

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITÉ SETIF-1- FERHAT ABBAS

FACULTÉ DE TECHNOLOGIE

THÈSE

Présentée au Département de Génie des procédés

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT

Domaine : Sciences et Technologie

Filière : Génie des procédés

**Option : Génie des procédés
pharmaceutiques**

Par

M^{me} MAMACHE Mounira

THÈME

**Développement de biomatériaux fonctionnels à
base de chitosane et d'alginate : Contribution de la
réaction de Maillard aux propriétés bioactives.**

Soutenue le 17/07/2025 devant le Jury :

HELLAL Abdelkader	Professeur	Univ. Sétif 1 Ferhat Abbas	Président
ELKOLLI Merbah Meriem	Professeur	Univ. Sétif 1 Ferhat Abbas	Directrice de thèse
BOUNEKHEL Mahmoud	Professeur	Univ. Sétif 1 Ferhat Abbas	Co-Directeur
MAKHLOUFI Abdesslam	Professeur	Univ. Abbas Laghrour Khenechela	Examineur
TABTI Salima	Professeur	Univ. Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A	Examinatrice
ELKOLLI Hayet	M.C.A	Univ. Sétif 1 Ferhat Abbas	Examinatrice

Remerciements

Avant toute chose, je rends grâce à Allah, Le Tout-Puissant, pour Sa guidance, Ses bienfaits incommensurables et le soutien qu'Il m'accorde chaque jour. Sans Sa volonté, rien de tout cela n'aurait été possible.

*Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à Madame la Professeure **Elkolli Merbah Meriem**, directrice de cette thèse, pour sa disponibilité constante, ses conseils avisés et son accompagnement bienveillant. Grâce à son encadrement scientifique et humain, ce travail a pu être mené dans un cadre à la fois rigoureux et stimulant. Son implication a largement contribué à renforcer la cohésion au sein de notre équipe, et j'ai énormément appris à ses côtés. Je lui adresse toute ma gratitude et mon respect sincère.*

*Mes remerciements les plus chaleureux vont à Monsieur le Professeur **Bounekhel Mahmoud**, co-directeur de cette thèse, pour son expertise, ses orientations précieuses et son soutien indéfectible. Son regard critique et ses remarques constructives ont été essentiels pour l'enrichissement de ce travail. Sa rigueur méthodologique, sa disponibilité et son engagement à chaque étape de cette recherche ont été profondément appréciés.*

*Je remercie respectueusement Monsieur le Professeur **Hellal Abdelkader**, de l'Université Ferhat Abbas 1 Sétif, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider le jury de ma soutenance. Sa rigueur scientifique, sa bienveillance et son enthousiasme sont pour moi une source d'inspiration dans ma future carrière académique.*

*J'adresse également mes remerciements sincères à Monsieur le Professeur **Makhloufi Abdesselam**, de l'Université de Khenchela, pour avoir accepté d'évaluer ce travail et pour l'honneur qu'il me fait par sa présence au sein du jury.*

*Je remercie vivement Madame la Professeure **Tabti Salima**, de l'Université de Bordj Bou Arréridj, pour sa bienveillance, sa disponibilité et sa générosité intellectuelle. Son acceptation de juger ce travail témoigne de son grand professionnalisme, et sa présence contribue à rehausser l'importance de cette soutenance.*

*Je remercie également Madame **Elkolli Hayet**, Maître de conférences A à l'Université Ferhat Abbas I Sétif, pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant d'examiner ce travail. J'ai été particulièrement touchée par sa disponibilité, son ouverture d'esprit et la pertinence de son évaluation, qui illustrent admirablement ses qualités humaines et professionnelles.*

*Je tiens aussi à exprimer ma gratitude à l'ensemble des membres du laboratoire LMPMP – Université Ferhat Abbas-1- Sétif, et en particulier à Dr. **Bouanane Zohra**, Dr. **Mansouri Lamia**, ainsi qu'à Mlle **Bouhidel Zineb**, pour leur soutien précieux, leur aide technique et leurs encouragements tout au long de ce parcours exigeant. Ces années de travail et de partage resteront, je l'espère, le socle d'une amitié sincère et durable.*

A mon père,

A ma mère,

A mon Mari,

A mes frères et mes sœurs,

A mes amies,

Et à tous ceux qui me sont chers.

Tables des matières

LISTE DES ABBREVIATIONS.....	i
LISTE DES FIGURES.....	ii
LISTE DES TABLEAUX.....	iv
INTRODUCTION GENERALE.....	1
I. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	3
I.1 GENERALITES SUR LES BIOPOLYMERES.....	3
I.1.1 classification des biopolymères.....	3
I.1.1.1 Les protéines (ou polypeptides)	3
I.1.1.1.1 La gélatine	3
I.1.1.1.2 Kératine	4
I.1.1.2 Les acides nucléiques	5
I.1.1.3 Les polysaccharides.....	5
I.1.1.3.1 Classification des polysaccharides selon leur charge	5
I.2 POLYSACCHARIDES D'INTERET.....	11
I.2.1 Le chitosane	11
I.2.1.1 Profil physicochimique et bio-fonctionnel du chitosane	12
I.2.1.1.1 Propriétés physico-chimiques.....	12
I.2.1.1.2 Activités biologiques du chitosane	13
I.2.1.1.3 Application pharmaceutiques et biomédicales du chitosane.....	14
I.2.2 Alginate.....	16
I.2.2.1 Profil physicochimique et bio-fonctionnel de l'alginate.....	18
I.2.2.1.1 Propriétés physico-chimiques.....	18
I.2.2.1.2 Activités biologiques de l'Alginate	19
I.2.2.1.3 Application pharmaceutiques et biomédicales d'Alginate.....	21
I.2.3 Modifications chimiques des polysaccharides	24
I.2.4 Effets de la modification des polysaccharides sur leur activités biologiques	24
I.2.4.1 Activité antioxydante.....	24
I.2.4.2 Activité antitumorale	24
I.2.4.3 Activité antivirale	25
I.2.4.4 Activité immunomodulatrice	25
I.2.4.5 Activité antibactérienne	25
I.2.4.6 Activité anticoagulante	25
I.3 LA REACTION DE MAILLARD	26
I.3.1 Historique et découverte.....	26
I.3.2 Mécanisme réactionnel de la réaction de Maillard.....	27
I.3.3 Facteurs influençant la réaction de Maillard.....	31
I.3.4 Activités biologiques des produits de la réaction de Maillard (PRM)	32
I.3.5 Domaines d'application de la réaction de Maillard.....	33
II.PARTIE EXPERIMENTALE	36
II.1 MATERIELS ET METHODES EXPERIMENTALES.....	36

II.1.1 Produits chimiques et réactifs	36
II.1.2 Préparation des produits de la réaction de Maillard (Cs/Alg)	36
II.1.3 Identification et caractérisation.....	37
II.1.3.1 Intensité du brunissement	37
II.1.3.2 Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF)	37
II.1.3.3 Diffraction des rayons X (DRX)	37
II.1.3.4 Degré de substitution (DS)	37
II.1.3.5 Potentiel zêta.....	38
II.1.3.6 Dosages conductimétriques et ph métriques.....	38
II.1.3.7 Analyses thermiques.....	38
II.1.3.7.1 Analyse thermogravimétrique (ATG)	38
II.1.3.7.2 Analyse différentiel calorimétrique (DSC)	38
II.1.3.8 Etudes biologiques	39
II.1.3.8.1 Biocompatibilité avec le sang humain.....	39
II.1.3.8.2 Test de coagulation sanguine	39
II.1.3.8.3 Activité anti-inflammatoire.....	40
II.1.3.8.4 Activité antioxydante.....	40
II.1.3.8.5 Facteur de protection solaire in vitro (SPF).....	42
II.1.3.8.6 Évaluation de l'activité antibactérienne	43
II.1.3.9 Etudes d'inhibitions enzymatiques	44
II.1.3.9.1 Activité anti-brunissement par inhibition de la PPO.....	44
II.1.3.9.2 Activité anti-diabétique par inhibition d'Alpha-amylase	45
II.1.3.10 Analyses statistiques.....	45
III.RESULTATS ET DISCUSSIONS.....	46
III.1 ETUDES STRUCTURALES	46
III.1.1 Intensité du brunissement.....	46
III.1.2 Spectrophotométrie infrarouge (IR-TF).....	49
III.1.3 Diffraction des rayons X (DRX).....	51
III.1.4 Degré de substitution déterminé par la méthode TNBS.....	53
III.1.5 Potentiel Zêta.....	54
III.1.6 Dosage potentiométrique et conductimétrique	55
III.1.7 Analyses thermiques	58
III.1.7.1 Analyse thermogravimétrique (ATG)	58
III.1.7.2 Analyse calorimétrique différentielle à balayage (DSC)	61
III.2 ETUDES BIOLOGIQUES	66
III.2.1 Evaluation de la compatibilité avec le sang	66
III.2.2 Test de coagulation sanguine in vitro	67
III.2.3 Activité anti-inflammatoire	68
III.2.4 Activité antioxydante	70
III.2.4.1 Activité de piégeage du radical ABTS ⁺	70
III.2.4.2 Test DPPH.....	71
III.2.4.3 Pouvoir réducteur (tests FRAP et phénanthroline)	72
III.2.4.4 Test de piégeage du H ₂ O ₂	74

III.2.5 Facteur de Protection Solaire In Vitro	76
III.2.6 Activité antibactérienne	77
III.3 ETUDES D'INHIBITIONS ENZYMATIQUES	78
III.3.1 Activité anti-brunissement par inhibition de la PPO	78
III.3.2 Activité anti-diabétique par inhibition d'Alpha-amylase.....	81
CONCLUSION	83
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	85
ANNEXES	107

Liste des Abréviations

ABTS : Acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)

Alg : Alginate

BCI : indice de coagulation sanguine

BSA : Bovine Serum Albumin (albumine de sérum bovin)

Cs : Chitosane

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (test de piégeage des radicaux libres)

DS : Degré de substitution.

DSC : Analyse Calorimétrique différentielle

FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power (Pouvoir antioxydant réducteur du fer)

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50 %

PBS : Buffer phosphate solution.

PPO : Polyphénol Oxydase

PRM : Produits de la réaction de Maillard

SPF : Facteur de Protection Solaire (Sun Protection Factor)

TNBS : Trinitro-benzène-sulfonique (réactif pour les groupes amines)

Liste des Figures

FIGURE.I.1	Représentation structural de la gélatine	4
FIGURE.I.2	Structure moléculaire de la kératine	4
FIGURE.I.3	Représentation de l'unité disaccharidique de l'acide hyaluronique	5
FIGURE.I.4	Fragment structural de l'héparine mettant en évidence ses fonctions sulfatées	6
FIGURE.I.5	Unité répétitive du carraghénane κ	6
FIGURE.I.6	Motif structural de la pectine	7
FIGURE.I.7	Structure répétitive du xanthane produit par <i>Xanthomonas campestris</i>	7
FIGURE.I.8	Structure moléculaire du glycogène	8
FIGURE.I.9	Structure moléculaire de la cellulose.....	8
FIGURE.I.10	Organisation des chaines d'amylose et d'amylopectine	9
FIGURE.I.11	Fragment de pullulane	9
FIGURE.I.12	Représentation de la structure de dextrane	10
FIGURE.I.13	Structure linéaire de la chitine.....	10
FIGURE.I.14	Synthèse du chitosane à partir de chitine	11
FIGURE.I.15	Monomères de la chaîne alginate	17
FIGURE.I.16	Structures chimiques représentatives des différents blocs constitutifs d'alginate.....	17
FIGURE.I.17	Procèdes d'extraction de l'alginate à partir des algues brune	18
FIGURE.I.18	Addition nucléophile d'une fonction amine sur la fonction carbonyle d'un sucre réducteur ...	27
FIGURE.I.19	Dégradation des produits d'Amadori	27
FIGURE.I.20	Dégradation de Strecker	28
FIGURE.I.21	Formation des mélanoïdines à partir de réductones et de résidus d'arginine.....	29
FIGURE.I.22	Schéma des étapes de la réaction de Maillard.....	30
FIGURE.III.1	Effet du temps de chauffage sur l'intensité du brunissement	48
FIGURE.III.2	Spectre infrarouge du a) Cs, Alg et b) Cs/Alg (3h), Cs/Alg (6h).....	50
FIGURE.III.3	Schéma simplifié de la réaction de Maillard entre le chitosane et l'alginate.....	51
FIGURE.III.4	Diffractogramme des rayons x de Cs, Alg, Cs/Alg (3h) et Cs/Alg (6h)	53
FIGURE.III.5	Degré de substitution (%) des matrices chitosane/alginate.....	54
FIGURE.III.6	Variations de la conductivité électrique et du pH	57
FIGURE.III.7	Thermograms ATG de a) Cs, b) Alg, c) Cs/Alg (3h) and d) Cs/Alg (6h)	61
FIGURE.III.8	Thermogrammes DSC du a) (Cs), b) (Alg), c) Cs/Alg (3h) et d) Cs/Alg (6h).....	65
FIGURE.III.9	Taux d'hémolyse du Cs, Alg, Cs/Alg (3h) et Cs/Alg(6h).....	67
FIGURE.III.10	Évolution de l'activité de coagulation sanguine.....	68
FIGURE.III.11	Activités antibactériennes	78

FIGURE.III.12 Inhibition (%) de la PPO en fonction de la concentration de Cs/Alg PRMS	80
FIGURE.III.13 Inhibition (%) de l' α -amylase par Cs/Alg (3h), Cs/Alg (6h) et l'acarbose	82
FIGURE A.1 Activité anti-inflammatoire de Cs, Alg, Cs/Alg (3h) et Cs/Alg (6h)	107
FIGURE A.2 Activité de piégeage des radicaux libres (ABTS) de Cs/Alg (3h) et Cs/Alg (6h).....	107
FIGURE A.3 Activité de piégeage des radicaux libres (DPPH) de Cs/Alg (6h)	108
FIGURE A.4 Pouvoir réducteur de FeCl ₃ et phénanthroline de Cs/Alg (6h)	109
FIGURE A.5 Activité de piégeage de H ₂ O ₂ de Cs et Alg	110
FIGURE A.6 Activité anti-brunissement de Cs/Alg (6h)	110
FIGURE A.7 Activité antidiabétique de Cs/Alg (6h) et Cs/Alg (3h).....	111

Liste des Tableaux

TABLEAU.I.1 Exemples des produits pharmaceutiques à base de Chitosane	15
TABLEAU.I.2 Autres domaines d'application du chitosane.....	16
TABLEAU.I.3 Exemples de produits pharmaceutiques à base d'Alginate	23
TABLEAU.II.1 Spectre d'action érythémale normalisé.....	43
TABLEAU.II.2 Classification des produits solaires	43
TABLEAU.III.1 Valeurs de A294/A420 pour Cs/Alg (3h) et Cs/Alg (6h).....	48
TABLEAU.III.2 potentiels Zeta du Cs, Alg, Cs/Alg (3h) et Cs/Alg (6h)	55
TABLEAU.III.3 Paramètres de stabilité thermique	58
TABLEAU.III.4 Paramètres thermiques obtenus à partir des profils DSC	66
TABLEAU.III.5 Effets anti-inflammatoires des échantillons testés in vitro	70
TABLEAU.III.6 6 Activité antioxydante mesurée par le test ABTS ⁺	71
TABLEAU.III.7 Activité antioxydante mesurée par le test DPPH.....	72
TABLEAU.III.8 Activité antioxydante évaluée par les tests FRAP (a) et phénanthroline (b)	74
TABLEAU.III.9 Activité antioxydante de Cs, Alg, et Cs/Alg PRM s évaluée par les tests H ₂ O ₂	76
TABLEAU.III.10 Potentiel photo-protecteur des matériaux testés	77
TABLEAU.III.11 Inhibition des composés après 24 h	78

Introduction générale

L'utilisation croissante des biopolymères ces dernières années s'explique par leur caractère renouvelable, leur durabilité, ainsi que leur faible coût. Parmi ces biopolymères, les polysaccharides suscitent un intérêt particulier en raison de leur grande diversité structurale et fonctionnelle (**Ratner, 2019**). Riches en groupes hydroxyles et constitués d'unités de monosaccharides liées par des liaisons glycosidiques, ils possèdent une variété d'activités biologiques, antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes, hypoglycémiantes, entre autres. Leur biocompatibilité, leur biodégradabilité, leur faible toxicité, ainsi que leur potentiel de modification chimique font d'eux des candidats de choix pour le développement de matériaux fonctionnels dans les industries pharmaceutique, agroalimentaire, textile et papetière (**Jin et al., 2021**).

Cependant, malgré leurs nombreuses qualités, les polysaccharides présentent certaines limitations intrinsèques, telles qu'une faible solubilité dans l'eau ou dans les solvants organiques, une sensibilité aux variations de pH ou de température, et des propriétés mécaniques parfois insuffisantes. Pour surmonter ces contraintes, diverses stratégies de modification chimique ou physique ont été développées. Ces modifications, notamment la greffe de chaînes latérales, l'oxydation, la carboxyméthylation, la sulfonation ou la réticulation, visent à améliorer la solubilité, la stabilité thermique, l'affinité avec certains agents bioactifs, et l'activité biologique des polysaccharides. Ce faisant, elles permettent d'élargir considérablement leur champ d'application, en particulier dans les domaines biomédical, cosmétique, pharmaceutique et environnemental. Ainsi, la modification des polysaccharides ne constitue pas seulement un moyen de compenser leurs limitations, mais aussi une approche stratégique pour concevoir des matériaux bioactifs sur mesure, adaptés aux exigences des applications modernes (**Chen et al., 2024**).

Parmi les polysaccharides les plus étudiés figurent le chitosane et l'alginate. Le chitosane, polysaccharide cationique dérivé de la chitine, est doté de groupes amines réactifs lui conférant des propriétés intéressantes, notamment antimicrobiennes et antioxydantes. L'alginate, un polysaccharide anionique extrait d'algues brunes, est reconnu pour sa capacité à former des gels en présence d'ions divalents. Leur complémentarité ionique permet la formation de complexes polyelectrolytiques aux propriétés physico-chimiques et biologiques améliorées (**Mathur et al., 1990**).

Dans ce contexte, la réaction de Maillard offre une voie innovante de modification des polysaccharides. Initialement décrite comme une réaction non enzymatique entre les groupes amines d'acides aminés ou de protéines et les fonctions carbonyles des sucres réducteurs, cette

réaction aboutit à la formation de produits complexes, souvent bioactifs (**Zhao et al., 2018**). Bien que généralement étudiée dans les systèmes protéine-glucide, des travaux récents ont mis en évidence la possibilité d'étendre cette réaction à certains polysaccharides, notamment ceux porteurs de groupes amines primaires, comme le chitosane. Les produits issus de telles réactions présentent des propriétés biologiques accrues, en particulier des activités antioxydantes et antibactériennes renforcées.

La présente thèse s'inscrit dans cette perspective, en explorant la valorisation de la réaction de Maillard comme méthode de modification chimique pour améliorer les propriétés fonctionnelles de complexes à base de chitosane et d'alginate. Pour cela, un mélange de ces deux polysaccharides a été soumis à des conditions favorables à la réaction de Maillard (température de 100 °C, pH acide de 4,5). Les produits formés ont été caractérisés d'un point de vue physico-chimique (IR-TF, UV-Vis, diffraction des rayons X, ATG, DSC, potentiel zêta) et biologique (activités antioxydante, anti-inflammatoire, antibactérienne, inhibition enzymatique, indice de protection solaire - SPF).

Ce manuscrit est structuré en trois parties principales :

La première partie, divisée en deux chapitres, est consacrée à une revue de la littérature. Le premier chapitre porte sur les biopolymères en général, tandis que le deuxième chapitre met l'accent sur les polysaccharides, en abordant leur structure, leurs propriétés physico-chimiques ainsi que leurs applications dans les domaines biomédical, pharmaceutique et agroalimentaire. Une attention particulière est portée à la réaction de Maillard, considérée comme une méthode de modification non enzymatique ; ses mécanismes, ses effets et ses applications potentielles y sont détaillés.

La deuxième partie présente les matériaux, les réactifs et les méthodes expérimentales utilisés. Il décrit avec rigueur les conditions de préparation des produits, ainsi que les techniques analytiques mises en œuvre pour leur caractérisation.

La troisième et la dernière partie expose et discute les résultats expérimentaux. L'effet de la réaction de Maillard sur les propriétés structurales et biologiques des produits obtenus est analysé de manière critique et mis en perspective avec les données issues de la littérature, afin de démontrer la pertinence de cette stratégie de modification pour le développement de matériaux bioactifs à haute valeur ajoutée.

I Rappels bibliographiques

Chapitre 1 : Les biopolymères

I.1 Généralités sur les Biopolymères

Les biopolymères sont des macromolécules organiques constituées d'unités monomériques répétées, naturellement synthétisées par des organismes vivants à travers des processus biologiques (Ezeoha et al., 2013 ; Ali et al., 2013). Contrairement aux polymères synthétiques, souvent amorphes et désordonnés, les biopolymères présentent une structure moléculaire régulière, facilitant leur biodégradation naturelle sous l'effet de facteurs biologiques, thermiques ou enzymatiques (Guzman et al., 2011). Leur nature hydrophile favorise cette dégradation en milieu humide. Issus de sources variées, animales, végétales ou protéiques, à l'exemple du chitosane, des gommes, des amidons ou de la gélatine, les biopolymères représentent une alternative durable face à la raréfaction des ressources fossiles et aux enjeux environnementaux actuels (Leja et al., 2010). Leur biocompatibilité, leur biodégradabilité et leur structure moléculaire régulière justifie leur utilisation croissante dans les industries agroalimentaire et pharmaceutique (Jenkins et al., 1996), notamment dans les systèmes de libération contrôlée de principes actifs, où ils permettent d'améliorer l'efficacité thérapeutique des molécules bioactives (Ruso et al., 2017).

I.1.1 Classification des biopolymères

Les biopolymères sont classés principalement en fonction de la nature chimique de leurs monomères de base. On distingue généralement trois grandes familles :

I.1.1.1 Les protéines (ou polypeptides)

Parmi les biopolymères, les protéines suscitent un intérêt croissant en raison de leurs propriétés antibactériennes, biocompatibles, immunogènes et biodégradables, ainsi que de leur faible toxicité. Ces caractéristiques en font des candidates prometteuses pour de nombreuses applications biotechnologiques, notamment en ingénierie tissulaire et dans la conception de systèmes de libération contrôlée de médicaments (Nagarajan et al., 2019).

On peut citer comme exemples :

I.1.1.1.1 Gélatine

La gélatine est une macromolécule protéique d'origine animale ou végétale, obtenue par hydrolyse partielle du collagène à l'aide de traitements acides ou alcalins. En raison de sa bonne compatibilité avec les milieux biologiques et de sa capacité à se dégrader naturellement, elle est largement utilisée dans le secteur pharmaceutique, médical et agroalimentaire. Elle constitue

notamment un matériau de choix pour l'enrobage de formes galéniques telles que les capsules, gélules ou comprimés, ainsi que pour la fabrication d'éponges hémostatiques. Sur le plan structural, la gélatine est composée de chaînes polypeptidiques riches en acides aminés, adoptant une conformation hélicoïdale, et se comporte comme un polymère amphotère, variant de charge selon le pH du milieu. (Mansouri, 2019)

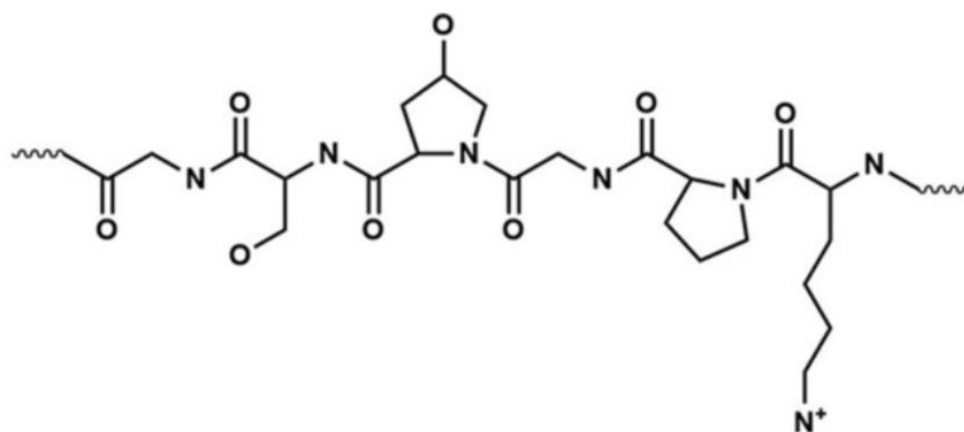


Figure.I.1 Représentation structural de la gélatine (Loucif, 2017).

I.1.1.1.2 Kératine

La kératine est une protéine fibreuse de nature structurale, extraite principalement de tissus cornés tels que les cheveux, les griffes, les sabots ou les cornes. Elle se compose d'un ensemble complexe de filaments kératinisés, associés à des protéines solubles et à diverses enzymes. Produite par les couches superficielles de l'épiderme, la kératine se distingue par ses remarquables propriétés physico-chimiques, notamment sa résistance mécanique et sa stabilité. Sa structure moléculaire repose sur une organisation en hélices α ou en feuillets β , formant des réseaux réticulés stabilisés par des liaisons disulfures entre les chaînes polypeptidiques riches en cystéine (Rajabi et al., 2020).

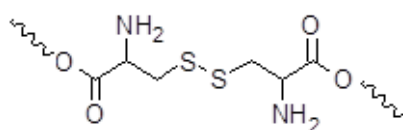


Figure.I.2 Structure moléculaire de la kératine.

I.1.1.2 Les acides nucléiques

Ce sont des biopolymères essentiels à la transmission de l'information génétique, composés de nucléotides **(Dols et al., 2020)**.

Exemple : l'ADN (Acide désoxyribonucléique) et l'ARN (Acide ribonucléique), jouent un rôle fondamental dans le fonctionnement des organismes vivants.

I.1.1.3 Polysaccharides

Les polysaccharides sont des macromolécules constituées de l'enchaînement de nombreux oses, unis par des liaisons osidiques. Ces polymères de haut poids moléculaire résultent de la condensation d'oses, eux-mêmes définis comme des aldéhydes ou des cétones polyhydroxylés, hydrosolubles et réducteurs (comme le fructose) **(Mokrani, 2013)**. La liaison osidique, typique de ces structures, est formée par une réaction de condensation entre le groupement hydroxyle hémiacétalique du carbone anomérique d'un ose et une fonction hydroxyle (ou parfois une fonction amine ou thiol) d'une autre molécule osidique **(Bruneton, 1999)**.

Les polysaccharides se distinguent par des propriétés rhéologiques variées telles que leur capacité à gélifier, épaissir, émulsionner ou stabiliser qui les rendent particulièrement utiles dans des domaines industriels aussi divers que l'agroalimentaire, la cosmétique, la pétrochimie, la peinture, les adhésifs ou encore les biomatériaux. Leur excellente biocompatibilité leur confère un potentiel étendu, notamment dans les secteurs pharmaceutique et biomédical, où les polysaccharides multifonctionnels suscitent un intérêt croissant. En outre, ces macromolécules jouent un rôle actif dans divers processus cellulaires tels que la prolifération, la différenciation, l'adhésion et la migration. Leur aptitude à interagir avec les systèmes biologiques en fait des acteurs clés dans de nombreuses fonctions physiologiques **(Delattre, 2005)**.

I.1.1.3.1 Classification des polysaccharides selon leur charge

A. Polysaccharides anioniques

- **Acide hyaluronique**

Présent dans divers tissus et liquides biologiques (humeur vitrée, liquide synovial...), ce polymère est formé de disaccharides d'acide β -glucuronique et de N-acétylglucosamine, unis par des liaisons β (1 $\rightarrow$ 3) **(Audigie&Zonszain, 2002)**.

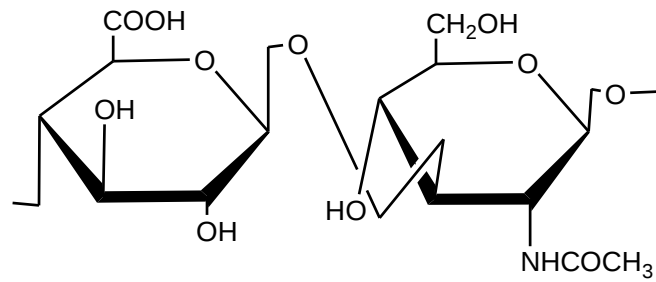


Figure.I.3 Représentation de l'unité disaccharidique de l'acide hyaluronique.

▪ Héparine

Sécrétée par les mastocytes, l'héparine est abondante dans les tissus comme le foie, les muscles ou les poumons. Elle possède une activité anticoagulante et intervient dans le métabolisme lipidique (**Biserte et al., 1977**).

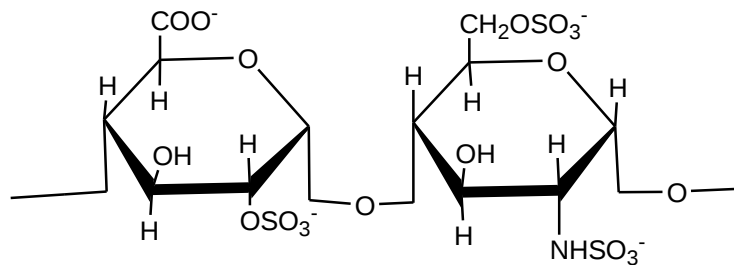


Figure.I.4 Fragment structural de l'héparine mettant en évidence ses fonctions sulfatées.

• Carraghénanes

Polysaccharides extraits d'algues rouges (Rhodophyceae), les carraghénanes (λ , κ , τ) sont utilisés comme agents gélifiants et stabilisants dans les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques (**Lafargue, 2007**).

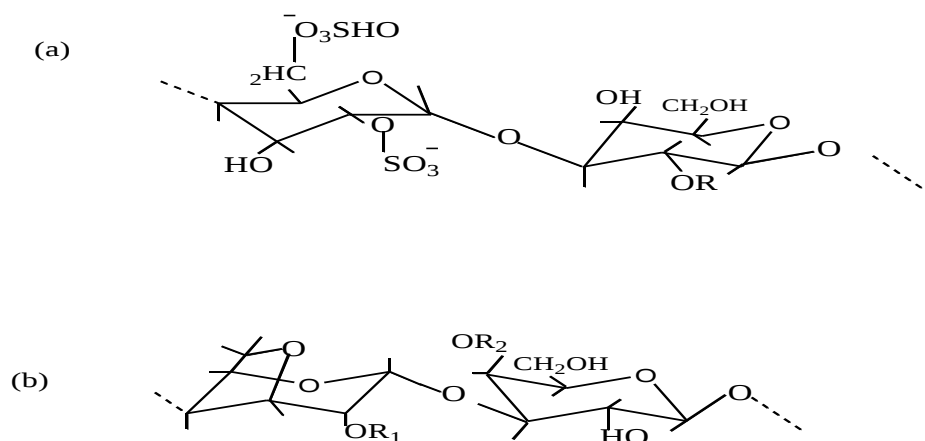


Figure.I.5 Unité répétitive du carraghénane κ , montrant les groupements sulfatés caractéristiques.

• Pectine

Présente dans les parois cellulaires végétales, la pectine commerciale est extraite de fruits comme les pommes ou les agrumes. Elle est utilisée comme agent gélifiant et vecteur de principes actifs. Ses structures sont variées et classées en homogalacturonanes, rhamnogalacturonanes-I et galacturonanes substitués (Zhang et al., 2015).

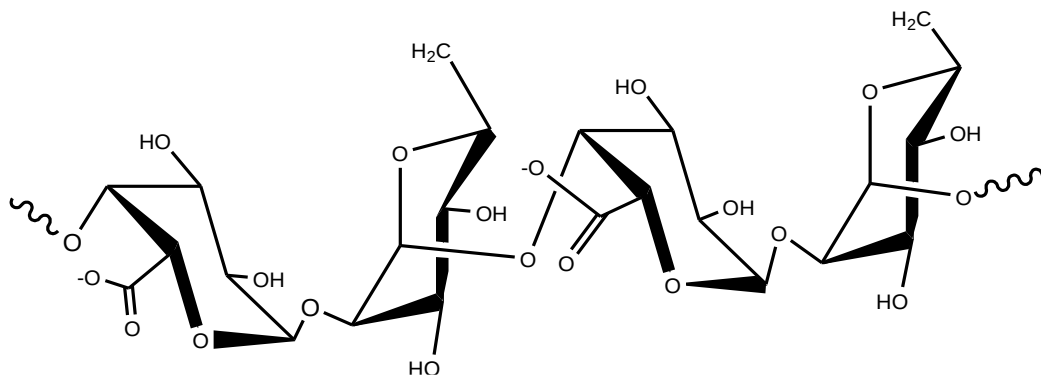


Figure.I.6 Motif structural de la pectine soulignant la chaîne principale de galacturonane et ses ramifications.

- **Xanthane**

Produit par fermentation via *Xanthomonas campestris*, le xanthane est un polysaccharide de haut poids moléculaire, largement utilisé pour ses propriétés rhéologiques (Benchaita, 2014).

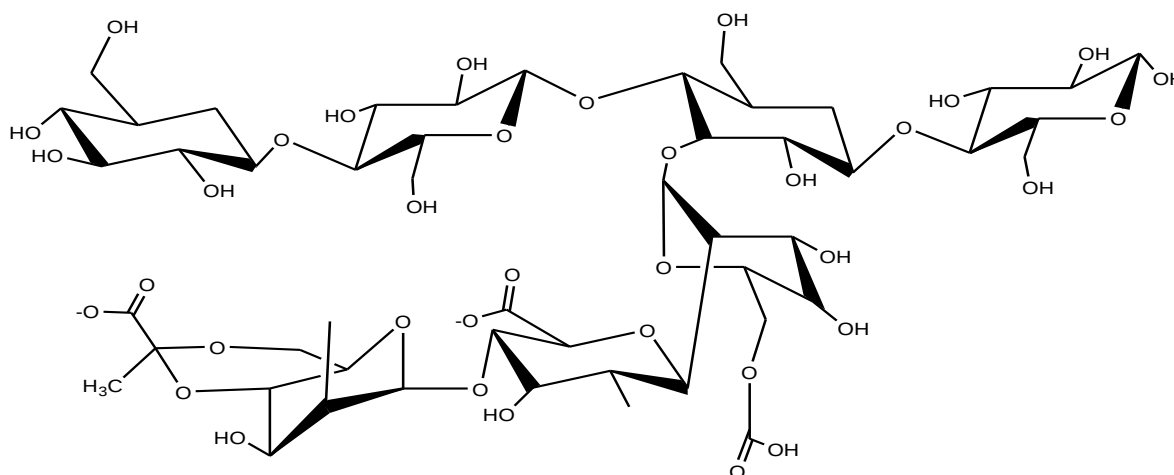


Figure.I.7 Structure répétitive du xanthane produit par *Xanthomonas campestris*.

B. Polysaccharides neutres

- **Glycogène**

Polymère de réserve des animaux et bactéries, le glycogène est composé exclusivement de D-glucose, reliés majoritairement par des liaisons α (1 $\rightarrow$ 4) et ponctuellement par des liaisons α (1 $\rightarrow$ 6), qui confèrent à sa structure un caractère ramifié (Gerald, 1998 ; Audigie et al., 2002).

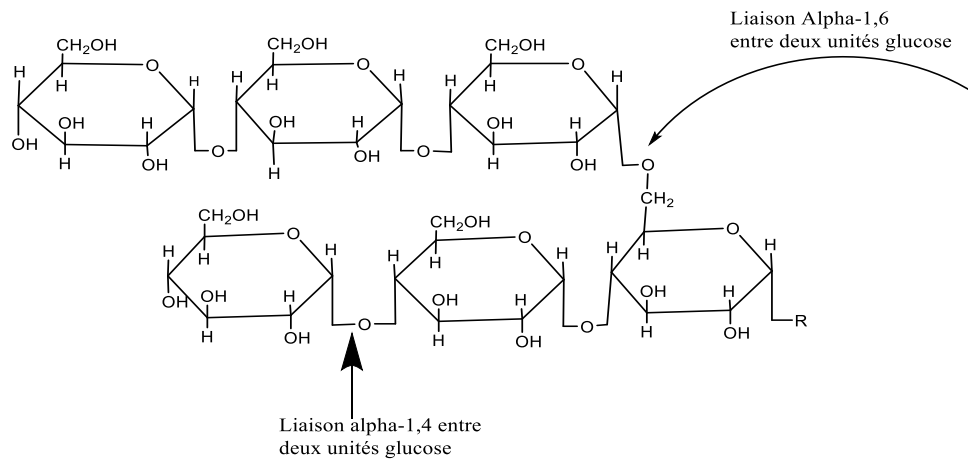


Figure.I.8 Structure moléculaire du glycogène, illustrant ses ramifications dues aux liaisons α (1 $\rightarrow$ 6).

- **Cellulose**

Polymère le plus abondant sur Terre, la cellulose est un homopolymère de D-glucose relié par des liaisons β (1 $\rightarrow$ 4). Elle est utilisée dans la fabrication de textiles, papiers et autres matériaux à base végétale (**Doublier et al., 2000**).

