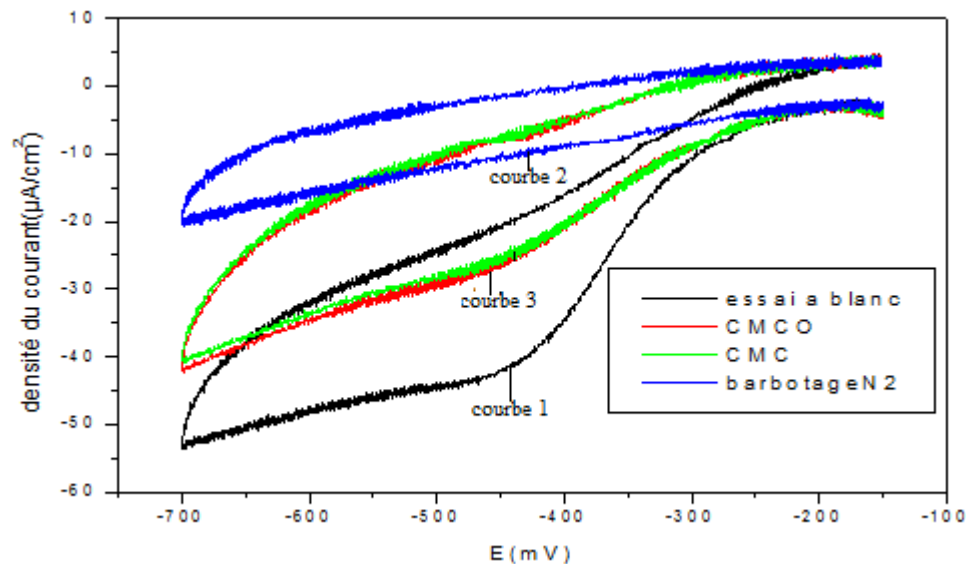
#### III.9.1. L'activité antioxydante de la carboxyméthylcellulose et carboxyméthylcellulose oxydée:

Le terme antioxydant désigne toute substance qui a pour effet de diminuer la concentration d'oxygène. Cet antioxydant retarde ou inhibe significativement l'oxydation du substrat oxygéné.

La technique de voltampérométrie cyclique (**Haliwell, 1990**) est utilisée pour générer le radicale superoxyde  $O_2^{\cdot -}$  dans la couche de diffusion de l'électrode de carbone vitreux par la réduction à un électron de l'oxygène  $O_2$ .

Le domaine d'étude est limité entre -150 et -700mV/ECS pour pouvoir observer le couple redox  $O_2/O_2^{\cdot -}$ .

On trace la courbe densité du courant en fonction du potentiel  $I=f(E)$  du coté cathodique en fonction de la vitesse de balayage, jusqu'à l'apparition claire du pic de réduction de l' $O_2$ , ce qui signifie que nous sommes en présence d'un transfert de charges (réaction électrochimique) démontré par une intensité de courant (**Figure III.28**).



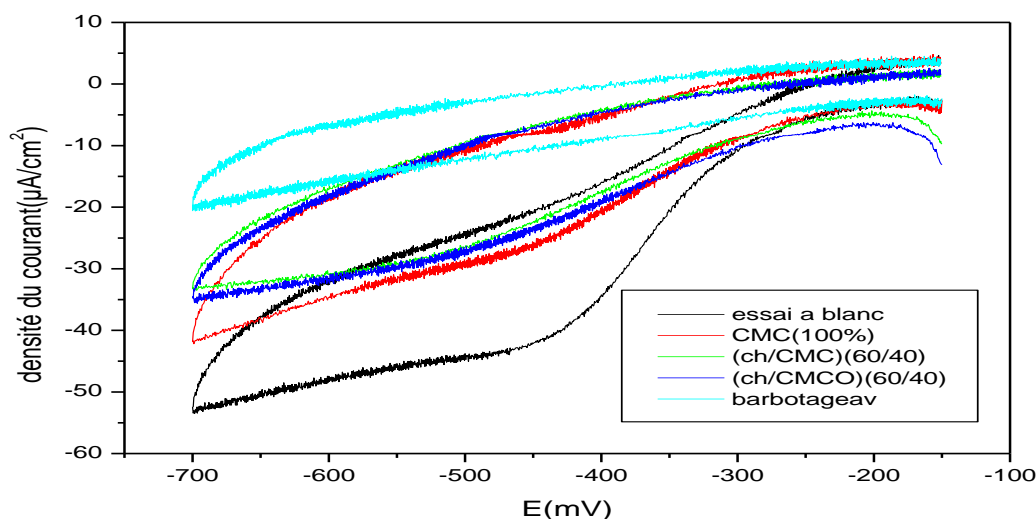
**Figure III.28** Voltammétrie cyclique d'une solution aqueuse à 0,1 M de KCl, la CMC et de la CMCO à une  $V_b = 50$  mV/s, électrode de carbone vitreux, et électrode auxiliaire, le platine.



Le voltamogramme obtenu dans un premier lieu montre l'apparition d'un pic cathodique (réduction) à  $-450$  mV/ECS (**courbe 1**). Après le barbotage avec  $N_2$  ce pic disparaît. Ce qui montre que le pic exprime la réduction de  $O_2$ , la quantité d' $O_2$  est presque nulle (**courbe2**). Après l'ajout de la CMC et en présence de  $O_2$ , le courant du pic cathodique diminue, ce qui veut dire qu'il y a une inhibition remarquable de la réduction de  $O_2$ . Si on oxyde la carboxyméthylcellulose par le peroxyde d'hydrogène, l'inhibition de la réduction d' $O_2$  se trouve moins par rapport à celle avec la carboxyméthylcellulose. Dans ce cas, on peut dire que l'oxydation entraîne une diminution de l'activité antioxydante déjà existante (**courbe 3**).

### III.9.2 Activités antioxydantes du chitosane/carboxyméthylcellulose et du chitosane/carboxyméthylcellulose oxydée:

D'après la **figure III.29**, la diminution de la densité du courant ainsi que l'inhibition de la réduction d' $O_2$  est supérieure dans le mélange chitosane/carboxyméthylcellulose par rapport à celle dans le mélange chitosane/carboxyméthylcellulose oxydée et carboxyméthylcellulose seule. Il s'avère d'après les résultats obtenus que le chitosane/carboxyméthylcellulose présente une meilleure activité antioxydante par rapport à celles du chitosane/carboxyméthylcellulose oxydée et carboxyméthylcellulose seule.

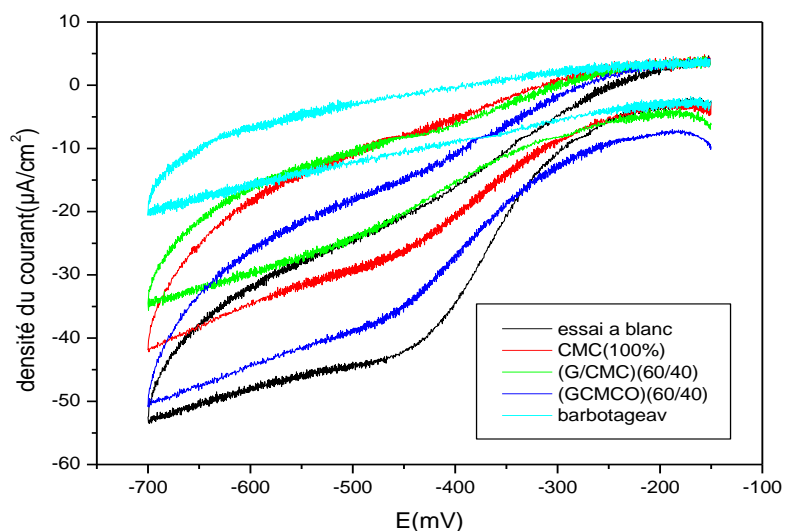


**Figure III.29.** Voltammétrie cyclique d'une solution aqueuse à 0,1 M de KCl, (ch/CMC) (60/40)(%), (ch/CMCO) (60/40)(%), à  $V_b = 50$  mV/s, électrode de carbone vitreux, et électrode auxiliaire, le platine.



### III.9.3. Activités antioxydantes de la gélatine /carboxyméthylcellulose et gélatine/carboxyméthylcellulose oxydée :

Il ressort à partir de la **figure III.30** la diminution de la densité du courant ainsi que l'inhibition de la réduction d'O<sub>2</sub> est supérieure dans le mélange gélatine/carboxyméthylcellulose par rapport à celle dans le mélange gélatine/carboxyméthylcellulose oxydée et carboxyméthylcellulose seule. D'après ces résultats, on peut dire que le mélange gélatine/carboxyméthylcellulose possède un pouvoir antioxydant plus élevé que celui de la gélatine/carboxyméthylcellulose oxydée et carboxyméthylcellulose seule.



**Figure III.30.** Voltammétrie cyclique d'une solution aqueuse à 0,1 M de KCl, la CMC, (G/CMC) (60/40)(%), (G/CMCO) (60/40)(%), à  $V_b = 50$  mV/s, électrode de carbone vitreux, et électrode auxiliaire, le platine.

Parmi les matériaux biodégradables issus de ressources renouvelables, se trouvent les polymères biodégradables naturels qui suscitent ces dernières années un grand intérêt vu l'importance de leur utilisation selon le domaine de leur application (**Averous & Boquillon, 2004**).

Les polymères naturels sont des matériaux synthétisés par les êtres vivants comme les végétaux, les animaux et les micro-organismes. On trouve par exemple les polysaccharides (amidon, cellulose, agar, alginate, pectine, gomme, lignine, chitine), les protéines (gélatine, protéines de soja, caséine, gluten, soie et laine), ou encore les lipides (de source végétale ou animale).

Les applications actuelles des polymères biodégradables comprennent notamment les implants chirurgicaux en chirurgies vasculaire et orthopédique. Les polyesters biodégradables sont largement utilisés comme structure poreuse en ingénierie tissulaire, car ils ont généralement une bonne résistance et une vitesse de dégradation réglable. Des polymères biodégradables sont également utilisés comme matrices implantables pour la libération contrôlée de médicaments dans le corps ou en tant que fils résorbables. Ils sont utilisés aussi dans certains dispositifs thérapeutiques comme par exemple les prothèses temporaires (**Vroman & Tighzert, 2009**).

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.

## **I. 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 (**Beraud, 2001**).

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

Une fois hydratés dans un environnement aqueux, ils créent la structure «gel» appelé hydrogel. Les solutions aqueuses de polymères hydrophiles à des concentrations faibles ou modérées, en l'absence de l'enchevêtrement des chaînes, produisent normalement un comportement Newtonien, d'une part.

D'autre part, une fois la réticulation entre les différentes chaînes de ce polymère est introduite, le réseau ainsi obtenu montre un comportement viscoélastique et parfois un comportement élastique pur. Comme le terme l'indique, les liaisons transversales doivent être présentes pour éviter la dissolution des chaînes de polymère hydrophile dans la phase aqueuse (Beraud, 2001).

Par ailleurs, les polysaccharides réticulés sont aussi utilisés pour le revêtement et/ou l'enrobage des substances médicinales actives ou encore dans les compositions des drogues (Patil, 2008).

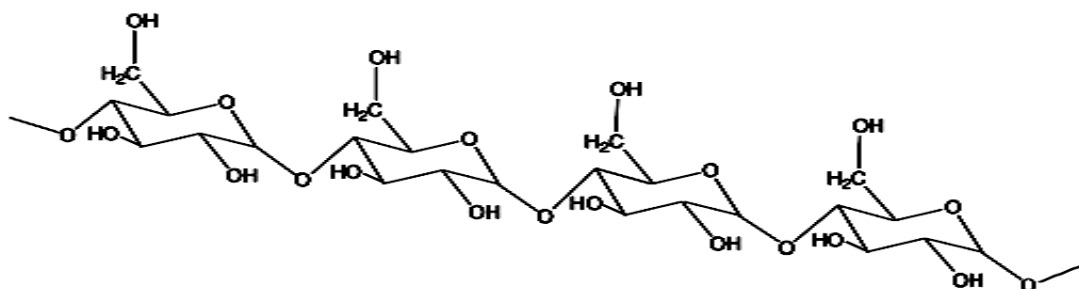
### **I.1. L'amidon:**

L'amidon est un polysaccharide d'origine végétale (**Figure I.1**). C'est la principale substance glucidique des tissus photosynthétiques.

Les caractéristiques de composition, de morphologie et d'ultrastructure qui dépendent de l'origine botanique de l'amidon ont fait l'objet de nombreuses revues bibliographiques. L'amidon est un polymère du glucose  $C_6H_{10}O_5$ , composé de deux homopolymères de structures primaires différentes: l'amylose, macromolécule quasiment linéaire et l'amylopectine, macromolécule très fortement ramifiée. La teneur en amylose est différente selon l'origine botanique de l'amidon. Elle varie entre 0% (amidon de maïs cireux ou waxy) et 70-80% (amidon de pois ridé et maïs riche en amylose). Ces valeurs extrêmes sont obtenues pour des génotypes mutés, alors que la teneur en amylose des espèces sauvages telles que la pomme de terre, le blé, le pois lisse est comprise entre 18 et 35%. L'amidon est constitué d'entités granulaires semi-cristallines qui résultent d'une organisation de ses deux constituants. L'amidon contient également en faibles quantités des constituants non glucidiques représentant 0,1 à 2% selon l'origine botanique. Ces composants mineurs sont principalement des lipides, des protéines et des minéraux localisés aussi bien à la surface des grains d'amidon qu'à l'intérieur (Puppi *et al.*, 2010).

Il représente une fraction pondérale importante des matières premières agricoles. On le trouve dans les organes de réserves des plantes telles que les céréales (30-80% de la matière sèche (ms)), les tubercules (60-90% (ms)) et les légumineuses (25-50% (ms)). L'amidon constitue la principale source d'énergie pour l'alimentation humaine et animale. C'est un composé nutritionnel abondant, renouvelable. Il se trouve dans les aliments, il possède de multiples fonctions comme épaississant, gélifiant, liant et matières sucrantes. L'amidon est également utilisé dans de nombreux secteurs industriels non-alimentaires, dans la production papetière, l'industrie pharmaceutique, cosmétique, textile, etc. Il est également devenu ces

dernières années une matière première intéressante pour la production de matières plastiques renouvelables et biodégradables et se pose en candidat potentiel pour la fabrication de biocarburants (Nair, 2006).

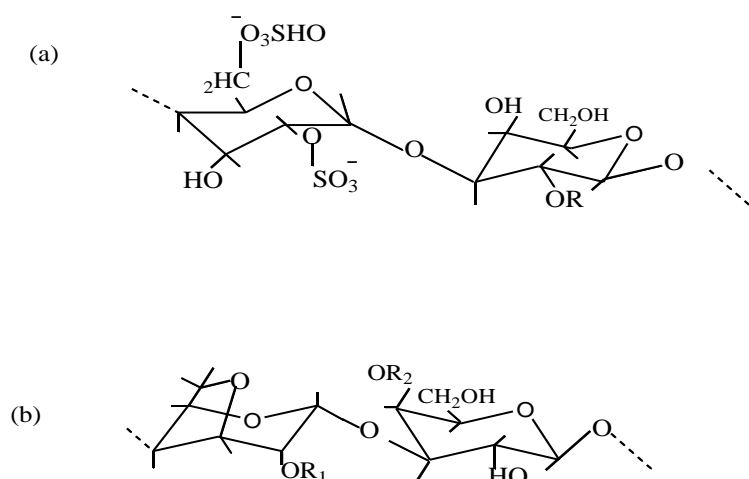


**Figure I.1.** La structure de l'amidon (Nair, 2006).

## I.2. La carraghénane:

C'est une substance gélatineuse. La carraghénane est un polysaccharide hétérogène extrait de certaines algues rouges de la famille des *Rhodophyceae*. Son nom dérive de celui du lichen Carageen (mousse d'Irlande), dont elle est initialement extraite. Elle est obtenue par traitement thermique en milieu alcalin, filtrée, précipitée dans l'alcool avant d'être récupérée sous forme de poudre (Bourrier, 2006).

Les espèces présentes dans le commerce sont les  $\lambda$ -, les K- et les  $\tau$ -carraghénanes (**Figure I.2**). Les carraghénanes sont utilisées principalement dans l'industrie alimentaire comme agents de texture ainsi que pour leur capacité à former des gels réversibles en milieu aqueux. On les trouve également dans certaines applications cosmétiques ou pharmaceutiques pour stabiliser les émulsions ou les dispersions (Lafargue, 2007).



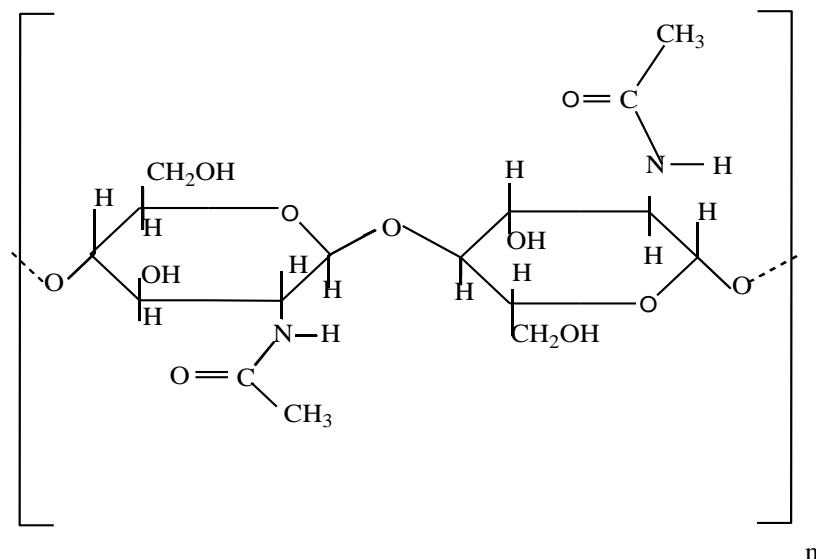
**Figure I.2.** Motif de répétition idéal de  $\lambda$ -carraghénanes ( $R = H$  ou  $SO_3^-$ ) (a), et de  $\tau$ -carraghénanes ( $R_1 = R_2 = SO_3^-$ ) et du  $\kappa$ -carraghénane ( $R_1 = H$  ;  $R_2 = SO_3^-$ ) (b) (Lafargue, 2007).

### I.3. La chitine et le chitosane:

Une autre famille de polysaccharides très fréquemment utilisée est celle constituée par la chitine et le chitosane. La source principale de ces polymères est la carapace des crustacés qui subit une déprotéinisation suivie d'une déminéralisation. Ces biopolymères sont très utilisés dans le domaine biomédical notamment comme peau artificielle, fils de suture biorésorbables ou encore lentilles de contact. Au niveau de la diététique, ces polymères constituent d'excellents pièges à lipides, épaississants ou stabilisateurs. Ils entrent également dans la composition d'engrais et de pesticides mais leur utilisation la plus remarquable est sans aucun doute le traitement des eaux polluées par les métaux lourds et les PCBs (polychlorobiphényles) pour lesquels la chitine et le chitosane constituent d'excellents agents de chélation (**Peroglio, 2008**).

#### I.3.1. La chitine:

La chitine est un polymère constitué d'unités N-acétylglucosamine reliées entre elles par des liens  $\beta$  (1-4) et peut donc être considérée comme l'équivalent aminé de la cellulose. Le chitosane est quant à lui obtenu au départ de la chitine partiellement déacétylée (**figure I.3**).



**Figure I.3.** Formule de structure de la chitine (**Peroglio, 2008**).

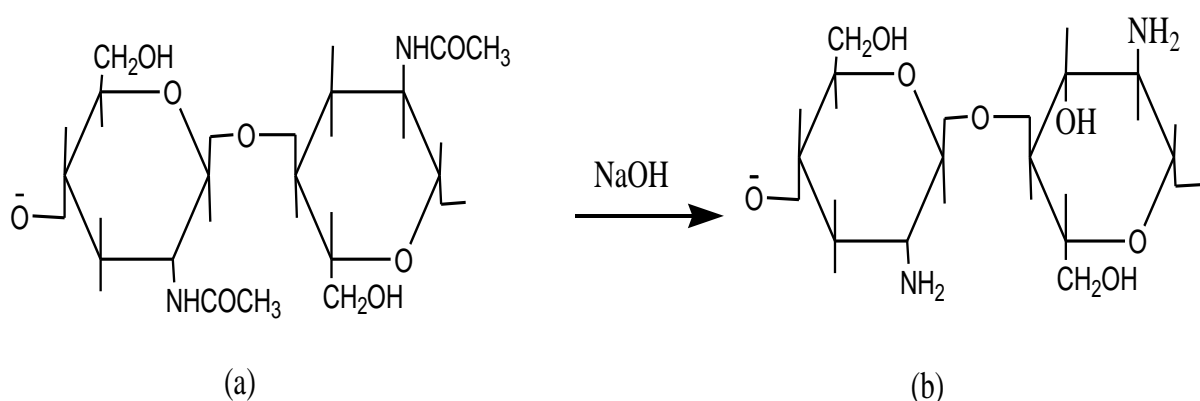
#### I.3.2. Le chitosane:

Le chitosane ou le chitosan est un polysaccharide composé de la distribution aléatoire de D-glucosamine lié en  $\beta$ -(1-4) (unité désacétylée) et de N-acétyl-D-glucosamine (unité acétylée).

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 (**Fereidoon 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**).