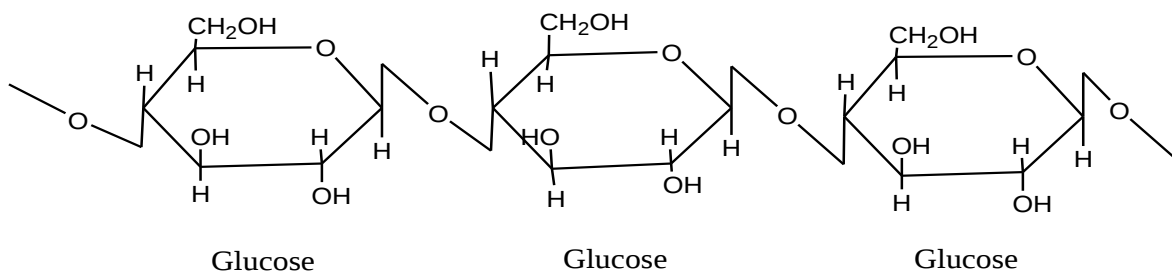


Figure.I.9 Structure moléculaire de la cellulose montrant l'empilement linéaire et les liaisons hydrogène interchaînes.

- **Amidon**

Forme principale de réserve glucidique chez les plantes, l'amidon est constitué d'amylose (15–30 %) et d'amylopectine (70–85%). Il est insoluble à froid, mais forme une pâte à chaud (**Weil et al., 2005**).

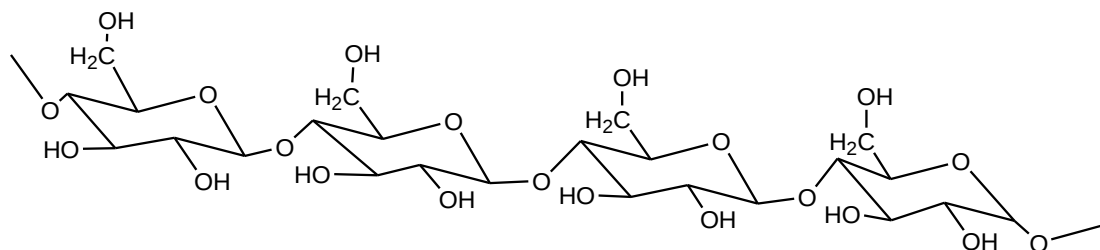


Figure.I.10 Organisation des chaînes d'amylose et d'amylopectine dans la structure granulaire de l'amidon.

- **Pullulane**

Issu de *Aureobasidium pullulans*, le pullulane est un polymère hydrosoluble composé d'unités de maltotriose, reliées par des liaisons α (1 $\rightarrow$ 6) (Covis, 2011).

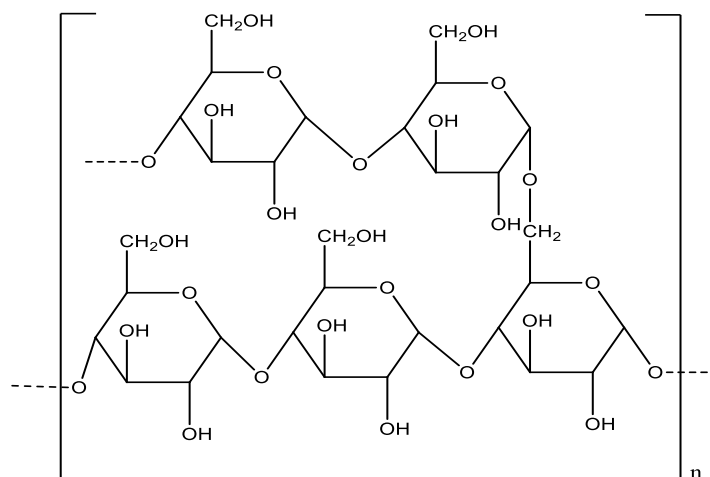


Figure.I.11 Fragment de pullulane constitué d'unités de maltotriose liées par des liaisons α (1 $\rightarrow$ 6).

- **Dextrane**

Polymère de glucose formé majoritairement par des liaisons α (1 $\rightarrow$ 6), mais aussi ramifié par des liaisons α (1 $\rightarrow$ 2), α (1 $\rightarrow$ 3) ou α (1 $\rightarrow$ 4), le dextrane est produit par des bactéries ou levures (Hames, 1999).

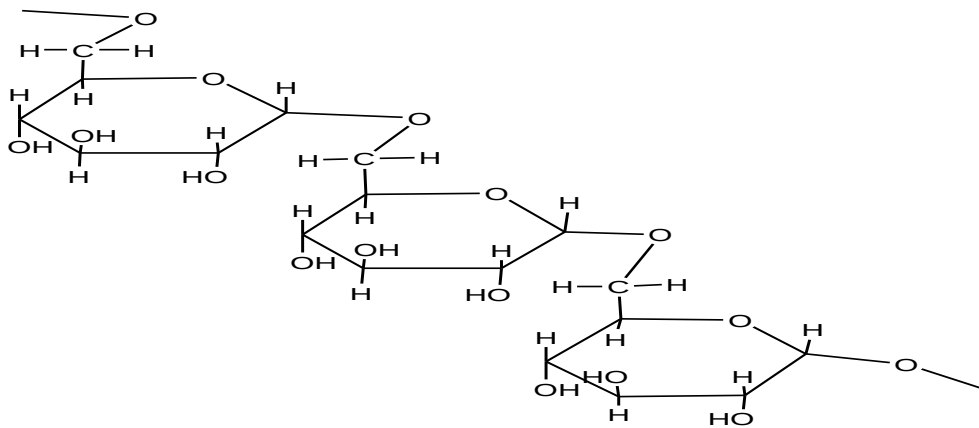


Figure.I.12 Représentation de la structure de dextrane.

C. Polysaccharides cationiques

- **Chitine**

Polymère structurel majeur, la chitine est présente dans les parois fongiques et l'exosquelette des arthropodes. Composée de N-acétyl-D-glucosamine liées en β (1 $\rightarrow$ 4), elle forme des structures rigides et résistantes (**Karlson, 1971**).

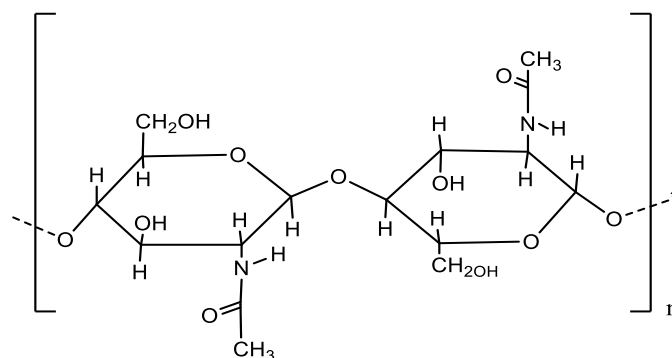


Figure.I.13 Structure linéaire de la chitine composée d'unités de N-acétyl-D-glucosamine reliées par des liaisons β (1 $\rightarrow$ 4).

Chapitre 2 : Chitosane, alginate et réaction de Maillard : concepts théoriques et avancées scientifiques récentes

I.2 Polysaccharides d'intérêt

Dans le cadre de cette étude, notre intérêt s'est porté sur deux polysaccharides d'origine naturelle, le chitosane et l'alginate, en raison de leurs propriétés complémentaires et de leur potentiel de fonctionnalisation. Leur association ouvre des perspectives prometteuses pour le développement de matériaux bioactifs à applications multiples.

I.2.1 Le chitosane

Le chitosane (Cs), principal dérivé de la chitine obtenu par désacétylation alcaline, est un polysaccharide composé d'unités de D-glucosamine et de N-acétyl-D-glucosamine liées en β (1 $\rightarrow$ 4) (**Fan et al., 2018**). Cette biopolymère présente un large éventail d'applications grâce à ses propriétés bioactives (antimicrobienne, antioxydante, cicatrisante, immunostimulante, etc.) (**Khan et al., 2017**)

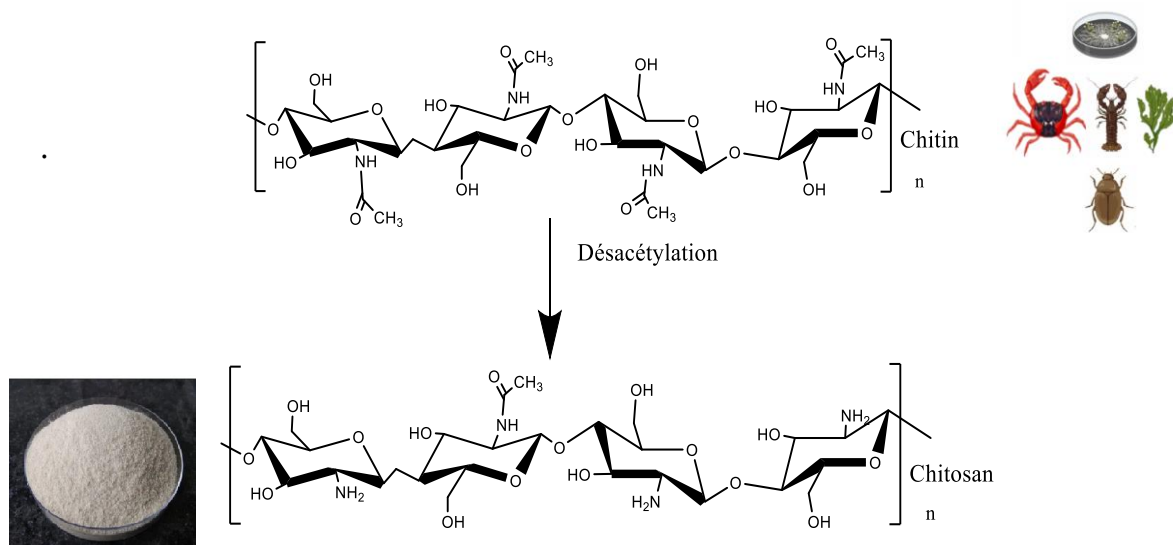


Figure.I.14 Synthèse du chitosane à partir de chitine issue de sources naturelles (champignons, crabes, langoustes, algues vertes et insectes)

Sa non-toxicité, sa biocompatibilité, sa biodégradabilité et son faible coût (**Shariatinia et al., 2017**) ont conduit à son utilisation croissante dans divers domaines, notamment la biomédecine (systèmes de délivrance de médicaments, ingénierie tissulaire, imagerie (**Agrawal et al., 2010**), implants (**Nawrotek et al., 2016**), lentilles de contact (**Anirudhan et al., 2016**), cicatrisation

(Zhang L et al., 2018), délivrance génique **Cupino et al., 2018**) ainsi que dans l'industrie alimentaire et textile (**Crizel et al., 2018**).

I.2.1.1 Profil physicochimique et bio-fonctionnel du chitosane

I.2.1.1.1 Propriétés physico-chimiques

A. Degré de Désacétylation

Constitue un paramètre structurel essentiel dans la caractérisation du chitosane, influençant de manière significative ses propriétés physico-chimiques, morphologique et biologiques. Une valeur élevée du degré de désacétylation reflète généralement une meilleure pureté du chitosane (**Wenling et al., 2005 ; Jaworska et al., 2003**).

B. Viscosité

La viscosité du chitosane constitue un paramètre crucial pour ses applications pratiques, notamment dans le domaine pharmaceutique et cosmétique. Elle dépend étroitement du poids moléculaire ainsi que du degré de désacétylation du polymère. Une diminution de la viscosité peut révéler une dégradation de la structure macromoléculaire, ce qui en fait un indicateur pertinent de la stabilité du chitosane au cours du stockage (**Bonilla et al., 2019**).

C. Solubilité

La solubilité du chitosane, indicatrice de sa pureté et de sa réactivité, dépend de la protonation de ses groupes amine, favorisée en milieu acide ($\text{pH} < 6,5$). Il est généralement soluble dans l'acide acétique ou formique, tandis que des solutions neutres comme le glycérol-2-phosphate offrent des alternatives récentes. En revanche, il reste insoluble dans des acides forts tels que l'acide sulfurique et phosphorique (**Rinaudc et al., 1999**).

D. Cristallinité

Le chitosane est un polymère à structure semi-cristalline, dont le degré de cristallinité joue un rôle déterminant dans ses propriétés fonctionnelles. Une cristallinité élevée tend à restreindre l'accessibilité aux groupes fonctionnels internes, limitant ainsi la diffusion et la réactivité chimique. À l'inverse, une cristallinité plus faible améliore la capacité de gonflement et favorise les interactions avec les solutés, ce qui en fait un atout pour les systèmes de libération contrôlée de substances actives (**Dutta et al., 2004**).

E. Biodégradabilité, biocompatibilité et non-toxicité du chitosane

Le chitosane est un polymère biodégradable, un critère fondamental pour les systèmes d'administration de vaccins, car il doit être éliminé de l'organisme après action. Sa dégradation in vivo est assurée par des enzymes telles que le lysozyme et la chitinase (Kean et al., 2010). La vitesse de biodégradation est inversement corrélée à la cristallinité, elle-même dépendante du degré de désacétylation (DD) (Zhang et al., 2002), et influencée également par la masse moléculaire (MM) (Martau et al., 2019).

Sur le plan biologique, le chitosane présente une biocompatibilité élevée, caractérisée par une faible réponse inflammatoire et une résorption progressive dans l'organisme (Shi et al., 2006). Cette biocompatibilité est liée à sa source naturelle, sa méthode de préparation, son DD et sa MM (Aranaz et al., 2009). De plus, de nombreuses études confirment sa faible toxicité, ce qui justifie son utilisation dans diverses applications biomédicales (Yang et al., 2007).

I.2.1.1.2 Activités biologiques du chitosane

Le chitosane suscite un intérêt croissant en biomédecine en raison de ses nombreuses activités biologiques, qui en font un candidat prometteur pour diverses applications thérapeutiques et pharmacologiques.

A. Activité antitumorale

Le chitosane stimule le système immunitaire et inhibe la prolifération de cellules tumorales, notamment par des conjugaisons innovantes comme le chitosane-thymine (Salah et al., 2013).

B. Contrôle du cholestérol sanguin

Il piège les lipides dans le tractus digestif, réduisant leur absorption et favorisant leur excrétion, avec des effets hypocholestérolémiants démontrés chez l'animal et l'homme (Luo et al., 2013).

C. Activité anticoagulante

Les chitosanes sulfatés présentent une activité anticoagulante similaire à celle de l'héparine, par un mécanisme d'action comparable (Vongchen et al 2002).

D. Propriétés antimicrobiennes

Efficace contre un large spectre de micro-organismes (bactéries, levures, moisissures), son activité dépend du poids moléculaire, du degré de désacétylation et des conditions environnementales (**Allan et al., 1997**).

E. Activité antioxydante

Le chitosane et ses dérivés piègent les radicaux libres, inhibent le stress oxydatif et protègent contre les dommages lipidiques (**Anraku et al., 2011**).

I.2.1.1.3 Application pharmaceutiques et biomédicales du chitosane

Le chitosane est largement étudié pour ses propriétés biocompatibles, biodégradables et non toxiques, ce qui en fait un matériau de choix dans plusieurs domaines, notamment dans le domaine biomédical et pour la conception de dispositifs médicaux. Parmi ses applications les plus prometteuses, on peut citer :

A. Potentiel du chitosane dans la régénération tissulaire

Le chitosane favorise la régénération tissulaire grâce à ses propriétés antimicrobiennes, biostimulants et sa capacité à former des films perméables à l'air. Il est utilisé dans la fabrication de peaux artificielles, de sutures chirurgicales et d'échafaudages pour l'ingénierie tissulaire (**Miranda et al., 2012 ; Drury et al., 2003**). Sa structure, semblable à celle des glycosaminoglycanes, le rend adapté aux substituts cutanés, et plusieurs pansements à base de chitosane sont déjà commercialisés.

B. Agents de cicatrisation et hémostatiques

Le chitosane est largement utilisé comme agent de cicatrisation en raison de ses propriétés bactériostatiques, fongistatiques et hémostatiques (**Elgadir et al., 2014**). Il favorise la régénération tissulaire lorsqu'il est implanté dans les tissus animaux et est incorporé dans divers types de pansements, tels que les hydrogels, films, poudres, composites et xérogels (**Gavhane et al., 2013**). **Burkatovskaya et al.**, ont démontré que les pansements à base d'acétate de chitosane réduisent significativement l'infiltration de cellules inflammatoires dans les plaies chez la souris. L'efficacité hémostatique du chitosane, essentielle au processus de cicatrisation, a été confirmée par plusieurs études (**Klokkevold et al., 1999**).

C. Systèmes de libération de principes actifs

Le chitosane est un polysaccharide prometteur dans l'administration pharmaceutique grâce à sa nature cationique et à la présence de groupes aminés primaires sur sa structure moléculaire (**Okamoto et al., 2003**). Ces propriétés lui confèrent une forte affinité pour les membranes biologiques et facilitent son interaction avec divers principes actifs. Il est utilisé comme vecteur de libération contrôlée des substances actives, permettant un ciblage précis des sites d'action au sein de l'organisme. Pour améliorer l'efficacité de l'administration médicamenteuse, le chitosane est formulé sous différentes formes galéniques, notamment en microsphères, microparticules, nanoparticules, granules, gels et films. Parmi ces formes, les microsphères à base de chitosane se révèlent particulièrement adaptées à la libération contrôlée de divers agents thérapeutiques, tels que les anticorps, les antihypertenseurs, les anticancéreux, ainsi que les médicaments à base de protéines et de peptides, les vaccins et les composés nutraceutiques (**Dash et al., 2011**).

Tableau.I.1 Exemples des produits pharmaceutiques à base de Chitosane.

Produit	Voie d'administration et forme pharmaceutique	Indications
Chitosonic® Acid	Intégré dans des formulations cosmétiques et médicales sous forme de gels, crèmes et solutions topiques.	Il est reconnu pour ses propriétés hydratantes, antimicrobiennes et antioxydantes, ce qui le rend idéal pour les soins de la peau et la cicatrisation des plaies
ChitoClear®	Disponible sous forme de poudre pure et peut être utilisé dans des formulations topiques, orales ou en tant qu'agent de purification.	Il est employé pour ses propriétés antibactériennes, antifongiques et antivirales, ainsi que pour son rôle dans la régénération cellulaire et la cicatrisation des plaies.
Celox™	Bandes de gaze imprégnées, appliqué directement sur la plaie	Il est utilisé pour traiter les hémorragies modérées à sévères,

Tableau.I.1 Autres domaines d'application du chitosane (Suyatma, 2006)

Domaines d'utilisation	Exemples d'applications
Agriculture	• Engrais à libération contrôlée • Augmentation de la disponibilité de l'eau chez les plantes • Contrôle du stress thermique et de la sécheresse • Prévention du stress abiotique chez les plantes
Alimentaire	• Additifs alimentaires • Prolongation de la durée de conservation des aliments • Comme agent antimicrobien • Comme émulsifiant • Comme flocculant • Comme ingrédient alimentaire fonctionnel • Emballage alimentaire
Traitement des eaux usées	• Liaison des ions métalliques • Élimination des colorants • Élimination des pesticides • Élimination des produits pharmaceutiques

I.2.2 Alginate

L'alginate est un polymère anionique d'origine naturelle, généralement extrait des algues brunes. Il fait l'objet de nombreuses recherches et applications en biomédecine, en raison de sa biocompatibilité, de sa faible toxicité, de son coût relativement modéré, ainsi que de sa capacité à former des gels de manière douce en présence de cations divalents tels que le calcium (Ca^{2+}) (Gombotz et al., 1998). Sa structure contient de nombreux groupes hydroxyles (-OH) et carboxyles (-COOH) libres, ce qui leur permet de former des liaisons hydrogène intramoléculaires.

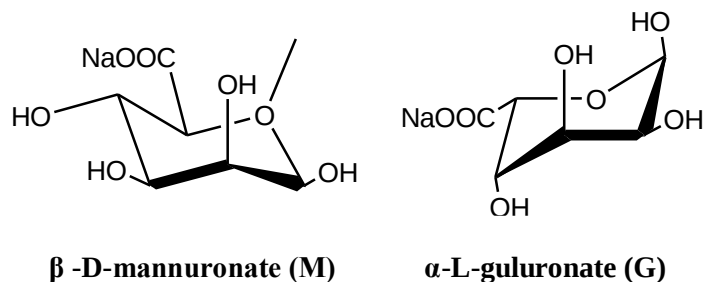


Figure.I.14 Monomères de la chaîne alginate.

L'alginate désigne aujourd'hui une famille de copolymères linéaires constitués de blocs successifs de résidus d'acide β -D-mannuronique (M) et d'acide α -L-gulonique (G), reliés en position (1 $\rightarrow$ 4). Ces blocs peuvent être homogènes, formés uniquement de résidus G (GGGGGG) ou M (MMMMMM), ou hétérogènes, composés d'une alternance régulière de résidus M et G (GMGMGM) (Fig. 1). La composition structurale des alginates varie selon leur origine, en particulier en ce qui concerne les proportions relatives de résidus M, G et de segments alternés (GMGM) (figure) (Tonnesen et al., 2002).

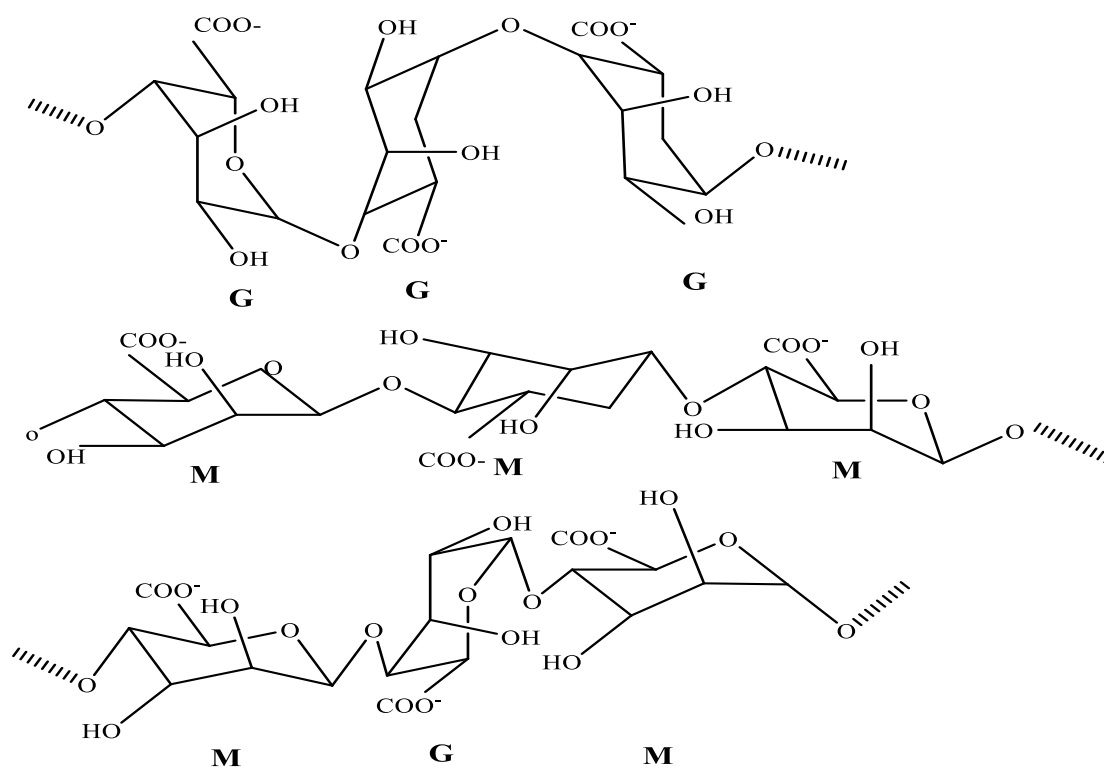


Figure.I.15 Structures chimiques représentatives des différents blocs constitutifs de l'alginate (GG), (MM) et (MG).

L'alginate est un polysaccharide d'origine naturelle, présent dans les parois cellulaires des algues brunes et produit également par certaines bactéries comme *Pseudomonas* et

Azotobacter (**Rehm et al., 1997**). Sa production industrielle repose principalement sur des espèces telles que *Laminaria hyperborea*, *Macrocystis pyrifera* et *Sargassum* spp (**Draget et al., 2005**).

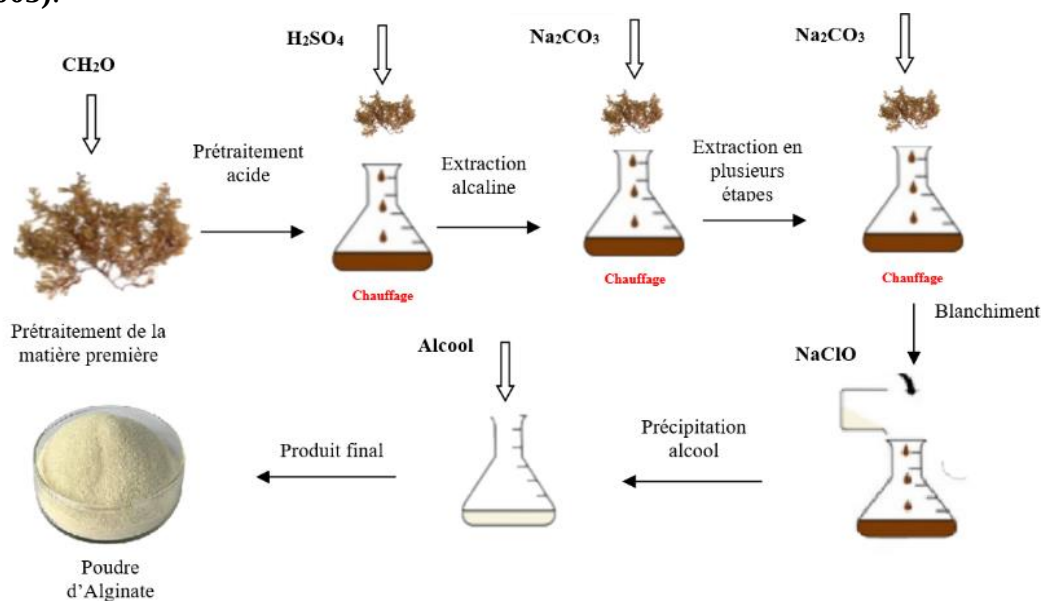


Figure.I.17 Procédés d'extraction de l'alginate à partir des algues brunes.

I.2.2.1 Profil physicochimique et bio-fonctionnel de l'alginate

I.2.2.1.1 Propriétés physico-chimiques

A. Poids moléculaire

L'alginate de sodium commercial présente un poids moléculaire élevé, compris entre 32 000 et 400 000 g/mol, et est constitué de longues chaînes M et G, avec un indice de polydispersion variant entre 1,5 et 3. Une augmentation du poids moléculaire de l'alginate améliore le taux de gélification et les propriétés physiques des gels (résistance à la traction, élasticité, viscosité) (**Sellimi et al., 2015**).

B. Solubilité

La solubilité de l'alginate ainsi que sa capacité de rétention d'eau dépendent du pH (il précipite en dessous d'environ pH 3,5), de la masse moléculaire (les chaînes d'alginate de calcium de faible masse moléculaire, comportant moins de 500 résidus, présentent une capacité de liaison à l'eau croissante avec l'augmentation de leur taille), de la force ionique, de la nature

C. Viscosité

La viscosité d'alginate dépend du poids moléculaire et de la concentration du polymère, tandis que la capacité de gélification (affinité pour les cations). Plus l'alginate contient d'acide glucuronique, plus sa solubilité dans l'eau et sa capacité de gélification augmentent, ce qui aboutit à un gel plus résistant, visqueux et stable. Des études montrent que les solutions d'alginate ne sont pas des fluides newtoniens, mais des fluides pseudoplastiques dont la viscosité varie considérablement lors de la dissolution dans l'eau et de la dilution (**Lee et al 2012**).

D. Biodégradabilité, biocompatibilité et toxicité de l'alginate

L'alginate est largement reconnu pour sa biocompatibilité, sa faible toxicité et ses propriétés biodégradables, faisant de lui un matériau de choix pour les applications biomédicales. Bien que les alginates de calcium, sodium, ammonium ou potassium soient considérés comme sûrs (GRAS) pour l'administration orale par la FDA (**George et Abraham, 2006**), leur biodégradation dans l'organisme est limitée en raison de l'absence d'alginate lyase chez les mammifères, nécessitant parfois des modifications chimiques, telles que l'oxydation partielle, pour améliorer leur dégradabilité (**Szekalska et al., 2016**). Sur le plan toxicologique, les alginates sont considérés comme peu ou non toxiques, et après administration intraveineuse, seule la fraction de faible masse moléculaire est éliminée par voie urinaire, tandis que les polymères plus volumineux restent en circulation sans accumulation tissulaire (**Liberski, 2016**). De plus, grâce à leurs capacités chélatantes, les alginates peuvent lier les toxines et les métaux lourds dans l'intestin, contribuant ainsi à des effets protecteurs contre certains processus cancérogènes (**Maciel et al., 2013**).

I.2.2.1.2 Activités biologiques de l'Alginate

A. Antitumorale

L'alginate, polymère naturel non toxique, présente un potentiel anticancéreux, notamment contre le cancer colorectal, en inhibant la prolifération tumorale et en stimulant l'immunité (**Reig-Vano et al., 2021 ; Rahimivand et al., 2020**). Il améliore l'efficacité des traitements en réduisant la toxicité des chimiothérapies. Des études animales ont montré une réduction des marqueurs inflammatoires et du stress oxydatif (**Chen J et al., 2017**).

B. Antioxydant

L'acide alginique (SA) et ses dérivés présentent une activité antioxydante notable, ce qui leur permet de neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de protéger les cellules contre le stress oxydatif (Lu X et al., 2022 ; Guo et al., 2016). Ils montrent un potentiel neuroprotecteur contre les dommages induits par le peroxyde d'hydrogène et les protéines β -amyloïdes (Tusi et al., 2011), et peuvent également atténuer la toxicité des métaux lourds tels que le chrome (Hentati et al., 2020) et le plomb (Gao et al., 2020).

C. Anti-inflammatoire

Des études menées *in vitro* et *in vivo* ont mis en évidence les propriétés anti-inflammatoires de l'alginate de sodium (SA), positionnant ce composé comme un candidat prometteur pour le traitement des pathologies inflammatoires chroniques (Mirshafiey et al., 2005 ; Yamamoto et al., 2013). Par ailleurs, l'acide guluronique, l'un des monosaccharides dérivés de l'alginate, administré à raison de 500 mg deux fois par jour, a démontré une activité anti-inflammatoire significative chez des patients souffrant de rhumatisme inflammatoire chronique axial, avec une amélioration des symptômes cliniques, des biomarqueurs de l'inflammation et des capacités physiques après 12 semaines de traitement (Nazeri et al., 2019).

D. Régulation glycémique

L'hyperglycémie, résultant d'un dysfonctionnement de la régulation du glucose (sécrétion réduite d'insuline, utilisation altérée et production hépatique accrue), constitue un facteur de risque majeur du diabète de type 2 (Gonzalez et al., 2023). Plusieurs études ont montré que l'alginate de sodium (SA), utilisé comme fibre alimentaire, peut réduire l'absorption intestinale du glucose et du cholestérol chez l'animal, contribuant ainsi à la régulation des taux glycémiques et lipidiques (Li et al., 2022). Ce rôle est notamment attribué à la formation d'un gel visqueux limitant la diffusion du glucose (Harden et al., 2012).

E. Antihypertensive

Un nombre croissant d'études confirme les effets antihypertenseurs de l'alginate et de ses oligosaccharides (AOS) (Terakado et al., 2012). Deux mécanismes principaux ont été proposés pour expliquer cette action : (i) l'inhibition de l'absorption intestinale du sodium, et (ii) un effet vasodilatateur direct (Moriya et al., 2013), contribuant ainsi à la réduction de la pression artérielle (Hiura et al., 2001). Des travaux récents ont montré que l'alginate de potassium de faible poids moléculaire (poids

moléculaire moyen : 1800 Da), administré à des doses de 100 à 500 mg/kg, permet de réduire la pression artérielle chez des rats spontanément hypertendus (**Ji et al., 2009**).

F. Propriétés immunomodulatrices

Plusieurs études ont mis en évidence l'un des rôles clés des alginates dans l'immunorégulation, notamment en induisant la production de cytokines (**Fang et al., 2017**). L'Alginate Oligosaccharide, obtenu par dégradation enzymatique (degré de polymérisation de 3 à 6, concentration : 500 µg/mL), stimule la synthèse de cytokines telles que TNF- α , GCSF (Facteur de stimulation des granulocytes), MCP-1 (Protéine chimiotactique des monocytes-1), RANTES (Régulé lors de l'activation, exprimé et sécrété par les cellules T normales) et GM-CSF (Facteur de stimulation des colonies granulocytes-macrophages) dans des macrophages RAW264.7, selon la structure de l'oligomère. Des niveaux faibles mais significatifs d'interleukines (IL)-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-9 et IL-13 sont également produits (**Yamamoto et al., 2007**).

I.2.2.1.3 Application pharmaceutiques et biomédicales d'Alginate

L'alginate est un biopolymère polyvalent largement utilisé en ingénierie tissulaire, en médecine et en pharmacie, notamment pour la cicatrisation des plaies, la délivrance contrôlée de médicaments et l'encapsulation cellulaire. De plus, il trouve des applications importantes dans les industries textile, agroalimentaire et cosmétique. Parmi les applications les plus prometteuses dans le domaine pharmaceutique, les Alginates peuvent utiliser comme :

A. Systèmes de libération de principes actifs

Les alginates suscitent un vif intérêt comme matrices pour la libération contrôlée de médicaments hydrophiles et hydrophobes, ainsi que pour l'encapsulation de biomolécules actives telles que les protéines et facteurs de croissance (**Ayala et al., 2008 ; Liberski, 2016**). Leur capacité à protéger les principes actifs, à améliorer leur efficacité, à contrôler leur libération et à réduire la toxicité orale en fait des excipients pharmaceutiques majeurs (**Abdellatif et al., 2016**). Ils sont utilisés sous forme de comprimés, microcapsules, implants et systèmes topiques, permettant de moduler les profils de diffusion des médicaments et de cibler des délivrances spécifiques (**Ching et al., 2017 ; Szekalska et al., 2016**).

B. Pansements

Les pansements à base d'alginate sont largement utilisés pour traiter les plaies aiguës et chroniques, grâce à leur capacité à maintenir l'humidité, absorber les exsudats et favoriser la

cicatrisation. Ils réduisent le risque d'infection bactérienne et stimulent la prolifération cellulaire. Disponibles sous différentes formes (gels, mousses, fibres), ils permettent aussi la libération contrôlée d'agents thérapeutiques. Plusieurs produits commerciaux, comme Algicell™ et Kaltostat™, sont déjà utilisés en pratique clinique (Coşkun et al., 2014 ; Nahar et al., 2017).

C. Biomatériau dans l'ingénierie tissulaire

Les biomatériaux à base d'alginate sont utilisés pour la régénération osseuse et cartilagineuse en tant que vecteurs de facteurs ostéoinducteurs, de médicaments ou de cellules osseuses. Ils présentent des avantages comme l'injection peu invasive, la capacité à combler des défauts complexes et le contrôle de la libération de biomolécules. Leur faiblesse mécanique peut être compensée par des composites avec l'hydroxyapatite ou le chitosane. Des gels alginate/chitosane enrichis en cellules souches et facteurs de croissance ont montré un fort potentiel pour la formation osseuse et cartilagineuse chez l'animal (Nahar et al. 2017).

Tableau.I.2 Exemples de produits pharmaceutiques à base d'Alginate.

Produit	Type d'administration	Indications
Gastrotuss® sirop pour bébé	Administration orale	Traitement du reflux chez les enfants et nourrissons dès les premiers jours de vie
Algacid® suspension/comprimés	Administration orale	Traitement du reflux chez l'adulte
Gaviscon Double Action Liquide®	Administration orale	Traitement du reflux chez l'adulte
Flaminal Forte® gel	Application dermique	Ulcères de jambe et diabétiques, escarres, brûlures, plaies complexes, dermatologie chirurgicale
Saf-Gel®	Application dermique	Plaies exsudatives variées : ulcères de jambe, escarres, plaies diabétiques ischémiques, zones difficiles à traiter
Tromboguard®	Pansement transdermique	Activité hémostatique et antibactérienne sur les Plaies traumatiques et postopératoires hémorragiques
Progenix plus®	Application parodontale	Régénération, compensation des pertes osseuses, maladies parodontales Défauts osseux ou lacunes du système squelettique
Natalsid® suppositoires	Administration rectale	Hémorroïdes chroniques, rectosigmoïdites, fissures anales après chirurgie
Guardix-SG5	Application dermique : Forme un gel	Chirurgie de la colonne vertébrale et thyroïdienne pour

	thermosensible à température corporelle, agit comme barrière mécanique	prévenir les adhérences postopératoires
--	--	---

I.2.3 Modifications chimiques des polysaccharides

Les polysaccharides présentent une grande diversité d'activités biologiques, notamment des propriétés antioxydantes (Tang et al., 2018), antitumorales (Wang J et al., 2018 ; Yang et al., 2012), anticoagulantes (Wang X et al., 2013), hypoglycémiantes (Wang S et al., 2017) et immunomodulatrices (Jiang et al., 2014). Toutefois, nombre d'entre eux n'expriment qu'une activité biologique limitée à l'état natif. Ainsi, diverses modifications chimiques sont mises en œuvre pour améliorer leurs propriétés fonctionnelles. Ces modifications qu'il s'agisse d'oxydation (Chetouani, 2017) , de réduction ou de clivage fonctionnel (sulfatation, phosphorylation, carboxyméthylation, acétylation), de greffage de molécules de faible poids moléculaire (la thiolation), ou encore de réticulation avec d'autres polymères, (Loucif, 2018 , Mansouri, 2019), constituent des approches cruciales pour améliorer leurs propriétés biologiques en modifiant leur structure, leur solubilité ainsi que leur réactivité des chaînes polysaccharidiques ce qui accroît l'utilisation biomédicale des polysaccharides dans divers domaines.

I.2.4 Effets de la modification des polysaccharides sur leur activités biologiques

I.2.4.1 Activité antioxydante

Les polysaccharides modifiés, notamment par sulfatation et phosphorylation, présentent une amélioration notable de leur activité antioxydante. L'introduction de groupements sulfate ou phosphate favorise la neutralisation des radicaux libres tels que DPPH, les radicaux hydroxyles et les anions superoxydes (Xie et al., 2015 ; Zhang X et al., 2022 ; Chen J et al., 2019). Ces groupes électroattracteurs augmentent la capacité de donation d'hydrogène, améliorant ainsi l'efficacité du piégeage des espèces réactives de l'oxygène.

I.2.4.2 Activité antitumorale

Certains polysaccharides sulfatés, phosphorylés ou acétylés peuvent induire l'apoptose, bloquer le cycle cellulaire ou inhiber la prolifération de cellules tumorales (Kokoulin et al., 2016 ; Wu et al., 2011). L'ajout de groupes phosphate, chargés négativement, favorise

l'interaction avec les récepteurs membranaires des cellules immunitaires, amplifiant la réponse antitumorale.

I.2.4.3 Activité antivirale

Les polysaccharides modifiés peuvent inhiber différents stades du cycle viral, notamment l'adsorption, la pénétration ou la réplication virale. Par exemple, les polysaccharides phosphorylés d'Achyranthes forment des complexes avec les virions, empêchant leur fixation aux cellules hôtes (**Feng et al., 2017**).

I.2.4.4 Activité immunomodulatrice

La modification chimique des polysaccharides, en particulier par sulfatation, acétylation ou sélénation, peut renforcer leur capacité à moduler le système immunitaire. Ces composés stimulent l'activité des macrophages, favorisent la production de cytokines (IL-1 β , IL-6, TNF- α), de monoxyde d'azote (NO) et d'espèces réactives de l'oxygène (**Hou et al., 2016 ; Li et al., 2019**). La sélénation, en particulier, semble jouer un rôle dose-dépendant dans l'amplification de la réponse immunitaire.

I.2.4.5 Activité antibactérienne

Les polysaccharides modifiés présentent des propriétés antibactériennes et anti-biofilm notables, en agissant sur l'adhésion bactérienne et en bloquant l'apport nutritif nécessaire à la croissance des bactéries (**Feng et al., 2010**). Les polysaccharides sulfatés montrent une activité antibactérienne renforcée, probablement en raison de la présence des groupements sulfo. Les polysaccharides carboxyméthylés, en particulier ceux extraits des macroalgues, inhibent plus efficacement les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif. La modification par carboxyméthylation permet également la chélation de métaux rares, comme les terres rares, renforçant l'activité antifongique contre les champignons phytopathogènes (**Sun et al., 2014**).

I.2.4.6 Activité anticoagulante

Les polysaccharides sulfatés possèdent une activité anticoagulante et antithrombotique intéressante, sans toxicité pour les cellules normales (**Wang et al., 2018 ; Kujipers et al., 2022**). Ils agissent principalement par interaction électrostatique entre les groupes sulfate chargés négativement et les résidus d'acides aminés positivement chargés des facteurs de coagulation. Cette activité est proportionnelle à la teneur en sulfate. À l'inverse, l'activité anticoagulante des polysaccharides phosphorylés semble être liée à l'augmentation de leur poids moléculaire, mais inversement proportionnelle à la teneur en phosphate (**Dace et al.,**

1997). L'héparine, un polysaccharide sulfaté, constitue l'exemple clinique le plus connu d'anticoagulant efficace.

I.3 La réaction de Maillard : une voie spécifique de modification des polysaccharides

I.3.1 Historique et découverte

La réaction de Maillard, également désignée sous le nom de brunissement non enzymatique, se produit naturellement entre les groupes aminés des protéines ou peptides et les groupes carbonyles des sucres réducteurs, sans ajout d'agents chimiques externes (**Zhao et al., 2018**).

La réaction de Maillard a été initialement pressentie en 1908 par Arthur Robert Ling, chimiste britannique, qui observa la formation d'arômes et de composés colorés issus des interactions entre protéines et sucres. Cependant, c'est Louis Camille Maillard qui, en 1912, en détailla le mécanisme chimique, décrivant la formation de pigments azotés (mélanoïdines) provenant des interactions entre sucres réducteurs et acides aminés (**Maillard, 1912**). Les travaux ultérieurs d'Amadori, puis ceux de Kuhn, Dansi et Weygand, ont permis de préciser que la formation des bases de Schiff (ou imines) ne constitue que la première étape, suivie d'un réarrangement aboutissant aux 1-amino-1-désoxy-2-cétooses, connus sous le nom de produits d'Amadori (**Kuhn, R. 1937**). Lorsque les réactifs impliqués sont des cétooses, la réaction conduit plutôt à la formation de produits de Heyns (2-amino-2-désoxy-aldooses), comme décrit par Heyns et Meinecke (**Heyns & Meinecke, 1953**). En 1953, Hodge publia un article fondamental sur la formation des produits d'Amadori et leur dégradation dans la réaction de Maillard, détaillant des réactions complexes menant aux mélanoïdines.

Les recherches sur la réaction de Maillard se poursuivent activement jusqu'à ce jour, et de nombreux résultats prometteurs ont été obtenus concernant les produits de cette réaction. Des études récentes ont montré que ces produits, notamment les mélanoïdines, possèdent des propriétés biologiques intéressantes, telles que des activités antioxydantes et antimicrobiennes. De plus, des améliorations des propriétés physico-chimiques, comme la stabilité thermique et la solubilité, ont été rapportées, ouvrant la voie à des applications dans divers domaines, tels que l'alimentaire et la pharmaceutique. Ces avancées témoignent de l'importance continue de cette réaction dans les recherches actuelles (**Chung et al., 2011 ; Zhang et al., 2015 ; Li, X. et al., 2013**).

I.3.2 Mécanisme réactionnel de la réaction de Maillard

La réaction de Maillard comprend une série complexe de réactions chimiques entre les groupes carbonyles (dans les sucres réducteurs) et les groupes amines libres dans les protéines, les peptides ou les acides aminés qui conduisent à un brunissement non enzymatique. Elle se compose de trois étapes appelées : initiale, intermédiaire et finale.

A. L'étape initiale

Dans cette étape, des réactions de condensation se produisent entre les groupes carbonyles et les groupes amine libres (principalement les groupes ϵ -amine), conduisant à la formation de composés instables appelés bases de Schiff. Ces dernières subissent une cyclisation pour former des glycosylamines N-substituées réversibles. Lorsque ces glycosylamines proviennent d'aldoses, elles donnent naissance aux composés d'Amadori (1-amino-1-désoxycétoses), tandis que celles issues de cétooses génèrent des composés de Heyns (2-amino-2-désoxyaldoses).

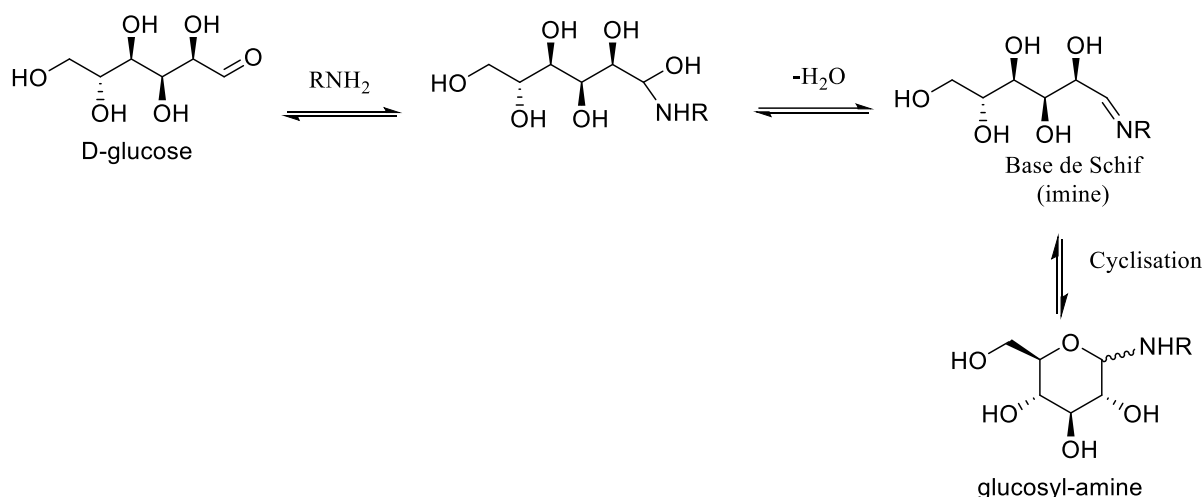


Figure.I.18. Addition nucléophile d'une fonction amine sur la fonction carbonyle d'un sucre réducteur (D-glucose) lors de la première étape de la réaction de Maillard.

B. L'étape intermédiaire

Débute avec la dégradation des composés d'Amadori et de Heyns par différentes voies. En milieu acide, ces composés subissent une énoylation 1,2 menant à la formation de furfural ou d'hydroxyméthylfurfural (HMF), tandis qu'en milieu alcalin, une énoylation 2,3 génère des réductones (par exemple, 4-hydroxy-5-méthyl-2,3-dihydrofuran-3-one, HMFone) ainsi que des produits de fission tels que l'acétol, le glyoxal et le méthylglyoxal.

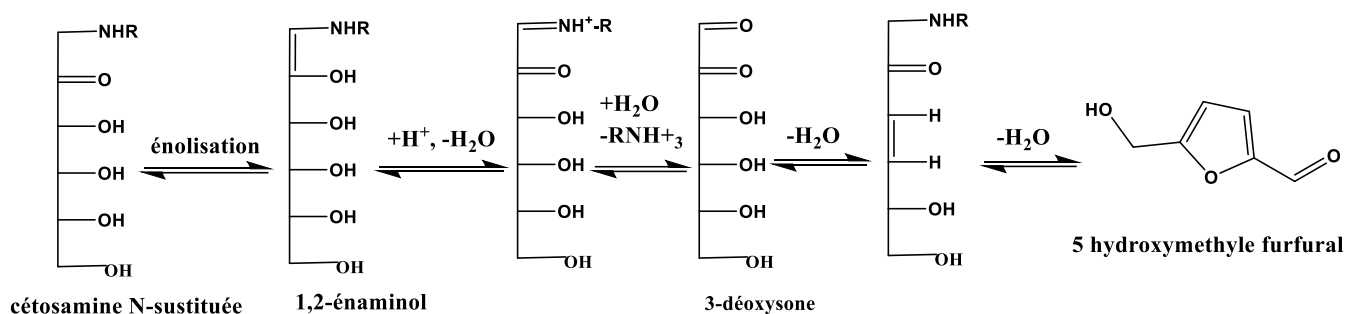


Figure.1.19 Dégradation des produits d'Amadori et la formation des composés α -dicarbonylés

Les composés dicarbonylés ainsi formés peuvent réagir avec des acides aminés pour produire des aldéhydes et des aminocétones par dégradation de Strecker. À ce stade, on observe l'apparition d'une coloration jaunâtre, la formation d'arômes caractéristiques ainsi qu'une augmentation du pouvoir réducteur (Nooshkam et al., 2019).

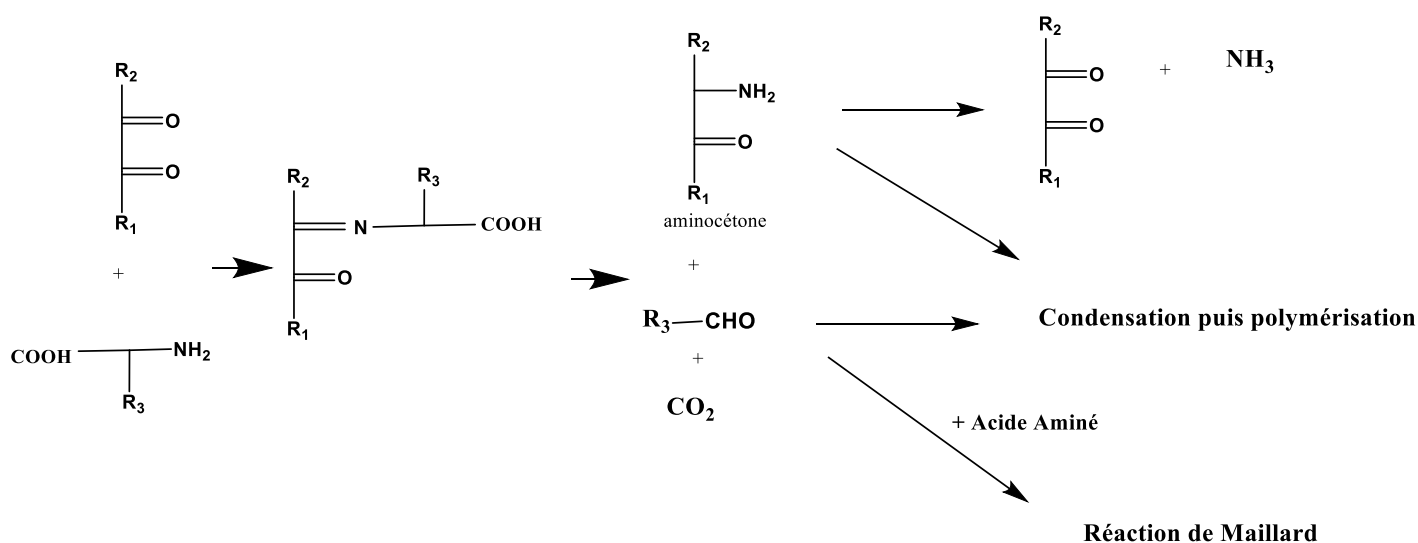


Figure.I.20 Dégradation de STRECKER ou décarboxylation et désamination des acides aminés

C. L'étape finale

Au stade final, les composés réactifs issus de l'étape intermédiaire subissent diverses transformations (rétro-aldolisation, isomérisation, réarrangement, condensation), conduisant à la formation de polymères azotés de haut poids moléculaire, appelés mélanoidines, responsables de la couleur brune. La structure chimique et les mécanismes exacts de formation de ces composés restent encore partiellement élucidés. Cette dernière phase est principalement responsable de la couleur et des arômes caractéristiques des aliments soumis à des traitements thermiques. Selon le stade atteint de la réaction, divers produits de la réaction de Maillard (PRM) aux propriétés distinctes peuvent être générés, bien qu'il reste intrinsèquement complexe de contrôler cette réaction. Certaines recherches sont intéressées aux activités antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires des mélanoidines, explorant leur potentiel comme ingrédients fonctionnels dans l'alimentation (Martinez-Gomez et al., 2020 ; Mesías et al., 2017).

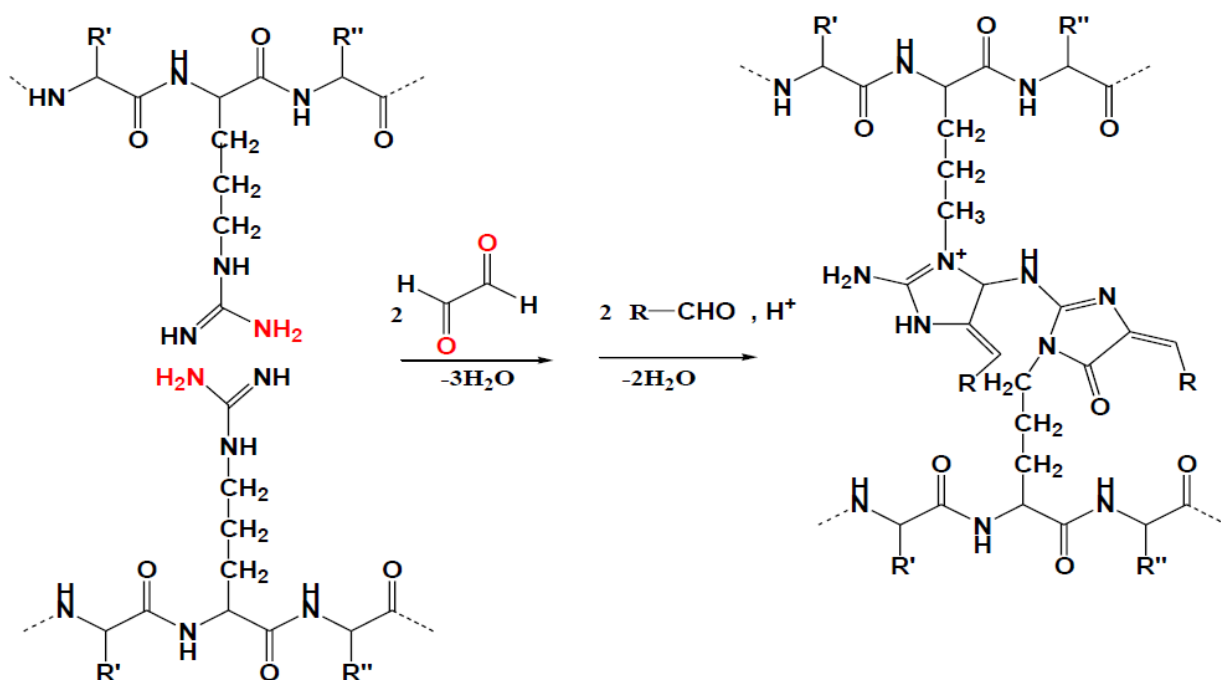


Figure. I.16 Formation des mélanoidines à partir de réductones et de résidus d'arginine

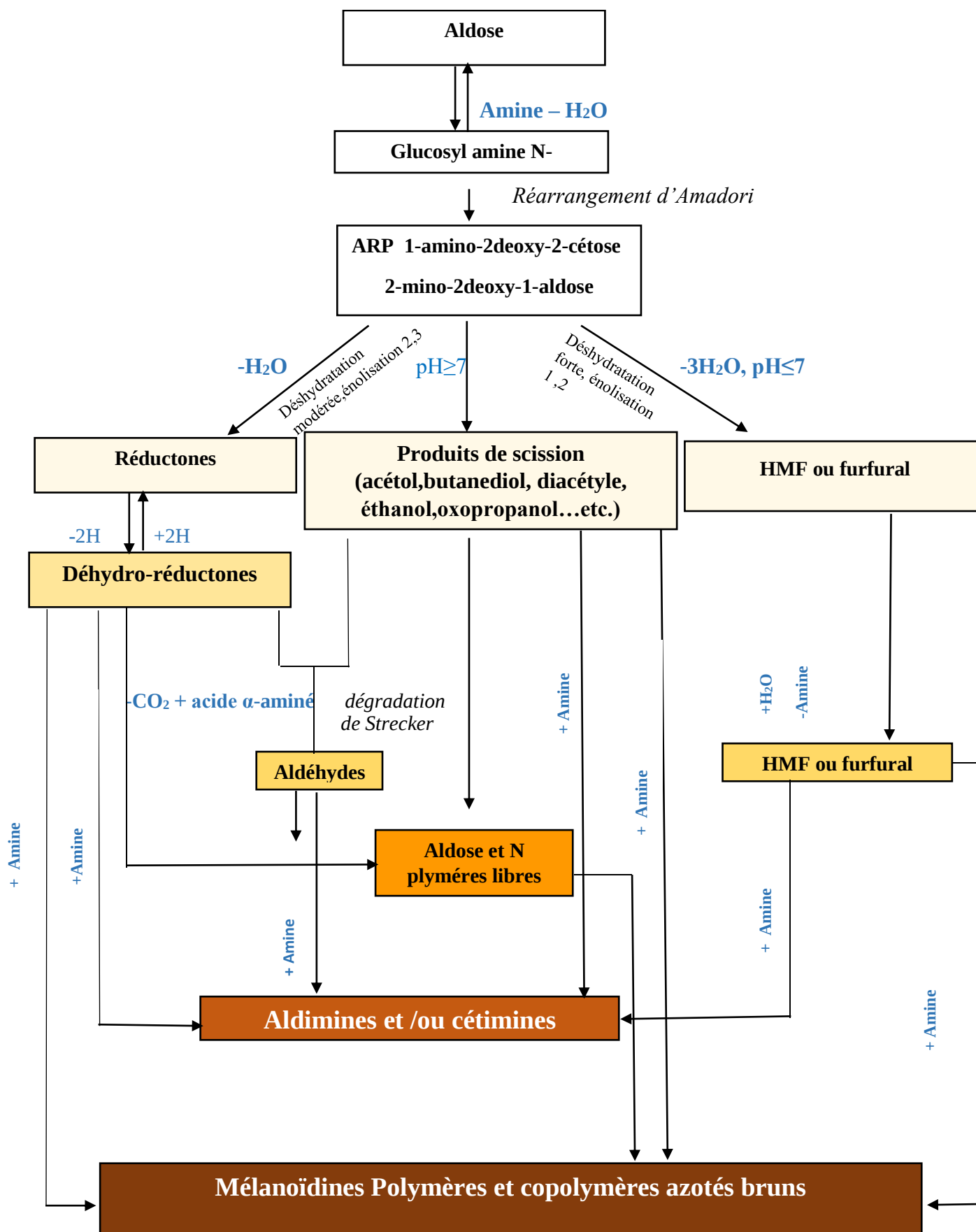


Figure I.22. Schéma des étapes de la réaction de Maillard (Hodge et al., 1953).

I.3.3 Facteurs influençant la réaction de Maillard

La réaction de Maillard est influencée par plusieurs paramètres, les plus importants sont :

A. pH

Le pH du milieu réactionnel joue un rôle déterminant dans la progression de la réaction de Maillard, en influençant à la fois la proportion des sucres sous forme ouverte et la réactivité des groupes amines. Un pH alcalin favorise notamment le réarrangement des sucres et la formation de produits d'addition par nucléophilie (**Hrynets et al., 2019**). À pH 8, les composés d'Amadori subissent préférentiellement une énolisation en position 1,2, tandis qu'à pH (9,7), la voie 2,3 devient majoritaire, modifiant ainsi la trajectoire réactionnelle et la nature des composés aromatiques formés. Des travaux antérieurs ont montré que la formation des furanes est favorisée à pH acide, tandis que celle des pyrazines prédomine à pH basique (**Wei et al., 2018 ; Lotfy et al., 2021**). Toutefois, certains auteurs n'ont pas observé d'effet significatif du pH sur la formation des composés volatils issus de la réaction de Maillard, notant une production similaire de furfural quel que soit le pH initial du système (**Li X et al., 2021**).

B. Température

La température influence fortement la cinétique et les voies de la réaction de Maillard. Une élévation de 10 °C peut multiplier la vitesse de réaction par 3 à 5 (**Zhang H et al., 2020**). À des températures inférieures à 110 °C, les réactions de réticulation sont favorisées dans les systèmes polypeptides–xylose, tandis qu'au-delà de ce seuil, des composés volatils comme les pyrazines, furanes et dérivés soufrés se forment (**Wei et al., 2018**). Le chauffage à 80 - 140 °C intensifie la production de composés à saveur savoureuse et grillée (**Liu et al., 2015**). Toutefois, des températures trop élevées entraînent la formation de composés indésirables, tels que l'acrylamide et les AGEs, réduisant la valeur nutritionnelle (**Han et al., 2021**).

C. Réactivité de l'eau (a_x)

Bien que la réaction de Maillard génère de l'eau, l'activité de l'eau (a_x) constitue un facteur clé pour la cinétique de cette réaction. En règle générale, la réaction est favorisée à des niveaux intermédiaires d' a_x , bien que la valeur optimale varie selon le système étudié. L'influence de l'activité de l'eau dépend également de la température : un léger pic de réactivité est observé autour de $a_x \approx 0,3$ à 60 °C et 75 °C, tandis qu'à 90 °C, la vitesse de réaction tend à

augmenter à mesure que l' a_x diminue. En revanche, à 95 °C, la formation maximale de pyrazines a été observée pour $a_x = 0,75$ (Leahy et al., 1989).

D. Effet des réactants : sucres réducteurs et acides aminés

Les études sur la réaction de Maillard révèlent l'influence cruciale des sucres réducteurs et des acides aminés sur le développement de composés de saveur et d'autres propriétés biochimiques. Les pentoses, par exemple, génèrent une intensité de couleur plus forte que les hexoses, qui sont plus réactifs que les disaccharides réducteurs (Ames, 1986). La variation des effets selon les acides aminés est également notable, la lysine et la glycine étant des producteurs de couleurs intenses, tandis que la cystéine l'est beaucoup moins. Par ailleurs, les produits de Maillard, notamment les composés volatils de saveur, dépendent largement des réactants, et leur formation peut avoir des effets antioxydants et antimicrobiens marqués, comme l'ont montré plusieurs études (Fors et al., 1988 ; Danehy et al., 1986).

I.3.4 Activités biologiques des produits de la réaction de Maillard (PRM)

A. Activité antioxydante

Les produits de réaction de Maillard, tels que les composants dérivés d'Amadori, les réductones et les mélanoidines, ont des propriétés antioxydantes identifiées dans divers systèmes modèles et produits alimentaires transformés. Ces propriétés sont influencées par des facteurs comme la concentration des réactants, la température et l'activité de l'eau (Nooshkam et al., 2019). L'activité antioxydante est attribuée à la capacité de transfert d'électrons des groupes hydroxyles et pyrroles, ainsi qu'au potentiel de don d'hydrogène des réductones, qui terminent les réactions radicalaires (Wang et al., 2013). Les mélanoidines, en particulier, montrent des capacités de chélation métallique et de piégeage des espèces réactives de l'oxygène, ce qui en fait des antioxydants efficaces dans de nombreux produits alimentaires (Nooshkam et al., 2016).

B. Activité antimicrobienne

Les mélanoidines dérivées de systèmes modèles et d'aliments réels tels que la saumure sucrée, et le café ont montré des propriétés antimicrobiennes, particulièrement contre les micro-organismes à Gram-positifs comme *Staphylococcus aureus*. Ces PRM présentent des activités bactériostatiques et bactéricides qui dépendent de leur concentration et de leur mode d'action, notamment la chélation des ions métalliques et la perturbation des membranes cellulaires (Rufián-Henares et al., 2009). Leur ajout dans des produits alimentaires comme les viandes et

les crevettes a amélioré la sécurité microbiologique et la durée de conservation (**Chang et al., 2011**).

C. Activité anti-brunissement

Les PRM ont montré qu'ils pouvaient inhiber l'activité des polyphénol oxydases (PPO) dans les fruits et légumes, offrant ainsi une alternative aux sulfites couramment utilisés, mais nuisibles pour certaines populations (**Billaud et al., 2005**). Les propriétés de chélation des métaux des PRM, qui chélatent les ions cuivre dans les oxydoréductases, sont responsables de leurs capacités anti-brunissement (**Xu et al., 2016**).

D. Activité antihypertensive

Des études ont révélé que les mélanoïdines ont un effet inhibiteur significatif sur l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE), suggérant leur potentiel comme agents antihypertenseurs. Les mélanoïdines provenant du café et des conjuguas glucose-acides aminés montrent des effets inhibiteurs de l'ACE, ce qui pourrait contribuer au développement d'aliments fonctionnels pour la gestion de l'hypertension (**Rufián-Henares et al., 2007**).

E. Activité prébiotique

Les PRM, bien que leurs effets prébiotiques soient encore controversés, ont montré des capacités à promouvoir la croissance de bactéries intestinales bénéfiques telles que Bifidobacteria (**Borrelli et al., 2005**). Certaines études ont suggéré que les PRM peuvent influencer le microbiote intestinal, favorisant la croissance de probiotiques et soutenant la santé intestinale (**Seifert et al., 2019**).

I.3.5 Domaines d'application de la réaction de Maillard

La réaction de Maillard trouve ses principales applications dans deux secteurs clés : le domaine biomédical et l'industrie agroalimentaire

A. Application de la réaction de Maillard dans l'industrie biomédicale

• Délivrance des principes actif

Les complexes protéines-polysaccharides issus de la réaction de Maillard offrent une meilleure stabilité que les protéines seules pour la délivrance de nutraceutiques, en raison de leur résistance aux variations de pH, de température et d'enzymes digestives (**Li Z et al., 2014**). Ils améliorent la protection et la biodisponibilité des composés bioactifs, comme le bêta-carotène (**Xu et al., 2012**) ou la curcumine (**Wang C et al., 2016**), et sont ainsi largement utilisés dans les secteurs alimentaire et pharmaceutique.

• Les produits de Maillard en biomédecine

Grâce à leurs propriétés antioxydantes (**Rufián et al., 2006**) et antimicrobiennes (**Ramalho et al., 2016**), les produits issus de la réaction de Maillard suscitent un intérêt croissant pour des applications biomédicales. Par exemple, un complexe mélanine-Fe³⁺, obtenu à partir de glycine et glucose, présente une bonne biocompatibilité et améliore la performance des agents de contraste pour l'IRM, surpassant les sondes au gadolinium en termes de détection tumorale (**Lee et al., 2018**). Par ailleurs, des films nanofibreux à base de complexes arginine-sucre intégrés au PCL (polycaprolactone) ont montré une activité antibactérienne efficace contre *S. aureus* et *P. aeruginosa*, tout en favorisant la cicatrisation sans cytotoxicité (**Simes et al 2018**). Ces résultats positionnent les complexes Maillard comme des candidats prometteurs pour des applications diagnostiques et thérapeutiques.

B. Application de la réaction de Maillard dans l'industrie agroalimentaire

• Coloration des aliments

La réaction de Maillard est responsable de l'apparition de pigments bruns à noirs dans divers produits alimentaires tels que le pain, le café, le thé noir, les pâtisseries et la sauce soja (**Genj et al., 2019**). Bien que ces composés contribuent aux propriétés sensorielles des aliments, leur formation résulte de la dégradation de nutriments essentiels comme les glucides, les protéines, les lipides, les acides nucléiques et certaines vitamines, ce qui peut altérer la qualité nutritionnelle globale des produits (**Bosch et al., 2007**). Par ailleurs, ce brunissement non enzymatique peut engendrer des modifications indésirables de la couleur, notamment dans les produits laitiers ou les aliments à coloration claire, compromettant ainsi leur acceptabilité sensorielle (**Zhao et al., 2019**)

• Développement des arômes

Outre son impact sur la couleur, la réaction de Maillard joue un rôle central dans la formation de l'arôme et du goût des aliments (**Shen et al., 2008**). Les précurseurs impliqués dans ces transformations comprennent des lipides, des sucres, des acides aminés, des peptides, la thiamine et divers composés soufrés. Bien que ces précurseurs soient eux-mêmes dépourvus d'odeur ou de saveur, ils génèrent par oxydation ou par caramélisation des aldéhydes, cétones, alcools, acides, lactones, ainsi que des composés hétérocycliques tels que les furanes, pyridines, pyrazines, thiazoles, imidazoles et thiophènes (**Wang et al., 2001 ; Gao et al., 2004**).

• Applications dans les emballages et films comestibles

Les protéines modifiées via la réaction de Maillard trouvent des applications prometteuses dans le développement de films comestibles. Par exemple, la modification de la protéine d'œuf par le xylitol améliore sa résistance à l'eau, ce qui est avantageux pour l'emballage de produits sensibles à l'humidité comme les fruits secs (**Zhang et al., 2011**). De même, la glycosylation de la protéine de lactosérum par le xylitol, sous conditions de chaleur et d'humidité, renforce ses propriétés mécaniques et diminue sa perméabilité à la vapeur d'eau (**Umemura et al., 2008**).

D'autres biopolymères, comme le chitosane modifié avec des xylanes, du mannose ou de l'acide glucuronique, voient leur résistance à la traction significativement accrue (**Su et al., 2010**). Des films à base de protéines de soja ou de caséine modifiées respectivement par la carboxyméthylcellulose ou la maltodextrine présentent également des propriétés mécaniques et d'absorption améliorées (**Cardoso et al., 2011**).

Enfin, les produits de Maillard peuvent également générer du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), aux propriétés antimicrobiennes reconnues. Par exemple, un complexe lysine–ribose a démontré une activité inhibitrice contre *E. coli* lorsqu'il est intégré dans un film polymère, réduisant la charge bactérienne de manière significative (**Hauser et al., 2014**). Ces approches innovantes offrent ainsi de nouvelles perspectives pour la conservation des aliments frais et amélioration des matériaux d'emballage.

II Partie Expérimentale

II.1 Matériels et méthodes expérimentales

II.1.1 Produits chimiques et réactifs

Le chitosane (degré de désacétylation : 65 %) et l'alginate de sodium (poids moléculaire : 12–40 kDa) ont été fournis par la société Sigma-Aldrich (États-Unis). Divers autres réactifs ont été utilisés au cours de cette étude, notamment : l'acide acétique (CH_3COOH), l'acide chlorhydrique (HCl), l'hydroxyde de sodium (NaOH), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'acide ascorbique ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$), le chlorure ferrique (FeCl_3), le dihydrogénophosphate de sodium (NaH_2PO_4), le ferricyanure de potassium ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$), le bicarbonate de sodium (NaHCO_3), et l'hydrogénophosphate disodique (Na_2HPO_4). D'autres réactifs tels que l'amidon, l'ABTS (2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)), le TNBS (acide 2,4,6-trinitrobenzène sulfonique), le pyrocatechol, le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) et l'iodure/potassium iodé (IKI) ont également été acquis auprès de Sigma-Aldrich.

Tous les produits chimiques ont été utilisés sans purification préalable. Les solutions ont été préparées à l'aide d'eau distillée. Les solutions tampons (PBS, 0,1 M), aux pH de 6,4 et 6,6, ont été obtenues à 27 °C à partir de mélanges $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ respectivement dans les proportions volumiques 73,5 mL/26,5 mL et 51 mL/49 mL, les concentrations initiales des deux composés étant de 0,2 M. Les volumes finaux ont été ajustés à 200 mL avec de l'eau distillée.

II.1.2 Préparation des produits de la réaction de Maillard (Cs/Alg)

Les produits de la réaction de Maillard (PRM) ont été obtenus selon la méthode décrite par Rao et al. (**Rao et al., 2011**), avec quelques modifications. Des solutions mères à 1 % de chitosane (Cs) et d'alginate (Alg) ont été préparées séparément. Le chitosane a été dissous dans de l'acide acétique à 1 % à 60 °C pendant 4 heures, tandis que l'alginate a été solubilisé directement dans de l'eau distillée à température ambiante (27 °C) durant 2 heures. La solution de chitosane a ensuite été ajoutée à celle d'alginate sous agitation douce, dans un rapport volumique de (1:1).

Le pH du mélange réactionnel a été ajusté à 4,5 à l'aide d'acide acétique, la température a été fixée à 100 °C, et la réaction maintenue durant 6 heures. Des aliquotes ont été prélevées chaque heure, puis centrifugées à 3000 tr/min pendant 3 minutes. Le solide obtenu a été séché à l'air libre pendant 24 heures, broyé à l'aide d'un mortier afin d'obtenir une poudre fine, constituant le produit de la réaction de Maillard (PRM). Les poudres ont ensuite été stockées à température ambiante (27 °C) dans des boîtes fermées.

II.1.3 Identification et caractérisation

II.1.3.1 Intensité du brunissement

L'intensité du brunissement des produits de réaction de Maillard (PRM) a été déterminée par spectrophotométrie UV-Vis, selon les méthodes décrites dans la littérature (**Laroque et al., 2008**). Les mesures ont été effectuées à partir de solutions préparées à une concentration de 2,5 mg/mL, en utilisant un spectrophotomètre UNICAM-UV-VIS 300 (États-Unis). Les spectres ont été enregistrés à différents temps au cours de la réaction.

II.1.3.2 Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF)

Les spectres infrarouges ont été enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre IR-TF SHIMADZU 84005 (États-Unis), en mode transmission, dans une gamme de longueurs d'onde comprise entre 4000 et 500 cm^{-1} . Le nombre total de scans a été fixé à 25.

II.1.3.3 Diffraction des rayons X (DRX)

Les diffractogrammes des différents échantillons ont été obtenus à l'aide d'un diffractomètre Brüker D8 Advance (Allemagne), équipé d'une lampe à rayonnement Cu-K α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$). La tension appliquée était de 40 kV, et l'intensité du courant était de 40 mA. L'intervalle angulaire analysé (2θ) allait de 5° à 90° , avec une vitesse de balayage de $0,02^\circ/\text{min}$.

II.1.3.4 Degré de substitution (DS)

Le degré de substitution (DS) du chitosane et des complexes Cs/Alg a été évalué par le test au TNBS, en suivant une méthode adaptée de Hardiansyah et al. (**Hardiansyah et al., 2015**). En bref, des solutions de Cs, Cs/Alg (0 h), Cs/Alg (3 h) et Cs/Alg (6 h), à une concentration de 1 mg/mL, ont été mélangées à une solution contenant 0,25 mL de NaHCO_3 à 4 % et 0,25 mL de TNBS à 0,01 %. Le mélange réactionnel a été incubé à 37°C pendant 2 heures. La réaction a été arrêtée par addition de 0,25 mL de HCl 1 N, puis l'absorbance a été mesurée à 344 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis. Le degré de substitution a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{DS (\%)} = \frac{(A - A_{i=1-3})}{A} \times 100 \quad \text{Eq. (1)}$$

Où :

A et A_i représentent les absorbances du Cs, Cs/Alg (0h), Cs/Alg (3h) et Cs/Alg (6h), respectivement.