Le chitosane a un certain nombre d'utilisations commerciales et biomédicales possibles. Il peut être utilisé en agriculture pour le traitement des semences et biopesticide, en aidant les plantes à lutter contre les infections fongiques. En vinification, il peut être utilisé comme agent de collage, aidant également à empêcher leur détérioration. Dans l'industrie, il peut être utilisé dans 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...).

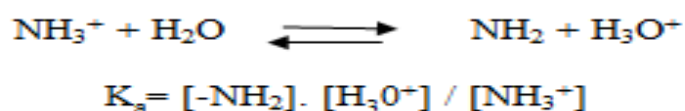
De façon plus controversée, le chitosane a été affirmé d'être utilisé pour limiter l'absorption des graisses, ce qui le rendrait utile pour suivre un régime, mais il existe des travaux qui contredisent ces effets (**Jull et al., 2008**).



**Figure I.4.** Structure de la chitine (a) et de chitosane (b) (**Shahidi et Abuzaytoun, 2005**).

- **Solubilité:**

À l'état solide, le chitosane montre une structure irrégulière contradictoire lorsque celui-ci est de faible poids moléculaire et 100% déacétylé. Le chitosane sous forme -NH<sub>2</sub> est insoluble dans l'eau, dans les acides concentrés, les bases et les solvants organiques. Ce sont ses propriétés acido-basiques qui permettent une dissolution facile. En effet, il est soluble dans les acides dilués grâce à la protonation de ses groupes amines suivant l'équilibre:



Comme pour tout polyélectrolyte, le pKa du chitosane dépend plus particulièrement du degré de neutralisation des groupes NH<sub>3</sub><sup>+</sup>. Le pKa va également dépendre du DA. En effet, la densité de charges varie d'un DA à l'autre pour un même degré de neutralisation de groupements NH<sub>3</sub><sup>+</sup>. Toutefois, quelle que soit la valeur du DA (comprise entre 0 et 25 %), pour des masses moléculaires suffisamment élevées, la valeur limite du pKa obtenue à un degré de neutralisation égal à 1, est pK<sub>o</sub> = 6,5, avec pK<sub>o</sub> étant le pKa intrinsèque du chitosane. La solubilité du chitosane varie donc en fonction de la distribution et du pourcentage d'acétylation sur les chaînes (**Rinaudo et al., 1987**).

#### **I.4. La cellulose:**

Il y a un peu plus de 180 ans, Anselme Payen découvrait et isolait de la cellulose à partir de plantes vertes (**Le Roux, 2003**). Depuis, de nombreuses recherches ont donné lieu à d'innombrables revues concernant ce polymère.

La cellulose reste le bio-polymère le plus abondant sur la planète et est largement exploitée dans le monde. On estime que la production annuelle de cellulose synthétisée naturellement est de l'ordre de 10<sup>11</sup>-10<sup>12</sup> tonne. Ce bio-polymère peut se présenter sous une forme pure, comme dans le coton ou combiné avec de la lignine et autres polysaccharides pour former les parois cellulaires des arbres et autres plantes lignocellulosiques.

La cellulose entre pour une part importante dans la composition des membranes végétales avec une teneur variant de 15% à 99% (**Tableau I.1**).

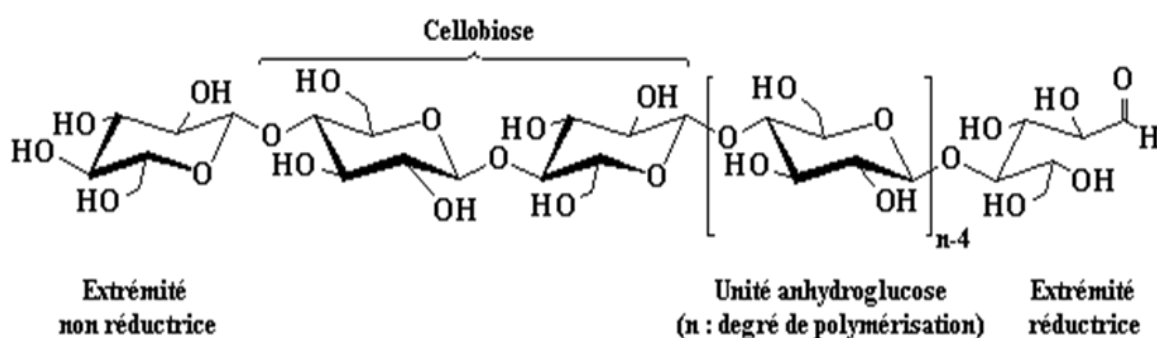
La cellulose est une macromolécule à très longue chaîne stéréorégulière formée de maillons de glucose. Le nombre de ces maillons ou degré de polymérisation varie suivant l'origine de la cellulose (**Tableau I.2**). Dans son état naturel, la cellulose est fibrillaire et

partiellement cristalline. Ce polymère est renouvelable et, de ce fait, présente un grand intérêt du point de vue industriel. En effet, un grand nombre de textiles (coton, chanvre, jute, lin...) sont composés de ces fibres et le papier est constitué essentiellement de cellulose. Dans la nature, la cellulose est souvent combinée à la lignine.

**Tableau I.1** : Teneur en cellulose de quelques espèces végétales (**Bledzki, 1999**).

Espèce végétale	Teneur en cellulose (en pourcentage de la matière sèche)
Coton	95-99
Lin	70-75
Bambou, bouleau (bois), blé (paille)	40-50
Maïs	17-20

C'est un homopolysaccharide à très longue chaîne, de masse molaire très élevée et de formule brute  $(C_6(H_2O)_5)_n$  (**Doublier, 2000**). Elle appartient à la famille des  $\beta$ -D-glucanes. Elle est constituée exclusivement d'unités  $\beta$ -D-glucose reliées entre elles par des liaisons de type  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 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.5**) (**Doublier, 2000**).



**Figure I.5.** Représentation de la chaîne de cellulose (**Kamel *et al*, 2008**).

L'extrémité réductrice du polymère correspond à l'unité glucose dont l'hydroxyle en position anomérique est libre. La forme hémiacétal est en équilibre avec la forme aldéhyde réductrice minoritaire. L'extrémité non réductrice est nommée ainsi car le groupement hydroxyle anomérique est engagé dans une liaison osidique.



**Tableau I.2 :** Degrés de polymérisation (DP) de la cellulose provenant de différentes espèces végétales **(Shimada, 2001).**

Espèce végétale	DP
Algue Volonia	26.500
Coton (fibre industrielle), bouleau (boi)	10.000
Chanvre, Ramie, Lin	9.000
Epicéa (bois)	9.000

#### **I.4.1. Propriétés et caractéristiques:**

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.

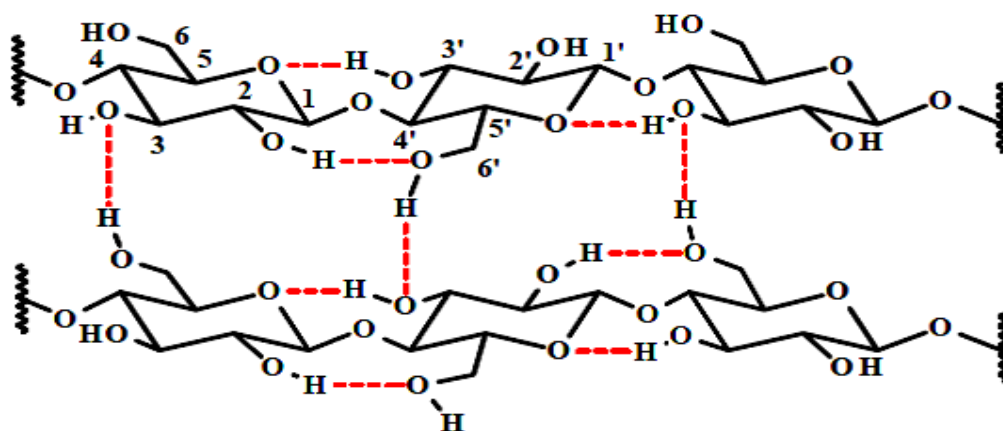
Ce matériau très réticulé est semi-cristallin, il se caractérise par une certaine proportion de cristallites au sein d'une masse amorphe. Sa stabilité est assurée par des liaisons hydrogènes inter- et intramoléculaires.

La cellulose est pratiquement insoluble dans l'eau, dans les solutions alcalines ou acides dilués. Elle est soluble dans très peu de solvants, le plus connu et le plus utilisé est un mélange de chlorure de lithium (LiCl) et de N,N-diméthylacétamide (DMAc) **(Chetouani, 2011).**

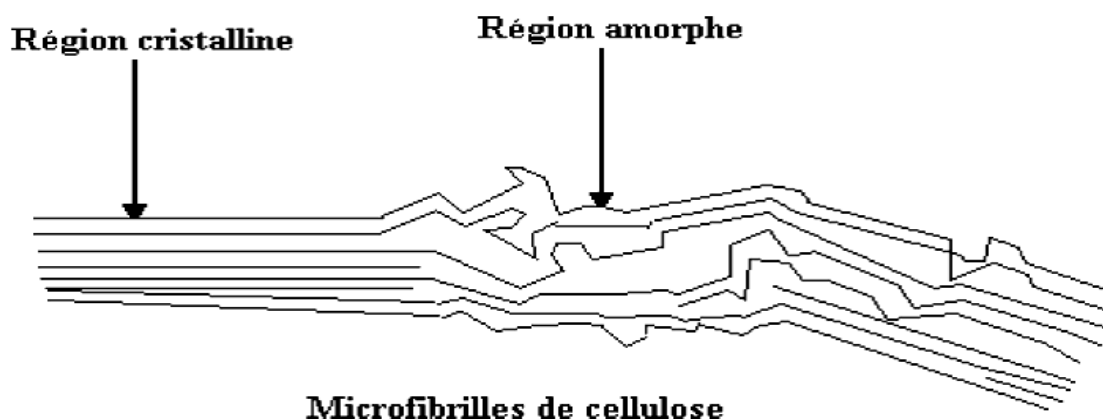
Une analyse faite par porosimétrie au mercure a montré que la cellulose présentait une "porosité naturelle" : les pores répartis de façon homogène sur le matériau ont un diamètre moyen de 100Å **(Bartouilh, 2004).**

L'analyse de la cellulose par chromatographie en phase gazeuse après hydrolyse et dérivation montre que celle-ci est constituée à plus de 95% de glucose, mais on ne peut pas exclure que certains sucres tels que le galactose ou la xylose existent en petite quantité dans le polymère. La diffraction des rayons X par les monocristaux de la cellulose a permis d'établir que deux motifs  $\beta$ -D-glucopyranosyles adjacents ne sont pas dans le même plan moyen. Ceci est dû aux liaisons hydrogène intramoléculaires entre l'oxygène hétérocyclique et l'hydrogène du groupement hydroxyle fixé sur le carbone 3' **(Joli, 2003).** Ainsi, la dimension de l'unité cellobiose est toujours de 10,3 Å. En raison du grand nombre de groupements hydroxyles sur la chaîne, il existe de multiples possibilités de liaisons hydrogènes intermoléculaires **(Figure I.6).** De plus, il existe d'autres liaisons hydrogènes mettant en jeu des molécules d'eau qui

sont ainsi intimement liées à la cellulose. Toutes ces contraintes font de la cellulose une molécule fibrillaire et partiellement cristalline (**Figure I.7**) (**Stage, 2002**).



**Figure I.6.** Liaisons hydrogène inter et intramoléculaires au sein de la fibre de cellulose.



**Figure I.7.** Morphologie des microfibrilles constituant les fibres de cellulose.

#### **I.4.2. Le gonflement de la cellulose:**

Le double caractère de la cellulose (à la fois cristalline et amorphe) induit une pénétration en deux étapes d'un composé au sein de la cellulose. La première étape, la plus aisée, est la pénétration dans la zone amorphe de la cellulose. Il provoque un gonflement intercristallin. Lorsque le composé pénètre dans les régions cristallines, il induit un gonflement intracristallin (**Mazza, 2009**). Tous les composés ne peuvent pas atteindre l'intérieur de la zone cristalline. L'eau par exemple n'entraîne qu'un gonflement intercristallin de la fibre de cellulose (**Isogai, 2000**). Aussi, la quantité d'eau maximale qui peut être contenue dans les parois d'une cellule de bois (point de saturation) varie entre 0,31 et 0,62 grammes par gramme de matière sèche.

Cette quantité varie avec la provenance de la cellulose, son traitement, ou l'histoire des séchages et réhumidifications. Le gonflement intercristallin a aussi été étudié avec des solvants organiques (**Scherer, 1931**).

Certains composés sont capables de passer au travers de la barrière de la cristallinité et engendrent un gonflement dit intracristallin. Bien que pénétrant la cellulose au plus profonde sa structure, ils ne sont pas capables de la dissoudre. Les hydroxydes de sels alcalins (dont la soude utilisée dans le procédé de mercerisage), les amines et l'ammoniac liquide font partie de cette catégorie (**Turbak, 1980**).

#### **I.4.3. Modifications chimiques:**

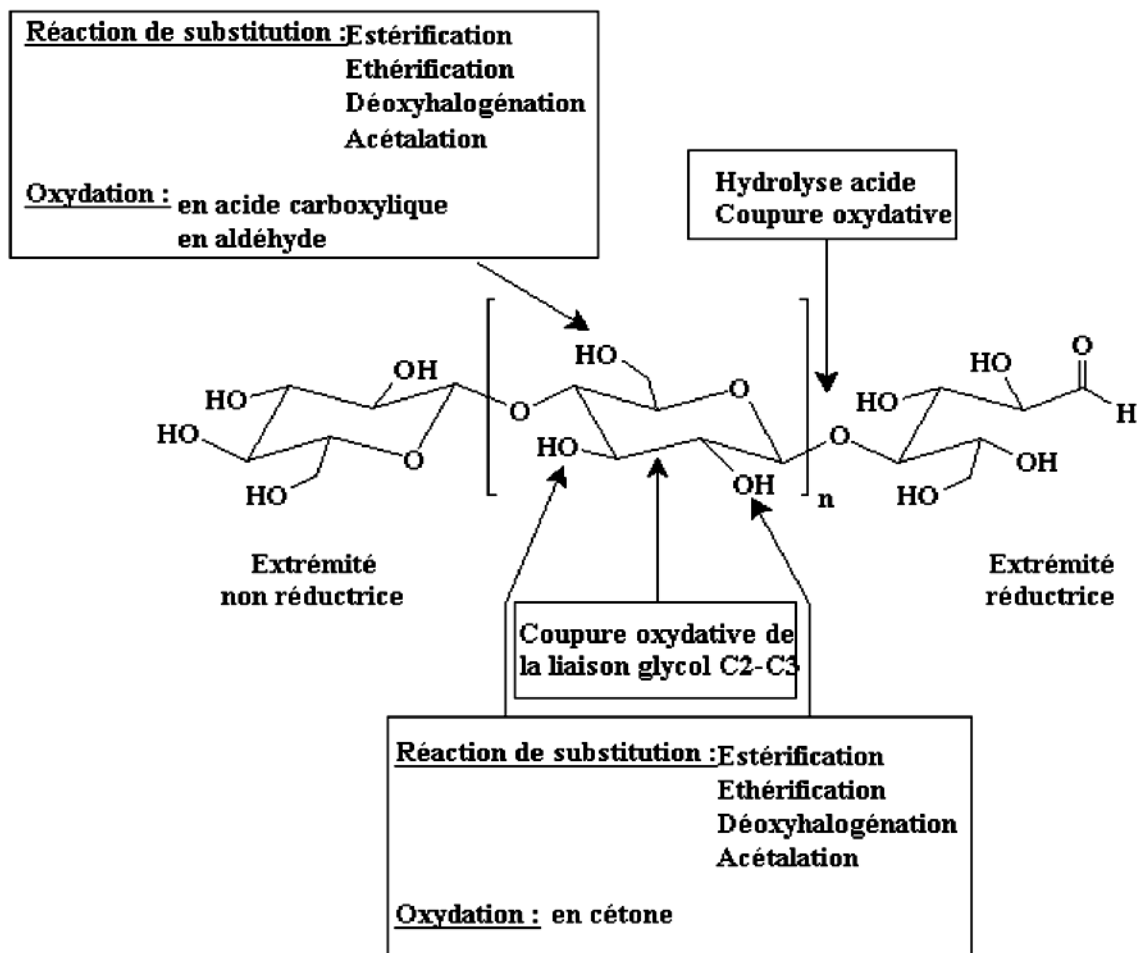
Les modifications de cellulose les plus fréquemment rencontrées sont l'estérification et l'éthérification des groupements hydroxyles de la cellulose. De nombreux dérivés cellulosiques hydrosolubles ou solubles dans des solvants organiques sont préparés par ces méthodes chimiques de modification. Il existe cependant d'autres types de transformation, telles que la déoxyhalogénéation et l'oxydation.

Les différents types de modification de la cellulose sont répertoriés sur la **Figure I.8**. Il est possible d'effectuer sur la cellulose toutes les modifications applicables aux alcools primaires (C-6) et secondaires (C-2, C-3), aux liaisons cétales (C1-C2), aux liaisons éthers (liaisons  $\beta$  (1-4)) et, à un moindre niveau, aux fonctions aldéhydes (extrémité réductrice du polymère) (**Isogai, 2000**).

Ces différentes réactions peuvent être classées en deux catégories, selon les modifications apportées au polymère :

- modifications des groupements hydroxyles.
- modifications du squelette lui-même (oxydation de la liaison glycol, oxydation de la fonction alcool primaire).

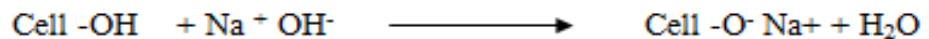
Cependant, dans presque tous les cas de transformations, la cellulose doit subir un traitement préalable en raison du nombre important de liaisons hydrogène.



**Figure I.8.** Modifications chimiques les plus rencontrées en relation avec la structure du cellulose (Isogai, 2000).

#### I.4.3.1. Ethérification:

L'éthérification de la cellulose est un vaste secteur industriel et la production de dérivés cellulosiques issue de cette voie se chiffre en centaines de milliers de tonnes par an. La préparation d'un éther de cellulose a été mentionnée pour la première fois en 1905 en faisant réagir le sulfate de diméthyle avec de la cellulose pour obtenir de la méthylcellulose qui est l'exemple le plus représentatif des éthers de cellulose aliphatiques. Ce produit commercial, avec des degrés de substitution (DS) compris entre 1,5 et 2, est obtenu par réaction de Williamson entre la cellulose et le chlorure de méthyle. La réaction est du 2<sup>o</sup> ordre de type  $SN_2$  avec une attaque nucléophile de l'alcoolate sur le carbone électrophile du chlorure de méthyle (**Figure I.9**).

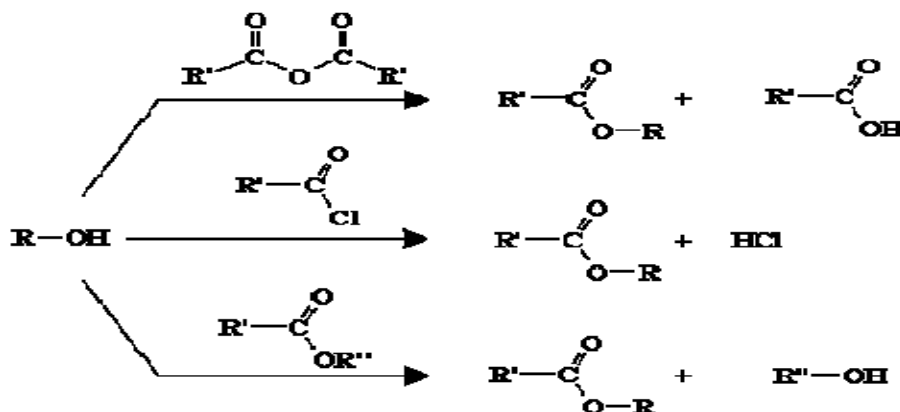


**Figure I.9:** Préparation de la méthylcellulose (Dawsey, 1994).

#### I.4.3.2. Estérification:

L'estérification de la cellulose concerne de nombreuses applications, elle peut être effectuée par des agents organiques ou inorganiques (Berlitz, 2007). La réaction est le plus souvent réalisée à partir de dérivés d'acide : anhydride d'acide, chlorure d'acide (Figure I.10).

Les principaux dérivés produits sont les Xanthogénate de cellulose, les acétates de cellulose et les nitrates de cellulose. Ces dérivés forment un gros volume de production mondiale (Tableau I.3).



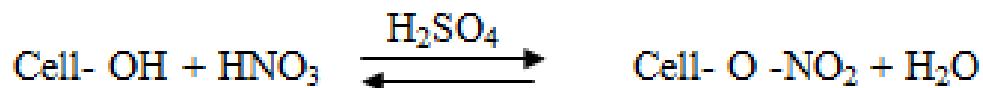
**Figure I.10 :** Synthèse des esters de cellulose à partir des dérivés des acides carboxyliques (Berlitz, 2007).

**Tableau I.3 :** Production mondiale d'esters de cellulose commerciaux (Wilson, 2011).

Ester	Production par an (t/a)
Xanthogénate de cellulose	3.200.000
Acétate de cellulose	850.000
Nitrate de cellulose	200.000

- **Nitrate de cellulose:**

Depuis sa découverte par **Schönbein** en 1847, la nitration de la cellulose est réalisée par le système  $\text{HNO}_3$  et  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . L'oléum permet de former l'entité réactive  $\text{NO}_2$  et prend le rôle de déshydratant (**Figure I.11**).



**Figure I.11:** Nitration de la cellulose (**Heinze, 2004**).

La production industrielle est basée sur un équilibre hétérogène rapide entre la cellulose et le système de nitration où le nitrate joue le rôle d'oxydant intramoléculaire. Le degré de substitution dépend des proportions du système ternaire  $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}$ .

- **Nitrites de cellulose:**

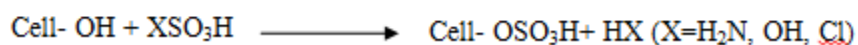
Contrairement aux nitrates de cellulose, les nitrites de cellulose ne peuvent pas être préparés à partir de l'acide  $\text{HNO}_2$  dû à sa faible acidité et à sa faible stabilité. La réaction se fait au moyen du système  $\text{N}_2\text{O}_4$ ,  $\text{NOCl}$  en conditions anhydres dans un solvant aprotique polaire comme le DMF (**Figure I.12**).



**Figure I.12:** Schéma général de la formation des nitrites de cellulose (**Heinze, 2004**).

- **Sulfates de cellulose:**

L'estérification de la cellulose en présence de  $\text{SO}_3$  (**Figure I.13**) conduit généralement à de faibles degrés de substitution  $< 0,3$ .



**Figure I.13:** Estérification de la cellulose par des groupes sulfates (**Heinze, 2004**).

Pour la synthèse de dérivés aux degrés de substitutions plus importantes, les systèmes  $\text{SO}_3/\text{DMSO}$  et  $\text{SO}_3/\text{DMF}$  sont employés. La production de  $\text{SO}_3$  est assurée par de l'acide sulfurique ou de l'acide chlorosulfonique (Nevell, 1985).

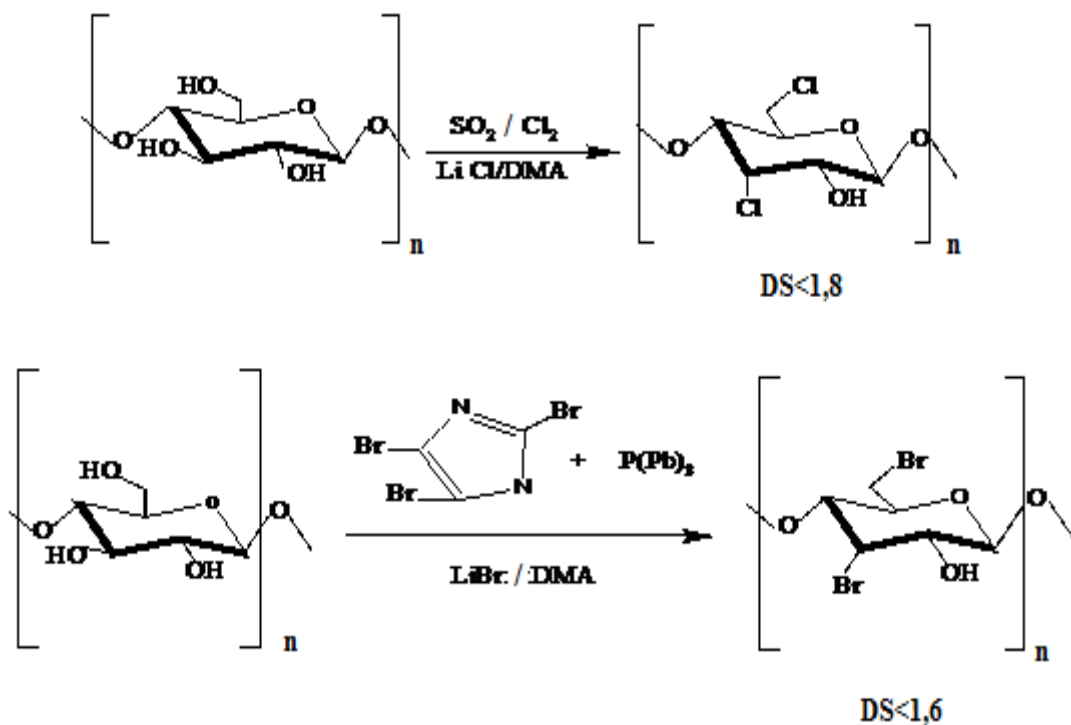
- **Acétates de cellulose:**

Le premier ester de cellulose organique a été synthétisé par **Schützenberger** en 1865-1969. Les premiers essais avec l'acide acétique et  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ont conduit à des problèmes de dépolymérisation. Actuellement, le réactif utilisé est l'anhydride acétique (Meilleurs taux de fonctionnalisation qu'avec l'acide acétique seul). Pour déplacer l'équilibre d'estérification dans le sens de la stabilité de l'ester, plusieurs paramètres peuvent être modifiés comme l'élimination de l'eau, un excès de réactif ou l'ajout de catalyseurs ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HClO}_4$ , acide de Lewis type  $\text{ZnCl}_2$ ).

#### **I.4.3.3. Désoxycelluloses:**

Les désoxycelluloses sont des molécules de cellulose dans lesquelles on a retiré ou remplacé une ou plusieurs fonctions alcool (Vigo et al., 1999). Ces produits ont des applications biologiques (anti-inflammatoires, anticoagulants, antibiotiques), chimiques (échangeur d'ion chélatant) et physiques (systèmes oxydo-réducteur).

La préparation de dérivés halogénés de la cellulose a été étudiée le plus souvent en solvant non aqueux (comme le système  $\text{LiCl}/\text{DMA}$ ). Les dérivés halogénés peuvent être la matière première de réactions de substitutions pour fonctionnaliser la cellulose. Cette réaction a préférentiellement lieu sur le carbone 6, puis sur la position 3, mais il n'est pas reporté dans la littérature de substitution en C-2. De plus, la réaction sur le carbone 3 entraîne une inversion de Walden (Figure I.14) (Vigo et al., 1999). La disubstitution peut être réalisée par action, en phase homogène, du chlorure de sulfuryl ou du mélange tribromoimidazole/triphénylphosphine sur la cellulose (Suzuki et al., 1995).



**Figure I.14 :** Exemples de désoxyhalogénéation de cellulose avec DS : le degré de la substitution.

#### I.4.3.4. Les différentes réactions d'oxydation de la cellulose:

Les réactions d'oxydation du cycle *pyranose*, unité fondamentale de la cellulose, impliquent les hydroxyles primaires et secondaires qui se transforment en carbonyles, cétone ou aldéhyde, et en carboxyles.

Ces oxydations peuvent être accompagnées de l'ouverture de la *pyranose*. Dans ce cas, la liaison glucosidique devient plus faible ; la formation des groupes carboxyliques induit une dépolymérisation, réduisant ainsi le degré de polymérisation (DP) et la résistance mécanique du matériau (Teotia, 2012).

Les différentes réactions d'oxydation de la cellulose ou de ses dérivés sont décrites ci dessous:

- **Oxydation par le chlorite de sodium:**

L'unité de glucose de la cellulose s'oxyde position 6 en carboxycellulose en présence du chlorite de sodium dissous dans l'acide phosphorique concentré ajouté aux nitrite/nitrate.



En général, les rendements sont supérieurs à 80%, et le degré d'oxydation est de 80-90%. En réalité, la réaction n'est pas tout à fait spécifique, puisque des oxydations des hydroxyles secondaires se produisent.

Ce type d'oxydation a montré une diminution du degré de polymérisation DP, une légère augmentation du taux de cuivre et une augmentation de la teneur en groupes carboxyles, selon les conditions de la réaction.

Par ailleurs, l'oxydation de O-méthyl-cellulose et de la cellulose partiellement carboxyméthylée est accompagnée d'une dépolymérisation, d'une augmentation de la teneur en groupes carboxyles et d'une légère diminution du DS.

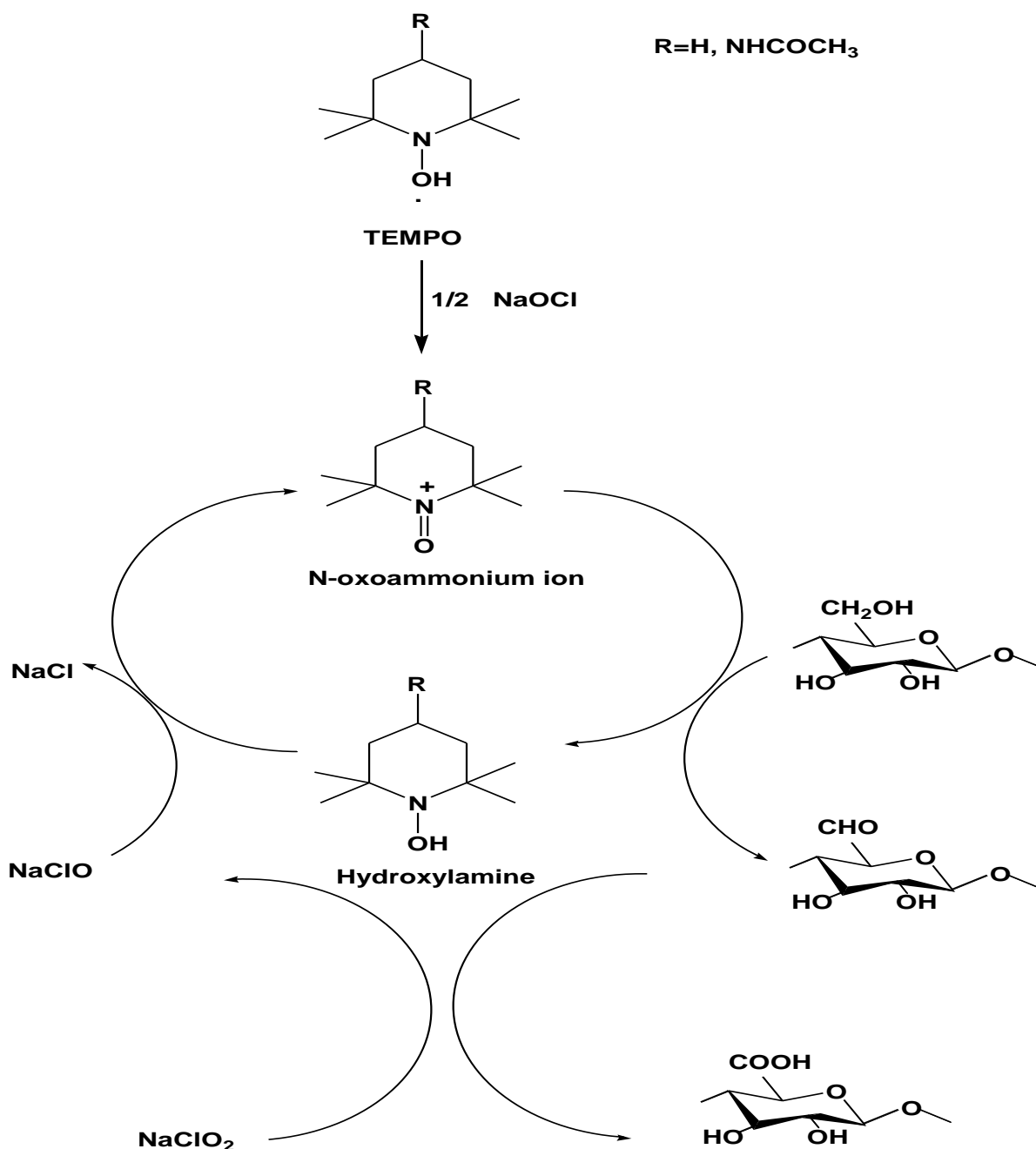
En revanche, l'oxydation des dérivés de la cellulose semble être indépendant du nombre de groupes hydroxyles libres, en particulier dans le milieu acide (**Kantouchet *al.*, 1970**).

- **Oxydation par le TEMPO:**

Les acides polyuroniques ont été obtenus par oxydation quantitative des hydroxyles primaires en C6 en groupement carboxylates par le système TEMPO/NaBr/NaClO. Dans le cas des polysaccharides ayant des hydroxyles primaires en C6 et qui sont non hydrosolubles telles que la cellulose et la chitine, un pH de 9-11 est obligatoire pour leur hydrosolubilisation (**Masayuki *et al.*, 2009**).

L'oxydation de la cellulose par le TEMPO montre des baisses substantielles de degré de polymérisation (DP). Un nouveau système d'oxydation avec des quantités catalytiques de TEMPO et NaClO utilisant le NaClO<sub>2</sub> comme oxydant primaire, c'est à dire un système TEMPO/NaClO/NaClO<sub>2</sub>, a été 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/NaClO, le carboxyle peut être obtenu avec de meilleurs rendements dans des conditions neutres.

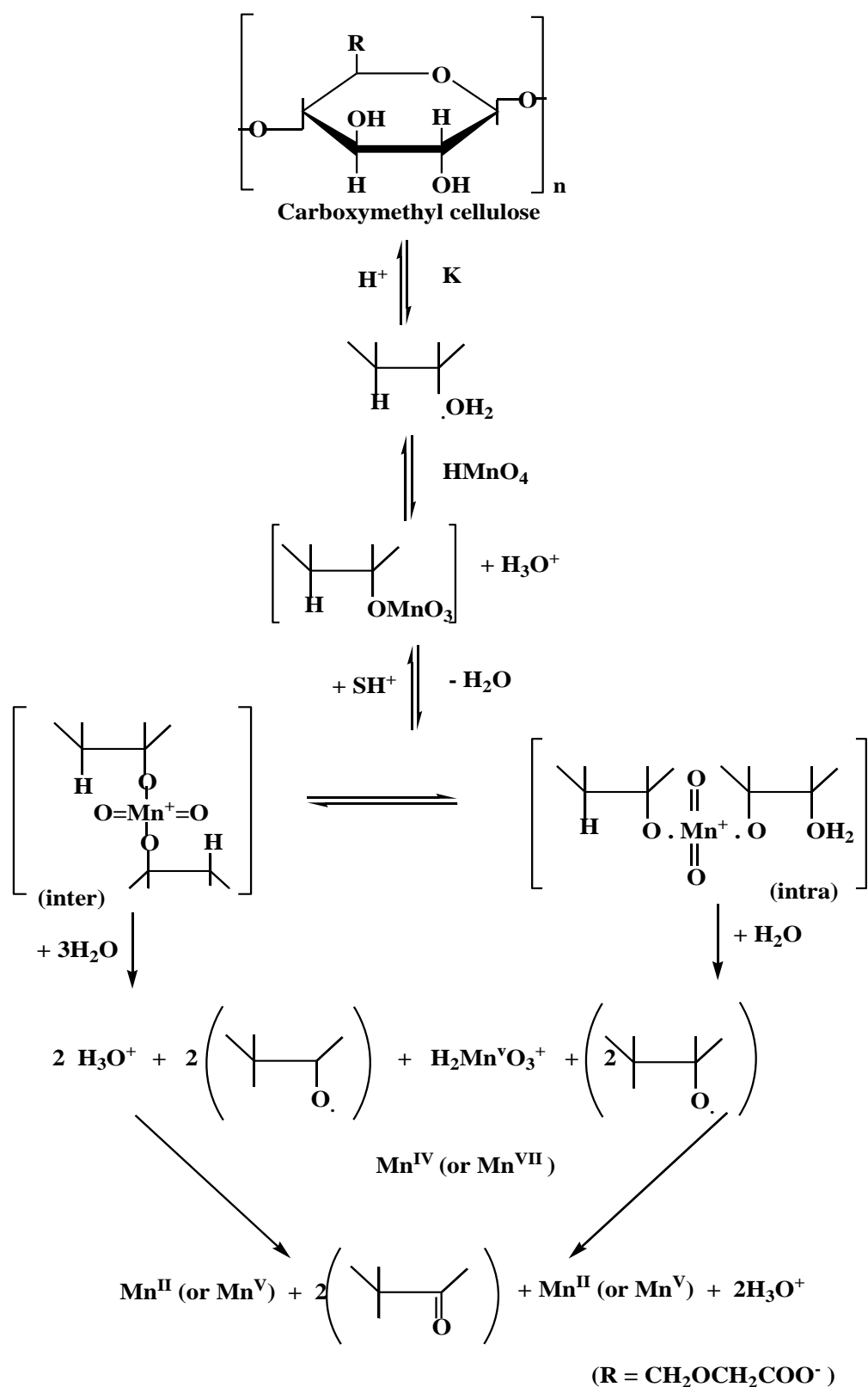
La **Figure I.15** illustre le schéma réactionnel. Le NaClO oxyde le TEMPO en formant l'ion N-oxoammonium qui oxyde à son tour rapidement l'hydroxyle primaire en aldéhyde en milieu acide ou neutre, formant l'hydroxylamine. L'aldéhyde est oxydé en un groupe carboxyle par l'oxydant primaire le NaClO<sub>2</sub>, formant le NaClO. L'hydroxylamine est oxydée en l'ion N-oxoammonium à nouveau par le NaClO ainsi généré. Il ne reste pas de groupes aldéhydes dans les produits oxydés. La dépolymérisation des chaînes de la cellulose causées par  $\beta$ -élimination est évitée (**Masayuki *et al.*, 2009**).



**Figure I.15.** Oxydation des hydroxyles primaires en C6 de la cellulose par le système TEMPO/NaClO/NaClO<sub>2</sub> dans l'eau à pH 3,5-6,8 (Masayuki *et al.*, 2009).

- **Oxydation par le permanganate de potassium de la carboxyméthylcellulose:**

L'oxydation de la carboxyméthylcellulose (CMC) par l'ion permanganate en solution aqueuse d'acide perchlorique a été étudiée par Refat *et al.*, Les sels ajoutés de Mn<sup>III</sup> et/ou de Mn<sup>IV</sup> jouent un rôle important dans la cinétique de la réaction qui est en faveur avec la formation sélective d'une monocétone à partir de l'alcool secondaire en position 3 (Figure I.16) (Refat *et al.* 2009).

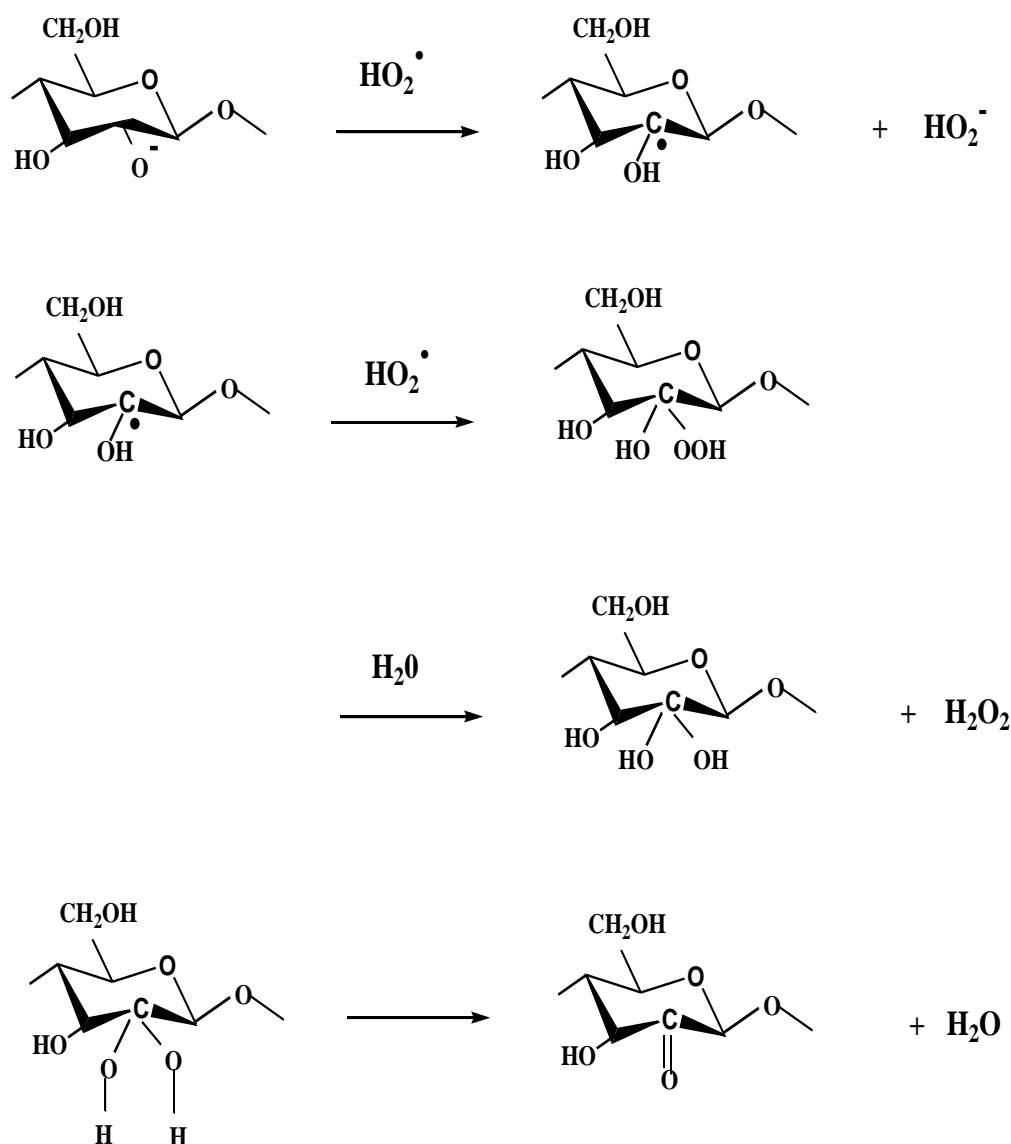


**Figure I.16.** Oxydation de la carboxymethylcellulose par le permanganate de potassium  
(Refat *et al.*, 2009).

- **Oxydation par le  $H_2O_2$ :**

Le degré de polymérisation de la cellulose peut être abaissé par la réaction avec le peroxyde d'hydrogène et transformée en une oxycellulose. **Lewin et Ettinger (Lewin et al., 1969)** ont fait une étude approfondie de la réaction entre le peroxyde d'hydrogène et de 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 a été relativement forte tandis que l'oxydation est restée lente. Lors, ils ont suggéré que l'ion  $HO_2^-$  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  $HO_2^-$ . Dans une expérience réalisée à un pH de 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. Ainsi, 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. **Ney (Ney, 1982)** a suggéré que le radical perhydroxyl qui oxyde la cellulose dans une solution alcaline en C2 et C3 et que plusieurs réactions différentes 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.17**) (**Zeronian et al., 1995**).