II.1.3.5 Potentiel zêta

La détermination du potentiel zêta a été réalisée par électrophorèse à effet Doppler laser, à l'aide d'un appareil Malvern Zetasizer ZEN 2600 (Royaume-Uni). La température des échantillons a été maintenue à 25 °C. Les dispersions ont été diluées dans de l'eau distillée à une concentration de 0,05 mg/mL avant les mesures

II.1.3.6 Dosages conductimétriques et pH métriques

La teneur en -NH₂ dans les échantillons Cs, Cs/Alg (3h) et Cs/Alg (6h) sont déterminées selon la procédure établie par Zamani et al., (**Zamani et al., 2010**). 0,2 g de chaque échantillon ont été dissous dans HCl (0,5mol L⁻¹, 40 mL) et titrés avec de NaOH (0,1mol L⁻¹) pendant un intervalle de 20 secondes. Les valeurs de la conductibilité (ms.cm⁻¹), du pH avec les volumes correspondants de la solution titrant ont été tracées dans un graphique pour trouver la variation linéaire avant et après le point d'équivalence. Le nombre de groupes ammonium (-NH₃⁺) présents dans le chitosane et dans le complexe Cs/Alg (3 et 6h), susceptibles de réagir avec les ions hydroxydes (-OH⁻) du NaOH, a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$[\text{NH}_3^+] \left(\frac{\text{meq}}{\text{g}} \right) = \frac{[\text{M}_{\text{NaOH}}(\text{V})]}{\text{m}} \quad \text{Eq. (2)}$$

M (NaOH) : La molarité de la solution de NaOH.

V : le volume nécessaire pour neutralisation de l'excès d' HCl et la protonation de groupes amine.

m : La masse de l'échantillon à l'état sec avant le titrage.

II.1.3.7 Analyses thermiques

II.1.3.7.1 Analyse thermogravimétrique (ATG)

L'analyse thermogravimétrique a été réalisée sur les échantillons de Cs, Alg, Cs/Alg (3 h) et Cs/Alg (6 h), avec des masses comprises entre 3 et 12 mg, dans une atmosphère oxygène/azote. L'appareil utilisé était le modèle SDT Q600 V20.9 Build 20 TG Analyzer (Allemagne). L'analyse thermique a été effectuée jusqu'à une température de 600 °C avec un taux de chauffage de 10 °C/min.

II.1.3.7.2 Analyse différentiel calorimétrique (DSC)

L'analyse thermique des échantillons a été effectuée par calorimétrie différentielle à balayage (DSC) à l'aide d'un appareil (DSC 131, SETARAM Instrumentation, France). Pour

chaque analyse, une masse de 10,3 mg d'échantillon a été pesée avec précision et placée dans une capsule en aluminium hermétiquement fermée. Le balayage thermique a été réalisé de 20 °C à 450 °C à une vitesse de 10 °C/min, sous atmosphère d'argon pour éviter toute oxydation thermique.

Les courbes thermogrammes obtenus ont été analysées pour déterminer les transitions thermiques caractéristiques. L'objectif principal était de comparer les profils thermiques des échantillons natifs et des produits issus de la réaction de Maillard afin de mettre en évidence d'éventuelles modifications thermiques induites par la glycation.

II.1.3.8 Etudes biologiques

II.1.3.8.1 Biocompatibilité avec le sang humain

Le potentiel hémolytique correspond à l'évaluation de l'ampleur de l'hémolyse pouvant être induite par un matériau lorsqu'il entre en contact avec le sang. Le potentiel hémolytique du Cs, Alg, Cs/Alg (3h) et Cs/Alg (6h), a été déterminé selon la méthode décrite par Lihong et al. (Lihong et al., 2012). À cet effet, 0,1 mL de sang humain anticoagulé au citrate a été ajouté à 7,5 mL de PBS contenant 0,15 g de l'échantillon, dans différents tubes à essai. Un témoin positif (100 % d'hémolyse, obtenu par remplacement du PBS par 7,5 mL d'une solution de Na₂CO₃ à 0,1 %) et un témoin négatif (0 % d'hémolyse, PBS sans échantillon) ont également été préparés. Chaque série d'expériences a été réalisée en triplicata. Tous les tubes, échantillons et témoins, ont été incubés pendant 1 heure à 37 °C. Après incubation, les tubes ont été centrifugés à 300 tr/min pendant 5 minutes. Le pourcentage d'hémolyse a été déterminé par mesure de la densité optique (DO) du surnageant à 545 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Vis-1700, et calculé selon la formule suivante :

$$\text{Hémolyse (\%)} = \frac{[\text{DO de l'échantillon} - \text{DO du control négatif}]}{\text{DO du control positif}} * 100 \quad \text{Eq. (3)}$$

II.1.3.8.2 Test de coagulation sanguine

La coagulation sanguine in vitro des échantillons (Cs, Alg, Cs/Alg (3h) et (Cs, Alg, Cs/Alg (6h) a été déterminée par la méthode cinétique (en utilisant le sang frais humain prélevé d'une poche sanguine de collecte contenant un anticoagulant ACD) (Archanaa et al., 2013).

Au départ, 50 mg de chaque échantillon ont été placés dans tubes à essais préchauffés à 37°C. Ensuite, le sang humain (0,25 mL) a été placé en même temps sur la surface de poudres. La réaction débute par addition de CaCl₂ (0,2M ; 0,025mL) sur chaque échantillon de sang.

Après 5 min, 10 min, 20 min, 30 min et 50 min, 10 mL d'eau ont été soigneusement ajoutées dans la paroi interne du tube sans perturber le sang coagulé. Par la suite, 10 mL de solution ont été prélevés et centrifugés à 500 tours pendant 3 min. Le surnageant a été décanté dans un tube avec 40 mL d'eau distillée supplémentaire et maintenu à 37°C pendant 60 minutes.

Le test de coagulation sanguine a été effectué par mesure spectrophotométrique de l'absorbance relative des échantillons de sang qui ont été dilués à 50 mL à 542 nm. L'absorbance de 0,25 mL d'ACD-sang total dans 50 mL d'eau distillée à 542 nm est supposée comme valeur de référence. L'indice de coagulation du sang (BCI) de nos échantillons peut être quantifié par l'équation suivante :

$$\text{BCI}(\%) = \frac{\text{Abs de sang qui était en contact avec l'échantillon à 542 nm}}{\text{Abs de sang ACD dans l'eau à 542 nm}} \times 100 \quad \text{Eq. (4)}$$

II.1.3.8.3 Activité anti-inflammatoire

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des produits de la réaction de Maillard (PRM) ainsi que nos produits de départ, a été réalisée selon la méthode décrite par Karthik et al. (**Karthik et al., 2013**). Les échantillons ont été préparés à des concentrations de 0,25, 0,5, 1 et 1,5 mg/mL dans de l'eau distillée, tandis que la BSA a été tamponnée à 2 % dans une solution de Tris-HCl (pH 6,6). Un volume de 1 mL de solution contenant l'échantillon ou le diclofénac sodique (standard de référence) a été ajouté à 1 mL de BSA. L'incubation a été réalisée à 37 °C pendant 15 minutes, suivie d'un chauffage à 72 °C pendant 5 minutes. Après refroidissement et retour à 37 °C, la turbidité a été mesurée à l'aide d'une cellule spectrophotométrique à 660 nm. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines (BSA) a été calculé selon l'équation (5) :

$$\text{Inhibition } (\%) = 100 - [(A_b - A_s)/A_b] \times 100 \quad \text{Eq. (5)}$$

Où :

A_b et A_s représentent respectivement l'absorbance du blanc et de l'échantillon.

II.1.3.8.4 Activité antioxydante

A. Activité antiradicalaire par méthode d'ABTS⁺

La méthode employée est celle de Re et al. (**Re et al., 1999**). Une solution aqueuse d'ABTS⁺ (7 mM) et de persulfate de potassium (2,45 mM) a été préparée pour générer les radicaux libres. Le mélange a été agité à l'obscurité pendant au moins 16 heures à environ 20 °C. La solution a ensuite été diluée avec de l'éthanol jusqu'à obtention d'une densité optique

de $0,7 \pm 0,02$ à 734 nm. Un volume de 160 μL de cette solution a été ajouté à 40 μL de solution d'échantillon (concentrations allant de 0,125 à 4 mg/mL). Après 10 minutes d'incubation à 20 °C, la lecture spectrophotométrique a été effectuée à 734 nm. Le témoin était constitué uniquement de la solution d'ABTS⁺, tandis que les standards utilisés étaient le BHA et le BHT. Le pouvoir antiradicalaire a été calculé à l'aide de l'équation (6) :

$$\text{ABTS}^+(\%) = [(A_c - A_s)/A_c] \times 100 \quad \text{Eq. (6)}$$

Où :

A_c et A_s sont les absorbances du témoin et de l'échantillon, respectivement.

B. Activité antiradicalaire par méthode de DPPH

L'inhibition des radicaux libres DPPH a été mesurée selon la méthode de Blois (**Blois, 1958**), avec quelques ajustements. Un volume de 40 μL d'échantillon (0,215 à 4 mg/mL) a été ajouté à 160 μL de solution de DPPH (0,045 mmol/L). Le mélange a été maintenu à l'obscurité pendant 30 minutes à 25 °C. L'absorbance a ensuite été mesurée à 517 nm. Le test a été réalisé sur des microplaques de 96 puits. Les standards utilisés étaient le BHA, le BHT et l' α -tocophérol. Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon l'équation (7) :

$$\text{DPPH} (\%) = 100 - [A_s/A_c \times 100] \quad \text{Eq. (7)}$$

Où :

A_c et A_s désignent respectivement les absorbances du témoin et de l'échantillon.

C. Pouvoir réducteur (tests FRAP et o-phénanthroline)

➤ Test FRAP

Le pouvoir réducteur a été évalué selon la méthode d'Oyaizu (**Oyaizu, 1986**), légèrement modifiée. Un mélange réactionnel comprenant 10 μL d'échantillon (0,125 à 4 mg/mL), 40 μL de PBS (pH = 6,6) et 50 μL de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (1 %) a été chauffé à 50 °C pendant 20 minutes. Ensuite, 50 μL d'acide trichloroacétique (10 %), 40 μL d'eau distillée et 10 μL de FeCl_5 (10 %) ont été ajoutés. L'absorbance a été mesurée à 700 nm.

➤ Test à l'o-phénanthroline

Le test à l'o-phénanthroline a été réalisé selon la méthode de Szydlowska-Czerniaka et al., (**Szydlowska-Czerniak et al., 2008**). En bref, un volume de 10 μL d'échantillon (0,125 à 4 mg/mL), 50 μL de FeCl_3 (0,2 %), 30 μL de solution d'o-phénanthroline (0,5 %) et 110 μL de solvant (acétone ou méthanol) ont été successivement ajoutés. L'incubation a été conduite à 30 °C pendant 20 minutes à l'obscurité. La lecture spectrophotométrique a été effectuée à 510 nm.

D. Capacité de piégeage du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

La capacité des échantillons à neutraliser le H₂O₂ a été estimée selon la méthode de He et al. (He et al., 2018), avec quelques modifications. Un volume de 1 mL d'échantillon (concentrations de 0,05 à 5 mg/mL) a été mélangé à 2,4 mL de PBS (pH 7,4) et 0,6 mL de H₂O₂ (40 mmol/L). Après incubation à 37 °C pendant 30 minutes, l'absorbance a été mesurée à 230 nm. L'inhibition a été calculée selon l'équation (8) :

$$H_2O_2(\%) = [(A_0 - A_1 + A_2)/A_0] \times 100 \quad \text{Eq. (8)}$$

Où :

A₀ est l'absorbance du témoin positif (acide ascorbique), A₁ celle de l'échantillon avec H₂O₂, et A₂ celle de l'échantillon sans H₂O₂.

II.1.3.8.5 Facteur de protection solaire in vitro (SPF)

La méthode décrite par Mansur et al. (Mansur et al., 1986) a été utilisée pour évaluer les propriétés photoprotectrices du chitosane (Cs), de l'alginate (Alg), ainsi que de produits issus de la réaction de Maillard (Cs/Alg (3 h) et Cs/Alg (6 h)). Pour ce faire, 200 µL de chaque échantillon, préparé à une concentration de 0,2 mg·mL⁻¹, ont été déposés dans une micro plaque à 96 puits. L'absorbance a été mesurée à l'aide d'un lecteur multimode à des longueurs d'onde comprises entre 290 et 320 nm, par paliers de 5 nm. Une crème solaire commerciale a été utilisée comme référence afin de comparer l'efficacité photoprotectrice. Le facteur de protection solaire (SPF) de chaque échantillon a été calculé selon l'équation (9) :

$$SPF = CF \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda) \quad \text{Eq. (9)}$$

Dans cette équation, CF représente le facteur de correction (valeur fixée à 10), EE(λ) et I(λ) correspondent respectivement au spectre d'action érythémale et au spectre d'intensité solaire, tandis que Abs(λ) désigne l'absorbance de l'échantillon à chaque longueur d'onde.

Selon les travaux de Sayre et al. (Sayre et al., 1979), le produit EE(λ) × I(λ) est constant et est indiqué dans le Tableau II.1 La classification des catégories de protection solaire, fondée

sur les valeurs de SPF mesurées, suit les recommandations de la Commission européenne (2006), comme indiqué dans le Tableau II.2.

Tableau.II.1 Spectre d'action érythémale normalisé et intensité solaire utilisée pour le calcul du SPF (Sayre et al., 1979).

Longueur d'onde λ (nm)	EE (λ) $\times$ I(λ)
290	0.015
295	0.0817
300	0.2874
305	0.3278
310	0.1864
320	0.018

Tableau.II.2 Classification des produits solaires selon les recommandations de la Commission européenne (2006) (Osterwalder et al., 2009).

Protection	SPF indiqué	SPF mesuré
Faible protection	6	6 - 9,9
	10	10 – 14.9
Protection moyenne	15	15 – 19.9
	20	20 – 24.9
	25	25 – 29.9
Haute protection	30	30 – 49.9
	50	50 – 59.9
Très haute protection	50 ⁺	60 $\leq$

II.1.3.8.6 Évaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne du Cs, Alg, Cs/Alg (3h) et Cs/Alg(6h) a été évaluée par la méthode de diffusion sur disque, en se basant sur les travaux réalisés par Bindu et al., (Bindu et al., 2010).

a) Souches bactériennes

Trois souches bactériennes ont été utilisées : *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Escherichia coli* ATCC 25922.

b) Préparation du milieu de culture

Le milieu de culture utilisé est la gélose Mueller–Hinton, préparée en suspendant 38 g de poudre déshydratée dans 1 litre d'eau distillée, suivie d'une stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes. Le milieu stérile a ensuite été versé dans des boîtes de Pétri pour obtenir une épaisseur uniforme de 4 mm.

c) Inoculation et application des échantillons

Les souches bactériennes ont été cultivées et ajustées à une concentration approximative de 10^6 UFC/mL. Chaque boîte de Pétri a étéensemencée uniformément avec la suspension bactérienne correspondante. Des disques de papier stériles ont été imprégnés avec les extraits de nos échantillons et placés sur la surface de la géloseensemencée. Des disques imprégnés d'amoxicilline ont été utilisés comme contrôle positif, tandis que des disques imprégnés d'eau physiologique ont servi de contrôle négatif.

d) Incubation et lecture des résultats

Les boîtes de Pétri ont été incubées à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, les diamètres des zones d'inhibition autour des disques ont été mesurés en millimètres à l'aide d'une règle graduée. Ces mesures ont permis d'évaluer l'efficacité antibactérienne de nos produits en comparaison avec les contrôles.

II.1.3.9 Etudes d'inhibitions enzymatiques

II.1.3.9.1 Activité anti-brunissement par inhibition de la PPO

L'évaluation spectrophotométrique de l'inhibition du polyphénol oxydase (PPO) a été réalisée en s'inspirant de la méthode décrite par Lee et al. (Lee et al., 2005), avec quelques modifications. L'extraction de la PPO a été effectuée en homogénéisant 30 g de pommes de terre avec 100 mL d'eau distillée à 4 °C, suivie d'une filtration sous vide dans un bain de glace. L'homogénat obtenu a ensuite été centrifugé pendant 15 minutes à 10 000 tours·min⁻¹. Le surnageant a été conservé à -20 °C pour une utilisation ultérieure. Pour évaluer l'effet inhibiteur des échantillons sur l'activité de la PPO, 40 µL de l'extrait enzymatique ont été mélangés à 60 µL de tampon PBS (pH 6,8), puis à 100 µL de chaque échantillon, préparé à des concentrations de 0,125 ; 0,5 ; 1 ; 2 et 4 mg·mL⁻¹. Après incubation pendant 5 minutes à 25 °C, 100 µL d'une solution de pyrocatechol à 0,2 M (préparée en dissolvant 0,11 g dans 5 mL d'eau) ont été ajoutés. L'absorbance a été mesurée à 420 nm pour déterminer l'activité de la PPO.

Le pourcentage d'inhibition de l'activité PPO a été calculé selon l'équation (10) :

$$(\%)d'inhibition = [(A_i - A_r)/A_i] \times 100 \quad \text{Eq. (10)}$$

Où A_i correspond à l'absorbance initiale (avant ajout de l'échantillon) et A_r à l'absorbance résiduelle après ajout de l'échantillon.

II.1.3.9.2 Activité anti-diabétique par inhibition d'Alpha-amylase

Le potentiel inhibiteur vis-à-vis de l' α -amylase a été déterminé selon la méthode améliorée décrite par Zengin et al. (Zengin et al., 2014). Dans cet essai, 25 μ L de chaque échantillon (aux concentrations de 0,125 ; 0,5 ; 1 ; 2 et 4 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) ont été mélangés avec 50 μ L de solution d' α -amylase (1 U) et 125 μ L de PBS (pH 6,9). Le mélange a été incubé pendant 10 minutes à 37 °C. Ensuite, 50 μ L d'une solution d'amidon à 0,1 % ont été ajoutés, suivis d'une incubation supplémentaire de 10 minutes. La réaction a été arrêtée par l'ajout de 25 μ L d'acide chlorhydrique (1 M), puis de 100 μ L de solution d'iodure iodé (IKI) à 181 mM. L'absorbance a été mesurée à 630 nm afin d'évaluer l'inhibition enzymatique. Le pourcentage d'inhibition de l' α -amylase a été calculé à l'aide de l'équation (11) :

$$(\%)d'inhibition = [1 - [(A_c - A_e) - (A_s - A_b) / (A_c - A_e)] \times 100 \quad \text{Eq. (11)}$$

Où :

A_c est l'absorbance du mélange contenant tous les réactifs sauf l'enzyme et l'échantillon (contrôle positif).

A_b est l'absorbance du blanc (sans enzyme).

A_e est l'absorbance du mélange sans échantillon (contrôle négatif).

A_s est l'absorbance du mélange contenant à la fois l'échantillon et l'enzyme.

II.1.3.10 Analyses statistiques

Toutes les analyses ont été réalisées en triplicata pour chaque groupe expérimental. La signification statistique des données ainsi que les différences entre les groupes ont été évaluées par une analyse de variance à un facteur (ANOVA) suivie du test post-hoc de Dunnett, à l'aide du logiciel GraphPadPrism version 8.0.2. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne $\pm$ écart-type (SD). Une valeur de $p < 0,05$ a été considérée comme statistiquement significative.

III. Résultats et discussions

III.1 Etudes structurales

III.1.1 Intensité du brunissement

Les valeurs d'absorbance mesurées à 294 nm dans l'ultraviolet sont généralement considérées comme indicatives de l'étape initiale de la réaction de Maillard, et plus précisément de la formation des PRA (produits de réarrangement d'Amadori), qui représentent des produits intermédiaires. En parallèle, les absorbances enregistrées à 420 nm sont souvent associées à la phase finale de la réaction, traduisant la formation des PRM (produits finaux de la réaction de Maillard), notamment des composés fortement colorés comme les mélanoidines. L'augmentation progressive de l'absorbance à 294 nm témoigne de la génération de composés légèrement colorés. Ces composés peuvent être considérés comme des précurseurs à la formation de pigments bruns qui résultent des mécanismes de la réaction de Maillard ou de la caramélisation (**Zhang G et al., 2011**).

Ce phénomène est également observable visuellement, car la couleur des PRM évolue de manière notable avec le temps. Elle passe progressivement d'un état incolore à des teintes orangées, puis à un brun plus intense, comme illustré dans la Figure III.1(a). Ces modifications optiques accompagnent la progression chimique de la réaction. L'absorbance UV et l'intensité du brunissement des PRM, ainsi que celles des produits de départ, ont été mesurées et sont présentées dans la Figure III.1(b).

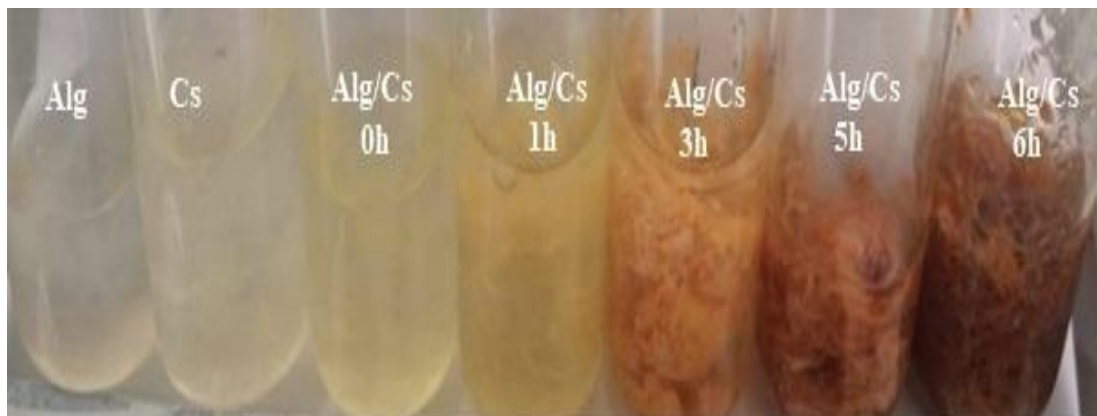
Notons qu'initialement il n'y avait pas de différences évidentes entre les spectres Cs/Alg (0h), Cs/Alg (1h), et Cs/Alg (2h), ni entre Cs/Alg (3h), Cs/Alg (4h), et Cs/Alg (5h), nous avons donc choisi de n'étudier que les échantillons Cs/Alg (3h) et Cs/Alg (6h).

Au début de la réaction, notre mélange présente un aspect incolore. Lorsque la réaction progresse vers la phase intermédiaire, on observe une élévation continue de l'absorbance à 294 nm en fonction du temps de chauffage. Cette évolution s'accompagne d'un changement de couleur des échantillons qui tendent vers le jaune, ce qui traduit la condensation de la carbonylamine et la survenue du réarrangement d'Amadori. D'après les travaux de Laroque et al., (**Laroque et al., 2008**) ainsi que ceux de Riquelme et al., (**Riquelme et al., 2015**), cette bande d'absorbance à 294 nm est représentative de la formation des produits intermédiaires dans la réaction de Maillard, qui sont des composés colorés de nature variée.

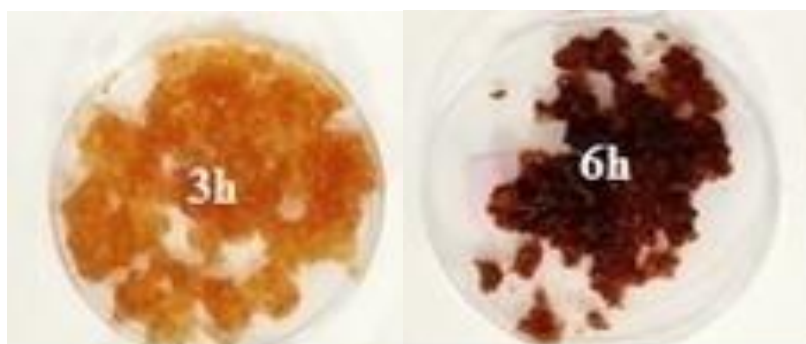
Dans la phase finale de la réaction, une nouvelle bande d'absorbance apparaît à 420 nm, caractérisée par une intensité croissante. Cela reflète la formation de composés fortement colorés issus de réactions telles que la condensation aldolique, la polymérisation entre

aldéhydes et amines, ainsi que la synthèse de structures hétérocycliques (**Wu et al., 2014**). Ces observations sont cohérentes avec la formation de mélanoïdines, comme le rapportent Ramonaitytė et al., (**Ramonaitytė et al., 2009**).

a)



Centrifugation
(A 3000 rpm pour 3min)



Poudre fine des PRMs

b)

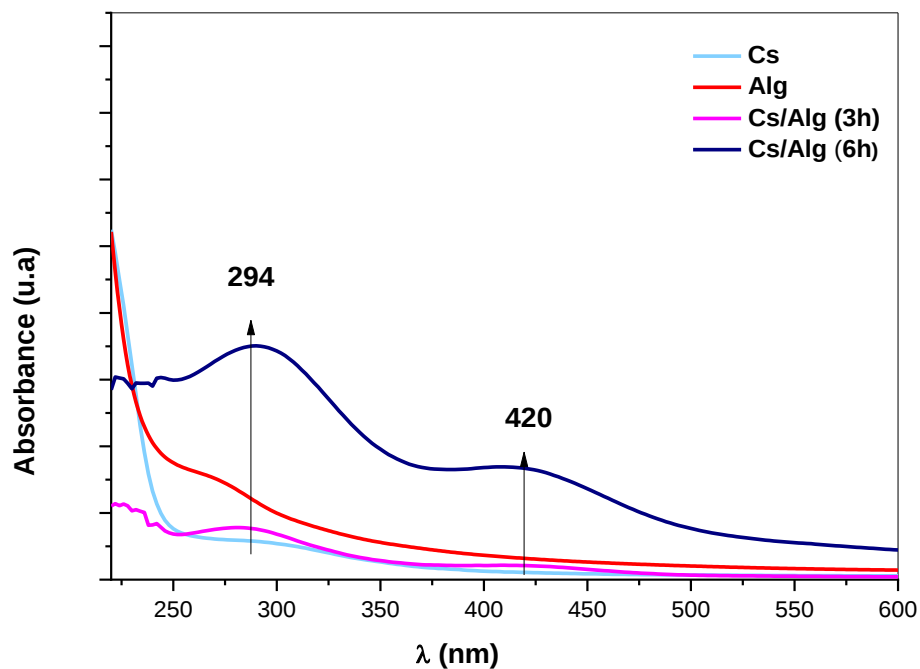


Figure.III. 1 Effet du temps de chauffage sur l'intensité du brunissement de Cs, Alg, Cs/Alg (3h) et Cs/Alg (6h) (photos des différents échantillons étudiés (a) et leurs spectres UV-Vis (b)).

Par ailleurs, Tran et al., ont indiqué que le rapport A_{294}/A_{420} est un indicateur utile pour situer l'avancement de la réaction : une valeur élevée de ce rapport indique une prédominance des produits intermédiaires, tandis qu'une valeur plus faible reflète la prédominance des produits finaux (Tran et al., 2019). En cohérence avec cette analyse, nous avons constaté que la valeur du rapport A_{294}/A_{420} pour tous les échantillons Cs/Alg atteignait un maximum après 3 heures de chauffage, suivi d'une diminution après 6 heures. Ainsi, la valeur obtenue pour Cs/Alg (3h) était plus élevée que celle de Cs/Alg (6h), comme illustré dans le Tableau III.1. Ces résultats confirment que le chauffage du mélange chitosane/alginate à un pH de 4,5 pendant 3 heures favorise l'étape intermédiaire de la réaction de Maillard avec la formation des produits d'Amadori. En revanche, un prolongement du temps de chauffage jusqu'à 6 heures entraîne l'évolution vers la phase finale de la réaction, avec la formation effective des mélanoidines.

Tableau.III.1 Valeurs de A_{294}/A_{420} pour Cs/Alg (3h) et Cs/Alg (6h)

Échantillons	A_{294}/A_{420}
Cs/Alg (3h)	3,85
Cs/Alg (6h)	2,09

III.1.2 Spectrophotométrie infrarouge (IR-TF)

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF) a été utilisée afin d'examiner les modifications des liaisons chimiques résultant des interactions entre les divers groupes fonctionnels du chitosane (Cs) et de l'alginate (Alg) lors de la réaction de Maillard. Les spectres IR-TF des échantillons Cs, Alg, Cs/Alg (3 h) et Cs/Alg (6 h) sont présentés dans la Figure III.2.

Dans le spectre du chitosane pur, une large bande d'absorption centrée à 3370 cm^{-1} est attribuée aux vibrations d'élongation des groupes hydroxyles et à la présence de liaisons hydrogène intramoléculaires. Les vibrations d'élongation des liaisons C-H sont localisées aux environs de 2900 cm^{-1} . Des bandes caractéristiques apparaissent également vers 1650 cm^{-1} , 1550 cm^{-1} et 1310 cm^{-1} , correspondant respectivement aux bandes amide I, amide II et amide III. Les pics situés à environ 1157 cm^{-1} et 897 cm^{-1} sont associés respectivement aux vibrations d'élongation C–O et à la configuration β -D du polymère (Loucifetal., 2017).

Dans le spectre IR-TF de l'alginate, deux pics bien définis à 1620 et 1410 cm^{-1} correspondent aux vibrations d'élongation symétrique et asymétrique des groupes carboxyle (Badano et al., 2019). De plus, un pic à 819 cm^{-1} est caractéristique de la liaison Na–O dans l'alginate de sodium (Kianpour et al., 2024).

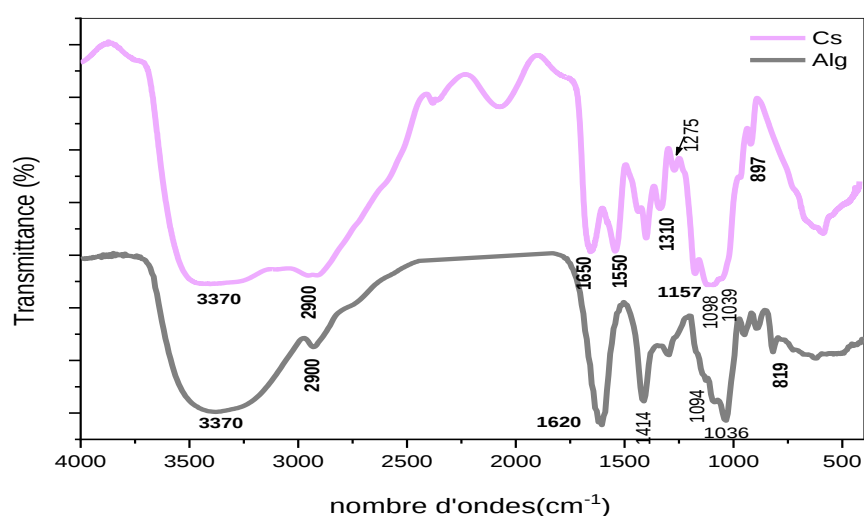
Lors de la combinaison du chitosane et de l'alginate, des modifications spectrales notables ont été observées, notamment la disparition de certains groupes fonctionnels, tels que les groupes amine (NH_2) du chitosane, qui réagissent au cours de la réaction de Maillard. De nouveaux pics correspondant aux produits de la réaction de Maillard (PRM), notamment les substances d'Amadori ($\text{C}=\text{O}$), les pyrazines ($\text{C}-\text{N}$) et les bases de Schiff ($\text{C}=\text{N}$), ont été détectés (Ferhat et al., 1998). En particulier, selon des travaux antérieurs (Kareb et al., 2017), le groupe carbonyle ($\text{C}=\text{O}$) des produits d'Amadori se manifeste entre 1660 et 1700 cm^{-1} . Dans les spectres des complexes Cs/Alg (3 h) et Cs/Alg (6 h), des pics à 1770 cm^{-1} et 1608 cm^{-1} indiquent la formation de ces composés d'Amadori. Un nouveau pic à 1566 cm^{-1} , apparu après 3 heures de chauffage, suggère la formation d'une base de Schiff ($\text{C}=\text{N}$), traduisant une réaction entre les groupes carbonyle de l'alginate et les groupes amine du chitosane (voir Figure III.2) (Sun T et al., 2017).

La réduction ou la disparition des pics à 1414 , 1157 , 1087 et 1025 cm^{-1} dans les spectres des composés Cs/Alg (3 h) et Cs/Alg (6 h) témoigne probablement de la glycation de l'alginate et de sa participation à la formation des PRM lors du traitement thermique. Par ailleurs, une

large bande observée entre 3300 et 3600 cm^{-1} dans les spectres Cs/Alg (3 h) et Cs/Alg (6 h) est attribuée aux vibrations des groupes O-H et N-H, caractéristiques des mélanoidines. Cette bande peut également provenir des vibrations N-H des aldimines ou des cétones. Enfin, une bande modérément intense autour de 1500–1600 cm^{-1} peut être associée aux vibrations aromatiques de certaines mélanoidines, notamment dans le spectre du composé Cs/Alg (6 h).

Les principales réactions chimiques intervenant entre l'alginate et le chitosane au cours du processus de Maillard sont illustrées à la Figure III.3.

a)



b)

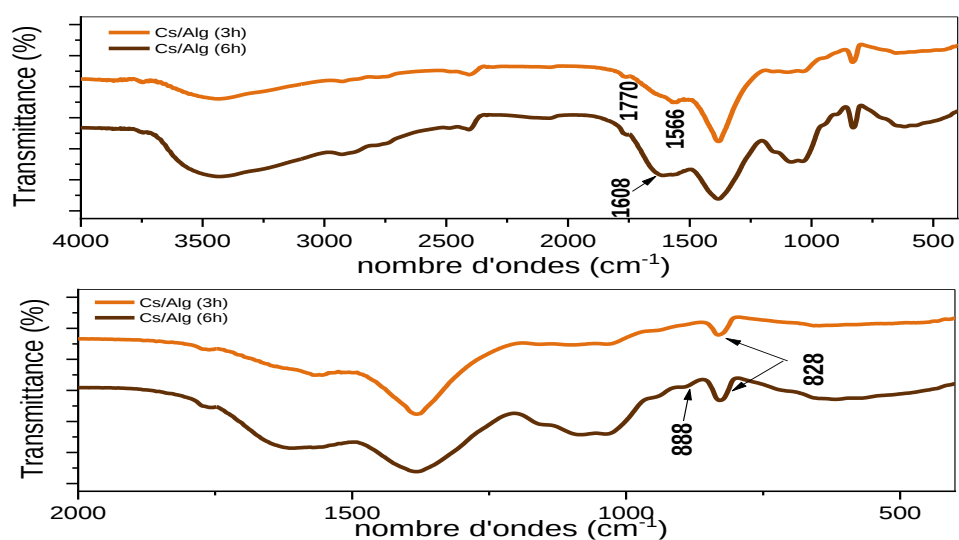
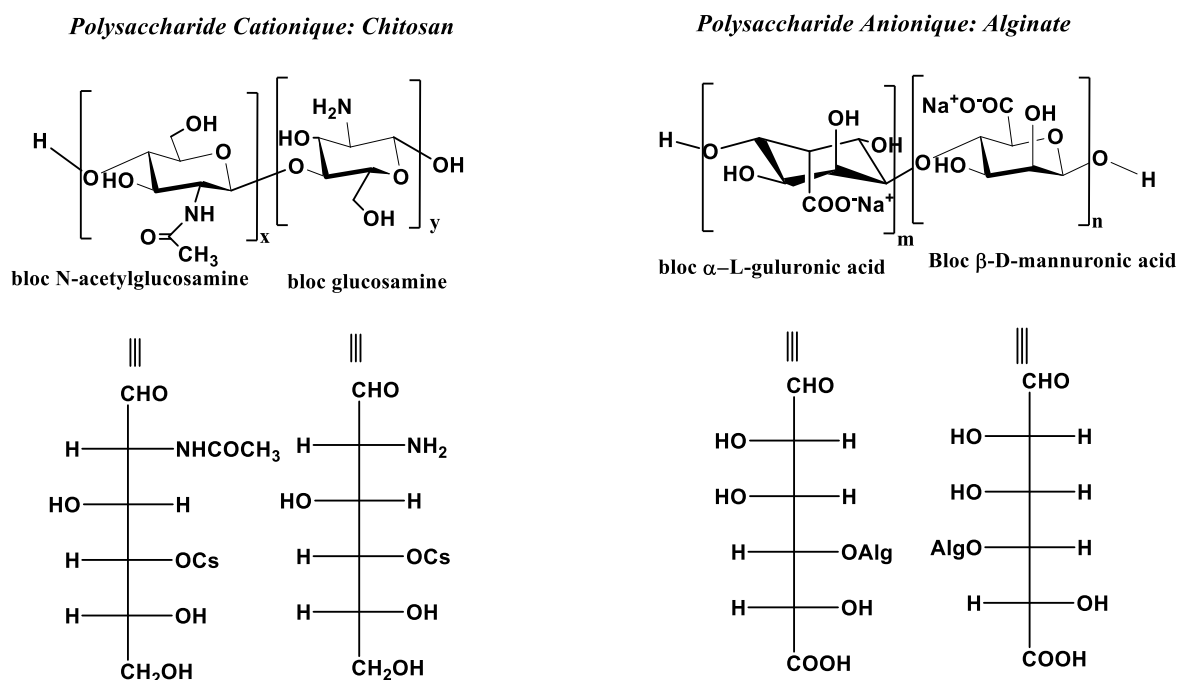


Figure.III.2 Spectre infrarouge du a) Cs, Alg et b) Cs/Alg (3h), Cs/Alg (6h).

1. Première étape : Conversion du chitosane et de l'alginate de la projection de Haworth à celle de Fischer.



2. Deuxième étape : Réaction de Maillard entre chitosane et alginate

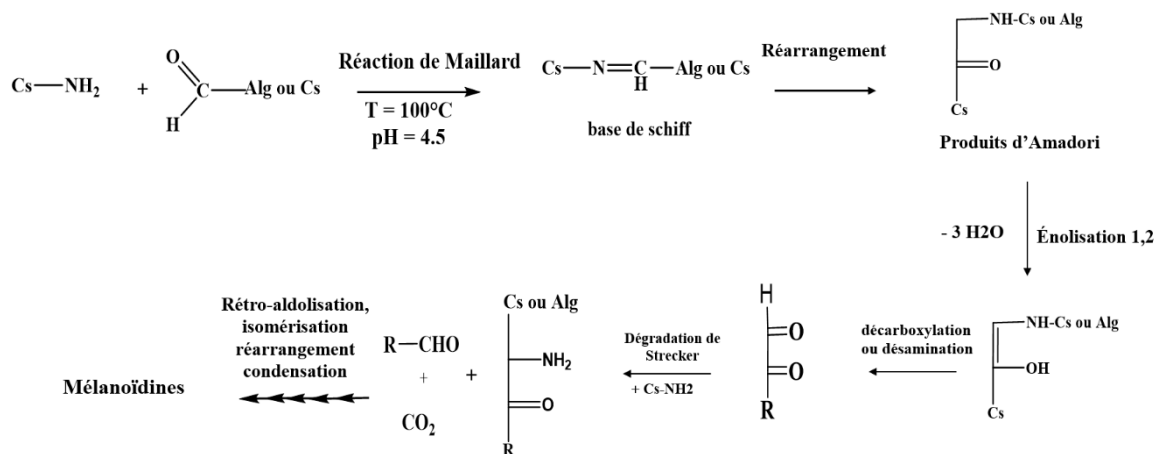


Figure.III.3 Schéma simplifié de la réaction de Maillard entre le chitosane et l'alginate.

III.1.3 Diffraction des rayons X (DRX)

L'analyse par diffraction des rayons X (DRX) a été réalisée afin d'évaluer l'évolution de la cristallinité et les modifications structurales induites par la réaction de Maillard entre le

chitosane et l'alginate. Les diffractogrammes obtenus pour le chitosane (Cs), l'alginate (Alg), ainsi que pour les complexes Cs/Alg après 3 heures (3h) et 6 heures (6h) de réaction sont présentés dans la Figure III.4.

Le diffractogramme chitosane montre deux pics typiques sont observés à $2\theta = 9,8^\circ$ et $19,5^\circ$, le second présentant une intensité plus élevée. Ces signaux sont caractéristiques de la forme cristalline du chitosane, souvent liée à la régularité de la distribution des groupes amines et hydroxyles le long de la chaîne polymérique (**Affes et al., 2021**).

L'alginate montre trois pics caractéristiques à $2\theta = 13,78^\circ$, $21,7^\circ$ et $38,56^\circ$, attribués à sa structure semi-cristalline, en accord avec les observations de Loucif et al. (**Loucif et al., 2017**). Ces pics traduisent l'organisation partielle des chaînes polysaccharidiques dans des zones ordonnées.

Cependant, après 3 heures de réaction, la plupart des pics initiaux disparaissent, à l'exception du pic de l'alginate à $13,78^\circ$, qui subsiste avec une très faible intensité. Cette atténuation des signaux cristallins indique une désorganisation progressive de la structure ordonnée initiale, probablement due à la formation de liaisons intermoléculaires au cours de la glycation, qui perturbe l'empilement régulier des chaînes.

Pour le composé obtenu après 6 heures de réaction, l'émergence de deux nouveaux pics à $2\theta = 19,46^\circ$ et $40,56^\circ$ est observée. Le pic à $19,46^\circ$, plus intense, suggère la formation d'une nouvelle phase cristalline, résultant vraisemblablement de la réorganisation structurale induite par l'avancement de la réaction de Maillard. Ce phénomène pourrait être associé à la formation de produits de condensation tels que les composés d'Amadori ou les mélanoidines.

Ces résultats confirment que la réaction de Maillard entre les groupes fonctionnels du chitosane et de l'alginate ne se limite pas à des modifications chimiques, mais entraîne également des transformations profondes au niveau structural, affectant la cristallinité globale du matériau.

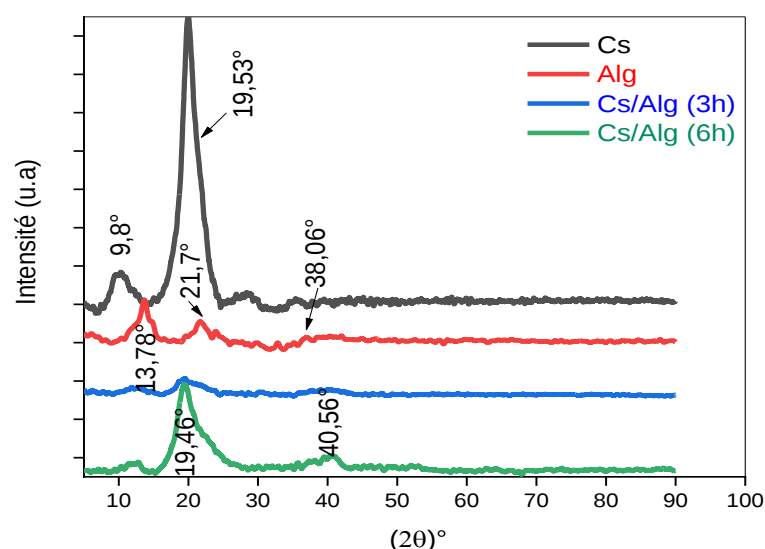


Figure.III.4 Diffractogramme des rayons X de Cs, Alg, Cs/Alg (3h) et Cs/Alg (6h).

III.1.4 Degré de substitution déterminé par la méthode TNBS

Le degré de substitution (DS) est un paramètre clé qui renseigne sur la proportion de groupes aminés du chitosane (Cs) ayant réagi avec différents types de groupes fonctionnels, notamment les groupes carbonyles, carboxyliques, et autres. Un DS élevée correspond à une diminution du nombre d'amines libres disponibles sur la chaîne du Cs.

Selon les résultats présentés (**Figure III.5**), la matrice Cs/Alg présente un DS d'environ 19 % à 0 heure, en l'absence de tout traitement thermique. Cette valeur relativement élevée s'explique par la formation d'interactions électrostatiques entre les groupes carboxyles de l'Alg et les amines libres du Cs, favorisant ainsi la constitution de complexes polyélectrolytes (PEC) denses et stables (**Baysal et al., 2013**).

Après un chauffage du mélange à 100 °C pendant une durée de 3 heures, une chute notable du DS est observée, atteignant une valeur aussi basse que 4 %. Cette diminution traduit une libération accrue de groupes amines libres, probablement due à des phénomènes de dépolymérisation du chitosane en oligochitosane ou en unités de glucosamine. Par ailleurs, le chauffage à haute température, combiné aux conditions de pH spécifiques, peut également déclencher des réactions de désacétylation, contribuant ainsi à l'augmentation du nombre d'amines disponibles (**Karaskouski et al., 2022**).

Cependant, en prolongeant le chauffage à 6 heures, une remontée du DS est constatée, avec une valeur atteignant environ 14 %. Ce phénomène peut être expliqué par l'implication

des amines nouvellement formées dans des réactions secondaires, notamment les réactions de Maillard, qui se développent de manière plus marquée avec l'élévation de la température et la durée du traitement thermique.

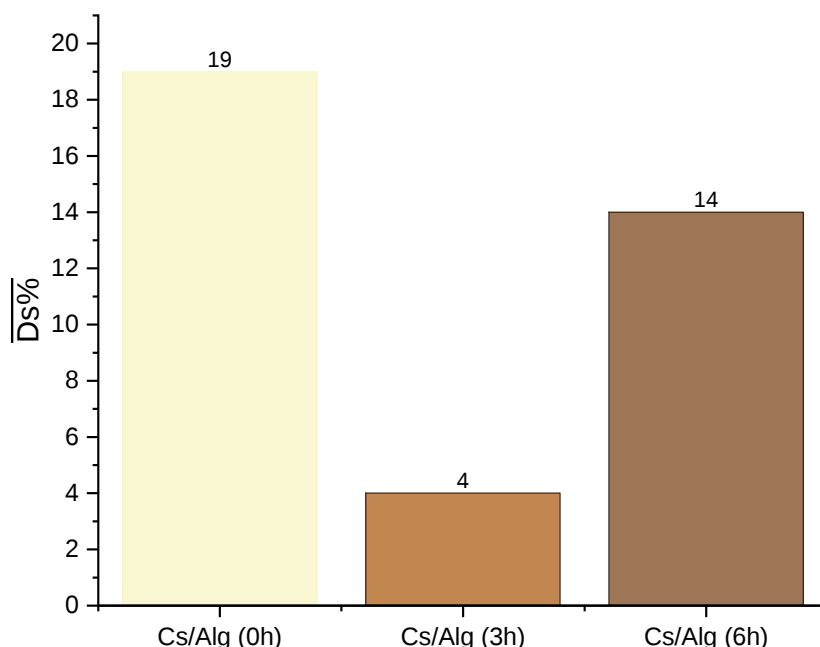


Figure.III.5 Degré de substitution (%) des matrices Chitosane/Alginate (0, 3 et 6 heures).

III.1.5 Potentiel Zêta

La stabilité colloïdale des solutions de polysaccharides, un facteur déterminant pour leurs applications et leur comportement en milieu biologique, est intrinsèquement liée à leur charge de surface, laquelle se reflète directement dans la valeur de leur potentiel zêta (Z_p). Ce paramètre électrocinétique quantifie la charge électrique nette au sein de la couche de diffusion ionique entourant les macromolécules en solution. Des valeurs de potentiel zêta élevées (supérieures à $|\pm 30 \text{ mV}|$) induisent de fortes répulsions électrostatiques inter-particulaires, favorisant ainsi la stabilité de la dispersion. Inversement, des valeurs faibles ($< |\pm 30 \text{ mV}|$) indiquent une prédominance des forces d'attraction, susceptibles d'entraîner l'agrégation des particules (**Zielinska et al., 2020**). Dans le cadre de notre étude sur la réaction de Maillard entre le chitosane, initialement doté d'un potentiel zêta positif de $+33.1 \text{ mV}$ en raison de la protonation de ses groupes amine, et l'alginate, présentant un potentiel zêta négatif de -23.7 mV , l'évolution de ce paramètre en fonction du temps de réaction s'avère cruciale pour

comprendre les changements interfaciaux induits par la formation de nouveaux composés et les interactions entre les deux polysaccharides (Tableau.III.2). La consommation progressive des groupes amine réactifs du chitosane au cours de la réaction de Maillard (Figure III.5) est susceptible de modifier significativement la charge globale du système et, par conséquent, sa stabilité colloïdale

Tableau.III.2 Valeurs du potentiel Zeta de Cs, Alg, Cs/Alg (3h) et Cs/Alg (6h).

Échantillons	CS	Alg	Cs/Alg (3h)	Cs/Alg (6h)
Potentiel zêta (mV)	+33.1	-23.7	-12.9	-6.2

III.1.6 Dosage potentiométrique et conductimétrique

Le titrage potentiométrique et conductimétrique constitue une méthode analytique quantitative et cinétique permettant de quantifier les ions présents dans un système étudié, ainsi que de suivre la cinétique de la réaction. Leur grande précision les rend particulièrement adaptés à l'analyse des polysaccharides multifonctionnels.

Les courbes de pH et de conductivité obtenues ont mis en évidence plusieurs points de transition. Ces transitions ont été identifiées par l'observation des variations de pente sur les courbes de conductivité et par l'intersection des lignes verticales projetées sur les courbes de pH (**Dhar et al., 2012**).

L'objectif de cette étude était de quantifier la teneur en groupes amines protonés ($-NH_3^+$) du chitosane avant et après sa complexation avec l'alginate, afin d'évaluer indirectement l'intensité des interactions électrostatiques entre les deux biopolymères. Les dosages ont été réalisés par titration acido-basique en suivant simultanément l'évolution du pH et de la conductivité électrique de la solution.

D'après la Figure III.6, toutes les courbes de titrage présentent trois régions distinctes. La première zone (à partir de la gauche) correspond à la neutralisation de l'excès d'HCl. La deuxième région est assignée à la déprotonation des groupes $-NH_3^+$ en NH_2 . Enfin, la troisième région représente l'excès du NaOH en solution (Figure III.6).

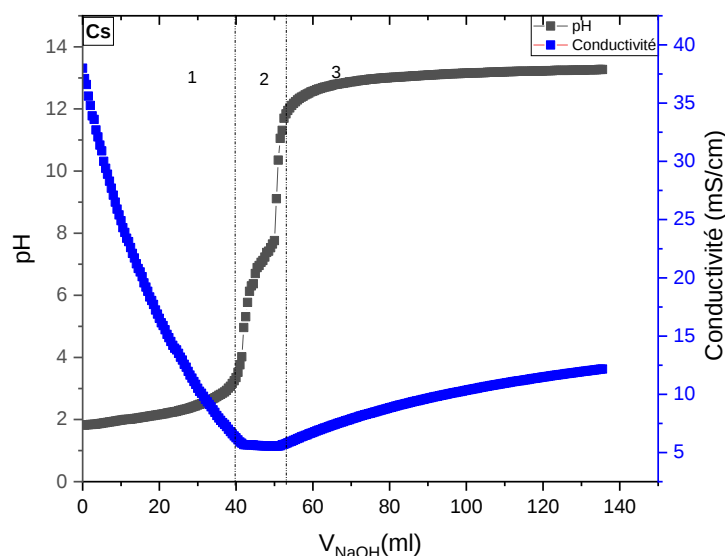
Le chitosane (Cs) seul présente une teneur en groupes $-NH_3^+$ libres de 3,28 meq/g, en accord avec la littérature (**Benghanem, 2017 ; Mansouri, 2019**). Après 3 heures de réaction avec l'alginate, cette teneur chute à 1,39 meq/g et reste stable à 6 heures, traduisant une diminution de plus de 57 %, ce qui indique une forte consommation des groupes amines par interactions ioniques avec les groupes carboxylates ($-COO^-$) de l'alginate (**Mokrani, 2013**).

Cette stabilité après 3 heures suggère que l'équilibre de complexation est rapidement atteint, rendant un prolongement de la durée de réaction peu influent sur le taux de complexation.

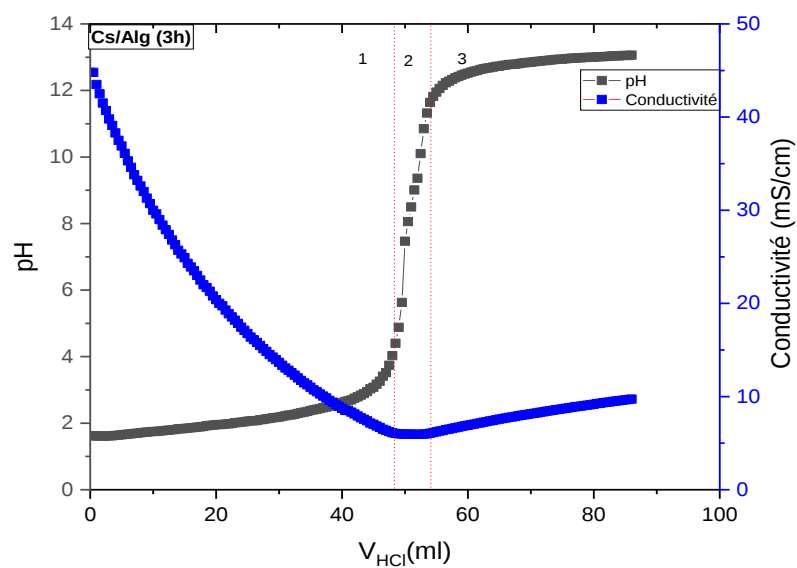
Parallèlement, la diminution du potentiel zêta, discuté précédemment, de $+33,1$ mV (chitosane pur) à $-12,9$ mV après 3 heures, puis à $-6,2$ mV après 6 heures, confirme la perte de charges positives et l'apparition d'une prédominance de charges négatives.

Les modifications observées du potentiel zêta et la diminution des groupes $-NH_2$ après la réaction de Maillard entre le chitosane et l'alginate suggèrent des changements significatifs dans la stabilité colloïdale des matériaux, ainsi que dans leur capacité à interagir avec les milieux biologiques. Ces résultats ouvrent la voie à la formulation de nanoparticules pharmaceutiques pour une libération contrôlée des médicaments, à des systèmes d'encapsulation de principes actifs plus stables et mieux protégés, ainsi qu'à des systèmes de délivrance ciblée via des membranes muqueuses. Une augmentation de la charge négative dans le mélange peut favoriser des interactions avec des cibles biologiques spécifiques, telles que les récepteurs muqueux, ou améliorer l'adhésion des films ou gels sur les surfaces biologiques, ce qui permettrait une libération ciblée des médicaments dans des applications telles que la délivrance transmuqueuse (buccale, nasale, intestinale) (Mansouri et al., 2019).

a)



b)



c)

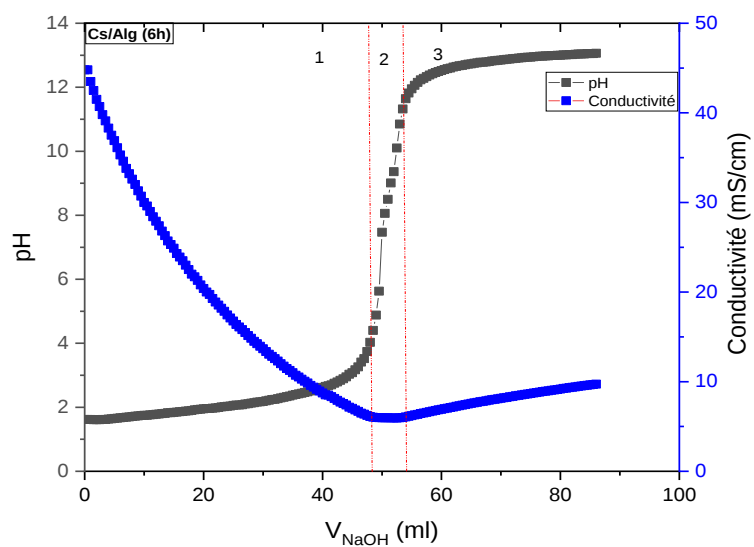


Figure.III. 6 Variations de la conductivité électrique et du pH du a) Cs, b) Alg/Cs (3h) et c) Alg/Cs (6h).

III.1.7 Analyses thermiques

III.1.7.1 Analyse thermogravimétrique (ATG)

L'analyse thermogravimétrique (ATG) a été réalisée afin d'évaluer la stabilité thermique des échantillons à travers la perte de masse en fonction de la température. Le Tableau III.3 présente les principaux paramètres thermiques extraits des courbes ATG illustrées dans la Figure III.7.

Tableau.III.3 Paramètres de stabilité thermique des matériaux Cs, Alg, Cs/Alg (3h) et Cs/Alg (6h)

Échantillons	Perte de masse totale (%) à 600 °C	Masse résiduelle (%) à 600 °C	T _{max} (°C)
Cs	63.9	36.1	314
Alg	64.3	35.7	251
Cs/Alg (3h)	69.33	30.67	292
Cs/Alg (6h)	71.27	28.73	251

Toutes les courbes présentent une première étape de perte de masse entre 30 °C et 100 °C, correspondant à l'évaporation de l'eau physiquement adsorbée et des solvants volatils (**Kulig et al., 2016**). Cette étape représente une perte de masse de 10,42 % pour le chitosane (Cs), 8,49 % pour l'alginate (Alg), 14,28 % pour le complexe Cs/Alg (3h) et 12,59 % pour Cs/Alg (6h).

Au-delà de cette étape, le chitosane présente une seule phase de dégradation thermique significative, entre 200 °C et 400 °C, avec une perte de masse de 43,58 % et une température de dégradation maximale (T_{max}) de 314 °C. Cette décomposition est généralement attribuée à la rupture des liaisons glycosidiques, à la dépolymérisation du polymère et à la dégradation des cycles pyranoses (**Karaskouski et al., 2022 ; Beyazit et al., 2020**).

En ce qui concerne l'alginate, deux étapes successives de dégradation ont été observées, l'une entre 200 °C et 250 °C (perte de masse : 33,56 %, T_{max} = 229 °C), est associée à la rupture des groupes hydroxyles et carboxyles, ainsi qu'à la décomposition partielle de la chaîne polymérique de l'alginate de sodium (**Elo et al., 2024**) et l'autre, entre 250 °C et 550 °C (perte de masse = 22,25 %, T_{max} = 251 °C), résulte de la décomposition de fragments intermédiaires

en carbonate de sodium, comme le confirment des travaux antérieurs (**Flores-Hernandez et al., 2021**).

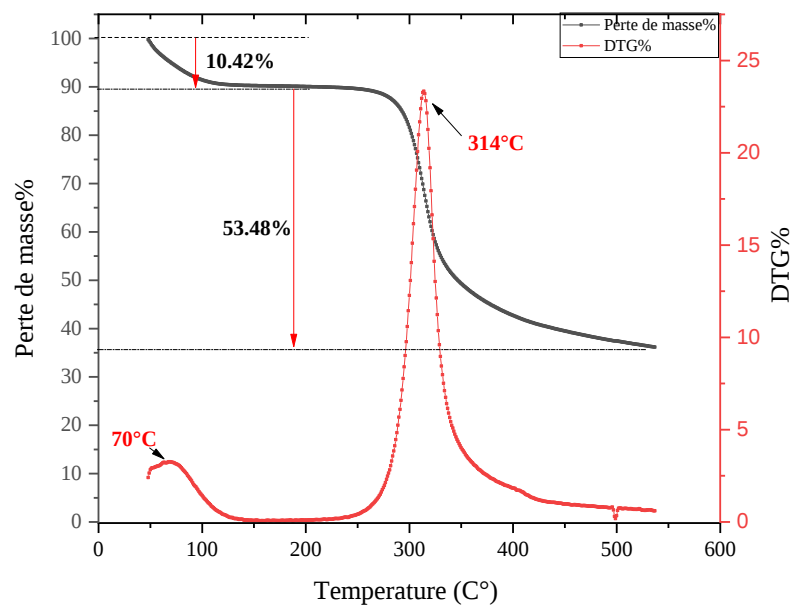
Les complexes Cs/Alg (3h) et Cs/Alg (6h), issus de la réaction de Maillard, présentent une stabilité thermique globalement réduite par rapport aux polymères initiaux. Deux étapes de dégradation ont été identifiées. Une première phase entre 150 °C et 250 °C, avec une perte de masse de 45,2 % et une $T_{\max}$ de 240 °C.

Une seconde phase, plus modérée, entre 250 °C et 350 °C, montrant une perte de masse de 9,93 % et une $T_{\max}$ de 292 °C.

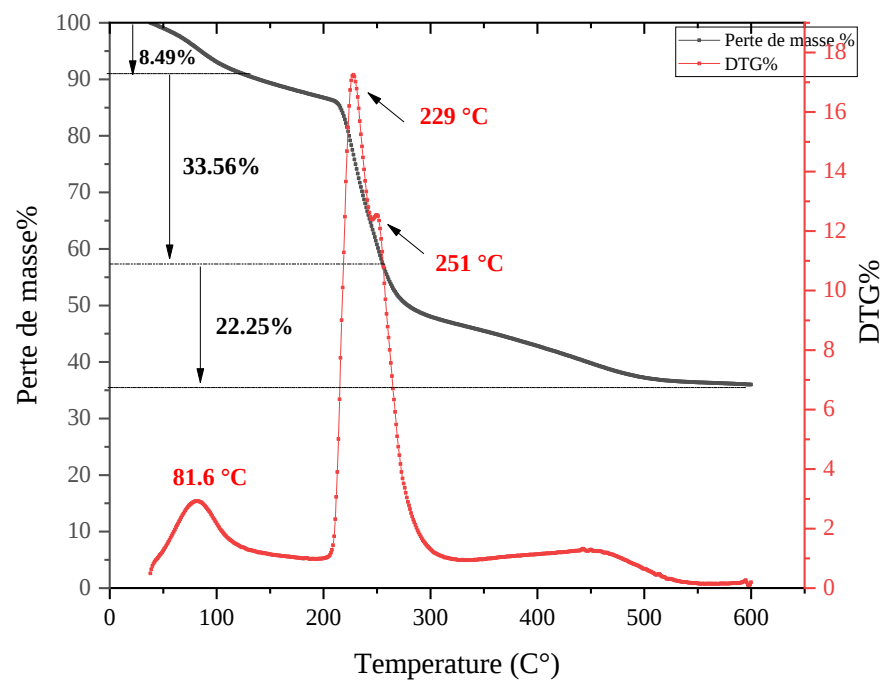
La masse résiduelle à 600 °C illustre également cette diminution de stabilité thermique : 36,1 % pour le Cs, 35,7 % pour l'Alg, 30,67 % pour Cs/Alg (3h) et 28,73 % pour Cs/Alg (6h). La $T_{\max}$ plus élevée du Cs par rapport aux complexes Cs/Alg confirme que la réaction de Maillard a modifié la structure thermique du matériau.

La diminution de la stabilité thermique des produits issus de la réaction de Maillard (PRMs) est vraisemblablement due à la modification chimique des groupes amines du chitosane, qui compromet la cohésion de la matrice polymérique (**Zhan H et al., 2015**). Cette perte de stabilité thermique est un indicateur indirect de l'occurrence de la réaction, comme le suggèrent également les transitions thermiques multiples observées pour Cs/Alg (3h) et Cs/Alg (6h), révélant une dégradation progressive de structures intermédiaires issues de la glycation (**Heli et al., 2023**).

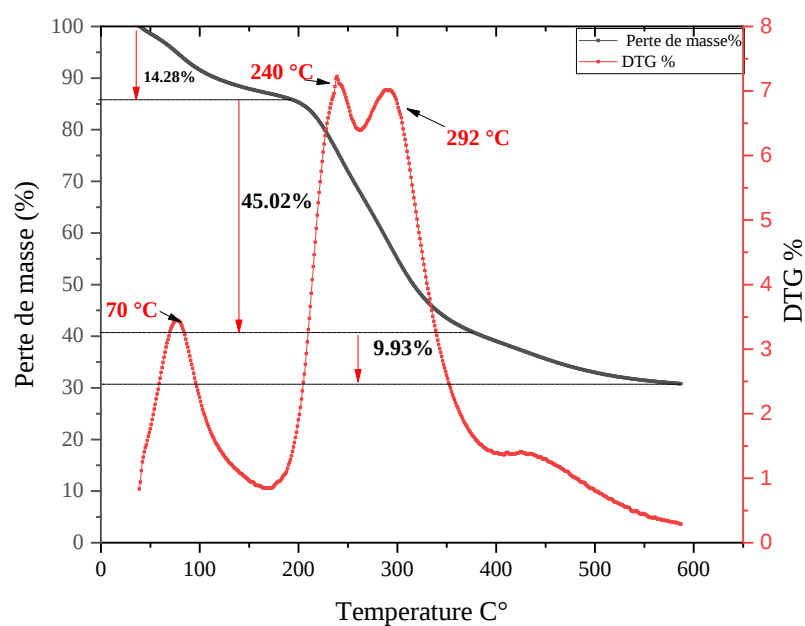
a)



b)



c)



d)

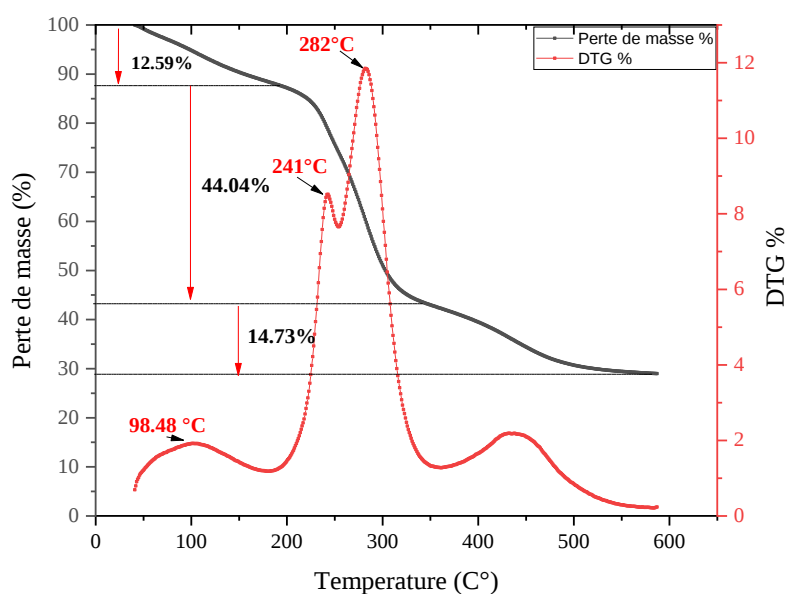


Figure.III.7 Thermogrammes de **a)** Cs, **b)** Alg, **c)** Cs/Alg (3h) and **d)** Cs/Alg (6h).

III.1.7.2 Analyse calorimétrique différentielle à balayage (DSC)

L'analyse calorimétrique différentielle à balayage (DSC) est une autre technique utile pour décrire le comportement thermique des matériaux, qui est lié à leur structure, à leurs

propriétés hydrophiles et à leurs états d'association. Elle peut également confirmer la présence d'une interaction entre les biopolymères.

Les courbes DSC présente plusieurs phénomènes thermiques caractéristiques, associés à des transitions endothermiques (fusion) ou exothermiques (cristallisation, réactions de polymérisation et oxydation, réticulation).

Les thermogrammes DSC du chitosane, de l'alginate et de leurs mélanges présentent quatre pics endothermiques entre 50 °C et 100 °C. Ces pics résultent de l'évaporation de l'eau résiduelle. Ils sont suivis par d'autres pics caractéristiques.

Dans le cas du chitosane pur (Cs), on observe des pics exothermiques entre 250 °C et 350 °C. Un premier pic, situé vers 280 °C, correspond à un réarrangement structural lié à la phase cristalline du chitosane. Cette interprétation est appuyée par les résultats de diffraction des rayons X (DRX), qui confirment la présence d'une organisation cristalline. Les températures caractéristiques de ce phénomène sont de 280 °C (T° de début), 298 °C (T° de pic) et 315 °C (T° de fin). Un second pic plus marqué apparaît vers 340-350 °C, témoignant de la dégradation thermique du polymère.

Pour l'alginate (Alg), on observe une transition thermique se traduisant par un pic exothermique vers 240 °C. Ce pic est probablement lié à la structure semi-cristalline de l'alginate, à la réorganisation de la chaîne ou à une dégradation partielle.

Les thermogrammes DSC des mélanges Cs/Alg (3h) et Cs/Alg (6h) présentent des profils thermiques différents de ceux des polymères purs. On note une diminution et/ou un léger déplacement des pics thermiques initiaux, ce qui suggère une modification de la structure interne des polymères, probablement liée à la formation de nouvelles interactions intermoléculaires. Celles-ci incluent notamment des liaisons covalentes issues de la réaction de Maillard entre les groupes amines du chitosane et les groupes carbonyles de l'alginate.

La diminution de l'intensité des pics pourrait indiquer une réduction de la cristallinité ou une homogénéisation plus poussée des phases polymériques. Ces résultats sont en accord avec les données obtenues par diffraction des rayons X (DRX) et par analyse thermogravimétrique (ATG), confirmant la formation de nouveaux réseaux polymériques présentant des propriétés thermiques modifiées.

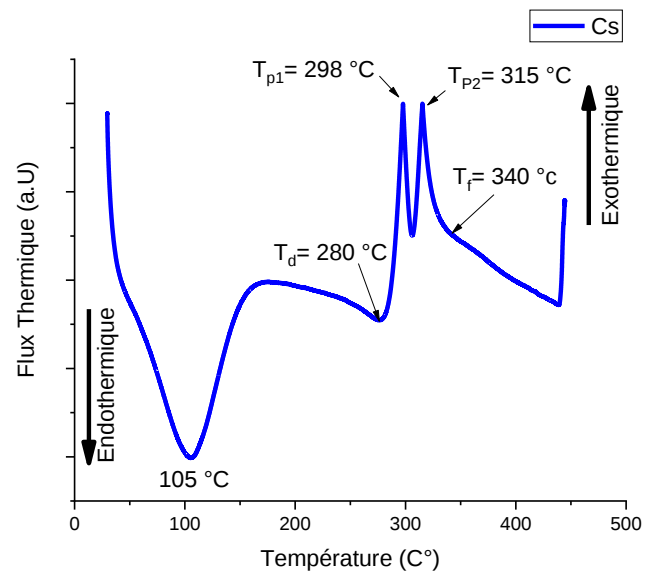
Les quatre thermogrammes exhibent 4 pics endothermiques entre 50°C et 100°C qui sont dus à l'évaporation de l'eau liée aux chaînes macromoléculaires des deux biopolymères et de leur mélange, suivie par d'autres pics caractéristiques.

Pour le chitosane pur (Cs), des pics exothermiques apparaissent entre 250 °C et 350 °C. Un premier pic, observé autour de 280 °C, est associé à un réarrangement structural lié à la phase cristalline du chitosane. Cette interprétation s'accorde avec les résultats obtenus par diffraction des rayons X (DRX), qui confirment la présence d'une organisation cristalline. Les températures caractéristiques de ce phénomène sont respectivement de 280 °C (début), 298 °C (pic maximal) et 315 °C (fin). Un second pic, plus marqué, apparaît autour de 340–350 °C et correspond à la dégradation thermique du polymère.

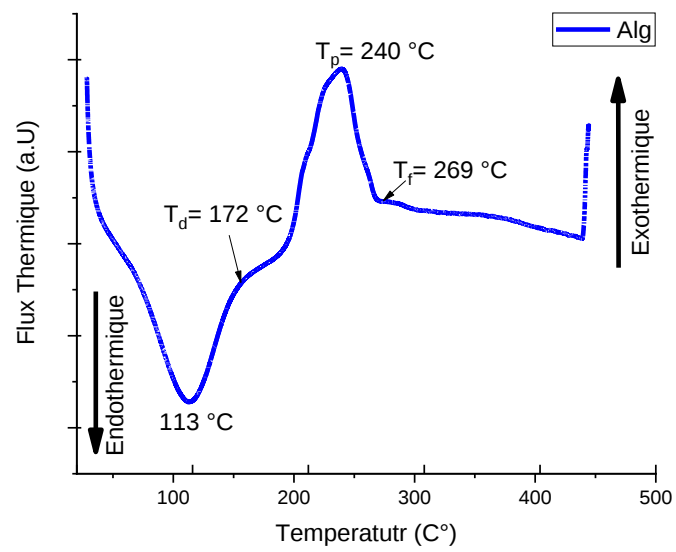
Concernant l'alginate (Alg), une transition thermique a été détectée. Un pic exothermique à 240 °C est apparait, potentiellement lié à sa forme semi cristalline, à la réorganisation de la chaîne ou à une réaction de dégradation partielle.

Les courbes DSC des composés Cs/Alg (3h) et Cs/Alg (6h) montrent des profils thermiques distincts de ceux des polymères de départ. Une diminution ou un déplacement des pics thermiques initiaux a été observé, suggérant une modification de la structure interne des polymères après la réaction. Cela pourrait être attribué à la formation de nouvelles interactions intermoléculaires, notamment des liaisons covalentes issues de la réaction de Maillard entre les groupes amines du chitosane et les groupes carbonyles de l'alginate. Par ailleurs, une diminution de l'intensité des pics exothermiques dans les composés pourrait indiquer une réduction de la cristallinité ou une meilleure homogénéisation des phases polymériques. Ces résultats sont en accord avec les données obtenues par DRX et ATG, confirmant la formation de nouveaux réseaux polymériques thermiquement modifiés.