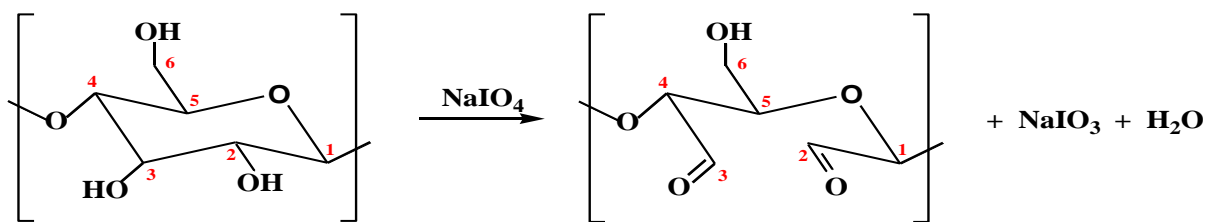
Par ailleurs, **Davidson (Davidson, 1960)** a suggéré que l'oxydation de la cellulose ne mène pas à la rupture des chaînes de molécules mais rend les liens des points d'attaque très sensible au clivage alcalin (**Haskins et al., 1960**).



**Figure I.17.** Oxydation de la cellulose par le peroxyde d'hydrogène (**Haskins *et al.*, 1960**).

- **Oxydation par le periodate:**

La conversion de la carboxyméthylcellulose (CMC) en dérivé dialdéhydes (**Figure I.18**) par le periodate en milieu acide a été étudiée en fonction du pH, de la température et du temps. Le rapport stoechiométrique de  $\text{NaIO}_4$  à CMC et le pH du milieu aqueux sont en grande partie responsables de la teneur en aldéhyde et du rendement du produit. Cette étude indique quantitativement la dégradation substantielle du dérivé de la cellulose par la méthode d'oxydation au periodate (**Hongli *et al.*, 2011**).

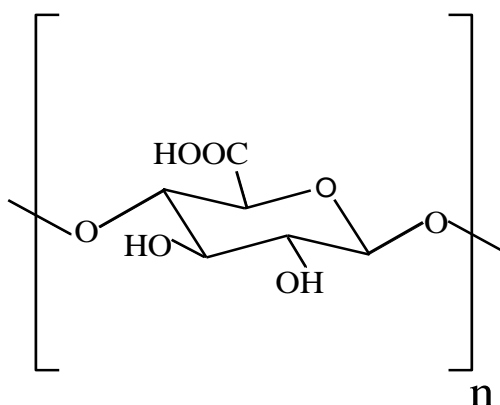


**Figure I.18.** Oxydation de la cellulose par le periodate (**Hongli *et al.*, 2011**).

#### **I.4.4. Les dérivés de la cellulose:**

- **L'oxycellulose:**

La cellulose oxydée (oxycellulose) est de la cellulose dans laquelle quelques groupes d'alcools primaires terminaux des résidus de glucose ont été convertis à des groupes carboxyles. Par conséquent, le produit est un polyanhydrocellobiuronide synthétique qui contient 25% des groupes carboxyles. Il est fragile (friable) et facilement soluble à l'utilisation.

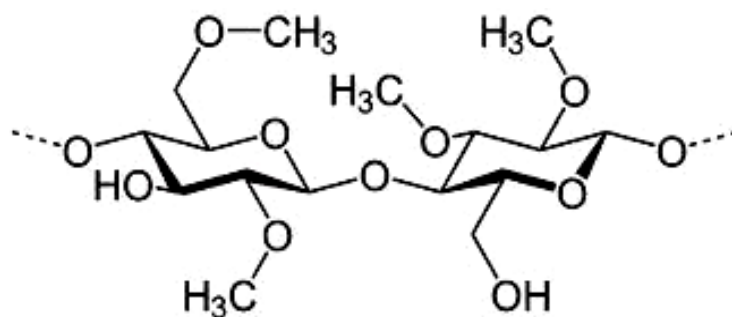


**Figure I.19.** Structure chimique de l'oxycellulose.

- **La méthylcellulose :**

La méthylcellulose est un éther méthylique de la cellulose, résultant de la substitution des atomes hydrogéné d'une partie de cellulose au niveau des groupements hydroxyle  $\text{-OH}$  par des groupements méthyliques  $\text{-OCH}_3$ .

La méthylcellulose ne se produit pas naturellement mais elle est produite synthétiquement.



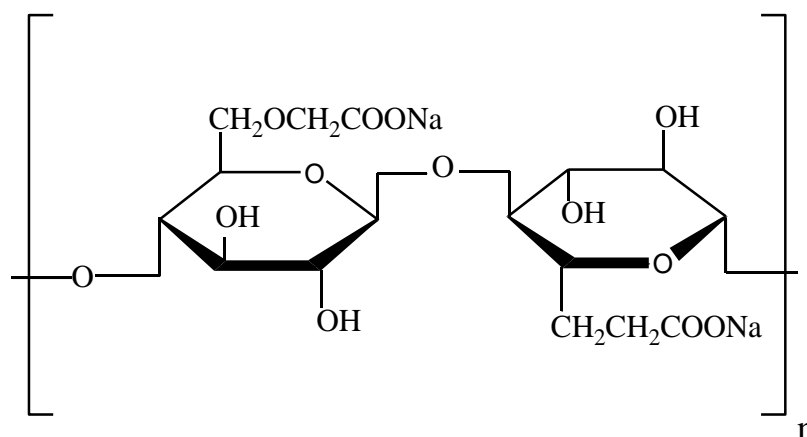
**Figure I.20.** Structure de La méthylcellulose.

- **La carboxyméthylcellulose:**

Elle est aussi dénommée CMC, NaCMC, CMC sodique, gomme cellulosique ou sel de sodium de l'éther carboxyméthyle de cellulose. Elle est constamment utilisée dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique et agro-alimentaire. Le degré de pureté de ce produit dépend du domaine dans lequel il est utilisé.

Sa formule chimique est un polymère linéaire soluble dans l'eau, constitué d'unités  $\beta$ -anhydroglucose portant chacune trois groupements hydroxyles. Sa formule chimique est :  $[C_6H_7O_2 (OH)_2 (OCH_2COONa)]_n$  (**Baker, 1982**).

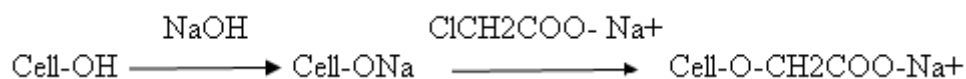
Sa structure chimique développée est représentée dans la **Figure I.21**.



**Figure I.21:** Structure moléculaire de la carboxyméthylcellulose sodique (**Sik Hwang, 2004**).

Cet éther de cellulose est obtenu par une réaction de substitution du groupement hydroxyle de la cellulose avec le monochloroacétate de sodium. L'importance de la réaction de

substitution, encore appelée degré de substitution (DS), est estimée par le nombre moyen de groupements hydroxyles présents sur une unité  $\beta$ -anhydroglucose (**Fontanille, 2002**).



**Figure I.22.** Voie de production de la carboxyméthylcellulose sodique (**Fontanille, 2002**).

#### **a. Propriétés de la carboxyméthylcellulose sodique:**

La carboxyméthylcellulose est une poudre blanche, légèrement jaunâtre, sans odeur et sans goût. Elle est hygroscopique constituée de particules, de granulés ou de fibres très fines.

Elle est non seulement hydrophile, mais aussi totalement soluble à chaud, à froid et dans le mélange eau/alcool. Elle est insoluble dans les solutions inorganiques. Sa capacité de former des agrégats augmente considérablement la viscosité de ses solutions aqueuses. Elle présente une très bonne adhésivité, une excellente reprise de gel (thixotropie) et une forte résistance thermique au microcisaillement.

Les poids moléculaires de la carboxyméthylcellulose sodique varient selon le degré de polymérisation et de substitution :

- a) Pour une structure non substituée, il est d'ordre de 162,14.
- b) Pour une structure monosubstituée, il est d'ordre de 242,16.
- c) Pour les macromolécules substituées, il varie de 2100 pour  $n=100$  jusqu'à 500.000 pour  $n=2000$ , avec  $n$  est le nombre de l'unité répétitive.

Certains facteurs externes interviennent dans la viscosité de la solution de la carboxyméthylcellulose sodique tels que la concentration, le pH, la température et les électrolytes :

- La viscosité de la solution de la carboxyméthylcellulose augmente avec l'augmentation de la concentration.
- La viscosité augmente avec les pH élevés. Cette acidité est un facteur défavorisant à la stabilité de la solution et par conséquent va provoquer la précipitation de la CMC.
- La viscosité diminue avec l'augmentation de la température. Il est à noter aussi que la solution de la carboxyméthylcellulose sodique ne précipite pas quand la température est supérieure de 60°C.
- L'effet des électrolytes dépend de la solubilité du sel de la CMC correspondant, à savoir:



-1-Les cations monovalents tels que les ( $\text{Na}^+$ ) donnent des sels solubles.

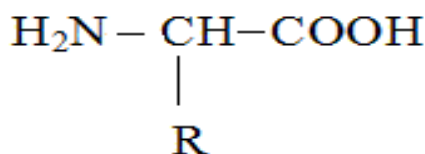
-2-Les bivalents tels que les ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ) donnent des sels dont la solubilité est moyenne tandis que les trivalents tel que les ( $\text{Fe}^{3+}$ ) donnent un précipité ou un gel solide (**Eouani, 2001**).

#### **b. Utilisation de la carboxyméthylcellulose:**

La CMC est très utilisée dans l'industrie, y compris dans l'industrie textile, (comme produit d'encollage), dans les émulsions de résine de peinture et les encres d'imprimeries, dans l'industrie du papier (**Xiao Hong et al., 2007**). La CMC est également rencontrée dans les détergents, les savons, les épaississants et d'autres produits de beauté dans le domaine de la cosmétique. Dans l'industrie alimentaire, les préparations sèches pour boissons, le glaçage, les sirops et les aliments cuits au four. Des catégories de grande pureté de CMC sont utilisées comme additifs. La CMC fonctionne comme agent pour prolonger la période d'expiration des produits alimentaires. La CMC est également employée dans les applications pharmaceutiques, céramiques et d'autres utilisations biologiques qui nécessitent des propriétés viscosifiantes (**Rossi et al., 1996**).

## **II. Les protéines:**

Ce sont des polymères organiques résultant de la condensation d'acides aminés par formation de liaisons peptidiques. Les acides aminés constitutifs sont appelés résidus, le radical R présent sur le résidu est appelé chaîne alkyle (**Figure I.23**).



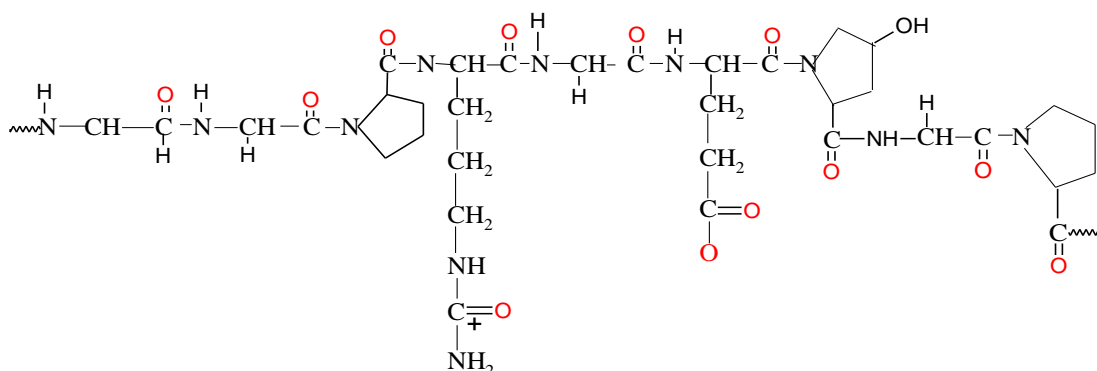
**Figure I.23:** Formule chimique générale des acides aminés.

### **II.1. La gélatine:**

C'est une protéine d'origine animale et /ou végétale dont l'usage est de nos jours largement répandu dans les industries pharmaceutiques et médicales en raison de sa biodégradabilité et sa biocompatibilité dans les environnements physiologiques (**Onesippe, 2005 ; Huang et al, 2010**).

### II.1.1 Structure:

La gélatine contient un total de 18 acides aminés en différentes concentrations. La liaison de ces acides aminés forme des chaînes polypeptidiques. Chaque chaîne contient environ mille acides aminés. La structure globale de la gélatine est une molécule en forme de baguette se composant des structures hélicoïdales primaire, secondaire et tertiaire (**Karim et al., 2008**).



**Figure I.24.** Structure de la gélatine (**Fushini, 1997**).

### II.1.2. Propriétés:

- **Solubilité:**

La gélatine est hydrosoluble à chaud. Lorsque les grains de gélatine sont ajoutés à l'eau froide, ils absorbent de l'eau cinq à dix fois par rapport à son poids initial. En augmentant la température jusqu'à 40°C, les grains déjà gonflés se solubilisent complètement et deviennent liquides. La vitesse de solubilité dépend de la température, du pH, de la concentration et de la taille des particules. La gélatine est aussi soluble dans les alcools et quelques solvants organiques.

- **Gélification**

C'est la propriété la plus importante. Après dissolution dans l'eau chaude et refroidissement, il y a gélification.

La formation de gel dépend:

-du degré de bloom: plus il est élevé plus la gélification est importante.

-du temps: le gel se forme immédiatement à 10°C, mais il faut environ 16 heures pour atteindre la gélification maximale.

-de la concentration qui doit dépasser 0,8% au minimum. Cette dernière est appelée la concentration critique de gélification d'une part. D'autre part, la rigidité du gel est une fonction non linéaire de la concentration.

La rigidité des gels de gélatine augmente avec le temps jusqu'à un point d'équilibre. Plus le pH est bas, plus la rigidité du gel formé est faible. Par contre, une fois formé, le gel est peu sensible à l'acide. Le cisaillement avant gélification diminue la force de gel (**Chetouani, 2011**).

### **II.2.3. Le pouvoir filmogène de la gélatine:**

Le pouvoir filmogène de la gélatine est une propriété importante, très utilisée dans l'industrie pharmaceutique. En effet la gélatine est capable de former un film résistant, transparent, flexible, qui peut se dissoudre facilement et qui entre directement dans la formulation des capsules de médicaments. La formation des films de gélatine se fait par le couchage d'une solution de gélatine concentrée sur une surface plane (plaque en verre), ou destinée à donner sa forme à la capsule, puis le passage de l'état sol à l'état gel. L'épaisseur du film est comprise entre 80 et 150  $\mu\text{m}$  pour les capsules dures, entre 250 et 500  $\mu\text{m}$  pour les capsules molles.

Dans l'industrie pharmaceutique, les gélatines utilisées dans la formulation des capsules sont des mélanges de gélatine de différents types et origines, afin d'obtenir des propriétés bien spécifiques (force en gel, viscosité, etc.). Ces mélanges donnent des gélatines plus ou moins de bonne qualité. Pour caractériser ces mélanges, des tests de la pharmacopée plus stricts ont été mis au point, notamment sur les capsules et les films issus de gélatine.

Ces tests ont mis en évidence, une augmentation du nombre de problèmes liés à la solubilité des capsules. Actuellement, les études ont montré qu'une conservation dans des conditions élevées d'humidité et de température, et/ou la présence de composés réactifs (aldéhydes) issus de la dégradation d'excipients dans la gélule, provoquent un phénomène de réticulation de la gélatine (**Meyer, 2000**). Ce phénomène induit la formation d'une pellicule insoluble autour de l'enveloppe de la gélule limitant la libération du principe actif contenu à l'intérieur (**Rhodes, 1993**). La réticulation de la gélatine conduit à un réseau complexe de haut poids moléculaire qui produit un hydrogel gonflé par l'eau. Ce phénomène réduit considérablement, voire empêche la dissolution de la gélatine qui serait due à la formation de liaisons interchaînes de types amides (**Yannas et Tobolsky, 1967**).

## Références bibliographiques

### A

Averous L. & Boquillon N; **(2004)**; «Biocomposites based on plasticized starch: thermal and mechanical behaviours », *journal of Carbohydrate Polymers*, 56, pp. 111-122.

### B

Baker C.; **(1982)**; « Méthylcellulose et Carboxyméthyl cellulose sodique: Utilisation dans la Conservation de papier », *The book and Paper Group Annuel*, 1, pp. 695-729.

Bartouilh L.; **(2004)**; «Caractérisation et modification de viscocellulose macroporeuse en vue de son utilisation comme matériau de comblement osseux», *Thèse de doctorat*, Université Bordeaux 1, Ecole doctorale des sciences chimiques.

Benmachou K.; **(2005)** ; «Etude et modélisation du colmatage d'un filtre plissé», *Thèse de doctorat*, Université de Toulouse.

Benzeggouta N.; **(2005)**; «Etude de l'Activité Antibactérienne des Huiles Infusées de Quatre Plantes Médicinales Connues Comme Aliments»; *Mémoire de Magister en Pharmacochimie*, Université Mentouri de Constantine.

Beraud J.; **(2001)**; «Le technicien d'analyses biologiques», *Tec et Doc*, Paris.

Berlioz S.; **(2007)**; «Etude de l'estérification de la cellulose par une synthèse sans solvant», *Thèse de doctorat*; Université JOSEPH FOURIER, GRENOBLE 1.

Bigi A., Panzavolta S. & Rubini K.; **(2004)**; «Relationship between triple-helix content mechanical properties of gelatin films», *Biomaterials*, 25, pp. 5675–5680.

Bindu T. V. L., Vidyavathi M., Kavitha K. & Sastry T. P., Suresh Kumar R. V.; **(2010)**; «Preparation and Evaluation of Chitosan-Gelatin Composite Films for Wound Healing Activity», *Trends Biomater. Artif*, 24(3), pp. 123-130.

Bledzki A. & Gassan J.; **(1999)**; « Composite reinforced with cellulose based fibers», *Progress in Polymer Science*, pp. 221-274.

Bourrier T. ; **(2006)**; «Intolérances et allergies aux colorants et additifs», *Revue française allergologie et d'immunologie clinique*, 46, 68–79.

Buhus G., Pertu C., Popa M. & Desbrières J.; **(2009)**; « controlled release of water soluble antibiotics by carboxymethylcellulose and gelatin based hydrogels crosslinked with epichlorohydrin », *cellulose chemistry and technology*, pp. 144.

## C

Chattopadhyay M. K., Gupta S., Sengupta D. N. & Ghosh B.; **(1997)**; «Expression of arginine decarboxylase in seedlings of indica rice (*Oryza sativa*L.) cultivars as affected by salinity stress», *PlantMolecular Biology* ,34, pp. 477–483.

Chavanne M. Beaudoin G. J., Jullien A. & Flamand E.; **(1998)**; «Chimie organique expérimentale», *Le Griffon d'argile*, pp. 132-159.

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

Chetouani A.; **(2011)**; «Développement dans le génie tissulaire d'un complexe polyionique à base de gélatine/carboxyméthylcellulose», *Mémoire de Magister en Génie Pharmaceutique*. Université de Sétif.

Cuero R. G., Osuji G. & Washington, A.; **(1991)**; «N-Carboxymethylchitosan inhibition of aflatoxin production: Role of zinc», *Biotechnology Letters*, 13(6), pp. 441-444.

## D

Davidson G. F.; **(1960)**; «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*, 31, pp. 81–96.

Dawsey T.R.; **(1994)**; «Applications and Limitations of méthylcellulose», pp.157-171.

Dobrynina A. V. & Rubinstein M.; **(2005)**; «Theory of polyelectrolytes in solutions and atSurfaces», *Prog. Polym. Sci*, 30, pp. 1049–1118.

Degenis G.; **(1994)**; «Cross-Linking of gelatine capsules and its relevance to their *in vitro*-*in vivo* performance», *Pharmaceutical Science*, 7, pp. 915-20.

Doublier J. L. & Garnier C. ; **(2000)** ; «Protein-polysaccharide interactions», *Journal of Current opinion in Colloid & interface Science*, 5, pp.202-214.

## F

Fereidoon S., Janak K., Vidana A. & You-Jin J.; **(1999)**; «Food applications of chitin and chitosans»; *Trends in Food Science & Technology*, 10, pp. 37-51.

Fontanille Gnanou Y.; **(2002)**; «Chimie et Physico-chimie des Polymères», *Cycles. Ecoles d'Ingénieurs*, 2, pp. 466-473.

Fushini T.; **(1997)**; «Gels handbook»; *Academic Press*, 1, pp. 68.

## G

Gao X. L., Liu Y. J., Liu A.J., Song W. & Fan Y.L.; **(2007)**; «Studies on antibacterial activity against *S. aureus* of chitosan and N,O-carboxymethyl chitosan», *Modern Food Science and Technology*, 21(1), pp. 25-30.

Gómez-Mascaraque G. L., Méndez J. A., Fernández-Gutiérrez M., Vázquez B. & San Román J.; **(2014)**; «Oxidized dextrans as alternative crosslinking agents for polysaccharides: application to hydrogels of agarose-chitosan», *Acta Biomater.*, 10, pp. 798–811.

## H

Haskins J. F. & Hogsedi M. J.; **(1960)**; «The alkaline oxidation of cellulose.I. mechanism of the degradative oxidation of cellulose by hydrogen peroxide in presence of alkali», 7, pp. 1264-1274.

Haliwell B.; **(1990)**; *free rad Res comm.*, 9 (1), pp. 1-32.

Hesse M. & Meter H. Zeeh B.; **(1997)**; «Méthodes spectroscopiques pour la chimie organique», 2, pp. 1- 48.

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

Hoffmann B., Seitz D., Mencke A., Kokott A. & Ziegler G.; **(2009)**; «Glutaraldehyde and oxidised dextran as crosslinker reagents for chitosan-based scaffolds for cartilage tissue engineering», *J. Mater. Sci. Mater. Med*, 20(7), pp. 1495-503.

Huang S. & Xiaobing F.; **(2010)**; «Review naturally derived materials-based cell and drug delivery systems in skin regeneration », *Journal of Controlled Release*, 142, pp.149–159.

## I

Ibrahim A. A., Adel A. M., Abd El-Wahab Z. H. & Al-Shemy M. T.; **(2010)**; «Utilization of carboxymethyl cellulose based on bean hulls as chelating agent. Synthesis, characterization and biological activity», *Journal of Carbohydrate Polymers*, 83, 94-115.

Isbell H. S., Frush H. L., Naves R. & Soontracharoen P.; **(1981)**; *Carbohydrate Research*, 90, pp. 111-122.

Isogai A.; **(2000)**; «Wood and cellulosic chemistry», *Chemical modification of cellulose*, 2, pp. 599-625.

## J

Jull A. B. Mhurchu C., Bennett D. A., Dunshea E. & Rodgers A.; **(2008)**; «Chitosan for overweight or obesity», *Cochrane review*, disponible sur: <http://fr.wikipedia.org/wiki/Chitosane>. Consulté le 27-03-2013.

Joly N.; **(2003)**; «Synthèse et caractérisation de nouveaux films plastiques obtenus par acylation et réticulation de la cellulose réticulation de la cellulose», *Thèse de doctorat*, Université de Limoges.

## K

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

Kantouch A., Hebeish A. & El-rafie M. H.; **(1970)**; «Action of sodium chlorite on cellulose and cellulose derivatives», *Textile Research Laboratory*, 40(2), pp. 178-184.

Karim A. & Bhat R.; **(2008)**; «Gelatin alternatives for the food industry: recent developments, challenges and prospects», *Journal of Trends in Food Science & Technology*, 19, pp. 644-656.

Kovonalo I. N., Novikov V. Y., Stepanova N. V. & Reut K. V. ; **(2004)** ; «Recovery of Lipids from Aqueous Dispersions with Chitosan Solutions», *Russian Journal of Applied Chemistry*, 77, pp. 254-259.

Kuakpetoon D. & Wang Y. J.; **(2001)**; «characterization of different starches oxidized by hypochlorite»; *Food Science*, 53, pp. 211-218.

## L

Lafargue D.; **(2007)**; «Étude et élaboration de films à base de polysaccharides pour la fabrication de gélules pharmaceutiques», *Thèse de doctorat en génie des procédés*, Université de Nantes.

Lewin A., Ettinger D., Menachen S. & Aharon H., **(1969)**; «Oxidation of cellulose by hydrogen peroxide», *Chemistry and Technology*, 1, pp. 9-20.

Le Roux J.; **(2003)**; «Modification des fibres cellulosiques : amélioration des propriétés hydrophiles des pâtes bisulfites», *Thèse de doctorat*, Université de Bordeaux.

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

## M

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

Meyer M. C., traughn A. B., Mhatre R. M., Hussain A., Shah, V. P., Bottom C. B., Cole E. T., Lesko L. L., Mallinowski H. & Williams R. L.; **(2000)**; «The effect of gelatin crosslinking on the bioequivalence of hard and soft gelatin acetaminophen capsules». *Pharmaceutical Research*, 17 (8), pp. 962-966.

Miyasaka A. & Ishikawa K.; **(1996)**; «Reconstitution of collagen fold structure with stretching gelatin film», *Biopolymers*, 15, pp. 1505–1511.

Monarul M. I., Shah M. M., Mahbubur M. R., Ashraful M. M., Shaikh A. A. & Roy S. K.; **(2011)**; «Preparation of chitosane from shrimp Shell and investigation of its properties», *International journal of basic & applied sciences*, 11 (1), pp. 77-80.

Mazza M.; **(2009)**; «Modification chimique de la cellulose en milieu liquide ionique et CO supercritique», *Thèse de doctorat*, Université de Toulouse.

Muzzarelli R. A. A., Tanfani F., Emanuelli M. & Mariotti S.; **(1982)**; «N-(carboxymethylidene) chitosans and N-(carboxymethyl) chitosans: novel chelating polyampholytes obtained from chitosan glyoxylate», *Carbohydrate*, 107, pp. 19-214.



## N

Nair L. S & Laurencin C. T; **(2006)**; «Polymers as Biomaterials for Tissue Engineering and Controlled Drug Delivery», *Journal of Adv Biochem Engi Biotechnol*, 102, pp. 47–90.

Nadezhda R., Lyubomir A. & Tsvetelina A.; **(2014)**; «Preparation and characterization of SiO<sub>2</sub>/CMC/Ag hybrids with antibacterial properties», *Carbohydrate Polymers*, 101, pp. 1166-1175.

Nevell, T. P. & Zeronian, S. H., **(1985)**; «Cellulose Chemistry and its Application», *Wiley & Sons*, 1, pp. 552.

Neevel J. G.; **(2002)**; «The Development of a New Conservation Treatment for Ink Corrosion, Based on the Natural Anti-oxidant Phytate», *Biopolymers*, pp. 93.

## O

Onesippe H.; **(2005)** ; «Etude des systèmes polyelectrolyte/tensioactif en phase aqueuse et à l'interface liquide/Gaz : application à l'élaboration de micro-capsules », *Thèse de Doctorat*. Université Montpellier II.

## P

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

Patil S. & Jadge D. R.; **(2008)**; «Crosslinking of Polysaccharides: Methods and Applications», *Latest Reviews*, 6, pp. 246-252.

Park H., Liang X., Mohanty A. K., Misra M. & Drzal L. T.; **(2004)**; «Effect of Compatibilizer on Nanostructure of the Biodegradable Cellulose Acetate/Organoclay Nanocomposites», *Macromolecules*, 37, pp. 9076-9082

Peña C. & Koro C.; **(2010)**; «Enhancing water repellence and mechanical properties of gelatin films by tannin addition», *Bioresource Technology*, 101, pp 6836–6842.

Pesnel G., Squinazi F., Lemerle-Gruson S., Lassale C., Geslin P., Reinert P.; **(1983)**; «Diffusion méningée de l'amoxicilline intraveineuse»; *Medecine et Maladies Infectieuses*; 13, pp. 300-304.

Peroglio M.; **(2008)**; «Composite organiques-inorganiques poreux pour la substitution osseuse», *Thèse de doctorat*, INSA, Lyon.

Puppi D. & Chiellini F.; **(2010)**; «Polymeric materials for bone and cartilage repair», *Journal of Progress in Polymer Science*, 35, pp. 403-440

## R

Ren J. L., Sun R. C. & Peng F.; **(2008)**; «Carboxymethylation of hemicelluloses isolated from sugarcane bagasse», *Polymer Degradation and Stability*, 93, pp. 786-793.

Refat M. H., Doaa A. A., Saddek M. A., Fawzy A., Zaaferany I. A., Asghar B. H. & Hideo D.; **(2009)**; «Acid-catalyzed oxidation of carboxymethyl cellulose. Kinetics and mechanism of permanganate oxidation of carboxymethyl cellulose in acid perchlorate solutions», *Catalysis Communications*, 11, pp 184–190.

Rhodes C.T. & Carstensen, J.T., **(1993)**; «Pellicle formation in gelatin capsules», *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 19, pp. 2709-2712.

Rinaudo M., Pavlov G. & Desbrières J.; **(1999)**; «Influence of acetic concentration on the solubilization of chitosan», *Polymer*, 40, pp. 7029-7032.

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

Roques H.; **(1990)** ; «Fondements Théoriques du Traitement Chimique des Eaux», *Technique & Documentation*, 2.

Rossi S., Bonferoni M.C. & Ferrari F. et al.; **(1996)**; «Characterization of mucin interaction with three viscosity grades of sodium carboxymethylcellulose, Comparison between rheological and tensile testing», *Eur J Pharm Sci*, 4(3), pp. 189-199.

## S

Samake D.; **(2008)**; «Traitement des eaux usées de tannerie à l'aide de matériaux à base d'argile», *Thèse de Doctorat*. Université Bamako.

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

Shahidi F. & Abuzaytoun R.; **(2005)**; «Chitin, chitosan, and co-products: chemistry, productions, applications, and health effects», *Adv. Food Nutr. Res.* 49, pp.93-135.

Shimada M. & Takahashi M.; **(2001)**; «Biodegradation of cellulose materials in wood and cellulose chemistry», *M.D.Inc, Editor*.

Scherer P. C.; **(1931)**; *Journal of the American Chemical Society*, 53, pp. 4009-4013.

Sik H. & Park H.; **(2004)**; «Charactérisation of Sodium Carboxymethylcellulose Binder with HPLC», *The Electrichemical Society*, 1, pp. 4-23.

Smith R. J.; **(1967)**; «Characterisation and analysis of starches. In RL Whistler and EF Paschall», *Chemistry and technology*, pp., 620-625.

Stage C. ; **(2002)** ; «Etude de nouvelles stratégies de valorisation de mono et polysaccharides», *Thèse de doctorat*, Université de Imoges, pp. 87.

Suflet D. M., Chitanu G. C., Valentin I. & Popa V. I.; **(2006)**; «Phosphorylation of polysaccharides: New results on synthesis and characterisation of phosphorylated cellulose», *Reactive & Functional Polymers*, 66, pp. 1240-1249.

Suzuki S., Furuhashi K., Aoki N., Sakamoto M., Saegusa Y. & Nakamura S.; **(1995)**; *Carbohydrate. Polymer* , 26, pp. 25-29.

## T

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

Turgeon S.; **(2003)** ; «Etude quantitative et qualitative des interactions entre la b-Lactoglobuline et la pectine en système dilué », *Thèse présentée pour l'obtention du grade de PhD*, Université Laval.

## V

Vroman I. & Tighzert L.; **(2009)**; «Biodegradable Polymers»; *Materials*, 2, pp. 307-344.

Vigo T. L & Schinvala N.; **(1999)**; *Polym. Adv. Technol*, 10, pp 311-320.

## W

Wang L. & Xu Y.; **(2006)**; «Preparation and characterization of graft copolymerization of ethyl acrylate onto hydroxypropyl methylcellulose in aqueous medium», *Cellulose*, 13, pp. 191-200.

Wang Yu-Zhong, Wang Xiu-Li, Zhang Yu-Rong, Zhao Guo-Ming ; **(2012)**; «Preparation and properties of oxidized starch with high degree of oxidation», *Carbohydrate Polymers*, 87, pp. 2554-2562.

Wilson S., Puls J., Höltter D.; **(2011)**; *Journal of Polymers and the Environment*, 19, pp. 152-165.

## X

Xiao Hong Y., Wei Ling Z.; **(2007)**; «Viscosity properties of sodium carboxymethylcellulose Solutions», *Cellulose*, 14, pp. 409-417.

## Y

Yannas, I. V. & Tobolsky, A. V.; **(1967)**; *Cross-linking of gelatine by dehydration. Nature*. London, 215, pp. 509-510.

Yanyan Li, Shanshan Zhang ,Xiangjun Meng, Xiguang Chen, Guodong Ren; **(2011)**; «The preparation and characterization of a novel amphiphilicoleoyl-carboxymethyl chitosan self-assembled nanoparticles”, *Carbohydrate Polymers*, 83, pp. 130-136.

Yalpani M., Johnson F. & Robinson L. E.; **(1992)**; «Antimicrobial activity of some chitosan derivatives». In C. J. Brine, P. A. Sandford, & J. P. Zikakis (Eds.), *Advances in chitin and chitosan, Elsevier Applied Science*, pp. 543-548.

## Z

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

## Résumé

L'étude entreprise concerne l'oxydation de la carboxyméthylcellulose par trois agents oxydants à savoir le peroxyde d'hydrogène en présence du sulfate de cuivre comme catalyseur, le periodate de potassium et l'hypochlorite de sodium. Les teneurs des groupements carbonyles et carboxyles sont quantifiées respectivement par la méthode où on utilise de l'hydroxylamine et la méthode de dosage acido-basique. Une fois obtenus, les interactions chimiques et physiques entre ces nouveaux matériaux et le chitosane et/ou la gélatine pour la conception de films ont été élucidés. La caractérisation a été faite par IR-TF et DRX. Les tests de gonflement dans l'eau à  $T_{amb}$ , la détermination des amino-groupes libres, la morphologie par le MEB ont été étudiés. Aussi, la biocompatibilité des hydrogels avec le sang humain est estimée. Et enfin, les activités antibactérienne et antioxydante sont établies.

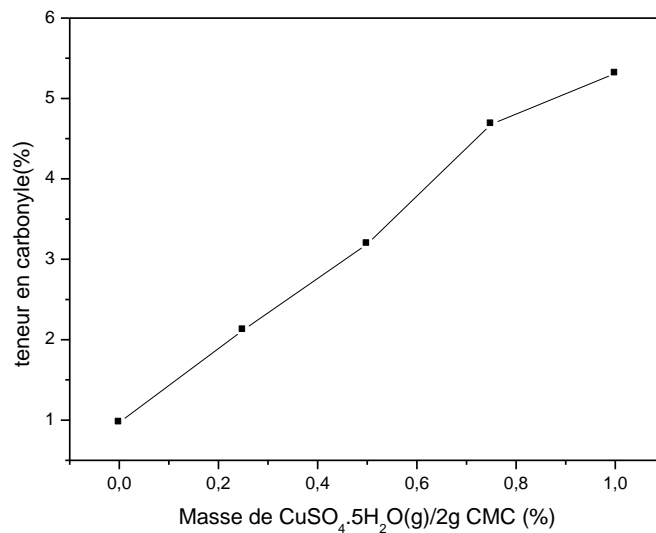
**Mots clés :** carboxyméthylcellulose, oxydation, gélatine, chitosane, interactions physicochimiques, activités antibactériennes et antioxydantes..

## Abstract :

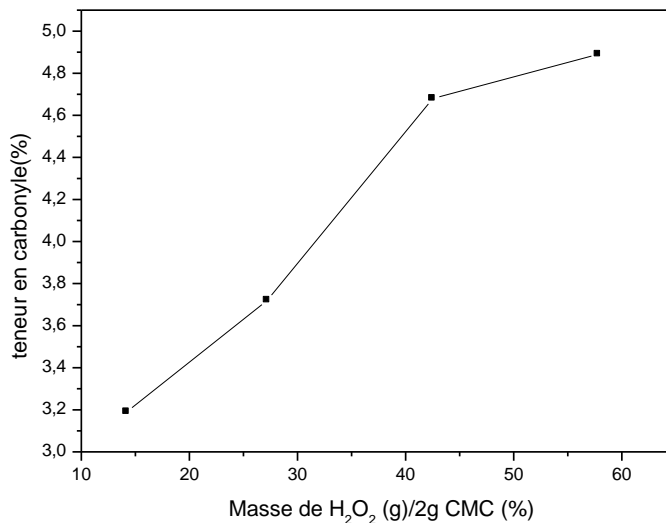
The study is about the oxidation of carboxyméthylcellulose using three different oxidizing agents: hydrogen peroxide/copper sulfate, potassium periodate and sodium hypochlorite. The carbonyl and the carboxyl groups are quantified respectively by hydroxylamine and acido-basic assays. On the other hand, chemical and physical interactions between carboxyméthylcellulose before and after oxidation is carried out with gelatin and/or chitosan. The prepared materials were characterized using FTIR and XRD technics. Swelling, free amino-groups of gelatin have been investigated. Also, biocompatibility of hydrogels with human blood is estimated. Finally, the antibacterial and antioxidant activities are established.

**Key words:** carboxyméthylcellulose, oxidation, gelatin, chitosan, chemical and physical properties, antibacterial and antioxidant activities.

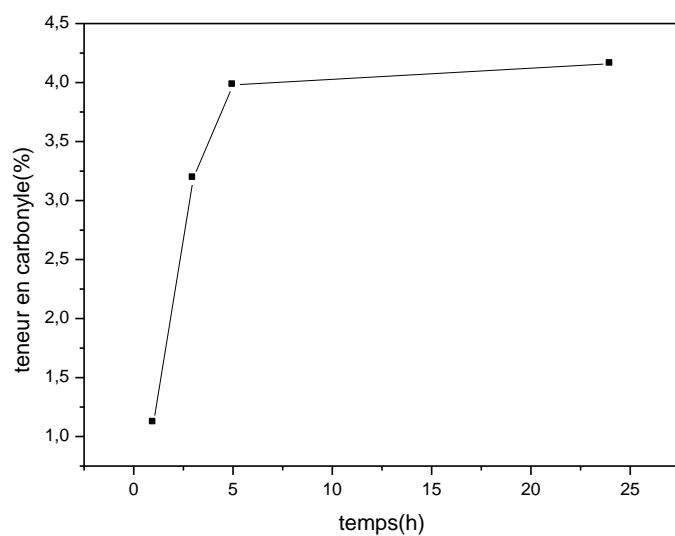
### A.1. Détermination de la teneur en carbonyle:



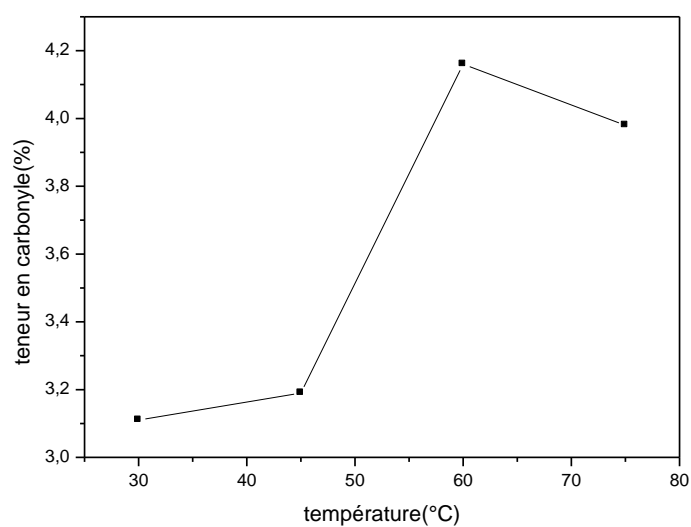
**Figure.A.1.** Teneur en carbonyle de la carboxyméthyl cellulose oxydée par  $\text{H}_2\text{O}_2$  /  $\text{CuSO}_4$  en fonction de la concentration de  $\text{CuSO}_4$ .



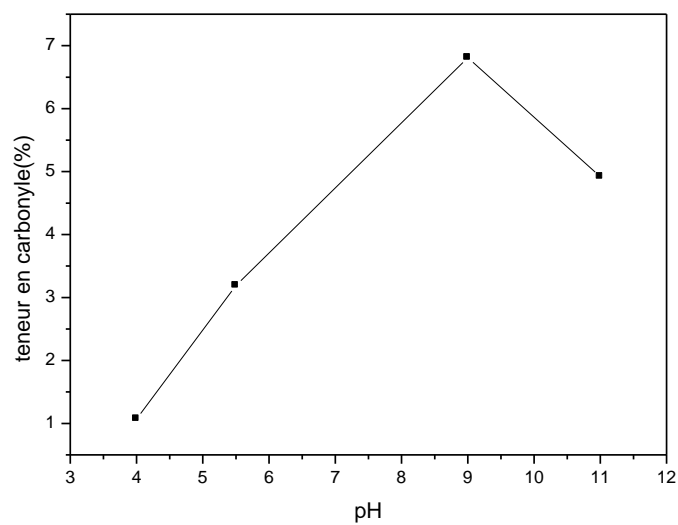
**Figure.A.2.** Teneur en carbonyle de la carboxyméthyl cellulose oxydée par  $\text{H}_2\text{O}_2$  /  $\text{CuSO}_4$  en fonction de la concentration de  $\text{H}_2\text{O}_2$ .