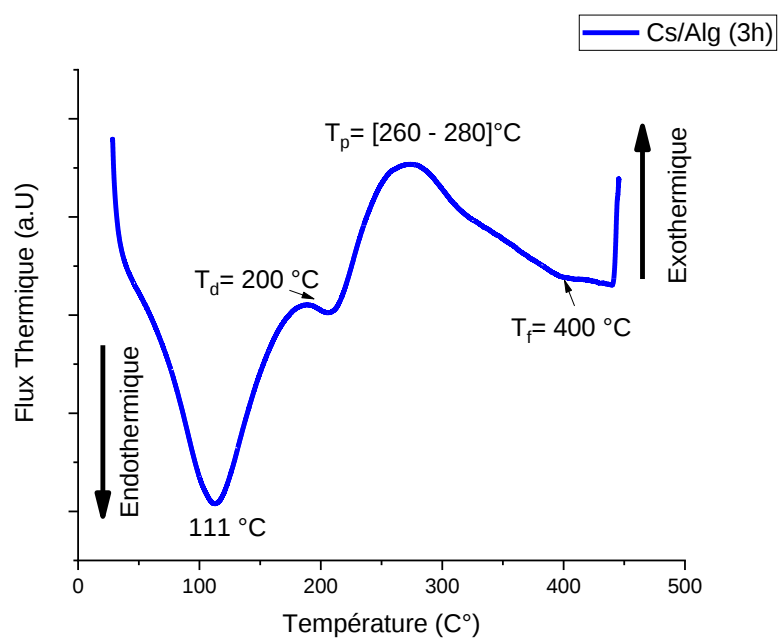
a)



b)



c)



d)

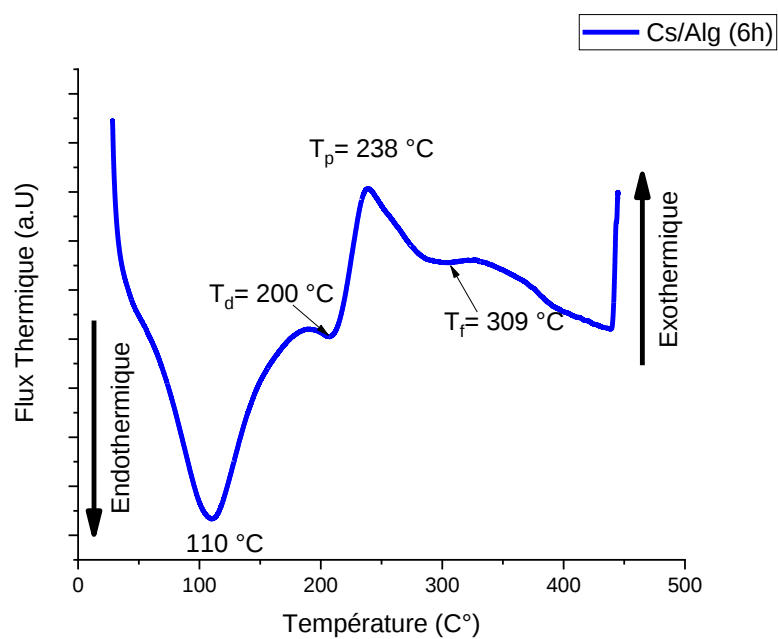


Figure.III.8 Thermogrammes DSC du a) (Cs), b) (Alg), c) Cs/Alg (3h) et d) Cs/Alg (6h).

Tableau.III.4 Paramètres thermiques obtenus à partir des profils DSC du (Cs), (Alg), Cs/Alg (3h) et Cs/Alg (6h).

Échantillons	Température de début (°C)	Température du pic (°C)	Température de fin (°C)
Cs	280	T _{P1} =298°C, T _{P2} =315°C	340
Alg	172	240	269
Cs/Alg (3h)	200	[260-280]	400
Cs/Alg (6h)	200	238	309

III.2 Etudes biologiques

III.2.1 Evaluation de la compatibilité avec le sang

Avant d'évaluer les activités biologiques des matériaux, il est essentiel de s'assurer de leur biocompatibilité, notamment vis-à-vis du sang, afin de garantir leur innocuité pour des applications biomédicales. Le test d'hémolyse permet ainsi de vérifier la compatibilité hématique des échantillons en mesurant leur potentiel hémolytique. D'après les résultats présentés dans la Figure III.9, tous les échantillons testés présentent un taux d'hémolyse inférieur à 5 %, seuil généralement admis pour classer un matériau comme non hémolytique (**Lihong et al., 2012**) et peuvent potentiellement être envisagés pour des applications biomédicales impliquant un contact avec le système sanguin. Plus précisément, le chitosane pur (Cs) présente un taux d'hémolyse de 4,25 %, proche de la limite, tandis que l'alginate (Alg) montre une hémolyse bien plus faible (1,9 %), traduisant une bonne compatibilité avec le sang.

Les composites Cs/Alg préparés à différents temps de réaction (3h et 6h) présentent des taux d'hémolyse encore plus faibles, allant de 0,69 % pour Cs/Alg (3h) à 0,48 % pour Cs/Alg (6h). Cette diminution significative du potentiel hémolytique par rapport au chitosane pur suggère que l'incorporation de l'alginate et les modifications induites par la réaction entre les deux biopolymères améliorent l'hémocompatibilité du matériau. Ce comportement pourrait être attribué à une réduction des interactions électrostatiques directes entre les charges positives du chitosane et la membrane des érythrocytes, par formation de liaisons entre les groupes amines du chitosane et les carbonyles de l'alginate (réaction de Maillard)

Ces résultats confirment les données de la littérature selon lesquelles le chitosane possède une bonne hémocompatibilité, notamment grâce à son caractère anti-thrombogène (**Crini et al.,**

2007). De telles propriétés le rendent pertinent pour des applications biomédicales, notamment comme matériau de revêtement pour dispositifs en contact avec le sang (prothèses vasculaires, valves cardiaques, etc.).

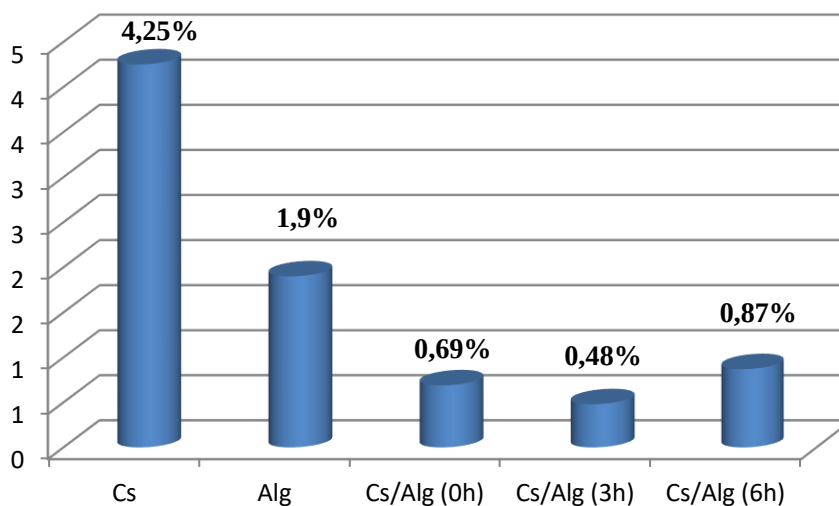


Figure.III.9 Taux d'hémolyse du Cs, Alg, Cs/Alg (3h) et Cs/Alg(6h).

III.2.2 Test de coagulation sanguine in vitro

L'étude de la coagulation sanguine permet de tester in vitro la réponse du sang à la coagulation en présence de biomatériaux. L'indice de coagulation sanguine (BCI %) reflète la quantité d'hémoglobine libre présente dans le surnageant après incubation ; une valeur faible indique une formation rapide et efficace du caillot reflétant une bonne activité coagulante du matériau (Zhao et al., 2008 ; Tranquilan-Aranilla et al., 2016). La Figure III.9 montre la capacité de coagulation des différents matériaux étudiés : Cs, Cs/Alg (3 h) et Cs/Alg (6 h).

Les résultats révèlent que Cs/Alg (6h) présente la plus faible performance hémostatique, avec des valeurs de BCI qui restent élevées tout au long de l'essai. Ce comportement peut être attribué à la faible densité du réseau de polymères, qui limite l'absorption du sang et le captage des caillots, réduisant ainsi l'efficacité du processus de coagulation. À l'inverse, le chitosane pur (Cs) a montré une bonne capacité à induire la coagulation, avec une diminution rapide du BCI entre 5 et 20 minutes. L'alginate a également montré une activité coagulante satisfaisante, bien que légèrement inférieure à celle du Cs, comme le montre un temps de coagulation plus long.

Le composé Cs/Alg (3h) a montré un comportement intermédiaire. Son BCI diminue significativement après 20 minutes, ce qui suggère la formation progressive d'un caillot stable. La réaction de Maillard entre les groupes amine du chitosane et les groupes carbonyle de l'alginate peut ralentir la cinétique de coagulation par rapport aux polymères seuls, mais elle

semble contribuer positivement à l'activité hémostatique en favorisant la formation de réseaux polymériques plus homogènes et bioactifs.

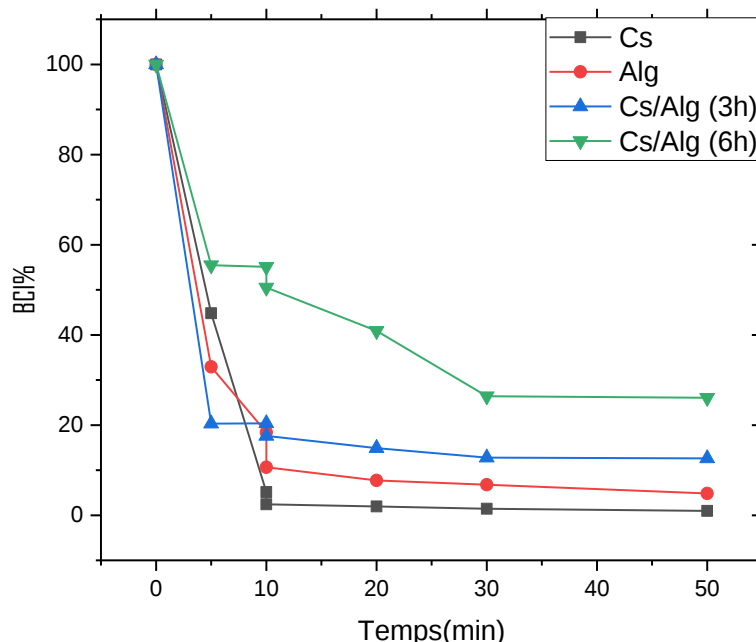


Figure.III.10 Évolution de l'activité de coagulation sanguine en fonction du temps pour les Cs, Alg, Cs/Alg (3h) et Cs/Alg (6h).

III.2.3 Activité anti-inflammatoire

L'inflammation constitue une caractéristique majeure de nombreuses maladies chroniques et représente une réponse naturelle de défense de l'organisme face aux lésions cellulaires (**Alhakmani et al., 2013**). Le chitosane et l'alginate de sodium ont fait l'objet de nombreuses études en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires. Le potentiel anti-inflammatoire de l'alginate est principalement attribué à sa structure chimique, en particulier à la présence de l'acide β -D-mannuronique, dont certains dérivés ont été développés en tant qu'agents thérapeutiques (**Mirshafiey et al., 2009**). Par ailleurs, les produits de la réaction de Maillard (PRM) suscitent un intérêt croissant pour leurs effets anti-inflammatoires (**Jin et al., 2013**).

Le Tableau III.5 présente les effets de différents échantillons, à savoir le chitosane (Cs), l'alginate (Alg), le mélange Cs/Alg traité pendant 3 h et 6 h, ainsi que celui du médicament de référence, le diclofénac sodique, sur l'inhibition de la dénaturation de la BSA.

Il ressort tout d'abord de ces résultats que l'activité anti-inflammatoire des échantillons est dose-dépendante. On observe que le Cs, l'Alg, le Cs/Alg (3 h) et le Cs/Alg (6 h) présentent

une activité anti-inflammatoire comparable à celle du standard, avec une inhibition maximale de la dénaturation de la BSA atteignant respectivement ($70,75 \pm 0,053$) %, ($91,55 \pm 0,086$) %, ($89,16 \pm 0,02$) % et ($91,68 \pm 0,073$) % à une concentration de 1,5 mg/mL, contre ($90,18 \pm 0,013$) % pour le diclofénac sodique. Les valeurs d'IC₅₀ correspondantes sont de $0,34 \pm 2,29$, $0,75 \pm 4,16$, $0,352 \pm 2,30$ et $0,496 \pm 0,78$ mg/mL, comparées à $0,131 \pm 0,43$ mg/mL pour le médicament de référence.

Ces résultats suggèrent que le Cs, l'Alg, ainsi que les complexes Cs/Alg (3 h) et Cs/Alg (6 h) exercent un effet anti-inflammatoire significatif. Cette activité pourrait être attribuée à la capacité du chitosane à inhiber la production de cytokines pro-inflammatoires, à réduire l'expression des molécules d'adhésion cellulaire impliquées dans le recrutement des cellules immunitaires vers les sites inflammatoires, et à moduler l'activité des cellules immunitaires telles que les macrophages (**Akagi et al., 2012**). Par ailleurs, l'alginate pourrait diminuer la production de médiateurs inflammatoires tels que les prostaglandines et les leucotriènes par les cellules immunitaires, renforçant ainsi son potentiel anti-inflammatoire (**Sarithakumari et al., 2013**).

Il est également plausible que certains groupes fonctionnels, comme les groupes carboxyle, ainsi que les produits d'Amadori et certaines mélanoïdines (furannes, pyrroles, pyridines et imidazoles) présents dans les PRM, contribuent à renforcer cette activité anti-inflammatoire (**Oh J et al., 2017**). En outre, comme cela sera abordé dans la section suivante, les PRM possèdent également des propriétés antioxydantes, susceptibles de limiter les dommages oxydatifs associés aux processus inflammatoires.

L'analyse statistique réalisée à l'aide d'une ANOVA à sens unique suivie du test post-hoc de Dunnett n'a révélé aucune différence significative entre tous les échantillons par rapport au diclofénac sodique (Figure dans l'annexe).

Tableau.III.5 Effets anti-inflammatoires des échantillons testés in vitro.

Echantillon [C](mg/mL)	Inhibition %				
	Cs	Alg	Cs/Alg (3h)	Cs/Alg (6h)	Diclofé nac sodique (%)
0.25	48.15±0.083	20.93±0.032	46.80±0.06	22.11±0.046	53.75±0.03
0.5	62.8±0.017	49.79±0.03	70.08±0.091	50.54±0.095	61.49±0.08
1	64.17±0.04	67.28±0.022	76.30±0.076	67.77±0.098	78.08±0.01
1.5	70.75±0.053	91.55±0.086	89.16±0.02	91.68±0.073	90.18±0.013
IC₅₀ (mg/mL)	0.34±2.29	0.75±4.16	0.352±2.30	0.496±0.78	0.131±0.43

III.2.4 Activité antioxydante

L'activité antioxydante des produits de la réaction de Maillard (PRM s) issus de la combinaison du chitosane et de l'alginate a été explorée à travers plusieurs essais complémentaires : les tests ABTS, DPPH, FRAP, phénanthroline ainsi que le test de piégeage du peroxyde d'hydrogène. Ces tests ont permis d'évaluer non seulement la capacité de chélation des radicaux libres, mais également le pouvoir réducteur et la capacité de chélation des métaux des échantillons étudiés.

III.2.4.1 Activité de piégeage du radical ABTS⁺

Le test ABTS⁺ repose sur la mesure de la capacité d'un échantillon à neutraliser le radical cationique ABTS⁺, un indicateur sensible et pertinent de l'activité antioxydante globale. Nos résultats ont révélé que le chitosane pur présente une activité antiradicalaire notable, atteignant un taux d'inhibition de (29,56 ± 0,04) % à une concentration de 800 µg/mL, ce qui est en accord avec les résultats précédemment rapportés par Badano et al. (**Badano et al., 2019**). En revanche, l'alginate pur n'a manifesté aucune activité antioxydante détectable.

Suite à la réaction de Maillard entre le chitosane et l'alginate, une amélioration significative de la capacité de piégeage du radical ABTS⁺ a été observée. Les échantillons Cs/Alg (3 h) et Cs/Alg (6 h) ont montré des taux d'inhibition de (80,65 ± 0,93) % et (83,24 ± 0,14) %, respectivement, à la même concentration, soit près de trois fois l'activité du chitosane pur. Cependant, ces valeurs demeurent inférieures à celles obtenues pour les antioxydants de référence, BHA et BHT.

L'analyse statistique à l'aide d'une ANOVA à sens unique suivie du test post-hoc de Dunnett a montré des différences significatives entre Cs, Cs/Alg (3 h) et Cs/Alg (6 h) par rapport au BHT ($p < 0,01$). En outre, les valeurs IC₅₀ de Cs/Alg (3 h) et Cs/Alg (6 h) étaient significativement différentes de celles du contrôle ($p < 0,001$ et $p < 0,01$, respectivement), tandis que Cs n'atteignait pas une activité de piégeage de 50 % (Figure annexe).

Cette activité renforcée peut être attribuée à la consommation des groupements réactifs hydroxyles (-OH) et amines (-NH₂), qui participent à la formation de structures brunes complexes, capables de stabiliser les radicaux libres en générant des macromolécules plus stables (Kraskouski et al., 2022). Par ailleurs, selon Habinshuti et al. (Habinshuti et al., 2019), les intermédiaires et produits bruns formés durant la réaction de Maillard sont capables de donner des atomes d'hydrogène, ce qui constitue un mécanisme clé de leur activité antioxydante. Pati et al., (Pati et al., 2020), soulignent également le rôle des fonctions -OH, -NH₂ et -NH³⁺ présentes sur les polysaccharides dans la stabilisation des radicaux libres.

Tableau.III.6 Activité antioxydante du Cs, de l'Alg et des PRM s Cs/Alg mesurée par le test ABTS⁺.

Échantillons	% Inhibition dans le test ABTS ⁺							
	12.5 (µg/mL)	25 (µg/mL)	50 (µg/mL)	100 (µg/mL)	200 (µg/mL)	400 (µg/mL)	800 (µg/mL)	IC ₅₀ (µg/mL)
CS	2.65±0.08	11.09±0.01	18.97±0.08	24.09±0.05	27.29±0.06	27.88±0.05	29.56±0.04	NI
Alg	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-
Cs/Alg (3h)	47.44±0.83	49.87±0.31	55.48±1.00	56.20±0.14	63.09±0.26	74.20±0.73	80.65±0.93	27.27±0.96
Cs/Alg (6h)	44.73±0.42	46.04±1.63	58.55±1.14	66.83±0.59	81.48±1.04	82.80±0.48	83.24±0.14	29.85±0.57
BHT	69.21±0.40	78.23±1.34	88.12±1.28	88.76±3.07	90.85±1.74	90.95±0.51	96.68±0.39	<12.5
BHA	92.83±1.42	94.68±0.42	94.95±0.90	95.32±0.25	95.59±0.47	95.83±0.15	95.86±0.10	<12.5

NA : Aucune activité antioxydante n'a été observée.

NI : L'inhibition maximale est inférieure à 50 %

III.2.4.2 Test DPPH

Le test DPPH, bien que basé sur un principe similaire à celui du test ABTS⁺, cible un radical différent (DPPH•), et permet donc de mettre en évidence d'autres mécanismes de neutralisation des radicaux (Gulcin et al., 2023). D'après les résultats rapportés dans le Tableau

III.7, le produit Cs/Alg (6 h) a montré une capacité importante à piéger les radicaux DPPH, atteignant $73,03 \% \pm 0,057$ avec une IC_{50} de $484,73 \pm 0,078 \mu\text{g/mL}$. Cette valeur est toutefois nettement supérieure (donc moins efficace) que celles des antioxydants standards tels que le BHA, BHT et l' α -tocophérol.

En comparaison, Cs/Alg (3 h) n'a présenté qu'une faible activité, avec un taux d'inhibition de $13,35 \% \pm 0,024$, mettant en évidence l'importance du temps de chauffage dans la formation des structures antioxydantes efficaces. Le chitosane et l'alginate purs, quant à eux, n'ont montré aucune activité de piégeage du DPPH.

Ces résultats confirment les observations de Chen et al., (**Chen et al., 2019**) et Loucif et al., (**Loucif et al., 2017**), qui indiquent que les phases avancées de la réaction de Maillard sont plus favorables à l'apparition de l'activité antioxydante. Cela est probablement dû à la formation de mélanoidines, polymères bruns aux propriétés antioxydantes reconnues, capables de donner des atomes d'hydrogène et de stabiliser efficacement les radicaux (**Slougui et al., 2023**).

Tableau.III.7 Activité antioxydante du Cs, Alg, Cs/Alg (3h) et Cs/Alg (6h) mesurée par le test DPPH

Échantillons	% Inhibition dans le test DPPH							
	12.5 $\mu\text{g/mL}$	25 $\mu\text{g/mL}$	50 $\mu\text{g/mL}$	100 $\mu\text{g/mL}$	200 $\mu\text{g/mL}$	400 $\mu\text{g/mL}$	800 $\mu\text{g/mL}$	IC_{50} $\mu\text{g/mL}$
Cs	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-
Alg	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-
Cs/Alg (3h)	1.4 ± 0.034	4.53 ± 0.028	6.04 ± 0.032	7.50 ± 0.067	8.20 ± 0.03	9.49 ± 0.036	13.35 ± 0.024	NI
Cs/Alg (6h)	7.17 ± 0.034	9.44 ± 0.05	14.56 ± 0.09	20.87 ± 0.086	26.97 ± 0.046	50.43 ± 0.08	73.03 ± 0.057	484.73 ± 0.078
BHA	76.55 ± 0.48	79.89 ± 0.26	81.73 ± 0.10	84.18 ± 0.10	87.13 ± 0.17	89.36 ± 0.19	90.14 ± 0.00	6.14 ± 0.41
BHT	49.09 ± 0.76	72.63 ± 2.06	88.73 ± 0.89	94.00 ± 0.31	94.97 ± 0.08	95.38 ± 0.41	95.02 ± 0.23	12.99 ± 0.41
α-Tocopherol	37.21 ± 1.82	81.53 ± 1.51	89.23 ± 0.12	89.38 ± 0.19	89.45 ± 0.22	89.99 ± 0.23	89.52 ± 0.33	13.02 ± 5.17

NA : Aucune activité antioxydante n'a été observée.

NI : L'inhibition maximale est inférieure à 50 %.

III.2.4.3 Pouvoir réducteur (tests FRAP et phénanthroline)

Le pouvoir réducteur des échantillons a été évalué à l'aide de deux méthodes complémentaires. Le premier test, le FRAP, repose sur la réduction du fer ferrique (Fe^{3+}), contenu dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, en fer ferreux (Fe^{2+}) en présence d'un antioxydant,

réaction qui s'accompagne d'un changement de couleur du jaune vers le bleu-vert. Le second test, basé sur l'utilisation de phénanthroline, repose sur la capacité de ce ligand à former un complexe coloré de teinte orange avec le fer ferreux (Fe^{2+}), dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en Fe^{2+} généré. Ces essais permettent de compléter les résultats obtenus par les tests antiradicalaires en analysant la capacité des échantillons à agir comme réducteurs d'électrons.

Dans le test FRAP, le chitosane pur a révélé une forte capacité de réduction, avec une IC_{50} de $38,21 \pm 3,49 \mu\text{g/mL}$, tandis que l'alginate pur a montré une activité très limitée ($A_{\text{max}} = 0,3$ à $200 \mu\text{g/mL}$). Dans le test à la phénanthroline, seul le chitosane a présenté une activité détectable, mais relativement modeste.

Après la réaction de Maillard, les PRM s'ont vu leur pouvoir réducteur s'améliorer. L'échantillon Cs/Alg (3 h) a présenté une activité comparable à celle du chitosane dans le test FRAP ($\text{IC}_{50} = 38,39 \pm 4,53 \mu\text{g/mL}$), mais une activité modérée dans le test à la phénanthroline ($\text{IC}_{50} = 147,33 \pm 2,01 \mu\text{g/mL}$). L'échantillon Cs/Alg (6 h) a montré un comportement différencié : activité FRAP légèrement diminuée ($\text{IC}_{50} = 69,17 \pm 7,28 \mu\text{g/mL}$) mais activité de chélation améliorée ($\text{IC}_{50} = 92,47 \pm 2,38 \mu\text{g/mL}$).

Ces résultats traduisent une modification structurale des PRM s au cours du temps, conférant une meilleure aptitude à la chélation des ions métalliques, probablement grâce à la formation de groupements carboxyliques et d'enchaînements aromatiques capables de complexer les ions Fe^{2+} .

L'ordre d'efficacité antioxydante comparé aux standards est le suivant :

- FRAP : Acide ascorbique > Chitosane $\approx$ Cs/Alg (3 h) > Cs/Alg (6 h) > Alginate
- Phénanthroline : BHT > Cs/Alg (6 h) > Cs/Alg (3 h) > Chitosane > Alginate

L'analyse statistique (ANOVA suivie du test post-hoc de Dunnett) a révélé des différences significatives entre les échantillons et les témoins standards pour les deux tests ($p < 0,05$ pour FRAP, $p > 0,05$ pour phénanthroline uniquement entre les PRM s et le BHT).

Ces résultats valident les travaux de Gu et al., (**Gu et al., 2010**), selon lesquels les PRM s issus des stades avancés de la réaction de Maillard possèdent un meilleur pouvoir chélateur. D'autres études (**Gu et al., 2010 ; Zhang H et al., 2016**) confirment que les PRM s présentent généralement un pouvoir réducteur supérieur à celui des polysaccharides initiaux, ce qui est en parfaite cohérence avec nos observations expérimentales.

Tableau.III.8 Activité antioxydante de Cs, Alg, et Cs/Alg PRM s évaluée par les tests FRAP (a) et phénanthroline (b).

(a)

Échantillons	Absorbance dans le test FRAP							
	3.125 (µg/mL)	6.25 (µg/mL)	12.5 (µg/mL)	25 (µg/mL)	50 (µg/mL)	100 (µg/mL)	200 (µg/mL)	IC ₅₀ (µg/mL)
Cs	0,22±1,24	0,24±0,04	0,39±2,7	0,47±5,11	0,62±0,85	0,63±0,2	0,71±0,4	38,21±3,49
Alg	0,1±0,02	0,11±0,3	0,15±0,1	0,13 ±0,0 4	0,19±0,07	0,22±0, 67	0,30±0,15	NI
Cs/Alg (3h)	0,12±0,06	0,18±0,02	0,23±0,02	0,36±0,07	0,56±0,15	0,70±0, 5	0,73±0,9 5	38,39±4,53
Cs/Alg (6h)	0,20±0,15	0,23±0,15	0,28±0,15	0,44±0,15	0,47±0,15	0,81±0,15	0,95±0,15	69,17±7,28
Acide ascorbique	0,35±0,05	0,46±0,03	0,84±0,12	0,93±0,30	1,18±0,34	1,37±0,20	1,44±0,21	6.77±1.15

(b)

Échantillons	Absorbance dans le test phénanthroline							
	3.125 (µg/mL)	6.25 (µg/mL)	12.5 (µg/mL)	25 (µg/mL)	50 (µg/mL)	100 (µg/mL)	200 (µg/mL)	IC ₅₀ (µg/mL)
Cs	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-
Alg	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-
Cs/Alg (3h)	0,28±0,05	0,29±0,03	0,29±0,12	0,31±0,3	0,37±0,34	0,48±0,2	0,52±0,21	147,33±2,01
Cs/Alg (6h)	0,28±0,02	0,29±0,013	0,3±0,02	0,34±0,02	0,39±0,05	0,51±0,02	0,96±0,04	92,47±2,38
BHT	0,47±0,01	0,47±0,01	0,53±0,03	1,23±0,02	1,84±0,01	3,48±0,03	4,84±0,01	6,61±0,17

NA: Aucune activité antioxydante n'a été observée

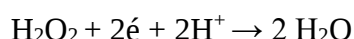
NI: l'inhibition maximale est inférieure à 50 %.

III.2.4.4 Test de piégeage du H₂O₂

Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) est une espèce réactive de l'oxygène (ROS) faiblement oxydante, mais capable de générer des radicaux hydroxyles hautement réactifs (•OH) via des réactions de type Fenton en présence de métaux de transition comme le fer ou le cuivre. In vivo, sa petite taille et sa relative stabilité lui permettent de traverser librement les membranes

cellulaires. Une fois à l'intérieur des cellules, il peut provoquer des altérations de la structure des protéines, la peroxydation des lipides, et des dommages à l'ADN, contribuant ainsi à la détérioration cellulaire et au développement de pathologies dégénératives (**Yildirim et al., 2001**).

Dans ce contexte, l'élimination efficace du H_2O_2 par des composés antioxydants représente un mécanisme clé dans la défense biologique contre le stress oxydatif. Le test de piégeage du H_2O_2 repose sur la capacité d'un composé antioxydant à réduire le H_2O_2 en eau, selon la réaction simplifiée suivante :



Où les électrons sont fournis par l'antioxydant sous forme réduite (AH_2).

Dans notre étude, l'activité de piégeage du H_2O_2 a été évaluée pour le chitosane (Cs), l'alginate (Alg), et les produits de la réaction de Maillard obtenus après 3 heures (Cs/Alg 3 h) et 6 heures (Cs/Alg 6 h), en les comparant à l'acide ascorbique utilisé comme standard de référence. Comme illustré dans le Tableau III.9, le Cs pur a présenté la capacité antioxydante la plus élevée, avec un taux de piégeage maximal de $85,82 \pm 0,06 \%$, proche de celui de l'acide ascorbique. L'Alg a montré une activité intermédiaire ($56,43 \pm 0,04 \%$), tandis que les produits Maillard Cs/Alg (6 h) et Cs/Alg (3 h) ont révélé des activités moindres, respectivement $43,43 \pm 0,08 \%$ et $34,23 \pm 0,5 \%$.

Ces résultats suggèrent que le chitosane conserve des fonctions chimiques actives favorables à la neutralisation du H_2O_2 , probablement en raison de la présence de groupes amino libres susceptibles de réagir avec le peroxyde. L'alginate, bien que moins efficace, a également montré une activité significative. Les produits issus de la réaction de Maillard ont vu leur capacité de piégeage réduite, ce qui pourrait s'expliquer par la consommation partielle des groupes amino réactifs durant la réaction, affectant leur pouvoir réducteur global.

L'analyse statistique réalisée par ANOVA à un facteur suivi du test de Dunnett a mis en évidence des différences significatives entre tous les échantillons et l'acide ascorbique ($p < 0,05$). Par ailleurs, les valeurs d' IC_{50} pour le Cs et l'Alg ont également été significativement différentes de celle du témoin positif ($p < 0,05$ et $p < 0,01$ respectivement), alors que Cs/Alg (3 h) et Cs/Alg (6 h) n'ont pas atteint 50 % d'inhibition dans les conditions expérimentales (Figure annexe).

Tableau.III.9 Activité antioxydante de Cs, Alg, et Cs/Alg PRM s évaluée par les tests H₂O₂.

	Cs	Alg	Cs/Alg (3h)	Cs/Alg (6h)	Acid Ascorbique
[C] (mg/mL)	% inhibition				
0.05	14±0.24	5.72±0.7	6.08±0.65	12.49±1.07	34.22±0.09
0.2	15.25±0.78	9.64±0.12	10.46±0.49	15.98±0.99	30.53±0.04
0.8	19.95±0.53	11.93±0.24	15.43±0.23	23.33±0.83	49.62±0.34
1.6	37.61±0.02	18.37±0.06	22.72±0.92	23.91±0.07	62.95±0.97
3	42.87±0.47	27.62±0.94	30.67±0.37	29.82±0.3	88.75±0.42
5	85.82±0.07	56.43±0.04	34.23±0.5	43.43±0.08	96.4±0.05

III.2.5 Facteur de Protection Solaire In Vitro

Selon les recommandations de la Commission européenne (2006), l'évaluation de l'efficacité d'un produit photo-protecteur repose sur la valeur du Facteur de Protection Solaire (SPF), qui permet de classer les produits en quatre catégories : faible protection pour un SPF compris entre 6 et 14,9 ; protection moyenne entre 15 et 29,9 ; protection élevée entre 30 et 50 ; et très haute protection pour un SPF supérieur à 50 (**Osterwalder et al., 2009**).

Dans le cadre de cette étude, l'activité photo-protectrice des différents échantillons a été évaluée in vitro, par le calcul de leur valeur de SPF. Les données obtenues, récapitulées dans le Tableau III.10, révèlent que le chitosane seul (Cs) ne présente qu'une très faible capacité à filtrer les rayons UV, traduisant une absence notable de protection solaire. L'alginate pur (Alg), quant à lui, a montré une légère activité photo-protectrice, correspondant à une protection faible selon la classification établie.

En revanche, les produits résultant de la réaction de Maillard entre le chitosane et l'alginate ont démontré une amélioration significative de cette propriété. En effet, l'échantillon Cs/Alg traité thermiquement pendant 3 heures a présenté un SPF de $22,82 \pm 0,063$, classé comme protection moyenne. Cette activité photoprotectrice s'est encore accrue après 6 heures de traitement, atteignant un SPF de $44,89 \pm 0,08$, soit une protection élevée, proche de celle d'un écran solaire commercial de référence à SPF 50, dont la valeur mesurée était de $45,25 \pm 0,02$.

Cette amélioration remarquable de l'efficacité photo-protectrice après la réaction de Maillard pourrait s'expliquer par la formation de mélanoidines. Ces composés bruns, issus de la réaction entre les groupes aminés du chitosane et les groupes carbonyles de l'alginate, sont bien connus pour leur capacité à absorber la lumière UV. Leur présence accrue après un chauffage prolongé justifie l'élévation des valeurs de SPF observées, soulignant ainsi l'intérêt potentiel de ces matériaux comme agents photo-protecteurs dans les formulations cosmétiques, notamment pour la conception de crèmes solaires naturelles et innovantes.

Tableau.III.10 Potentiel photo-protecteur des matériaux testés

Echantillons	Cs	Alg	Cs/Alg (3h)	Cs/Alg (6h)	Standard (Crème solaire commerciale SPF 50)
SPF	,61±0,019	,83±0,017	22,82±0,063	44,89±0,08	45,25± 0,02
Protection	Faible	Faible	Moyenne	Élevée	Élevée

III.2.6 Activité antibactérienne

De nombreuses études ont démontré que les produits issus de la réaction de Maillard (PRM), en particulier ceux dérivés du chitosane, présentent une activité antimicrobienne accrue (**Mu et al., 2016**). Par ailleurs, il est bien établi que le chitosane et l'alginate possèdent intrinsèquement des propriétés antibactériennes (**Li et al., 2020 ; Benavides et al., 2012**).

L'évaluation de l'activité antibactérienne des différents échantillons a été réalisée par la méthode de diffusion sur disque. Les résultats montrent que le chitosane (Cs) seul présente une activité modérée contre *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*, avec des diamètres de zones d'inhibition variant entre 10 et 12 mm. L'alginate (Alg), quant à lui, affiche une activité plus faible, avec des zones d'inhibition de 10 mm pour toutes les souches, c'est ce qui est en accord avec d'autres résultats obtenus (**Loucif, 2018 ; Benghanem, 2017 et Chetouani, 2015**). Notamment, la combinaison Cs/Alg (3h) a révélé une nette amélioration de l'effet antibactérien, avec des zones d'inhibition atteignant 19 mm sur *Klebsiella* et 20 mm sur *E. coli*, traduisant un effet synergique entre les deux polymères. En revanche, aucune activité n'a été observée sur *P. aeruginosa* pour les composites Cs/Alg, probablement en raison de la résistance intrinsèque de cette souche. La comparaison avec l'antibiotique de référence, l'amoxicilline, montre que le composite Cs/Alg (3h) présente une

efficacité comparable, voire supérieure sur *Klebsiella*, mais reste moins efficace sur *E. coli*. Ces résultats soulignent le potentiel prometteur des composés à base de chitosane et d'alginate comme agents antimicrobiens naturels.

Tableau.III.10 Inhibition des composés après 24 h.

	Cs	Alg	Cs/Alg 3h	Cs/Alg 6h	Amoxicilline
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10mm	10mm	19mm	-	17mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12mm	10mm	-	-	12mm
<i>Escherichia coli</i>	11mm	10mm	20mm	19mm	30mm

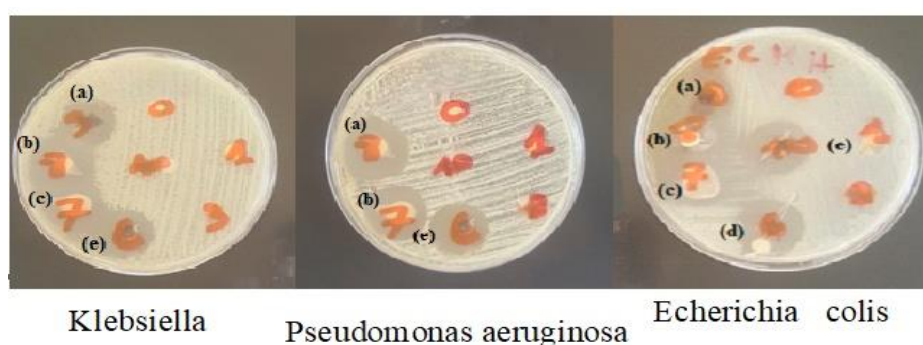


Figure.III.11 Activités antibactériennes après t=24 h du (a) chitosane, (b) Alginate, (c) Cs/Alg (3h), (d) Cs/Alg (6h) et (e) control positif (Amoxicilline).

III.3 Etudes d'inhibitions enzymatiques

III.3.1 Activité anti-brunissement par inhibition de la PPO

La polyphénol oxydase (PPO) est une enzyme clé responsable du brunissement enzymatique observé dans de nombreux fruits, légumes et produits alimentaires. Ce phénomène entraîne une détérioration de l'apparence visuelle, une perte de qualité nutritionnelle ainsi qu'une altération des propriétés organoleptiques, ce qui réduit considérablement l'acceptabilité des produits par les consommateurs. Par conséquent, l'inhibition de l'activité de la PPO constitue une approche essentielle pour préserver la fraîcheur et la qualité des aliments tout au long de leur stockage et de leur commercialisation.

Actuellement, plusieurs inhibiteurs chimiques tels que l'acide ascorbique, les sulfites ou encore les composés soufrés (SH) sont employés pour limiter cette activité enzymatique.