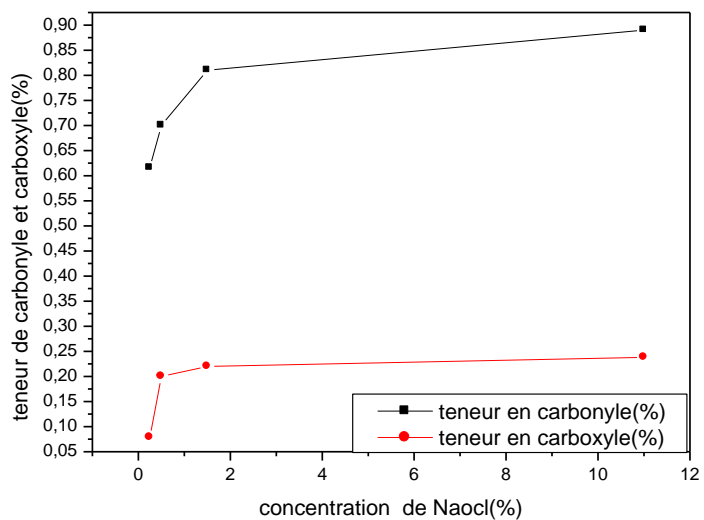
**Figure.A.3.**Teneur en carbonyle de la carboxyméthyl cellulose oxydée par  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{CuSO}_4$  en fonction du temps.



**Figure.A.4.**Teneur en carbonyle de la carboxyméthyl cellulose oxydée par  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{CuSO}_4$  en fonction de la température.



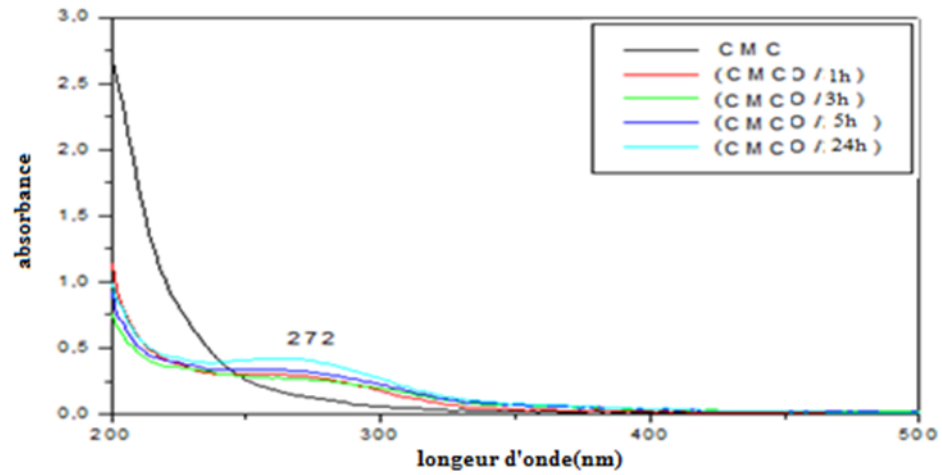
**Figure.A.5.** Teneur en carbonyle de la carboxyméthyl cellulose oxydée par  $\text{H}_2\text{O}_2$  /  $\text{CuSO}_4$  en fonction du pH.



**Figure.A.6.** Teneur en carbonyle et carboxyle de la carboxyméthyl cellulose oxydée par NaOCl en fonction de la concentration de NaOCl.

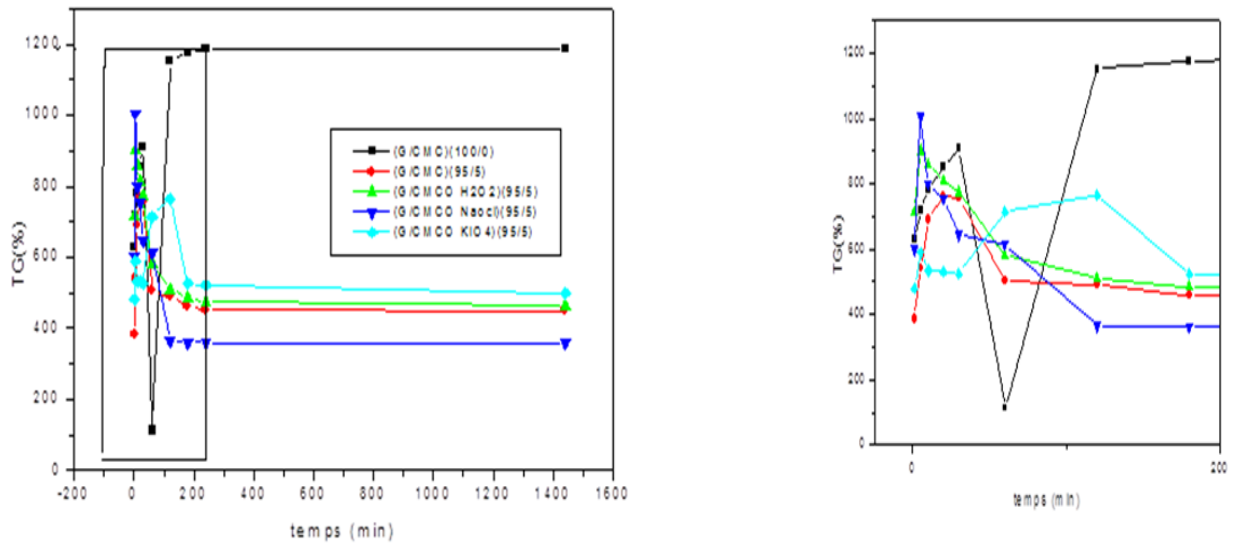


## A.2. UV-Vis:



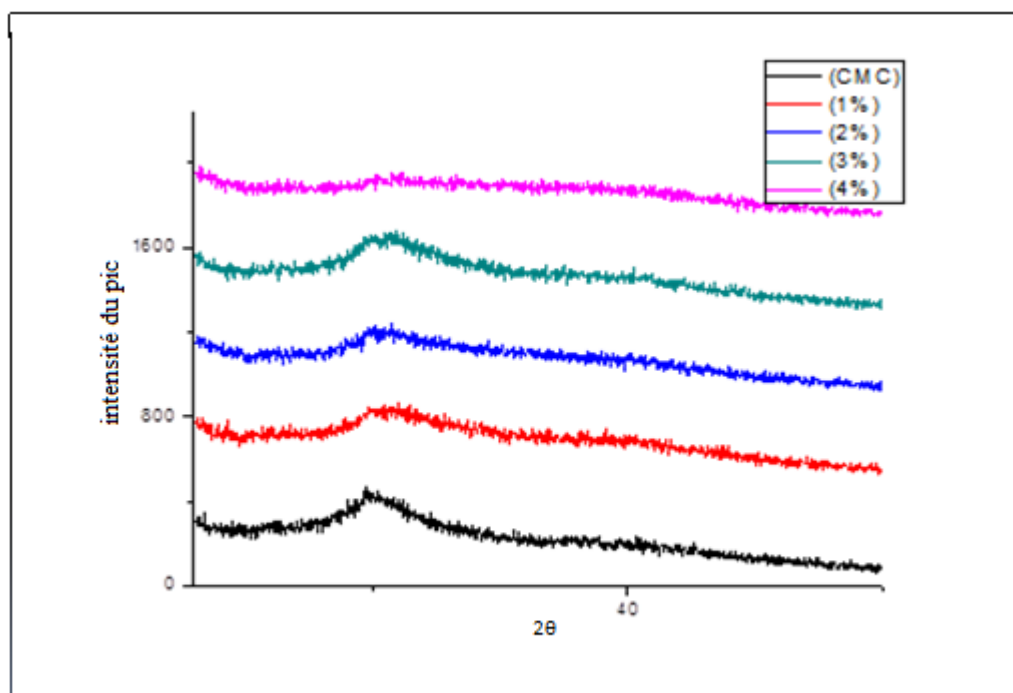
**Figure. A.7.** Spectres UV-VIS de CMC et la CMC oxydée par  $H_2O_2$  et  $CuSO_4$  en fonction de temps.

## A.3. Taux de gonflement



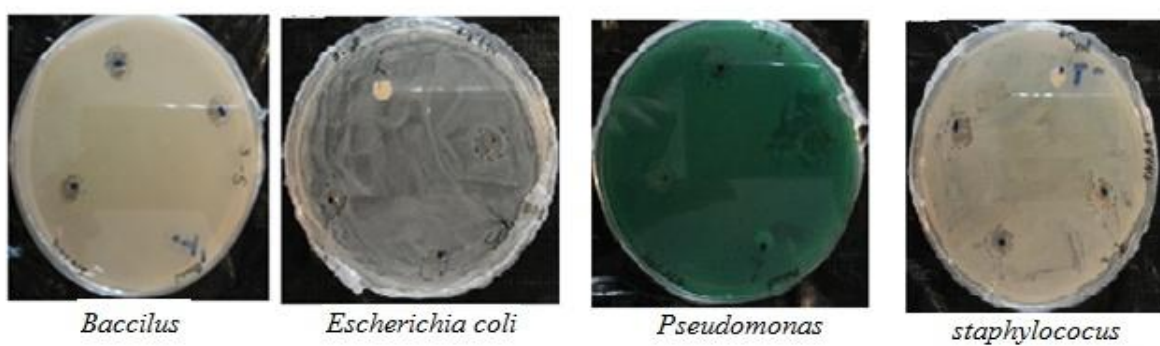
**Figure A.8.** Variation du taux de gonflement (%) des différents films à une température ambiante en fonction de temps.

#### A.4. DRX:

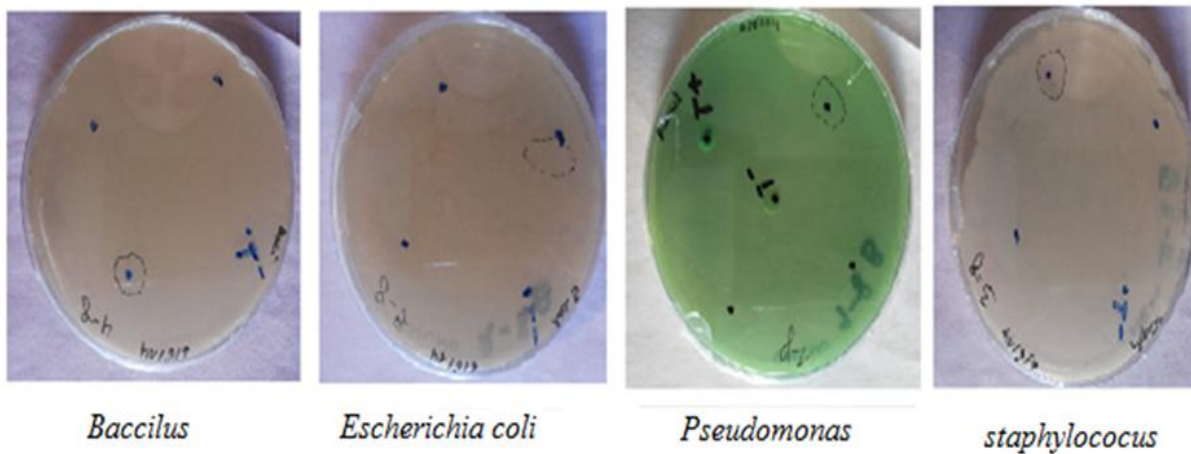


**Figure.A.9.** Diffractogramme de CMC oxydée par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> avec CuSO<sub>4</sub> en fonction de concentration de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> où concentration de CuSO<sub>4</sub> = 0,5% .

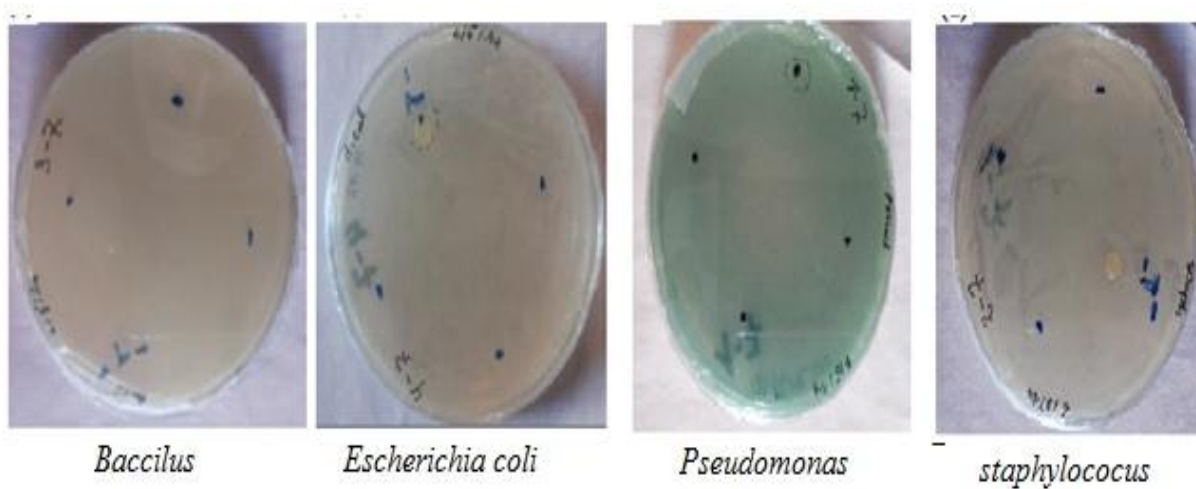
#### A.5. Activité antibactérienne :



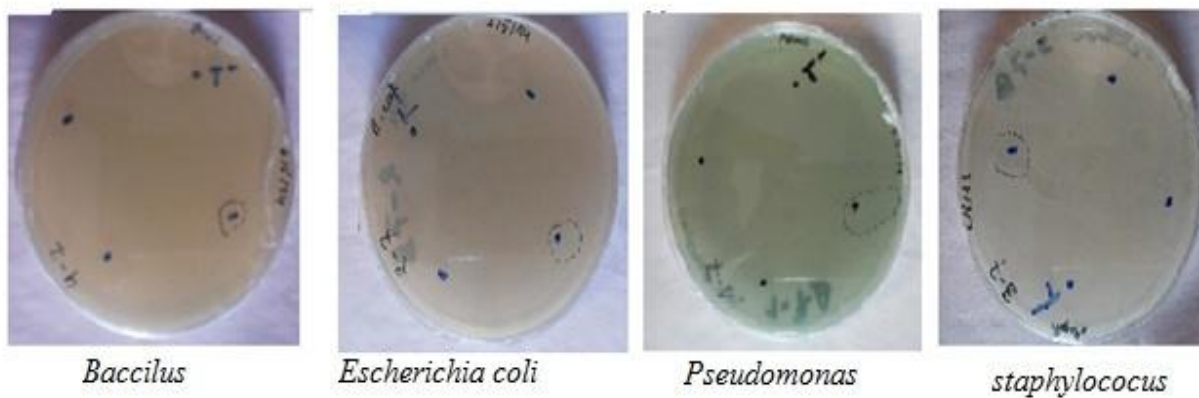
**Figure A.10.** Activité antibactérienne des films du chitosane



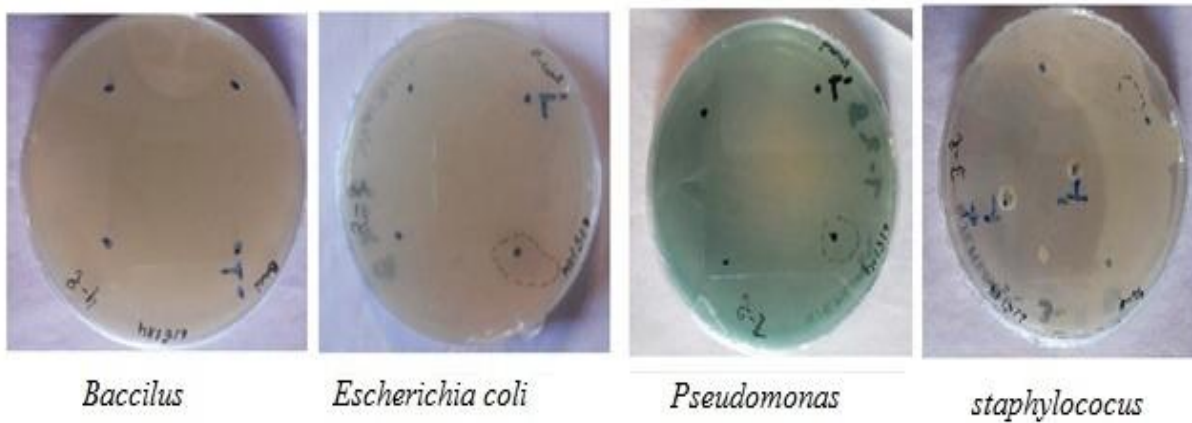
**Figure A.11.** Activité antibactérienne des films de carboxyméthylcellulose.



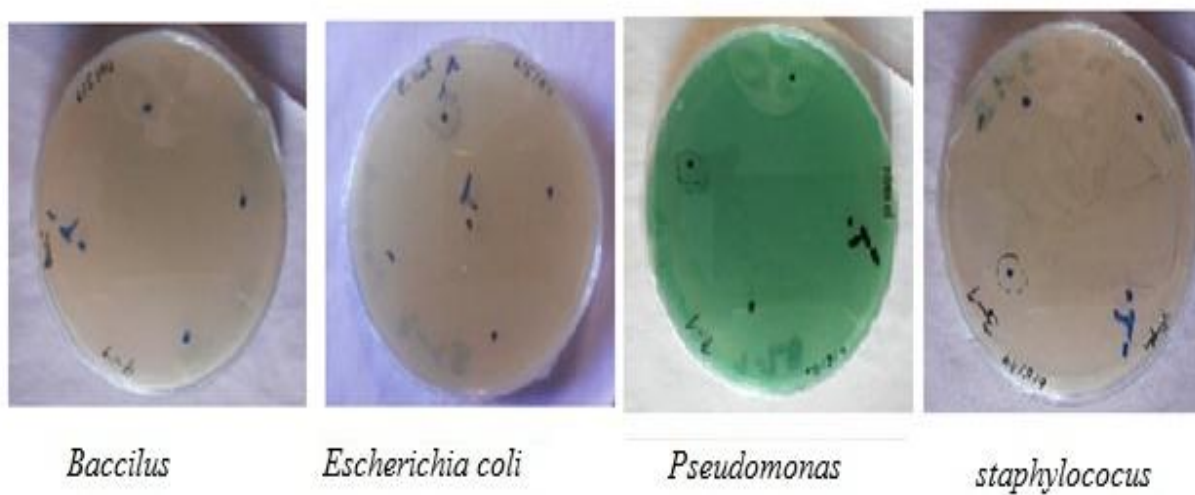
**Figure A.12.** Activité antibactérienne des films de (ch/CMC) (60/40).



**Figure A.13.** Activité antibactérienne des films de (Ch/CMCO) (60/40)



**Figure A.14.** Activité antibactérienne des films de (G/CMC) (60/40)



**Figure A.15.** Activité antibactérienne des films de (G/CMCO) (60/40).

## II. Matériels et Méthodes

### II.1. Matériels

1. Carboxyméthylcellulose de sodium (NaCMC), d=1,59 (Sigma-Aldrich);
2. Sulfate de cuivre pentahydré ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , MM=249,6,  $T_f=110^\circ\text{C}$ ,  $P_{eb}=650^\circ\text{C}$ );
3. Hydroxyle d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) (30%, MM=34, d=1,13,  $P_{eb}=106^\circ\text{C}$ ) (Sigma-Aldrich);
4. Ethanol ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ , MM= 46.06 g/mol ,  $P_{eb}=78,37^\circ\text{C}$ ) ;
5. Periodate de potassium ( $\text{KIO}_4$ ), MM=230 (Sigma-Aldrich);
6. Eau de javel commerciale 12°;s
7. Thiosulfate de sodium ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ), MM= 158,1 g/mol;
8. Acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), (98 %), MM=98 g/mol;
9. Acide chlorhydrique (HCl), (35-37%), MM= 36,5 g/mol;
10. Hydroxyde de sodium (NaOH), MM= 40 g/mol;
11. Chlorure de sodium (NaCl), MM= 58,5 g/mol;
12. Chitosane (Sigma-Aldrich);
13. Gélatine en poudre de type A, bloom 300, pH=5,6, PI=9 (Sigma) ;
14. Carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), MM= 106 g/mol;
15. Chlorhydrate d'hydroxylamine  $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$  (Sigma-Aldrich);
16. bromure de potassium (KBr), MM=119 g/mol;
17. chlorure de potassium (KCl), MM=74,551 g/mol;
18. Sang humain  $\text{O}^+$ ;
19. Gélose Muller–Hinton ;
20. *Bacillus subtilis*, APCC 25927;
21. *Staphylococcus aureus*, APCC 25923;
22. *Escherichia coli*, APCC 25922;
23. *Pseudomonas aeruginosa*, APCC 27853;
24. Disques d'amoxicilline;
25. Disques de gentamicine;
26. Disques de trimsulfa;

## II.2. Méthodes

### II.2.1. Oxydation de la carboxyméthylcellulose par $\text{H}_2\text{O}_2$ :

L'oxydation se fait selon la méthode décrite par Wangs (Wangs, 2012). Dans un ballon de 250 ml, on pèse 2g de carboxyméthylcellulose. On ajoute 20 ml d'eau distillée. Le tout est placé sous faible agitation à 80°C pendant ½ heure. Une fois la gélatinisation est obtenue, la température de la réaction est diminuée entre 55-60°C.

Après, le  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  est dissous dans 4 ml d'eau distillée avant d'être ajouté à la CMC. Puis, l'addition au milieu réactionnel du peroxyde d'hydrogène se fait goutte à goutte durant 30 min. La réaction est ensuite lancée pendant des temps variables. Nous avons choisi pour cette étude  $t=1\text{h}$ , 3h, 5h et 24h.

Les volumes de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , leur nombre de moles ainsi que leur pourcentage par rapport aux 2 g de CMC sont donnés dans le tableau II.1.

Lorsque la réaction est arrêtée, la CMC oxydée est précipitée dans de l'éthanol (~30 ml), puis isolée par centrifugation. Le produit est séché dans l'étuve pendant 48 h à 40°C. Enfin, le solide obtenu est broyé à l'aide d'un mortier en porcelaine.

La réaction d'oxydation est menée en fonction des concentrations du catalyseur ( $\text{CuSO}_4$ ), de l'agent oxydant ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), du temps, de la température et du pH.

Les températures choisies sont 30°C, 45°C, 60°C, 75°C. Les pH sont fixés à 4, 5,5, 9, 11.

**Tableau II.1.** Volume, nombre de moles, masse et pourcentage du peroxyde d'hydrogène/CMC.

Volume de $\text{H}_2\text{O}_2$ (ml)	Nombre de moles de $\text{H}_2\text{O}_2$ (mmoles)	Masse de $\text{H}_2\text{O}_2$ (g)	Masse $\text{H}_2\text{O}_2(\text{g})$ / 2g de CMC (%)
0,82	8,17	0,277	13,85
1,64	16,35	0,555	27,75
2,56	25,52	0,867	43,35
3,48	34,69	1,179	58,95

Il nous a paru important de détailler les calculs des différentes concentrations de  $\text{H}_2\text{O}_2$  et de  $\text{Cu SO}_4$  afin de mieux comprendre et de suivre la réaction d'oxydation.

Le calcul de différentes concentrations de l'agent oxydant ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) se fait de la manière suivante :

- **Calcul des nombres de moles de  $\text{H}_2\text{O}_2$  à 30% de densité égale à 1,13:**

La masse molaire du peroxyde d'hydrogène est égale à 34 g/mol.

Nous avons :

Une solution de  $\text{H}_2\text{O}_2$  à 30%, c'est-à-dire 30g de  $\text{H}_2\text{O}_2$  dans 100g de solution .

La masse totale de la solution dans le flacon de 1L vaut : 1130g.

On déduit la masse totale de  $\text{H}_2\text{O}_2$  contenue dans ce flacon.

$$\begin{array}{ccc} 1130\text{g} & \longrightarrow & 100\% \\ \text{X g de } \text{H}_2\text{O}_2 & \longrightarrow & 30\% \end{array}$$

$X_{\text{H}_2\text{O}_2} = 339 \text{ g de } \text{H}_2\text{O}_2 \text{ contenue dans un litre de solution.}$

Pour ce qui est du reste, il correspond à la masse de l'eau contenue dans ce flacon.

$$X_{\text{H}_2\text{O}} = 1130\text{g} - 339\text{g} = 791 \text{ g.}$$

Alors que le nombre total de moles de  $\text{H}_2\text{O}_2$  est égal à 9,97 moles/l.

- **Calcul des nombres de mole de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ :**

En revanche, les masses choisies de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  sont données dans le tableau ci-dessous.

Avec :

$$249,6 \text{ g} \longrightarrow 1\text{mole}$$

**Tableau II.2.** Nombre de moles, masse et pourcentage de sulfate de cuivre utilisés.

Nombre de moles du $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ . (mmoles)	Masse de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (mg)	Masse de $\text{CuSO}_4$ (mg)	Masse de $\text{CuSO}_4(\text{g})/ 2\text{g de}$ CMC (%)	Masse de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} (\text{g})/$ $2\text{g de CMC} (\%)$
0,02	5,11	3,27	0,16	0,25
0,03	9,27	5,93	0,29	0,50
0,06	15,15	9,69	0,48	0,75
0,08	20,46	13,09	0,65	1,00

### II.2.2. Oxydation de la carboxyméthylcellulose par le periodate de potassium ( $\text{KIO}_4$ ):

L'oxydation est réalisée selon la méthode décrite par **Teotia (Teotia, 2012)**. 1 g de CMC est dissous dans 100 ml d'eau distillée dans un bécher de 250 ml. Le mélange est agité pendant 6h à température ambiante. Après, on ajoute 3 ml de periodate de potassium (à 0,45 M) (soit 0,31g dans 3 ml, 31% par rapport à 1g de CMC). Le pH de la solution est ajusté à 3.5. Pour ce faire, l'acidification du milieu est faite à l'aide de l'acide sulfurique (0,1M), alors que l'alcalinisation dans du carbonate de sodium (0,1M). La réaction d'oxydation est effectuée à une température égale à 45°C et à l'abri de la lumière dans du papier d'aluminium pour éviter l'auto oxydation.

Au bout de 4 h, la réaction est arrêtée par ajout de l'éthanol. L'éthanol joue un rôle d'inhibiteur de l'oxydation. Un gel se forme. Il est isolé par centrifugation. Il est lavé à l'eau, versé dans des boîtes de pétrie en polystyrène. Après séchage à l'air libre pendant 48h, des films sont obtenus.

### II.2.3. Titrage indirect de l'eau de javel:

L'eau de Javel est une solution aqueuse d'hypochlorite de sodium et de chlorure de potassium ou de sodium. En milieu acide, les ions hypochlorite  $\text{ClO}^-_{(\text{aq})}$  de l'eau de Javel mis en présence d'ions iodure  $\text{I}^-_{(\text{aq})}$  en excès sont réduits en ions chlorure  $\text{Cl}^-_{(\text{aq})}$  et il y a formation de diiode  $\text{I}_{2(\text{aq})}$ .

La quantité de matière de diiode formé est ensuite déterminée par un titrage au moyen d'une solution aqueuse de thiosulfate de sodium de concentration connue.



On prend un bécher de 100 cm<sup>3</sup>, on y met 10 ml d'une solution diluée 100 fois de l'eau de javel (S), 20 ml d'acide sulfurique à 2 mol/l, 30 ml d'iodure de potassium à 0,10 mol/l puis on verse quelques gouttes d'empois d'amidon avec une agitation intense (la couleur obtenue est violette).

Par la suite on met 1,0. 10<sup>-2</sup> mol/l d'une solution de thiosulfate de sodium dans la burette, on verse jusqu'à la disparition totale de la couleur. Il résulte que V = 11 ml.

**Le degré chlorométrique** correspond au nombre de litres de chlore gazeux qu'un litre de solution ou d'extrait est capable de dégager en présence d'un acide dans des conditions normales de température et de pression. Il est utilisé dans les préparations des solutions de l'hypochlorite de sodium (solution de Javel) et le Dakin.

- **Préparation de différents pourcentages en chlore actif.**

**Le (%) de Chlore actif :** Est l'unité qui représente la masse de dichlore (Cl<sub>2</sub>) libérée à partir de 100g d'eau de javel.

Selon la bibliographie, le degré chlorométrique égal à 12° est préparé par dilution de l'extrait de Javel (48°) au quart (1/4) (250 ml de NaOCl + 750 ml d'eau).

**Tableau II.3.** Degré chlorométrique, % Chlore actif et gramme de Cl actif par L

degré chlorométrique	% de Chlore actif	Gramme de Chlore actif par L
12	3,80	38,04
0,789	0,25	2,5
2,366	0,75	7,5
4,732	1,5	15
9,464	3	30

Pour préparer une solution d'hypochlorite de sodium avec un % de Cl actif égal à 0,25%, il nous suffit de préparer un NaOCl où le degré chlorométrique égal à 0,789 par dilution d'une solution de NaOCl de 12° (**Tableau II.3**); la dilution se fait comme suit:

**% de Chlore actif=0,25%:** 065,78ml NaOCl + 937,21ml H<sub>2</sub>O

**% de Chlore actif=0,75%:** 197,23 ml NaOCl + 802,76ml H<sub>2</sub>O

**% de Chlore actif=1,50%:** 395,25 ml NaOCl + 604,74ml H<sub>2</sub>O

**% de Chlore actif=3,00%:** 793,65mlNaOCl + 206,34ml H<sub>2</sub>O

#### **II.2.4. Oxydation de la carboxyméthylcellulose par l'hypochlorite de sodium (NaOCl):**

L'oxydation de la CMC se fait selon la méthode décrite par **Kuakpetoon *et al.***, (**Kuakpetoon *et al.*, 2001**), 13.6% de CMC sont préparés en ajoutant 24 ml d'eau distillée à 8.5g de CMC dans un bécher de 100 ml. Le tout est placé dans un bain marie à température égale à 35°C. L'agitation est faite manuellement à l'aide d'une baguette en verre. Ensuite, 30 ml d'eau sont additionnées au mélange. Le pH est ajusté à 9,5 avec NaOH (2N). 0,42g d'hypochlorite de sodium (0,021g de chlore actif /8.5g de CMC, soit 0,25% de chlore actif en poids / poids) sont ajoutés lentement dans la suspension de la CMC pendant 30 min tout en maintenant le pH à 9,5 en l'ajustant avec du H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1N). Après l'addition de NaOCl, le pH est toujours maintenu à 9,5 par NaOH (1N) pendant 50 minutes supplémentaires. La réaction est ensuite neutralisée à un pH = 7,0 avec H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1N). Le contenu du bécher est isolé par centrifugation, lavé avec 50ml d'eau distillée et 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), qui correspondent à (0,063g, 0,126g, 0,252g de chlore actif/ 8.5g de CMC), respectivement.

#### **II.2.5. Préparation des films de chitosane/CMC et/ou chitosane/CMC oxydée:**

Tous les films sont préparés en solubilisant la CMC, les CMC oxydées et le chitosane séparément dans de l'eau.

Au départ, une solution de CMC à 1% est préparée. La solubilisation se fait sous une très faible agitation afin d'éviter la formation de bulles d'air. Le chauffage est ensuite mené jusqu'à 80°C. La même procédure est effectuée pour les CMC oxydées par les différents agents oxydants utilisés mais à une température égale à 40°C. Le pH de la CMC est de 7,5 alors que ceux des CMC oxydées par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, KIO<sub>4</sub>, NaOCl sont de 4,5, 5,5, 6,5 respectivement.

Par ailleurs, la solubilisation du chitosane (1%) de pH 6 nécessite un chauffage à 60°C et un milieu acide (pH= 3), en l'ajustant avec HCl (0,1N). Ensuite, on additionne le chitosane à la CMC et les CMC oxydées. Le mélange est chauffé à 55-60°C sous modeste agitation pendant 6h. Le pH du mélange est maintenu à 3. Les formulations des mélanges chitosane/CMC et chitosane/CMC oxydée sont présentées comme suit :

- Chitosane/CMC (100/0) (%) ;
- Chitosane/CMC (95/05) (%) ;
- Chitosane/CMC (60/40) (%) ;

- Chitosane/CMC (40/60) (%) ;
- Chitosane/CMC oxydée (100/0) (%) ;
- Chitosane/CMC oxydée (95/05) (%) ;
- Chitosane/CMC oxydée (60/40) (%) ;
- Chitosane/CMC oxydée (40/60) (%) ;

#### **II.2.6. Préparation des films de gélatine/CMC et/ou gélatine/CMC oxydée:**

La préparation se fait en solubilisant la CMC, les CMC oxydées et la gélatine séparément dans l'eau.

Au départ, 1% de CMC est préparée. La solubilisation se fait sous une très faible agitation afin d'éviter la formation de bulles d'air, avec un chauffage de 80°C. La même procédure est effectuée pour les CMC oxydées par les différents agents oxydants utilisés mais avec une température égale 40°C. Le pH de la CMC est de 7,5 alors que ceux de CMC oxydée par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, KIO<sub>4</sub>, NaOCl sont de 4,5, 5,5, 6,5 respectivement

La solubilisation de la gélatine (1%) de pH 5,5 se fait à 40°C. Puis, on additionne la gélatine à la CMC où le pH du mélange devient en général égal à 6,5 alors que celui du mélange avec la CMC oxydée est égal à 5. Le chauffage est maintenu entre 55 et 60°C sous faible agitation pendant 6 h.

Les formulations des mélanges gélatine/CMC et gélatine/CMC oxydée sont présentées comme suit :

- Gélatine/CMC (100/0) (%) ;
- Gélatine /CMC (95/05) (%) ;
- Gélatine /CMC (60/40) (%) ;
- Gélatine /CMC (40/60) (%) ;
- Gélatine /CMC oxydée (100/0) (%) ;
- Gélatine /CMC oxydée (95/05) (%) ;
- Gélatine /CMC oxydée (60/40) (%) ;
- Gélatine /CMC oxydée (40/60) (%) ;

## **II.3. Identification :**

### **II.3.1. Dosages chimiques :**

#### **II.3.1.1. Détermination de la teneur en carbonyle:**

La teneur en carbonyles a été déterminée en suivant la méthode titrimétrique de **Smith (Smith, 1967)**. Quatre grammes de CMC oxydée sont mis en suspension dans 100 ml d'eau distillée dans un bécher de 500 ml. La suspension a été gélifiée dans un bain d'eau bouillante pendant 20 min, refroidie à 40°C, ajustée à un pH=3,2 avec HCl (0,1 N) puis on lui a ajouté 15 ml du chlorhydrate d'hydroxylamine. Le ballon a été bouché et placé dans un bain d'eau à 40 °C pendant 4 h sous faible agitation. L'excès d'hydroxylamine a été déterminé par titrage rapide du mélange réactionnel à un pH de 3,2 avec l'HCl (0,1 N). Un essai à blanc pour la CMC avant l'oxydation a été réalisée de la même manière. Le réactif d'hydroxylamine a été préparé par dissolution de 25 g de chlorhydrate d'hydroxylamine dans 100 ml de NaOH (0,5 N) avant que le volume total final ne soit ajusté à 500 ml avec de l'eau distillée. La teneur en carbonyle a été calculée comme suit: (**Kuakpetoon et al., 2001**)

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

Nous tenons à préciser que les 15 ml de chlorhydrate d'hydroxylamine sont préparés à partir de 0.78 g de  $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ , 3 ml de NaOH (0.5N) et 12 ml de  $\text{H}_2\text{O}$ . Son pH doit être à 5.

#### **II.3.1.2. Détermination de la teneur en carboxyle:**

La teneur en carboxyle de la CMC oxydée est déterminée selon un mode opératoire proposé par **Chattopadhyay et al., (Chattopadhyay et al., 1997)**. Deux grammes de CMC oxydée sont mélangés avec 25 ml de HCl (0,1 N) et la suspension est agitée occasionnellement pendant 30 min avec un agitateur magnétique à température ambiante, et est ensuite filtrée sous vide et lavée avec 400 ml d'eau distillée. Le résidu de CMC est ensuite soigneusement transvasé dans un bécher de 500 ml, et le volume est ajusté à 300 ml avec de l'eau distillée. La suspension de CMC est chauffée dans un bain d'eau bouillante sous agitation continue pendant 15 min afin d'assurer la gélatinisation complète. La dispersion chaude est ensuite ajustée à 450 ml avec de l'eau distillée et titrée à pH 8,3 avec NaOH (0,01 N). Un essai à blanc est réalisé avec de la CMC non oxydée. Le contenu en carboxyle est calculé comme suit : (**Kuakpetoon et al., 2001**)

**Milliéquivalents d'acidité/100g de CMC= [(échantillon-Blanc) ml X normalité de NaOH X 100] poids d'échantillon (poids sec) en g**

**Pourcentage de la teneur en carboxyle= [milli-équivalents de l'acidité/100g de CMC] X 0,045**

### **II.3.1.3. Détermination des amino-groupes libres:**

Le nombre de groupes amino a été mesurée pour la gélatine seule et le mélange gélatine-CMC par titrage pH métrique (**Gómez-Mascaraque *et al.*, 2014**). Dans cette méthode, 25 ml d'une solution de HCl 0,1 N sont ajoutés en excès à environ 0,2 g de mélange gélatine-CMC, en laissant suffisamment de temps (20 h) pour charger tous les groupes de protons liants. Par la suite, la solution a été titrée avec une solution de NaOH 0,1 N avec suffisamment de temps entre chaque intervalle. La gélatine pure (0,2 g) a été dissoute dans l'HCl et titrée avec NaOH. Dans le cas de la présence des groupes amino libres deux étapes pourraient être distinguées. Le pourcentage de groupes amino est calculé par l'équation suivante: (**Hoffmann *et al.*, 2009**)

$$NH_2 = \left[ M_{NaOH}(V_2 - V_1) * \frac{146.19}{W} \right] * 100$$

Avec:

**M<sub>NaOH</sub>** : La molarité de la solution de NaOH.

**V<sub>1</sub> et V<sub>2</sub>**: Les volumes pour neutralisation l'excès de HCl et la protonation de groupes amine.

**146.19** : Le poids moléculaire de l'unité monomère de la lysine.

**W** : La masse de l'échantillon à l'état sec avant le titrage (**Hoffman *et al.*, 2009**).

La même procédure pour le chitosane seul et de son mélange est reprise, avec M=161 (le poids moléculaire de l'unité monomère du chitosane).

### **II.3.2. Spectrophotométrie infrarouge (IR-TF)**

#### **a. Principe**

C'est une technique d'analyse utilisée pour l'identification des groupements fonctionnels (par l'apparition de bandes de vibration caractéristiques), le contrôle de la pureté, et l'analyse quantitatives des substances chimiques (par la hauteur des bandes) et qualitative (par la position des bandes). Elle représente également un moyen important dans l'étude des

structures moléculaires. Les vibrations créent un champ électromagnétique de même fréquence.

Le phénomène d'absorption dans le domaine de l'infrarouge est causé par la vibration et la rotation des molécules.

Le domaine spectral de l'infrarouge se partage en trois régions : infrarouge proche, infrarouge moyen et infrarouge lointain.

#### Nombres

**d'ondes ( $\sigma$ )**      14000                      4000                      400                      200  $\text{cm}^{-1}$

IR proche	IR moyen	IR lointain
-----------	----------	-------------

**Longueur**                      0.7                      2.5                      25                      50  $\mu\text{m}$

#### d'onde ( $\lambda$ )

En ce qui concerne la caractérisation des composés organiques et notamment les polymères, l'enregistrement des spectres se fait dans la région de l'IR moyen qui lui-même se divise en deux parties:

- Première zone comprise entre 4000 et 1500  $\text{cm}^{-1}$ , domaine des vibrations de valence caractéristiques des principales fonctions, facile à interpréter;
- Seconde zone située entre 1500 et 600  $\text{cm}^{-1}$ , complexe et difficile à interpréter appelée zone des empreintes digitales. Cette région peut être utilisée avec profit dans certains cas (composés aromatiques, éther...) (**Hesse *et al.*, 1997**).

#### b. Appareil

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

### II.3.3. La spectrophotométrie UV-Vis

#### a. Principe

L'analyse spectrophotométrique est basée sur le changement d'absorption de la lumière par le milieu. Cette méthode d'analyse est intéressante car elle permet de travailler sur de faibles quantités de substances et elle est non destructive vis-à-vis de l'échantillon.

Les spectres dans cette région sont dus aux tractions électroniques, et correspondent à des spectres d'émission ou d'absorption.

L'absorption des rayons ultraviolets (UV-Vis) par la molécule provoque le transfert des électrons des orbitales de basses énergies à des orbitales d'énergie plus élevée. Cette méthode s'utilise principalement pour l'analyse quantitative d'un composé (**Laszlo et al., 1978**). Cette dernière est accomplie par comparaison entre l'absorbance d'un composant d'un mélange inconnu et une mesure correspondante pour un mélange pur ou à concentration connue. Ce type d'analyse est basé sur la loi de Beer-Lamber :

$$A = \log_{10} \left[ \frac{I_0}{I} \right] = \epsilon l C \qquad T = \log_{10} \left[ \frac{I}{I_0} \right]$$

Avec :

**A**: absorbance ;

**T**: transmittance ;

**I** : intensité de la radiation incidente ;

**C**: concentration ou fraction molaire ou volumique ;

**l**: longueur du trajet de la lumière (épaisseur de la cellule ou de l'échantillon) ;

**$\epsilon$** : coefficient d'extinction molaire (**Chavanne et al., 1998**).

#### **b. Appareil**

L'appareil utilisé est un spectrophotomètre UV-Vis à doubles faisceaux de type UNICAN.

#### **c. Analyse des poudres par UV-Vis**

5 mg de la carboxyméthylcellulose et carboxyméthylcellulose oxydée à différents temps et concentration sont dissous dans 4 ml d'eau distillée.

### **II.3.4. Tests 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 par la plastification et ensuite, le gonflement (**Degenis, 1994**).

Les tests de gonflement sont réalisés dans des béchers en verre de 25 ml. On ajoute 20 ml d'eau distillée à la masse initiale de films qui 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:

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

Où

**M<sub>t</sub>** : Masse du film gonflé dans le solvant pendant un temps t ;

**M<sub>0</sub>** : Masse initiale de film (à t=0).

### II.3.5. Radiocristallographie par diffraction des rayons X (DRX)

#### a. Principe

Les rayons X sont diffusés sans perte d'énergie par des particules de la matière chargée électriquement, et principalement, par les électrons. Dans les solides cristallins, où les particules sont disposées de façon périodique, la quantité de rayonnement diffusé n'est importante que dans les directions pour lesquelles les rayons diffusés sont en phase. On dit alors qu'il y a diffraction (**Samake, 2008**).