Toutefois, ces composés présentent certains inconvénients, notamment des effets secondaires pour la santé, en particulier chez les populations sensibles comme les asthmatiques (**Mogol et al., 2010**). Dans ce contexte, l'exploration de nouvelles alternatives naturelles plus sûres est devenue indispensable. Parmi elles, les produits de la réaction de Maillard (PRM s) apparaissent comme une solution prometteuse, offrant un moyen naturel de prévenir efficacement le brunissement.

Plusieurs recherches ont mis en évidence la capacité des PRM s à inhiber l'activité de la PPO. Billaud et al., (**Billaud et al., 2003**), ont montré que les PRMs exercent un fort pouvoir inhibiteur sur cette enzyme, tandis que Nicoli et al., (**Nicoli et al., 1991**), ont rapporté que leur action pouvait aller jusqu'à une suppression quasi-totale de l'activité enzymatique. Par ailleurs, Lee et Park (**Lee & Park, 2005**) ont mis en évidence que les conjugués glucose-glycine agissent comme inhibiteurs non compétitifs, se liant à l'enzyme indépendamment du substrat et perturbant ainsi son fonctionnement. De plus, Xu et al., (**Xu H et al., 2016**) ont proposé un mécanisme d'inhibition irréversible basé sur la chélation des ions cuivre du site actif de la PPO par les PRM s, empêchant l'oxydation des composés phénoliques et donc le brunissement enzymatique.

Ces observations soulignent l'intérêt croissant pour les PRMs comme agents multifonctionnels. Contrairement aux inhibiteurs synthétiques classiques à action unique, les PRMs agissent simultanément sur plusieurs cibles, combinant des effets antioxydants, anti-brunissement et bactériostatiques. En inhibant la PPO, ils limitent la conversion des composés phénoliques en quinones, réduisant ainsi la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (**Tomas-Barberan et al., 2001**). Cela contribue non seulement à maintenir l'intégrité des antioxydants naturels, tels que les flavonoïdes, capables de neutraliser les ROS par un transfert d'électrons, mais aussi à préserver la valeur nutritionnelle des aliments. Cette approche est en parfait accord avec les résultats de Maillard et al., (**Maillard et al., 2007**), qui ont montré que les PRMs stabilisent les composés phénoliques en chélatant le cuivre du site actif de la PPO, freinant ainsi efficacement le brunissement. De plus, il a été démontré que les PRMs avancés (les mélanoïdines) présentent une forte capacité de chélation des métaux (**Queiroz et al., 2008**), ajoutant une barrière supplémentaire au fonctionnement de l'enzyme en limitant l'accès de son substrat.

Outre leur effet d'inhibition de la PPO, les PRMs possèdent également des propriétés antimicrobiennes notables : en raison de leurs charges cationiques, ils peuvent perturber les membranes bactériennes, empêcher la formation de biofilms et induire la production de ROS

toxiques pour les cellules microbiennes (**Chen X et al., 2021**). L'inhibition de la PPO réduit également la formation de quinones, qui sont souvent utilisées par certaines bactéries comme précurseurs de métabolites nécessaires à leur croissance, renforçant ainsi indirectement l'effet antimicrobien. Cette combinaison d'effets rend les PRMs particulièrement attractifs comme alternative naturelle aux inhibiteurs chimiques controversés tels que les sulfites. Cela nous a donc conduits à évaluer, dans un premier temps, leur activité antibactérienne, avant d'examiner leur potentiel anti-brunissement via l'inhibition de la polyphénol oxydase

Dans cette étude, l'activité inhibitrice de la PPO par les PRMs issus du système Cs/Alg a été soigneusement évaluée et comparée à celle de l'acide citrique, reconnu comme un puissant inhibiteur de cette enzyme. Les résultats, illustrés dans la Figure III.12, ont révélé que ni le chitosane (Cs) ni l'alginate (Alg) purs ne présentaient d'effet inhibiteur significatif sur la PPO. En revanche, les produits issus de la réaction de Maillard entre Cs et Alg après 3h et 6h de traitement thermique ont montré une activité inhibitrice remarquable, atteignant respectivement $(33,40 \% \pm 3,69)$ et $(58,64 \% \pm 0,42)$ à une concentration de 800 $\mu\text{g/mL}$. À titre comparatif, l'acide citrique a affiché un taux d'inhibition beaucoup plus élevé, atteignant $(90,97 \% \pm 0,05)$ à la même concentration.

L'analyse statistique, réalisée à l'aide d'une ANOVA à un facteur suivi d'un test post-hoc de Dunnett, a permis de confirmer des différences significatives entre les PRMs Cs/Alg (3h) et Cs/Alg (6h) par rapport au témoin Acarbose ($p < 0,05$). Il a également été démontré que l'IC50 du système Cs/Alg (6h) différait significativement de celui de l'acide citrique ($p < 0,05$), tandis que Cs/Alg (3h) n'atteignait pas une inhibition de 50 % (Figure Annexe).

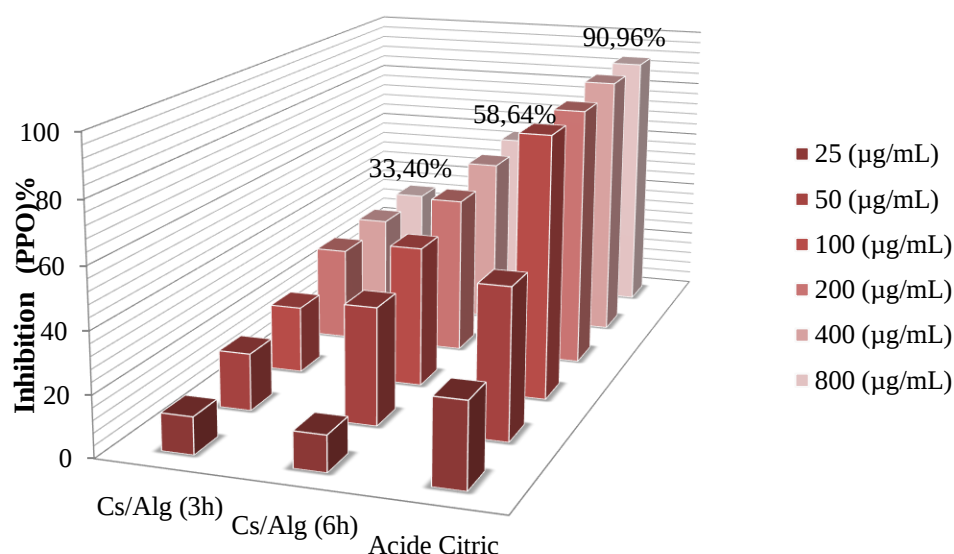


Figure.III.12 Inhibition (%) de la PPO en fonction de la concentration de Cs/Alg PRMs.

III.3.2 Activité anti-diabétique par inhibition d'Alpha-amylase

De nombreuses recherches ont démontré que les produits de la réaction de Maillard (PRMs) possèdent la capacité d'inhiber efficacement l'activité de l' α -amylase, une enzyme clé impliquée dans la digestion des glucides complexes (Van Quan et al., 2019). Cette capacité remarquable nous a incités à explorer dans cette étude le potentiel inhibiteur des PRMs obtenus par l'interaction entre le chitosane et l'alginate.

L' α -amylase est abondamment présente dans divers fluides corporels, notamment la salive et les sécrétions pancréatiques, où elle catalyse l'hydrolyse des polysaccharides comme l'amidon en unités plus petites telles que les oligosaccharides et les disaccharides. L'inhibition de cette enzyme a des implications thérapeutiques majeures, car elle ralentit la dégradation et l'absorption des glucides, contribuant ainsi à un meilleur contrôle de la glycémie postprandiale, un facteur essentiel dans la prévention et la gestion du diabète de type 2 (Liu et al., 2013).

L'évaluation de l'effet inhibiteur des PRMs a révélé une inhibition dose-dépendante de l'activité de l' α -amylase. En revanche, ni le chitosane pur (Cs) ni l'alginate pur (Alg) n'ont montré d'effet inhibiteur notable, soulignant le rôle crucial de la réaction de Maillard dans l'acquisition de cette bio-activité. Comme illustré dans la Figure III.13, l'échantillon Cs/Alg chauffé pendant 3 heures (Cs/Alg (3h)) a atteint un taux maximal d'inhibition de 58,23 % $\pm$ 2,00 à une concentration de 800 µg/mL, avec une valeur d'IC₅₀ de 259,32 $\pm$ 6,17 µg/mL. De manière notable, l'échantillon Cs/Alg (6h) a démontré une activité inhibitrice significativement

supérieure, atteignant $85,95 \% \pm 0,44$ à la même concentration, avec une IC_{50} réduite à $139,17 \pm 1,47 \mu\text{g/mL}$.

À titre de référence, l'acarbose, un inhibiteur commercialement utilisé pour l' α -amylase, a affiché une efficacité encore plus marquée, avec un taux d'inhibition de $92,6 \% \pm 2,85$ à une concentration beaucoup plus faible de $50 \mu\text{g/mL}$. Cette comparaison souligne la puissance de l'acarbose, mais révèle également le potentiel prometteur des PRMs issus de la réaction Cs/Alg, notamment après un traitement thermique prolongé.

L'analyse statistique, réalisée par ANOVA à un facteur suivi d'un test post-hoc de Dunnett, a mis en évidence des différences hautement significatives entre les IC_{50} des échantillons Cs/Alg (3h) et Cs/Alg (6h) par rapport à celle de l'acarbose ($p < 0,01$ pour Cs/Alg (3h) et $p < 0,001$ pour Cs/Alg (6h)) (Figure Annexe).

La différence observée entre les deux temps de réaction, Cs/Alg (3h) et Cs/Alg (6h), peut être attribuée à l'évolution progressive de la réaction de Maillard, qui génère une diversité croissante de composés bioactifs au fil du temps. En particulier, des intermédiaires tels que les produits d'Amadori et des structures plus complexes comme les mélanoïdines se forment au cours de la réaction prolongée. Ces composés sont connus pour interagir avec l' α -amylase, soit par liaison directe au site actif, soit par altération de la conformation enzymatique, conduisant à une inhibition de son activité catalytique (**Hwang et al., 2011**). La formation accrue de groupes fonctionnels réactifs et d'intermédiaires structuraux au bout de 6 heures de chauffage semble donc jouer un rôle déterminant dans l'amélioration du potentiel anti-diabétique des PRMs étudiés.

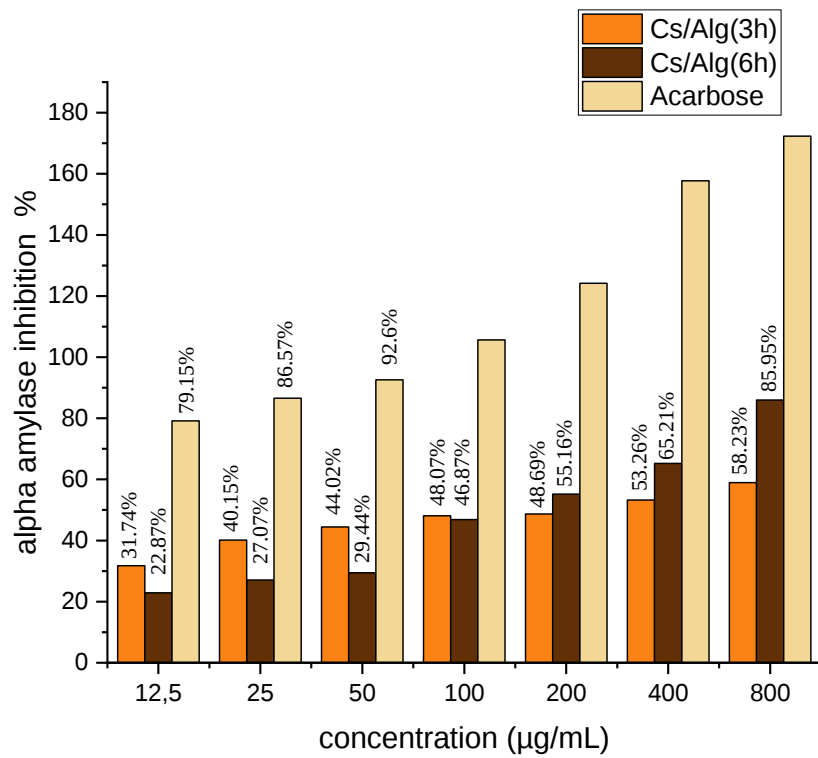


Figure.III.13Inhibition (%) de l' α -amylase par Cs/Alg (3h), Cs/Alg (6h) et l'acarbose.

Conclusion

L'ensemble des résultats obtenus dans le cadre de cette étude met clairement en évidence que la réaction de Maillard entre le chitosane et l'alginate, deux polysaccharides naturellement dotés de propriétés fonctionnelles intéressantes, conduit à la formation de nouveaux complexes possédant des caractéristiques physico-chimiques et bio-fonctionnelles améliorées, dépendantes du temps de chauffage.

Les analyses spectrophotométriques UV-vis et infrarouges (IR-TF) ont permis de suivre l'évolution structurale progressive des produits de la réaction. À 3 h de chauffage, l'apparition d'un pic d'absorbance à 294 nm traduit la formation majoritaire de produits d'Amadori, alors qu'un chauffage prolongé à 6 h induit la production de mélanoidines, identifiées par une absorbance accrue à 420 nm. Cette transformation est confirmée par l'évolution du rapport A_{294}/A_{420} , ainsi que par les spectres IR-TF montrant la disparition de bandes caractéristiques des polymères de départ et l'apparition de nouvelles bandes associées à des groupements fonctionnels issus de la glycation (bases de Schiff, carbonyles).

Sur le plan structural, la diffraction des rayons X (DRX) a mis en évidence une perte de cristallinité après 3 h de chauffage, suivie de la formation d'une nouvelle phase cristalline après 6 h, confirmant un réarrangement profond des chaînes polymériques. Cette désorganisation est également reflétée dans les données thermiques (ATG/DSC), qui montrent une baisse des températures de dégradation et une modification des transitions thermiques, signe d'une matrice polymérique plus amorphe mais plus réactive.

Le suivi du degré de substitution (DS) par la méthode TNBS et l'évolution du potentiel zêta ont permis d'approfondir la compréhension des interactions chimiques. Le DS chute drastiquement à 3 h, avant de remonter à 6 h, ce qui suggère l'implication des amines dans plusieurs étapes de la réaction. Parallèlement, le potentiel zêta reflète une évolution de la stabilité colloïdale en lien avec la neutralisation progressive des charges des polymères, preuve de la formation d'un réseau plus dense.

Les résultats de potentiométrie confirment la forte interaction ionique entre les groupes fonctionnels du chitosane et de l'alginate, avec une diminution marquée des groupes $-NH_3^+$ disponibles. Cela soutient la formation de nouvelles structures moléculaires.

Sur le plan biologique, les composés Cs/Alg montrent des performances renforcées. Leur hémocompatibilité est excellente, avec des taux d'hémolyse largement inférieurs au seuil admissible ($< 5\%$), et leur activité coagulante après 3 h, bien que réduite par rapport à celle du chitosane seul, permettent d'envisager leur utilisation potentielle en applications internes.

L'activité anti-inflammatoire est notable, en particulier pour l'échantillon Cs/Alg (6h), qui atteint des niveaux comparables, voire supérieurs, à ceux du diclofénac. Cette propriété est essentielle pour des applications biomédicales ou dermo-cosmétiques.

Du point de vue antioxydant, les produits issus de la réaction de Maillard présentent une nette amélioration de la capacité de piégeage des radicaux libres (ABTS, DPPH) et du pouvoir réducteur (FRAP, phénanthroline), particulièrement marquée après 6 h de réaction. Toutefois, la réactivité vis-à-vis du H₂O₂ diminue, probablement en raison de la consommation des groupes amino libres.

Concernant les propriétés photoprotectrices, les composés Cs/Alg montrent une capacité accrue d'absorption des UV, avec un SPF atteignant des niveaux élevés pour l'échantillon Cs/Alg (6 h). Cette propriété, probablement due à la présence accrue de mélanoidines, positionne ces composés comme agents photoprotecteurs d'origine naturelle.

En termes d'activité antimicrobienne, les PRMs présentent une activité antibactérienne renforcée, notamment contre *Klebsiella* et *E. coli*, tandis qu'aucune inhibition n'a été observée contre *P. aeruginosa*. Cette activité synergique démontre l'intérêt de la combinaison chitosane/alginate via la réaction de Maillard comme alternative naturelle aux antimicrobiens classiques.

Enfin, les composés Cs/Alg montrent une efficacité remarquable dans l'inhibition de la polyphénol oxydase (PPO), confirmant leur potentiel comme agents anti-brunissement naturels, ainsi qu'une capacité d'inhibition de l' α -amylase modulée par la durée de la réaction. Cette dernière propriété ouvre des perspectives d'utilisation dans la gestion glycémique et la prévention du diabète de type 2.

Références bibliographiques

A

- Abdellatif A, El Hamd M, Saleh K (2016) A formulation, optimization and evaluation of controlled released alginate beads loaded-flurbiprofen. *J Nanomed Nanotechnol* 7:357–364. <https://doi.org/10.1016/j.bbe.2016.09.003>
- Affes S, Nasri R, Li S, et al. (2021) Effect of glucose-induced Maillard reaction on physical, structural and antioxidant properties of chitosan derivatives-based films. *Carbohydrate Polymers* 255:117341. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117341>
- Agrawal P, Strijkers GJ, Nicolay K (2010) Chitosan-based systems for molecular imaging. *Adv Drug Deliv Rev* 62:42–58. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.09.007>
- Ali RR, Rahman WA Wan Abdul, Ibrahim NB, et al. (2013) Starch-based biofilms for green packaging. *Developments in sustainable chemical and bioprocess technology* 347–354. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6208-8_41
- Ames J (1988) The Maillard Browning Reaction: An Update. *Chem. Ind.* 5:558–561. <https://doi.org/10.1016/j.bbe.2016.09.003>
- Anirudhan TS, Nair AS, Parvathy J (2016) Extended wear therapeutic contact lens fabricated from timolol imprinted carboxymethyl chitosan-g-hydroxy ethyl methacrylate-g-poly acrylamide as a onetime medication for glaucoma. *Eur J Pharm Biopharm* 109:61–71. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2016.09.010>
- Aranaz I, Mengíbar M, Harris R, Paños I, Miralles B, Acosta N, et al. (2009) Functional characterization of chitin and chitosan. *Current Chemical Biology* 3:203-30. <https://doi.org/10.2174/187231309788166415>
- Archana D, Dutta J, Dutta PK (2013) Evaluation of chitosan nano dressing for wound healing: Characterization, in vitro and in vivo studies. *Int J Biol Macromol* 57:193-203. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.03.002>
- Audigié C, Zonszain F (2002) *Biochimiestructurale*. Ed: Doin, Paris. <https://doi.org/10.3390/chemistry6040038>

Ayala GG, Malinconico M, Laurienzo P (2008) Marine derived polysaccharides for biomedical applications: chemical modification approaches. *Molecules* 13:2069–2106 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.02.016>

B

Bandiwadekar CR, Jagdale AD, Durge AS, Pachpor TA, Tupe RS (2023) Evaluation of different sugars for glycation modifications of chitosan to improve its functionality for food preservation. *Food Hydrocoll* 145:109104. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109104>

Benalaya I, Alves G, Lopes J, Silva LR (2024) A review of natural polysaccharides: Sources, characteristics, properties, food, and pharmaceutical applications. *Int J Mol Sci* 25:1322. <https://doi.org/10.3390/ijms25021322>

Benavides S, Villalobos-Carvajal R, Reyes JE (2012) Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: Effect of the crosslinking degree and oregano essential oil concentration. *J Food Eng* 110(2):232–239. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.05.023>

Benchaita H (2014) Etude de l'activité biologique des extraits polysaccharides issus de l'astragalus gombo récolté au Sahara septentrional Est algérien. Mémoire d'ingénieur d'état, université Kasdi Merbah Ouargla.

Benghanem S, Chetouani A, Elkolli M, Bounekhel M, Benachour D (2017) Grafting of Oxidized Carboxymethyl Cellulose with Hydrogen Peroxide in Presence of Cu(II) to Chitosan and Biological Elucidation. *Biocybernetics Biomed Eng* 37(1):94–102. <https://doi.org/10.1016/j.bbe.2016.09.003>

Berezhnaya YD, Kazachenko AS, Kazachenko AS, Malyar YN, Borovkova VS (2024) Sulfation of various polysaccharide structures: Different methods and perspectives. *Chemistry (Easton)* 6:640. <https://doi.org/10.3390/chemistry6040038>

Billaud C, Maraschin C, Chow YN, Chériot S, Peyrat-Maillard MN, Nicolas J (2005) Maillard reaction products as “natural antibrowning” agents in fruit and vegetable technology. *Mol Nutr Food Res* 49(7):656–662. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200400101>

- Bindu TVL, Vidyavathi M, Kavitha K, Sastry TP, Suresh Kumar RV (2010) Preparation and Evaluation of Chitosan-Gelatin Composite Films for Wound Healing Activity. *Trends BiomaterArtifOrgans* 24(3):123–130.
- Biserte G, Boolanger P, Mandel P, Polonovski J, Tayeau F (1977) *Biochimie médicale*. Ed: Masson, 60-73.
- Blois MS (1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199–1200. <https://doi.org/10.1038/1811199a0>
- Bonilla F, Chouljenko A, Lin A, Young BM, Goribidanur TS, Blake JC, et al. (2019) Chitosan and water-soluble chitosan effects on refrigerated catfish fillet quality. *Food Biosci* 31:100426. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100426>
- Borrelli RC, Fogliano V (2005) Bread crust melanoidins as potential prebiotic ingredients. *Mol Nutr Food Res* 49(7):673–678. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200500011>
- Bosch L, Alegría A, Farré R, et al. (2007) Fluorescence and color as markers for the Maillard reaction in milk-cereal based infant foods during storage. *Food Chem* 105(3):1135–1143. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.02.016>
- Bruneton J (2009) *Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales*, 3ème édition. Tec et Doc, Paris, 34–102.
- Burkatovskaya M, Castano AP, Demidova-Rice TN, Tagos GP, Hamblin MR (2008) Effect of chitosan acetate bandage on wound healing in infected and noninfected wounds in mice. *Wound Repair Regen* 16:425–431. <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2008.00382.x>

C

- Carabasa-Giribet M, Ibarz-Ribas A (2000) Kinetics of colour development in aqueous glucose systems at high temperatures. *J Food Eng* 44:181–189. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(00\)00027-3](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(00)00027-3)
- Cardoso JC, Albuquerque RLC, Padilha FF, et al. (2011) Effect of the Maillard reaction on properties of casein and casein films. *J Therm Anal Calorim* 104(1):249–254. <https://doi.org/10.1007/s10973-010-1044-x>

- Chen J, Hu Y, Zhang L, Wang Y, Wang S, Zhang Y, Guo H, Ji D, Wang Y (2017) Alginate oligosaccharide DP5 exhibits antitumor effects in osteosarcoma patients following surgery. *Front Pharmacol* 8:623. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00623>
- Chen J, Huang G (2019) Antioxidant activities of garlic polysaccharide and its phosphorylated derivative. *Int J Biol Macromol* 125:432–435. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.073>
- Chen Y, Zhang N, Chen X (2024) Structurally modified polysaccharides: physicochemical properties, biological activities, structure–activity relationship, and applications. *J Agric Food Chem* 72(7):3259–3276. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c06433>
- Chetouani A (2015) Présentée À : Doctorat En Sciences Option : Génie Des Procédés Pharmaceutiques. Elaboration et Bioévaluation de Nouvelles Classes D’Hydrogels À Base de Pectine Avant et Après Son Oxydation Effets Sur Les Comportements Physico-Chimiques et Remerciements.
- Ching SH, Bansal N, Bhandari B (2017) Alginate gel particles—a review of production techniques and physical properties. *Crit Rev Food Sci Nutr* 57:1133–1152. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.965773>
- Chung YC, Yeh JY, Tsai CF (2011) Antibacterial characteristics and activity of water-soluble chitosan derivatives prepared by the Maillard reaction. *Molecules* 16(10):8504–8514. <https://doi.org/10.3390/molecules16108504>
- Coşkun G, Karaca E, Ozyurtlu M, Özbek S, Yermezler A, Çavuşoğlu İ (2014) Histological evaluation of wound healing performance of electrospun poly (vinyl alcohol)/sodium alginate as wound dressing in vivo. *Biomed Mater Eng* 24:1527–1536. <https://doi.org/10.3233/BME-130956>
- Costa MJ, Marques AM, Pastrana LM, Teixeira JA, Sillankorva SM, Cerqueira MA (2018) Physicochemical properties of alginate-based films: effect of ionic crosslinking and mannuronic and guluronic acid ratio. *Food Hydrocoll* 81:442–448. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.03.014>

Covis R (2011) Synthèse de polysaccharides amphides à partir de dextrane appliqué à la stabulation d'émulsions directes et inverse. Thèse de Doctorat, Université de Toulouse, France.

Crizel TM, Rios AO, Alves VD, Bandarra N, Moldão-Martins M, Flôres SH (2018) Active food packaging prepared with chitosan and olive pomace. *Food Hydrocoll* 74:139–150. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.08.007>

D

Dace R, McBride E, Brooks K, Gander J, Buszko M, Doctor V (1997) Comparison of the anticoagulant action of sulfated and phosphorylated polysaccharides. *Thromb Res* 87. [https://doi.org/10.1016/S0049-3848\(97\)00110-2](https://doi.org/10.1016/S0049-3848(97)00110-2)

Danehy JP (1986) Maillard reactions: nonenzymatic browning in food systems with special reference to the development of flavor. *Adv Food Res* 30:77–138. [https://doi.org/10.1016/S0065-2628\(08\)60348-1](https://doi.org/10.1016/S0065-2628(08)60348-1)

Dash M, Chiellini F, Ottenbrite RM, Chiellini E (2011) Chitosan - a versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. *Prog Polym Sci* 36:981–1014. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.02.001>

Delattre C (2005) Stratégie d'obtention d'oligosaccharides anioniques par dégradation enzymatique de glucuronanes. Thèse de doctorat, Université d'Amiens.

Deng W, Luo J, Yan X (2020) Maillard reaction between chitosan and xylan in ionic liquids. *Ferroelectrics* 562(1):39–45. <https://doi.org/10.1080/00150193.2020.1760582>

Dhar N, Akhlaghi SP, Tam KC (2012) Biodegradable and biocompatible polyampholyte microgels derived from chitosan, carboxymethyl cellulose and modified methyl cellulose. *Carbohydr Polym* 87(1):101–109. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2005.01571.x>

Dols Pau Turon (2020) Concepts, perspectives and implications of a hybrid system made of nucleic acids biopolymers and hydroxyapatite mineral. Diss. Universitat Politècnica de Catalunya. <https://doi.org/10.5821/dissertation-2117-176431>

Doublier JL, Garnier C, Renard D, Sanchez C (2000) Protein–polysaccharide interactions. *Curr Opin Colloid Interface Sci* 5(3):202–214. [https://doi.org/10.1016/S1359-0294\(00\)00054-6](https://doi.org/10.1016/S1359-0294(00)00054-6)

Draget KI, Smidsrød O, Skjåk-Bræk G (2005) Alginates from algae. Biopolymers Online.

Drury JL, Mooney D (2003) Hydrogels for tissue engineering: scaffold design variables and applications. Biomaterials 24:4337–4351. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00340-5](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00340-5)

Dutta PK, Dutta J, Tripathi V (2004) Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications

E

Elgadir MA, Uddin MS, Ferdous S, Adam A, Chowdhury A, Sarker MZ (2014) Impact of chitosan composites and chitosan nanoparticle composites on various drug delivery systems: A review. J Food Drugs Anal 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2014.10.008>

Ezeoha SL, Ezenwanne JN (2013) Production of biodegradable plastic packaging film from cassava starch. IOSR J Eng 3(10):14–20.

F

Fan Z, Qin Y, Liu S, Xing R, Yu H, Chen X, et al. (2018) Synthesis, characterization, and antifungal evaluation of diethoxyphosphorylpolyaminoethyl chitosan derivatives. CarbohydrPolym 190:1–11. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.02.056>

Fang WS, Bi DC, Zheng RJ, Cai N, Xu H, Zhou R, Lu J, Wan M, Xu X (2017) Identification and activation of TLR4-mediated signalling pathways by alginate-derived guluronate oligosaccharide in RAW264.7 macrophages. Sci Rep UK 7:1–13.

Feng H, Fan J, Yang S, Zhao X, Yi X (2017) Antiviral activity of phosphorylated Radix Cyathulae officinalis polysaccharide against Canine Parvovirus in vitro. Int J Biol Macromol 99:511–518.

Feng Y, Li W, Wu X, He L, Ma S (2010) Rapid and efficient microwave-assisted sulfate modification of lentinan and its antioxidant and antiproliferative activities in vitro. CarbohydrPolym 82:605–612.

Fors SM, Eriksson CE (1986) Pyrazines in extruded malt. J Sci Food Agric 37(10):991–1000.

G

- Gao YL, Zhu JY (2004) Maillard reaction and flavor of meat. *Guangzhou Food Sci Technol* 20(1):91–93.
- Gavhane YN, Gurav AS, Yadav AV (2013) Chitosan and its applications: A review of literature. *Int J Res Pharm Biomed Sci* 4(1):312–331.
- Geng JT, Takahashi K, Kaido T, et al. (2019) Relationship among pH, generation of free amino acids, and Maillard browning of dried Japanese common squid *Todarodes pacificus* meat. *Food Chem* 283:324–330.
- George M, Abraham TE (2006) Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: alginate and chitosan – a review. *J Control Release* 114:1–14.
- Gerald K (1998) *Biologie cellulaire et moléculaire*. 1ère édition, De Boeck, Université Paris.
- Gombotz WR, Wee SF (1998) Protein release from alginate matrices. *Adv Drug Deliv Rev* 31:267–285.
- Gonzalez P, Lozano P, Ros G, Solano F (2023) Hyperglycemia and oxidative stress: An integral, updated and critical overview of their metabolic interconnections. *Int J Mol Sci* 24(11):9352. <https://doi.org/10.3390/ijms24119352>.
- Guo JJ, Ma LL, Shi HT, Zhu JB, Wu J, Ding ZW, et al. (2016) Alginate oligosaccharide prevents acute doxorubicin cardiotoxicity by suppressing oxidative stress and endoplasmic reticulum-mediated apoptosis. *Mar Drugs* 14(12):231. <https://doi.org/10.3390/md14120231>.
- Guo LP, Goff HD, Xu FF, Liu F, Ma JG, Chen MS, Zhong F (2020) The effect of sodium alginate on nutrient digestion and metabolic responses during both in vitro and in vivo digestion process. *Food Hydrocoll* 107. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105304>.
- Guzman AN, Gnutek H, Janik (2011) Biodegradable polymers for food packaging: factors influencing their degradation and certification types. *Chem Technol* 5:115–122.

H

- Hames B, Hooper D, Houghton J (1999) *Essential enbiochimie*. Bios Scientific Publisher Limited, 251–258.

- Han D, Zhang CH, Fauconnier ML, Jia W, Wang JF, Hu FF, et al. (2021) Characterization and comparison of flavor compounds in stewed pork with different processing methods. *LWT* 144:111229. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111229>
- Harden CJ, Richardson JC, Dettmar PW, Corfe BM, Paxman JR (2012) Anionic-gelling alginate drink attenuates postprandial glycaemia in males. *J Funct Foods* 4(1):122–128. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2011.09.002>
- Hardiansyah A, Huang LY, Yang MC, Purwasasmita BS, Liu TY, Kuo CY, et al. (2015) Novel pH-sensitive drug carriers of carboxymethyl-hexanoyl chitosan (Chitosonic® Acid) modified liposomes. *RSC Adv* 5:23134–23143. <https://doi.org/10.1039/C4RA14834G>
- Hauser C, Müller U, Sauer T, et al. (2014) Maillard reaction products as antimicrobial components for packaging films. *Food Chem* 145:608–613. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.083>
- He L, Yan X, Liang J, Li S, He H, Xiong Q, Lai X, Hou S, Huang S (2018) Comparison of different extraction methods for polysaccharides from *Dendrobium officinale* stem. *CarbohydrPolym* 198:101–108. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.06.073>
- Hentati F, Tounsi L, Djomdi D, Pierre G, Delattre C, Ursu AV, et al. (2020) Bioactive polysaccharides from seaweeds. *Molecules* 25(14):3152. <https://doi.org/10.3390/molecules25143152>
- Heyns K, Meinecke KH (1953) The formation and preparation of D-glucosamine from fructose and ammonia. *Chem Ber* 86:1453–14562.
- Hiura N, Chaki T, Ogawa H (2001) Antihypertensive effects of sodium alginate oligosaccharides. *Nippon NogeikKaishi* 75:783–785.
- Hodge JE (1953) Dehydrated foods, chemistry of browning reactions in model systems. *J Agric Food Chem* 1(15):928–943. <https://doi.org/10.1021/jf60015a004>
- Hou R, Chen J, Yue C, Li X, Liu J, Gao Z, Liu C, Lu Y, Wang D, Li H, et al. (2016) Modification of lily polysaccharide by selenylation and the immune-enhancing activity. *CarbohydrPolym* 142:73–81.

Hrynets Y, Bhattacharjee A, Betti M (2019) *Nonenzymatic Browning Reactions: Overview*. Academic Press, 233–244.

J

Jaworska M, Sakurai K, Gaudon P, Guibal E (2003) Influence of chitosan characteristics on polymer properties. I: Crystallographic properties. *Polymer Int* 52:198–205.

Jenkins AD, Kratochvíl P, Stepto RFT, Suter UW (1996) Glossary of basic terms in polymer science (IUPAC Recommendations 1996). *Pure Appl Chem* 68:2287–2311.

Ji W, Chen YY, Du JR, Yu DK, Zheng XY, Yang F, Yu CX, Li DS, Zhao CY, Qiao KY (2009) Antihypertensive effect and pharmacokinetics of low molecular mass potassium alginate. *J Sichuan Univ Med Sci Ed* 40:694–696.

Jiang J, Meng FY, He Z, Ning YL, Li XH, Song H, Wang J, Zhou R (2014) Sulfated modification of longan polysaccharide and its immunomodulatory and antitumor activity in vitro. *Int J Biol Macromol* 67:323–329.

Jin M, Shi J, Zhu W, Yao H, Wang DA (2021) Polysaccharide-based biomaterials in tissue engineering: a review. *Tissue Eng Part B Rev* 27(6):604–626. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2020.0338>

K

Karlson P (1971) *Biochimie*. 2ème édition, préface d'Adolf Butenandt Dion Paris, 277–315.

Karthik KK, Kumar PBR, Priya RV, Kumar KS, Rathore RSB (2013) Evaluation of anti-inflammatory activity of *Canthium parviflorum* by in-vitro method. *Indian J Res Pharm Biotechnol* 1(5):729–731.

Kean T, Thanou M (2010) Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan. *Adv Drug Deliv Rev* 62:3–11.

Khan G, Yadav SK, Patel RR, Kumar N, Bansal M, Mishra B (2017) Tinidazole functionalized homogeneous electrospun chitosan/poly(ϵ -caprolactone) hybrid nanofiber membrane: Development, optimization and its clinical implications. *Int J Biol Macromol* 103:1311–1326.

- Klokkevold PR, Fukayama H, Sung EC, Bertolami CN (1999) The effect of chitosan (poly-N-acetyl glucosamine) on lingual hemostasis in heparinized rabbits. *J Oral Maxillofac Surg* 57:49–52.
- Kokoulin MS, Kuzmich AS, Kalinovsky AI, Tomshich SV, Romanenko LA, Mikhailov VV, Komandrova NA (2016) Structure and anticancer activity of sulfated O-polysaccharide from marine bacterium *Cobetialitoralis* KMM 3880 T. *CarbohydrPolym* 154:55–61.
- Kraskouski A, Hileuskaya K, Nikalaichuk V, Ladutska A, Kabanava V, Yao W, You L (2022) Chitosan-based Maillard self-reaction products: Formation, characterization, antioxidant and antimicrobial potential. *CarbohydrPolym Technol Appl* 4:100257. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2022.100257>
- Kuhn R (1937) The Amadori rearrangement. *Ber Dtsch Chem Ges* 70:769–772.
- Kuijpers MJE, Heemskerk JWM, Jurk K (2022) Molecular mechanisms of hemostasis, thrombosis and thrombo-inflammation. *Int J Mol Sci* 23:5825.

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.
- Laroque D, Inisan C, Berger C, Vouland É, Dufossé L, Guérard F (2008) Kinetic study on the Maillard reaction: Consideration of sugar reactivity. *Food Chem* 111:1032–1042. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.05.033>
- Leahy MM, Reineccius GA (1989) In: *The Thermogeneration of Aromas* (C.T. Hot. Parliament, and R.C. McGorin, Eds.) ACS Symposium Series, ACS, Washington D.C. (In press).
- Lee MY, Choi D, Jang MS, et al. (2018) Biocompatible and biodegradable Fe³⁺-melanoidin chelate as a potentially safe contrast agent for liver MRI. *Bioconj Chem* 29(7):2426–2435. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.8b00331>
- Lee MK, Park I (2005) Inhibition of potato polyphenol oxidase by Maillard reaction product. *Food Chem* 91(1):57–61. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.05.046>
- Lee KY, Mooney DJ (2012) Alginate: Properties and biomedical applications. *Prog Polym Sci* 37:106–126.