L'observation d'un rayonnement diffracté est donc soumise à des conditions relatives à l'existence d'interférences constructives ou cohérentes. 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 ;

**n** : l'ordre de réflexion.

Cette relation permet, à partir des valeurs de l'angle d'incidence, de déterminer les équidistances des différentes familles de plans caractéristiques du matériau analysé (**Peroglio, 2008**).



## b. Appareil

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:  $5 - 60^\circ (2\theta)$  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.

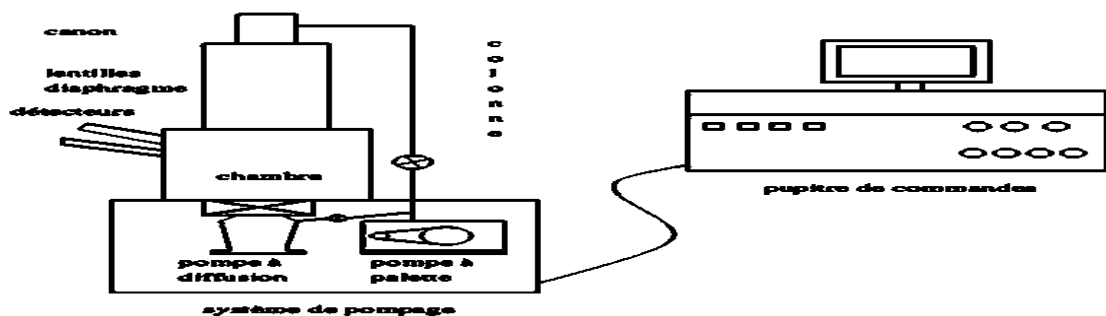
### II.3.6. Microscopie électronique à balayage (MEB)

#### a. Principe

Un microscope électronique à balayage (MEB) fournit des informations sous forme d'images lumineuses, résultant de l'interaction d'un faisceau d'électrons avec un volume microscopique de l'échantillon étudié.

Le principe général de fonctionnement d'un MEB consiste à balayer successivement, ligne par ligne, la surface de l'échantillon avec un faisceau d'électrons puis à transmettre le signal du détecteur à un écran cathodique dont le balayage est exactement synchronisé avec celui du faisceau électronique incident .

Cette analyse permet l'observation de la morphologie de surface (répartition et reliefs) avec une profondeur de champ beaucoup plus importante qu'en microscopie optique. L'appareillage est brièvement décrit dans **la figure II.1**.



**Figure II.1.** Schéma d'un microscope électronique à balayage.

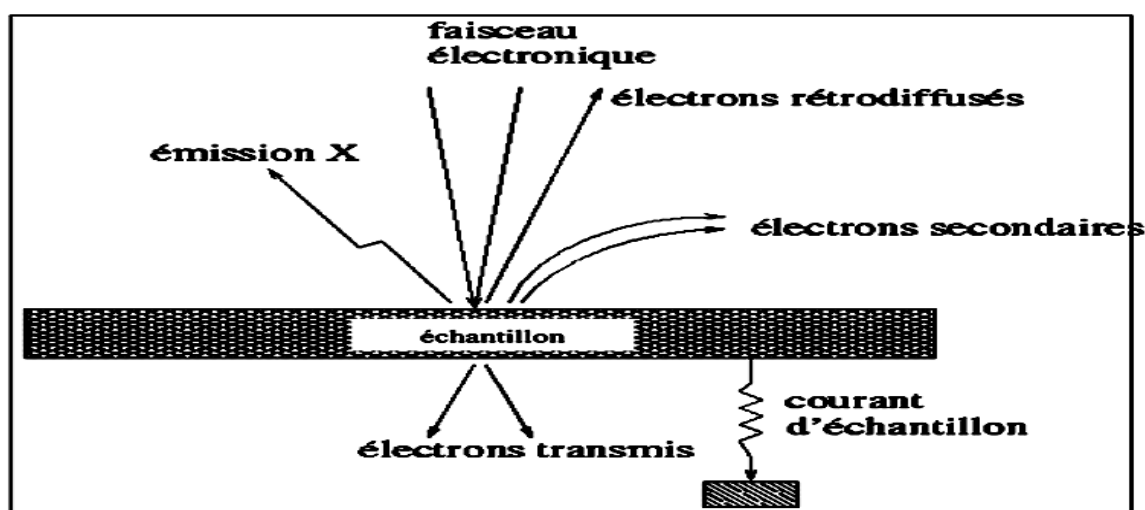
Le microscope électronique comprend :

- Une colonne qui est composée d'un canon à électron, d'un diaphragme et d'une chambre contenant le porte échantillon dans lequel est introduit l'échantillon à analyser.

- Un ensemble électronique qui est composé de détecteurs permettant de capter les électrons provenant de l'échantillon, ainsi que d'un système d'observation et d'enregistrement.

- Un système de pompage qui permet de maintenir le vide absolu dans la colonne.

Le faisceau d'électrons généré par le canon à électrons traverse l'échantillon en interagissant avec la matière. L'interaction entre les électrons incidents et l'échantillon produit l'émission d'électrons d'énergies différentes, de rayons X et de luminescence (**figure II.2**).



**Figure II.2.** Interactions électrons-matière en MEB (Benmachou, 2005).

## b. Appareil

Le microscope utilisé est de type JEOL JSM-840A. Les échantillons sont déposés sur un ruban double face de carbone sans aucune opération préalable de métallisation.

### II.3.7. Activité antihémolytique in vitro

Le potentiel hémolytique est la mesure de l'étendue de l'hémolyse qui peut être causée par le biopolymère quand il entre en contact avec le sang. Le potentiel hémolytique des hydrogels a été déterminé selon **Yanyan Li et al., (Yanyan Li et al., 2011)**. Pour ce faire, 8 ml de sang humain anticoagulé sont dilués dans 10 ml de solution de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (1N), d'une part.

D'autre part, 10ml de nos composés à 0,2% dans le  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (1N) sont versés dans des tubes à hémolyse. Puis, on ajoute 0,2 ml de sang dilué dans chaque tube. Un control positif (100% d'hémolyse du sang sont induits dans l'eau distillée au lieu de l'eau carbonatée (1N))

et un control négatif (0% d'hémolyse est induit dans une solution de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1N) sans le composé à tester). Chaque série d'expériences est réalisée en double. Tous les tubes à hémolyse contenant les échantillons et les témoins sont placés dans un bain marie pendant 1 h à 37°C à l'abri de la lumière. Ensuite, les tubes sont centrifugés à 500 rpm pendant 10 min. Le pourcentage d'hémolyse est calculé en mesurant la densité optique (DO) du surnageant de la solution à 545 nm selon la formule suivante:

$$hémolyse(\%) = \left( \frac{DO\ del'\ échantillon - DO\ du\ control\ négatif}{DO\ du\ control\ positif - DO\ du\ control\ négatif} \right) \times 100$$

### II.3.8. Activité antibactérienne

Les mesures de l'activité antimicrobienne de nos composés sont faites par la méthode de diffusion agar-agar qui est d'écrit par **Bindu et al., (Bindu et al., 2010)**. Nous avons utilisé 4 souches bactériennes ; deux à gram positif (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) et deux à gram négatifs (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*).

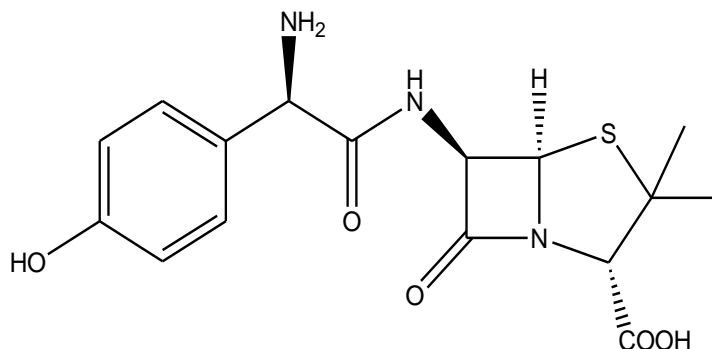
#### II.3.8.1. Bactéries:

La bactérie est un micro-organisme ubiquiste, unicellulaire et sans noyau (procaryote) dont le génome est constitué d'ADN. Celui-ci consiste en un seul chromosome et on note éventuellement la présence de plasmides. L'ensemble des bactéries forme le règne des *Bacteria*.

Certaines bactéries peuvent être pathogènes. Chez l'Homme, les symptômes d'une infection bactérienne sont similaires à ceux observés lors d'une infection virale (éruption cutanée, toux, écoulement nasal, larmoiement, fatigue, nausée, fièvre et douleurs musculaires). Parfois, elles sont mortelles. Les infections bactériennes sont traitées par antibiotiques.

#### II.3.8.2. Amoxicilline:

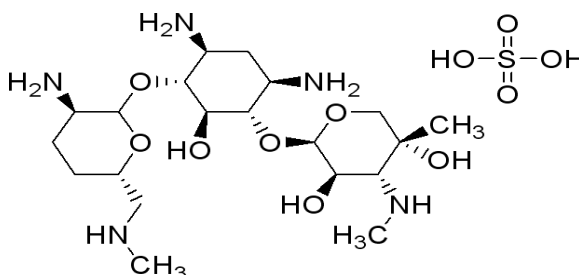
L'Amoxicilline **C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S** , dont le poids moléculaire est de 365 g/mol. C'est un antibiotique β-lactamine bactéricide de la famille des aminopénicillines indiqué dans le traitement des infections bactériennes à germes sensibles. Il est l'antibiotique le plus couramment utilisé, notamment chez les enfants, car elle présente une bonne absorption par voie orale, un spectre d'action antimicrobien large et un coût faible (**Pesnel et al., 1983**).



**Amoxicilline.**

#### **II.3.8.3. Gentamicine:**

La gentamicine est un traitement antibiotique qui sert à lutter contre des infections bactériennes, surtout ORL, oculaires, urinaires, cutanées et pulmonaires. La gentamicine est un antibiotique de la classe des aminosides qui a pour particularité de ne pas pouvoir passer à travers la muqueuse intestinale. Elle ne peut donc être administrée que par injection intramusculaire ou intraveineuse (ou en collyre). La gentamicine est aussi intéressante car il est possible de l'injecter à des femmes enceintes quel que soit le terme de la grossesse. Les principaux effets indésirables de la gentamicine sont une toxicité rénale et auditive.

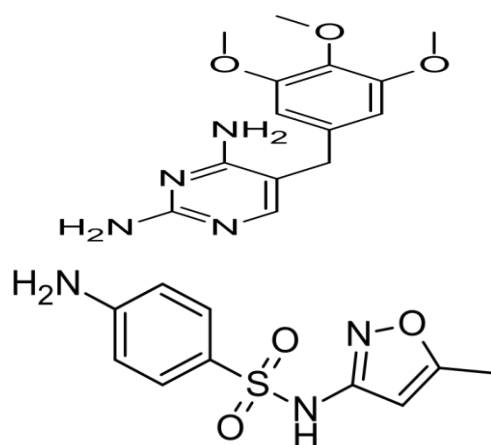


**Gentamicine.**

#### **II.3.8.4. Trim-sulfa:**

Trim-Sulfa est un antibiotique utilisé dans le traitement d'une variété d'infections bactériennes, fongiques et à protozoaires. Il se compose d'une partie triméthoprine à 5 parties sulfaméthoxazole. Le médicament a été commercialisé dans le monde entier comme préparations génériques et sous plusieurs noms de marque, y compris Septra (GSK) et Bactrim (Roche). Co-trimoxazole est généralement considéré comme bactéricide, bien que ses composants soient individuellement bactériostatiques. Ses actions sont antifolique dans la nature, inhibant à la fois la biosynthèse de novo de l'acide folique et le métabolisme.

Il est sur la liste de l'Organisation mondiale de la Santé des médicaments essentiels, une liste des médicaments les plus importants nécessaires dans une base du système de santé.



**Trim-sulfa**

#### II.3.8.5. 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. Sa composition est donnée dans le **tableau II.4**.

Il a quelques propriétés qui le rendent parfait pour l'utilisation d'antibiotiques. Tout d'abord, il s'agit d'un milieu non sélectif et non différentiel. C'est un nutriment pour les microorganismes étudiés. En outre, il contient de l'amidon. L'amidon est connu pour absorber les toxines libérées par des bactéries, de sorte qu'ils ne peuvent pas interférer avec les antibiotiques. Deuxièmement, il s'agit d'une gélose en vrac. Cela permet une meilleure diffusion des antibiotiques que la plupart des autres plaques. Une meilleure diffusion conduit à une zone plus fidèle de l'inhibition.

**Tableau II.4.** Composants du Gélose Muller – Hinton.

Composants	Concentration
Peptone de caséine	17,5 g/l
infusion de bœuf	2 g/l
Amidon	1,5 g/l
Agar	17 g/l
pH final: 7.4 +- 0.2	

La Préparation du milieu de culture se fait selon **Benzeggouta (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.

#### **II.3.8.6. Souches bactériennes et milieux de culture:**

Les tests de l'activité antibactérienne ont été réalisés au niveau du Laboratoire des Microbiologies –Université de Sétif-1, El Bez.

Les bactéries sont conservées et maintenues en vie par des repiquages continus, sur divers milieux de culture solides et liquides, selon les espèces.

La concentration minimale bactéricide (CMB) des bactéries utilisées est de  $10^6$ .

#### **II.3.8.7. Ensemencement:**

On trempe un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne pour éviter la contamination du manipulateur et de la paillasse. Ensuite on l'essore en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum. Puis, on frotte l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées. On répète l'opération deux fois, en tournant la boîte de Pétri de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. On finit l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

Dans le cas de l'ensemencement de plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois (**Benzeggouta, 2005**).

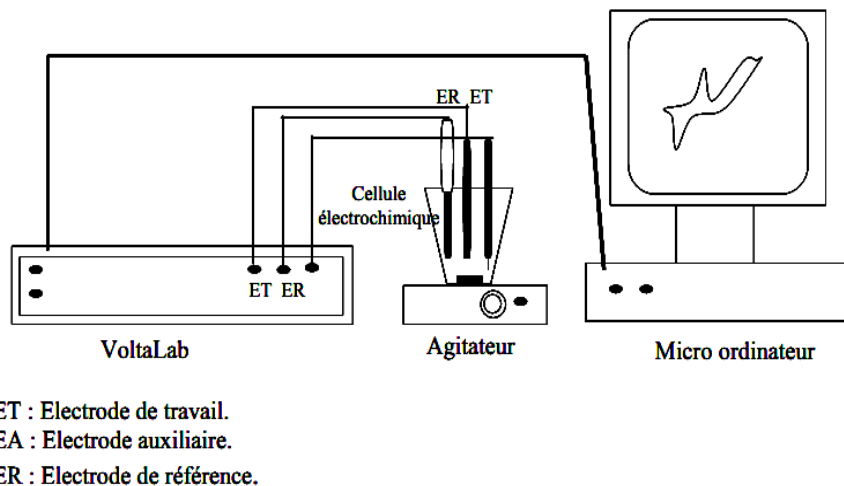
#### **II.3.9. Etude de l'activité antioxydante par méthode électrochimique:**

La voltammétrie est une méthode d'électrolyse basée sur la mesure du flux de courant résultant de la réduction ou de l'oxydation (réactions d'oxydoréductions) des composés testés présents en solution sous l'effet d'une variation contrôlée de la différence de potentiel entre deux électrodes spécifiques. Elle permet d'identifier et de mesurer quantitativement un grand nombre de composés (cations, certains anions, composés organiques), dont certains simultanément, et également d'étudier les réactions chimiques incluant ces composés.

Le but principal de la voltampérométrie est la connaissance des caractéristiques fondamentales d'une réaction électrochimique qui se fait au moyen de la mesure des variations du courant en fonction du potentiel appliqué aux bornes d'une cellule d'électrolyse. La détermination expérimentale de la relation entre le courant et le potentiel d'électrode se traduit par l'obtention des courbes appelées voltampérogrammes.

#### a. Appareillage

- Potentiostat radiomètre analytique voltalabPGZ 301
- Electrodes :
  - Deux électrodes composant le circuit d'électrolyse:
  - ✓ Electrode indicatrice: électrode de carbone vitreux.
  - ✓ Electrode auxiliaire: électrode de platine.
  - Une électrode de référence Ag/AgCl permettant la mesure du potentiel de l'électrode indicatrice.
- WTW pH mètre multifonction
- Cellule d'électrolyse.
- Agitateur magnétique.
- Gaz oxygène.



**Figure.II.3.** Montage expérimental utilisé pour les mesures voltampérométriques.

#### b. Solutions

- Chlorure de potassium KCl (0.1M)
- Échantillons testées (50mg/40ml)

### **c. Mode opératoire**

L'étude des propriétés antioxydantes de nos produits en milieu KCl (0.1M) a été effectuée sur une plage de potentiel allant de 150 à 700 mV/Ag/AgCl

On réalise 3 tests électrochimiques avec les solutions suivantes :

- Solution de KCl en présence de l'O<sub>2</sub>
- Solution de KCl en présence de l'N<sub>2</sub>
- Solution de KCl + les échantillons de concentration 50 mg dans 40 ml de KCl (0,1M).

Le test se base sur le degré de réduction d'O<sub>2</sub> en présence du produit.



## Conclusion

L'ensemble des travaux que nous avons présentés concerne l'étude de l'oxydation de la carboxyméthylcellulose par divers agents oxydants et la préparation de films à partir des CMC oxydées ou non additionnées au chitosane et/ou à la gélatine.

Le dosage des groupements carbonyles après oxydation de la CMC par le  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{CuSO}_4$  montre que, selon la quantité de l'agent oxydant, du catalyseur, du temps, de la température et du pH choisis, la teneur en carbonyles varie de 1 à 5%. Alors que, lorsque l'hypochlorite de sodium et le periodate de K sont utilisés, les taux de carbonyles restent respectivement inférieurs à 0,6 et 1,2.

Par ailleurs, la quantification des groupements carboxyles n'a pas pu être réalisée dans le cas des CMC oxydées par le  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{CuSO}_4$  à cause de l'hydrosolubilité de l'hydrogel. Pour les CMC Oxydées par le NaOCl et le  $\text{KIO}_4$ , les teneurs en carboxyles évoluent dans le premier cas de 0,07 à 0,2 mais ne dépasse pas les 0,5% dans la CMC oxydée par le  $\text{KIO}_4$ .

Des tentatives de réticulation du chitosane et de la gélatine avec les différentes CMC et principalement avec la CMC oxydée par le  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{CuSO}_4$  ont montré par le biais du dosage des amines libres que ces derniers ont bien réagi et que l'interaction a bien eu lieu. Il y a cependant épuisement de tous ces groupements.

Les résultats obtenus par spectroscopie infrarouge ont révélé que carboxyméthylcellulose s'est oxydée dans tous les cas de figure. Le principal pic caractéristique de l'oxydation est son apparition à  $1728\text{ cm}^{-1}$  et qui a disparu ensuite quand la concentration de l'hypochlorite de sodium est augmentée. Ce qui veut dire que l'oxydation s'est poursuivie en transformant les carbonyles en groupement carboxyles.

En présence du chitosane et de la gélatine, les changements qui ont surgie sur les spectres nous informent qu'il y a des modifications structurales des macromolécules. Nous avons le shifting du pic à  $1728$  vers  $1738\text{ cm}^{-1}$  dans le cas du chitosane seulement mais qui est absent en présence de la gélatine. Est-ce le milieu acide ( $\text{pH} = 3$ ) utilisé pour le mélange chitosane/CMC favorise la protonation des carboxylates de la CMC et des amines du chitosane. Ce qui va ralentir voire désactiver les différentes réactions.

Les résultats de l'analyse par spectroscopie UV-Vis se mettent en accord avec les tests qui sont décrits ci-dessus. Il y apparition après oxydation de la CMC d'un pic à  $270\text{nm}$  qui correspond aux transitions électroniques des groupements carbonyles. Ce pic évolue en

intensité selon les conditions utilisées puis diminue quand la T est égale à 75°C lors de l'oxydation dans le  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{CuSO}_4$ .

L'étude du gonflement nous indique que le réseau chimique s'est bien établi avec la gélatine puisque les mesures ont pu être réalisées et que les  $G_{\text{max}}$  des différentes formulations diminuent par rapport à celui de la gélatine seule.

La spectroscopie par diffraction des rayons X nous a montré que la cristallinité de la carboxyméthylcellulose oxydée a diminuée par rapport à celle de la CMC et que la cristallinité dans le mélange avec la gélatine diminue avec la CMC, et augmente avec la CMC oxydée. Ce qui nécessite ultérieurement une quantification de cette cristallinité.

La microscopie électronique à balayage (MEB) nous a exhibé que les films de gélatine/CMC et chitosane/CMC possèdent des morphologies différentes à celles de leurs analogues en présence de CMC oxydée. Les photographies présentent des surfaces plus homogènes dans les secondes formulations que dans les premières.

Le test d'hémocompatibilité nous a révélé que nos composées sont non hémolytiques dans la nature. Ce qui est prometteur pour leur future application.

Il s'avère aussi que les différents composés manifestent, en général, une inhibition de la croissance des souches bactériennes utilisées.

Enfin, l'étude de l'activité antioxydante par voie électrochimique a montré qu'en présence ou en absence de la CMC oxydée, l'action antioxydante se trouve diminuée par rapport aux différents composés non oxydés qui ont déjà une capacité antioxydante.