- Leja K, Lewandowicz G (2010) Polymer biodegradation and biodegradable polymers – a review. *Pol J Environ Stud* 19:255–266.
- Li X, Liu SQ (2021) Effect of pH, xylose content and heating temperature on colour and flavour compound formation of enzymatically hydrolysed pork trimmings. *LWT* 150:112017. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112017>
- Li X, Shi X, Jin Y, Ding F, Du Y (2013) Controllable anti-oxidative xylan chitosan Maillard reaction products used for lipid food storage. *CarbohydrPolym* 91(1):428–433. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.08.052>
- Li X, Xu A, Xie H, Yu W, Xie W, Ma X (2010) Preparation of low molecular weight alginate by hydrogen peroxide depolymerization for tissue engineering. *CarbohydrPolym* 79:660–664. <https://doi.org/10.1002/fft2.43>
- Li Z, Gu L (2014) Fabrication of self-assembled (–)-epigallocatechin gallate (EGCG) ovalbumin-dextran conjugate nanoparticles and their transport across monolayers of human intestinal epithelial Caco-2 cells. *J Agric Food Chem* 62(6):1301–1309. <https://doi.org/10.1021/jf404621f>
- Li J, Zhuang S (2020) Antibacterial activity of chitosan and its derivatives and their interaction mechanism with bacteria: Current state and perspectives. *EurPolym J* 138:109984.
- Li R, Yi X, Yang J, Zhu Z, Wang Y, Liu X, Huang X, Wan Y, Fu X, Shu W, Zhang W, Wang Z (2022) Gut microbiome signatures in the progression of hepatitis B virus-induced liver disease. *Front Microbiol* 139:16061. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.916061>
- Li SL, Lin J, Chen XM (2014) Effect of chitosan molecular weight on the functional properties of chitosan-maltose Maillard reaction products and their application to fresh-cut *Typha latifolia* L. *CarbohydrPolym* 102:682–690.
- Li X, Wenes M, Romero P, Huang SCC, Fendt SM, Ho PC (2019) Navigating metabolic pathways to enhance antitumour immunity and immunotherapy. *Nat Rev Clin Oncol* 16:425–441.
- Liberski AR (2016) Three-dimensional printing of alginate: from seaweeds to heart valve scaffolds. *QSCI Connect* 2016(2):3. <https://doi.org/10.5339/connect.2016.3>

- Lihong F, Yi S, Weiguo X, Hua Z, Shuhua L (2012) Oxidized pectin cross-linked carboxymethyl chitosan: a new class of hydrogels. *J Biomater Sci Polym Ed* 23(16):2119–2132.
- Liu J, Liu M, He C, Song H, Chen F (2015) Effect of thermal treatment on the flavor generation from Maillard reaction of xylose and chicken peptide. *LWT Food Sci Technol* 64:316–325. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.05.061>
- Lotfy SN, Saad R, El-Massrey KF, Fadel HHM (2021) Effects of pH on headspace volatiles and properties of Maillard reaction products derived from enzymatically hydrolyzed quinoa protein-xylose model system. *LWT* 145:111328. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111328>
- Loucif K, Chetouani A, Bounekhel M, Elkolli M (2017) Alginate/gelatin crosslinked system through Maillard reaction: preparation, characterization and biological properties. *Polym Bull* 74:4899–4919. <https://doi.org/10.1007/s00289-017-1997-z>
- Lu XX, Qin L, Guo M, Geng JJ, Dong ST, Wang K, Liu M (2022) A novel alginate from *Sargassum* seaweed promotes diabetic wound healing by regulating oxidative stress and angiogenesis. *CarbohydrPolym* 289:119437. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119437>

M

- Ma Y, Zhao Y, Chi Y (2019) Changes in the gel characteristics of two hen egg white powders modified by dry heating and the Maillard reaction during long-term storage. *LWT - Food Sci Technol* 109:123–129. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.04.003>
- Maciel D, Figueira P, Xiao S, et al. (2013) Redox-responsive alginate nanogels with enhanced anticancer cytotoxicity. *Biomacromolecules* 14:3140–3146.
- Maillard LC (1912) Action des acides aminés sur les sucres ; formation des mélanoidines par voie méthodique. *Compte-Rendu AcadSci* 154:66–68.
- Mansouri (2019) Présentée À : Doctorat LMD Option : Génie Des Procédés Pharmaceutiques : Isolement de nouveaux dérivés de la carboxyméthylcellulose sodique : modification chimique, couplage avec des biopolymères azotés et élucidation des comportements biologiques.

- Mansur JS, Breder MN, Mnasur MC, Azulay RD (1986) Determination of sun protection factor by spectrophotometry. *An Bras Dermatol* 61:121–124. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-34224>
- Mathur NK, Narang CK (1990) Chitin and chitosan, versatile polysaccharides from marine animals. *J Chem Educ* 67(11):938. <https://doi.org/10.1021/ed067p938>
- Martău GA, Mihai M, Vodnar DC (2019) The use of chitosan, alginate, and pectin in the biomedical and food sector—biocompatibility, bioadhesiveness, and biodegradability. *Polymers* 11:1837.
- Martinez-Gomez A, Caballero I, Blanco CA (2020) Phenols and melanoidins as natural antioxidants in beer. Structure, reactivity and antioxidant activity. *Biomolecules* 10(3). <https://doi.org/10.3390/biom10030400>
- Mesías M, Delgado-Andrade C (2017) Melanoidins as a potential functional food ingredient. *Curr Opin Food Sci* 14:37–42. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.01.007>
- Miranda Castro SP, Eva G (2012) Is chitosan a new panacea? Areas of application, in the complex world of polysaccharides. In: Karunaratne ND, editor. *INTECH Open Access*, p. 3–46.
- Mirshafiey A, Khodadadi A, Rehm BH, Khorramizadeh MR, Eslami MB, Mohammed ASA, Naveed M, Jost N (2021) Polysaccharides: classification, chemical properties, and future perspective applications in pharmacology and biological medicine. *J Polym Environ* 29:2359–2371.
- Mokrani N (2013) *Préparation Et Etude Du Comportement De Membranes Biopolymères Alginate De Sodium/Chitosane*. Thèse de Magister, Université Mohamed Bougara–Boumerdes.
- Moriya C, Shida Y, Yamane Y, Miyamoto Y, Kimura M, Huse N, Ebisawa K, Kameda Y, Nishi A, Du DD, et al. (2013) Subcutaneous administration of sodium alginate oligosaccharides prevents salt-induced hypertension in Dahl salt-sensitive rats. *Clin Exp Hypertens* 35:607–613.

Mu K, Wang S, Kitts DD (2016) Evidence to indicate that Maillard reaction products can provide selective antimicrobial activity. *Integr Food NutrMetab* 3:330–335.

N

Nagarajan S, Radhakrishnan S, Kalkura SN, Balme S, Miele P, Bechelany M (2019) Overview of protein-based biopolymers for biomedical application. *Macromol Chem Phys* 220(14):1900126.

Nahar K, Hossain MK, Khan TA (2017) Alginate and its versatile application in drug delivery. *J Pharm Sci Res* 9:606–617.

Nawrotek K, Tylman M, Rudnicka K, Balcerzak J, Kaminski K (2016) Chitosan-based hydrogel implants enriched with calcium ions intended for peripheral nervous tissue regeneration. *CarbohydrPolym* 136:764–771.

Nazeri S, Jamshidi AR, Mahmoudi M, Vojdanian M, Azarian SK, Afraei S, Mostafaei S, Hosseini M, Mirshafiey A (2019) The safety and efficacy of Guluronic acid (G2013) in ankylosing spondylitis: A randomized controlled parallel clinical trial. *Pharmacol Rep* 71:393–398.

Nooshkam M, Madadlou A (2016) Maillard conjugation of lactulose with potentially bioactive peptides. *Food Chem* 192:831–836. <https://doi.org/10.1016/j.food-chem.2015.07.094>

Nooshkam M, Varidi M, Verma DK (2020) Functional and biological properties of Maillard conjugates and their potential application in medical and food: A review. *Food Res Int* 131:109003. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109003>

Nooshkam M, Varidi M, Bashash M (2019) The Maillard reaction products as food-born antioxidant and antibrowning agents in model and real food systems. *Food Chem* 275:644–660. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.083>

O

Okamoto Y, Yano R, Miyatake K, Tomohiro I, Shigemasa Y, Minami S (2003) Effects of chitin and chitosan on blood coagulation. *CarbohydrPolym* 53:337–342.

Osterwalder U, Herzog B (2009) Sun protection factors: Worldwide confusion. *Br J Dermatol* 161(Suppl 3):13–24. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2009.09506.x>

Oyaizu M (1986) Studies on products of browning reaction: Anti-oxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr Diet* 44:307–315.

R

Rahimivand M, Tafvizi F, Noorbazargan H (2020) Synthesis and characterization of alginate nanocarrier encapsulating *Artemisia ciniformis* extract and evaluation of the cytotoxicity and apoptosis induction in AGS cell line. *Int J Biol Macromol* 158:338–357. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.006>.

Rajabi M, Ali A, McConnell M, et al. (2020) Keratinous materials: Structures and functions in biomedical applications. *Mater Sci Eng C* 110:110612.

Ramvalho J, Semelka RC, Ramalho M, et al. (2016) Gadolinium-based contrast agent accumulation and toxicity: An update. *Am J Neuroradiol* 37(7):1192–1198. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A4615>.

Ramonaitytė DT, Keršienė M, Adams A, Tehrani KA, De Kimpe N (2009) The interaction of metal ions with Maillard reaction products in a lactose–glycine model system. *Food Res Int* 42:331–336. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2008.12.008>

Rao MS, Chawla SP, Chander R, Sharma A (2011) Antioxidant potential of Maillard reaction products formed by irradiation of chitosan–glucose solution. *CarbohydrPolym* 83(2):714–719. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.08.045>

Raven PH, Evert RF, Eichhorn SE, Evrardt C (2007) *Biologie végétale*. De Boeck.

Razavi A, Saadat F (2005) Sodium alginate as a novel therapeutic option in experimental colitis. *Scand J Immunol* 61(4):316–321.

Ratner BD (2019) Biomaterials: Been there, done that, and evolving into the future. *Annu Rev Biomed Eng* 21:171–191. <https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-062117-120940>

Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26:1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)

Rehm BHA, Valla S (1997) Bacterial alginates: biosynthesis and applications. *Appl MicrobiolBiotechnol* 48:281–288.

- Reig-Vano B, Tylkowski B, Montane X, Giamberini M (2021) Alginate-based hydrogels for cancer therapy and research. *Int J Biol Macromol* 170:424–436. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.12.161>
- Rinaudo M, Pavlov G, Desbrieres J (1999) Solubilization of chitosan in strong acid medium. *Int J Polymer Anal Charact* 5:267–276.
- Riquelme N, Díaz-Calderón P, Enrione J, Matiacevich S (2015) Effect of physical state of gelatin-plasticizer based films on the occurrence of Maillard reactions. *Food Chem* 175:478–484. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.008>
- Rufián-Henares JA, Morales FJ (2006) A new application of a commercial microtiter plate-based assay for assessing the antimicrobial activity of Maillard reaction products. *Food Res Int* 39(1):33–39. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.06.002>
- Rufián-Henares JA, de la Cueva SP (2009) Antimicrobial activity of coffee melanoidins—a study of their metal-chelating properties. *J Agric Food Chem* 57(2):432–438.
- Rufián-Henares JA, Morales FJ (2007) Angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity of coffee melanoidins. *J Agric Food Chem*

S

- Sayre RM, Agin PP, LeVee GJ, Marlowe E (1979) A comparison of in vivo and in vitro testing of sunscreens formulas. *Photochem Photobiol* 29(3):559–566. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1979.tb07090.x>
- Seifert A, Freilich S, Kashi Y, Livney YD (2019) Protein-oligosaccharide conjugates as novel prebiotics. *Polymers for Adv Technol* 30(10):2577–2585.
- Sellimi S, Younes I, Ben Ayed H, Maalej H, Montero V, Rinaudo M, Dahia M, Mechichi T, Hajji M, Nasri M (2015) Structural, physicochemical and antioxidant properties of sodium alginate isolated from a Tunisian brown seaweed. *Int J Biol Macromol* 72:1358–1367.
- Shariatnia Z, Zahraee Z (2017) Controlled release of metformin from chitosan-based nanocomposite films containing mesoporous MCM-41 nanoparticles as novel drug delivery systems. *J Colloid Interface Sci* 501:60–76.

- Shen XL, Li C (2008) Lipids and meat flavor. *Meat Res* 3:25–28. DOI: 10.3969/j.issn.1000-9973.2001.08.010
- Wang J, Zhang SH (2001) The research of meat flavor's formation. *Chinese Condiment* 8:31–35.
- Shi C, Zhu Y, Ran X, Wang M, Su Y, Cheng T (2006) Therapeutic potential of chitosan and its derivatives in regenerative medicine. *J Surg Res* 133:185–192.
- Simes D, Miguel SP, Correia IJ (2018) Biofunctionalization of electrospun poly(caprolactone) fibers with Maillard reaction products for wound dressing applications. *Reactive FunctPolym* 131:191–202. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2018.07.021>
- Su JF, Huang Z, Yuan XY, et al. (2010) Structure and properties of carboxymethyl cellulose/soy protein isolate blend edible films crosslinked by Maillard reactions. *CarbohydrPolym* 79(1):145–153. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.07.035>
- Sun X, Jin X, Pan W, Wang J (2014) Syntheses of new rare earth complexes with carboxymethylated polysaccharides and evaluation of their in vitro antifungal activities. *CarbohydrPolym* 113:194–199.
- Suyatma NE (2006) Développement de films biodégradables à base de chitosane: Etudes du mélange chitosane/PLA, de la plastification et de la compatibilisation. Doctoral dissertation, Reims.
- Szekalska M, Puciłowska A, Szymańska E, Ciosek P, Winnicka K (2016) Alginate: current use and future perspectives in pharmaceutical and biomedical applications. *Int J Polym Sci* 2016:171–175.
- Szekalska M, Sosnowska K, Zakrzewska A, Kasacka I, Lewandowska A, Winnicka K (2017) The influence of chitosan cross-linking on the properties of alginate microparticles with metformin hydrochloride—in vitro and in vivo evaluation. *Molecules* 22:182–202. <https://doi.org/10.3390/molecules22010182>
- Szydłowska-Czerniak A, Dianoczki C, Recseg K, Karlovits G, Szlyk E (2008) Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta* 76:899–905. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.04.055>

T

- Tang Q, Huang G (2018) Preparation and antioxidant activities of cucurbit polysaccharide. *Int J Biol Macromol* 117:362–365. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.05.213>
- Terakado S, Ueno M, Tamura Y, Toda N, Yoshinaga M, Otsuka K, Numabe A, Kawabata Y, Murota I, Sato N, et al. (2012) Sodium alginate oligosaccharides attenuate hypertension and associated kidney damage in Dahl salt-sensitive rats fed a high-salt diet. *Clin Exp Hypertens* 34:99–106. <https://doi.org/10.3109/10641963.2011.618196>
- Tonnesen HH, Karlsen J (2002) Alginate in drug delivery systems. *Drug Dev Ind Pharm* 28:621–630. <https://doi.org/10.1081/DDC-120003853>
- Tran TN, Doan CT, Nguyen VB, Nguyen AD, Wang SL (2019) Anti-oxidant and anti-diabetes potential of water-soluble chitosan–glucose derivatives produced by Maillard reaction. *Polymers (Basel)* 11:1714. <https://doi.org/10.3390/polym11101714>
- Tusi SK, Khalaj L, Ashabi G, Kiaei M, Khodagholi F (2011) Alginate oligosaccharide protects against endoplasmic reticulum- and mitochondrial-mediated apoptotic cell death and oxidative stress. *Biomaterials* 32(23):5438–5458. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.04.024>.

U

- Umemura K, Kawai S (2008) Preparation and characterization of Maillard reacted chitosan films with hemicellulose model compounds. *J Appl Polym Sci* 108(4):2481–2487. <https://doi.org/10.1002/app.27842>.

V

- Van Dam JE, van den Broek LA, Boeriu CG (2017) Polysaccharides in human health care. *Nat Prod Commun* 12(6). <https://doi.org/10.1177/1934578X1701200604>
- Vårum KM, Antohonsen MW, Grasdalen H, Smidsrød O (1991) Determination of the degree of N-acetylation and the distribution of N-acetyl groups in partially N-deacetylated chitins (chitosans) by high-field NMR spectroscopy. *CarbohydrRes* 211:17–23. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(91\)84142-2](https://doi.org/10.1016/0008-6215(91)84142-2)

W

- Wang C, Liu Z, Xu G, et al. (2016) BSA-dextran emulsion for protection and oral delivery of curcumin. *Food Hydrocolloids* 61:11–19. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.04.037>
- Wang J, Bao A, Meng X, Guo H, Zhang Y, Zhao Y, Kong W, Liang J, Yao J, Zhang J (2018) An efficient approach to prepare sulfated polysaccharide and evaluation of anti-tumor activities in vitro. *CarbohydrPolym* 184:366–375. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.12.065>
- Wang J, Niu S, Zhao B, Luo T, Liu D, Zhang J (2014) Catalytic synthesis of sulfated polysaccharides. II: Comparative studies of solution conformation and antioxidant activities. *CarbohydrPolym* 107:221–231. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.02.074>
- Wang S, Lu A, Zhang LU, Shen M, Xu T, Zhan W, Jin H, Zhang Y, Wang W (2017) Extraction and purification of pumpkin polysaccharides and their hypoglycemic effect. *Int J Biol Macromol* 98:182–187. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.114>
- Wang WQ, Bao YH, Chen Y (2013) Characteristics and antioxidant activity of water-soluble Maillard reaction products from interactions in a whey protein isolate and sugars system. *Food Chem* 139(1–4):355–361. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.072>
- Wang X, Zhang Z, Yao Z, Zhao M, Qi H (2013) Sulfation, anticoagulant and antioxidant activities of polysaccharide from green algae *Enteromorpha linza*. *Int J Biol Macromol* 58:225–230. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.04.005>
- Wang Z, Xie J, Shen M, Nie S, Xie M (2018) Sulfated modification of polysaccharides: Synthesis, characterization and bioactivities. *Trends Food Sci Technol* 74:147–157. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.02.010>
- Wei CK, Thakur K, Liu DH, Zhang JG, Wei ZJ (2018) Enzymatic hydrolysis of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) protein and sensory characterization of Maillard reaction products. *Food Chem* 263:186–193. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.120>
- Weil J, Auwerx J, Boulanfer Y, Dali Y, Devys D, Maire M, Offner M, Oudet P, Rebel G, Rossignol J (2005) *Biochimie générale*. 10ème édition, 1–214.

Wenling C, Duohui J, Jiamou L, Yandao G, Nanming Z, Xiufang Z (2005) Effects of the degree of deacetylation on the physicochemical properties and Schwann cell affinity of chitosan films. *J Biomater Appl* 20:157–177. <https://doi.org/10.1177/0885328205049897>

Wu S, Hu J, Wei L, Du Y, Shi X, Zhang L (2014) Antioxidant and antimicrobial activity of Maillard reaction products from xylan with chitosan/chitooligomer/glucosamine hydrochloride/taurine model systems. *Food Chem* 148:196–203. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.044>

Wu X, Mao G, Zhao T, Zhao J, Li F, Liang L, Yang L (2011) Isolation, purification and in vitro anti-tumor activity of polysaccharide from *Ginkgo biloba* sarcotesta. *CarbohydrPolym* 86:1073–1076. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.04.069>

X

Xie J-H, Wang Z-J, Shen M-Y, Nie S-P, Gong B, Li H-S, Zhao Q, Li W-J, Xie M-Y (2015) Sulfated modification, characterization and antioxidant activities of polysaccharide from *Cyclocaryapaliurus*. *Food Hydrocoll* 53:7–15. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.02.018>

Xu D, Wang X, Jiang J, et al. (2012) Impact of whey protein–beet pectin conjugation on the physicochemical stability of β -carotene emulsions. *Food Hydrocolloids* 28(2):258–266. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.01.002>

Xu H, Zhang X, Karangwa E (2016) Inhibition effects of Maillard reaction products derived from L-cysteine and glucose on enzymatic browning catalyzed by mushroom tyrosinase and characterization of active compounds by partial least squares regression analysis. *RSC Adv* 6(70):65825–65836. <https://doi.org/10.1039/C6RA15769F>

Y

Yamamoto A, Itoh T, Nasu R, Nishida R (2013) Effect of sodium alginate on dextran sulfate sodium- and 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid-induced experimental colitis in mice. *Pharmacology* 92(1–2):108–116. <https://doi.org/10.1159/000353192>

Yamamoto Y, Kurachi M, Yamaguchi K, Oda T (2007) Induction of multiple cytokine secretion from RAW264.7 cells by alginate oligosaccharides. *Biosci Biotechnol Biochem* 71:238–241. <https://doi.org/10.1271/bbb.60416>

- Yang Y, Hu W, Wang X, Gu X (2007) The controlling biodegradation of chitosan fibers by N-acetylation in vitro and in vivo. *J Mater Sci Mater Med* 18:2117–2121. <https://doi.org/10.1007/s10856-007-3013-x>
- Yang T, Jia M, Zhou S, Pan F, Mei Q (2012) Antivirus and immune enhancement activities of sulfated polysaccharide from *Angelica sinensis*. *Int J Biol Macromol* 50:768–772. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2011.11.027>
- Yu Y, Song Q, Huang L, Shen M, Yu Q, Chen Y, Xie J (2020) Immunomodulatory activities of sulfated *Cyclocarya paliurus* polysaccharides with different degrees of substitution on mouse spleen lymphocytes. *J Funct Foods* 64:103706. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103706>

Z

- Zamani A, Henriksson D, Taherzadeh MJ (2010) A new foaming technique for production of super absorbents from carboxymethyl chitosan. *Carbohydr Polym* 80(4):1091–1101. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.01.029>
- Zengin G, Sarikurkcü C, Aktumsek A, Ceylan R, Ceylan O (2014) A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases, and type II diabetes. *Ind Crops Prod* 53:244–251. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.12.043>
- Zhang G, Huang G, Xiao L, Mitchell AE (2011) Determination of advanced glycation end products by LC-MS/MS in raw and roasted almonds (*Prunus dulcis*). *J Agric Food Chem* 59(22):12037–12046. <https://doi.org/10.1021/jf202515k>
- Zhang H, Chen H, Wang W, Jiao W, Chen W, Zhong Q, et al. (2020) Characterization of volatile profiles and marker substances by HS-SPME/GC-MS during the concentration of coconut jam. *Foods* 9:347. <https://doi.org/10.3390/foods9030347>
- Zhang H, Neau SH (2002) In vitro degradation of chitosan by bacterial enzymes from rat cecal and colonic contents. *Biomaterials* 23:2761–2766. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(02\)00011-X](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00011-X)

- Zhang H, Yang J, Zhao Y (2015) High intensity ultrasound assisted heating to improve solubility, antioxidant and antibacterial properties of chitosan-fructose Maillard reaction products. *LWT - Food Sci Technol* 60(1):253–262. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.07.050>
- Zhang L, Ma Y, Pan X, Chen S, Zhuang H, Wang S (2018) A composite hydrogel of chitosan/heparin/poly(γ -glutamic acid) loaded with superoxide dismutase for wound healing. *CarbohydrPolym* 180:168–174. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.10.036>
- Zhang X, Li Q, Jing H (2011) Film-forming properties of Maillard reaction products formed from whey protein and xylose and their inhibitory effect on lipid oxidation in walnut kernel. *Food Sci* 32(5):014. <https://doi.org/10.1097/RLU.0b013e3181f49ac7>.
- Zhang W, Xu P, Zhang H (2015) Pectin in cancer therapy: a review. *Trends Food Sci Technol* 44(2):258–271. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.04.001>
- Zhang X, Liu T, Wang X, Zhou L, Qi J, An S (2022) Structural characterization, antioxidant activity and anti-inflammatory of the phosphorylated polysaccharide from *Pholiotanameko*. *Front Nutr* 9:976552. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.976552>
- Zhao J, Wang T, Xie J, et al. (2019) Meat flavor generation from different composition patterns of initial Maillard stage intermediates formed in heated cysteine-xylose-glycine reaction systems. *Food Chem* 274:79–88. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.096>
- Zhao T, Zhang Q, Wang S, Qiu C, Liu Y, Su G, et al. (2018) Effects of Maillard reaction on bioactivities promotion of anchovy protein hydrolysate: The key role of MRPs and newly formed peptides with basic and aromatic amino acids. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie* 97:245–253. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.06.051>

Annexes

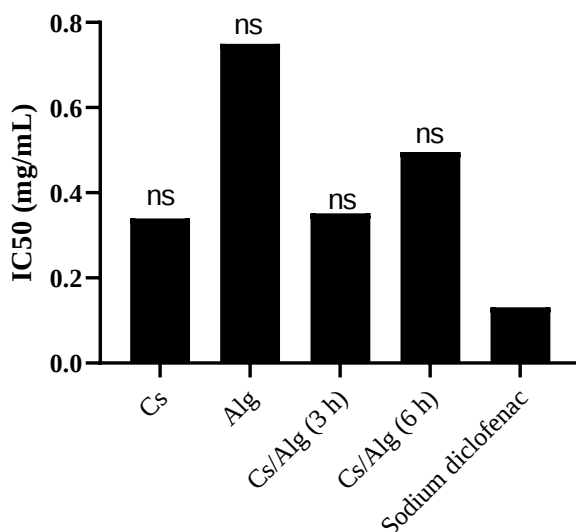


Figure A. 1 Activité anti-inflammatoire de Cs, Alg, Cs/Alg (3h) et Cs/Alg (6h). Les données sont présentées sous forme de moyennes $IC_{50} \pm SD$ ($n=3$) (ns : non significatif, *, $P \leq 0.05$, **, $P \leq 0.01$, ***, $P \leq 0.001$, ****, $P \leq 0.0001$) par rapport au diclofénac sodique en tant que standard.

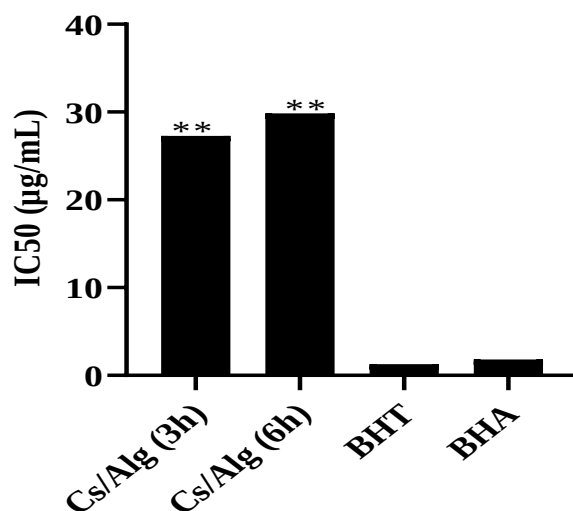


Figure A. 2 Activité de piégeage des radicaux libres (ABTS) de Cs/Alg (3h) et Cs/Alg (6h) (pour Cs et Alg, ils n'ont pas atteint l'inhibition de 50%). Les données sont présentées sous forme de moyennes $IC_{50} \pm SD$ ($n=3$) (ns : non significatif, *, $P \leq 0.05$, **, $P \leq 0.01$, ***, $P \leq 0.001$, ****, $P \leq 0.0001$) vs BHT et BHA comme standard.

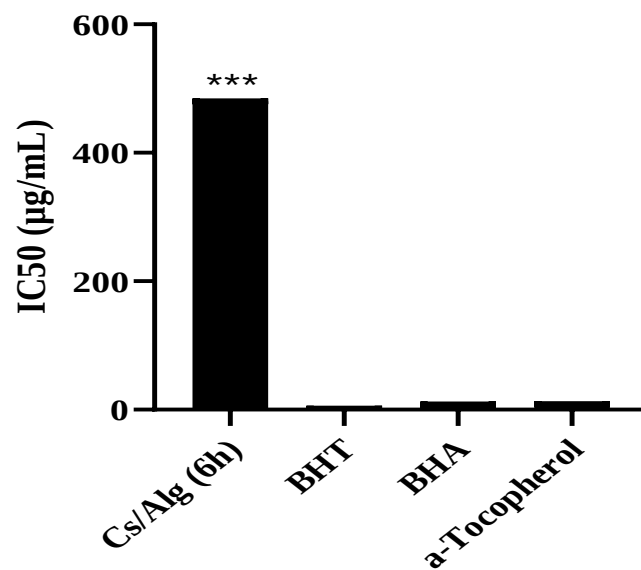


Figure A. 3 Activité de piégeage des radicaux libres (DPPH) de Cs/Alg (6h) (pour Cs, Alg et Cs/Alg (3h), ils n'ont pas atteint l'inhibition de 50%. Les données sont présentées sous forme de moyennes $IC_{50} \pm SD$ (n=3) (ns : non significatif, *, $P \leq 0.05$, **, $P \leq 0.01$, ***, $P \leq 0.001$, ****, $P \leq 0.0001$) vs BHT, BHA, et α -Tocophérol en tant que standard.

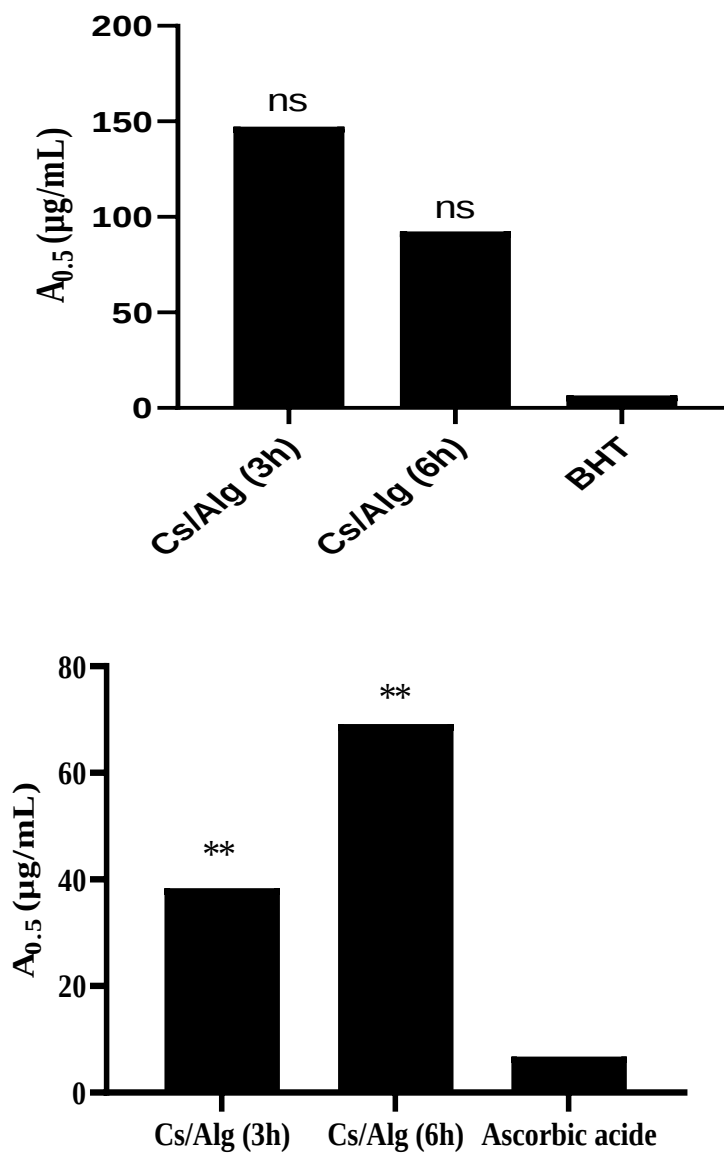


Figure A. 4 Pouvoir réducteur de FeCl₃ et phénanthroline de Cs/Alg (6h)) (pour Cs et Alg, ils n'ont pas atteint les 50% d'inhibition. Les données sont présentées sous forme de moyennes $IC_{50} \pm SD$ (n=3) (ns : non significatif, *, $P \leq 0.05$, **, $P \leq 0.01$, ***, $P \leq 0.001$, ****, $P \leq 0.0001$) par rapport au BHT et à l'acide ascorbique en tant que standard.

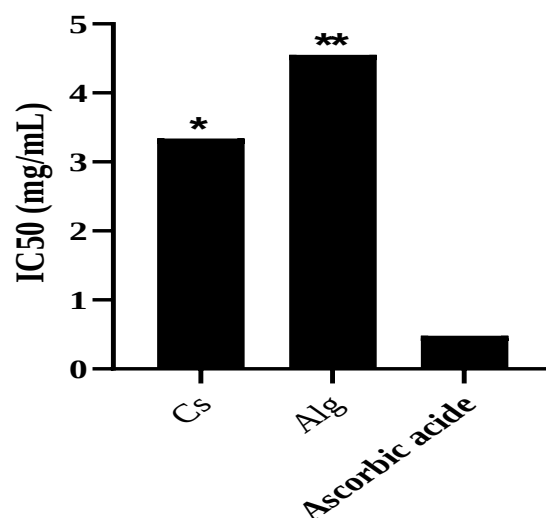


Figure A. 5 Activité de piégeage de H₂O₂ de Cs et Alg (Cs/Alg (3h) et Cs/Alg (6h) ils n'ont pas atteint l'inhibition de 50%). Les données sont présentées sous forme de moyennes IC₅₀±SD (n=3) (ns : non significatif, *, P≤0.05, **, P≤0.01, ***, P≤0.001, ****, P≤0.0001) par rapport à l'acide ascorbique en tant que standard.

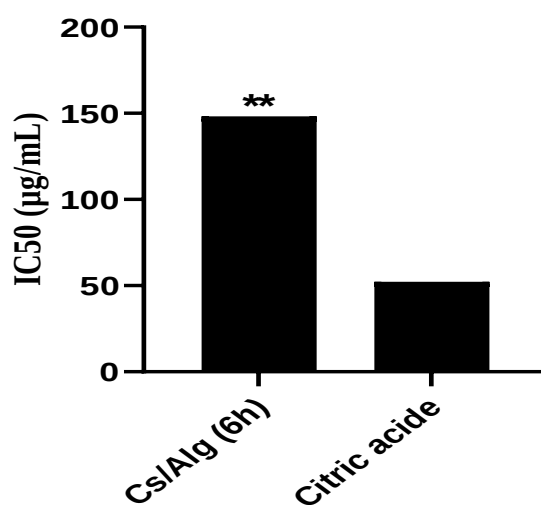


Figure A. 6 Activité anti-brunissement de Cs/Alg (6h), (Cs, Alg et Cs/Alg (3h) n'ont pas atteint les 50% d'inhibition enzymatique). Les données ont été présentées en tant que moyennes IC₅₀±SD (n=3) (ns : non significatif, *, P≤0.05, **, P≤0.01, ***, P≤0.001, ****, P≤0.0001) par rapport à l'acide citrique en tant que standard.

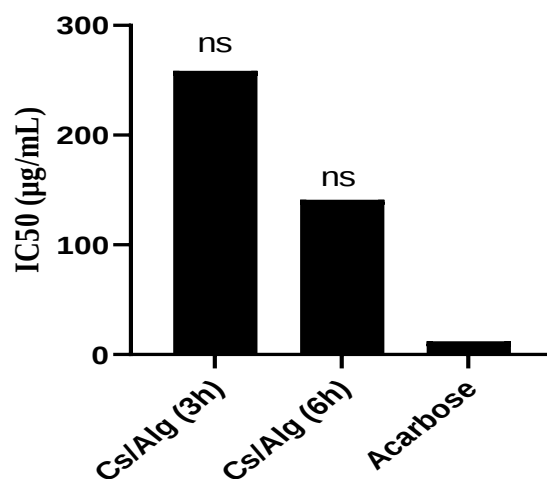


Figure A. 7 Activité antidiabétique de Cs/Alg (6h) et Cs/Alg (3h), (pour Cs et Alg, ils n'ont pas atteint les 50% d'inhibition enzymatique). Les données ont été présentées en tant que moyennes $IC_{50} \pm SD$ ($n=3$) (ns : non significatif, *, $P \leq 0.05$, **, $P \leq 0.01$, ***, $P \leq 0.001$, ****, $P \leq 0.0001$) par rapport à l'acarbose en tant que standard.

Travaux scientifiques réalisés

Publications internationales

- Mamache, M., Elkolli, M., Chetouani, A., Bensouici, C., & Bounekhel, M. (2025). Maillard reaction products between chitosan/alginate : antioxidant and enzyme inhibitory potential. Polymer Bulletin, 1-36. [oi.org/10.1007/s00289-025-05714-6](https://doi.org/10.1007/s00289-025-05714-6)

Communications internationales

- Mamache, M., Loucif ,K., Elkolli, M., « Conductivité et hématotoxicité d'un polysaccharide modifier chimiquement » séminaire international sur l'industrie et la technologie, 12-13 Mars 2021 ;Oran, Algérie.
- Mamache, M., Locutif,K., Elkolli, M., « Biological activities of oxidized alginate by sodium hypochlorite 2nd international symposium on materials Chemistry, 16-20 May 2021; Boumerdes, Algérie.

Communications nationales

- Mamache, M., et Elkolli, M., « Valorisation des propriétés chimiques et biologiques de deux biopolymères modifier par la réaction de brunissement non enzymatique»1^{er} séminaire national en génie des procédés (SNGP 2021), 18-19 Octobre 2021 ; Ouargla Algérie.
- Mamache, M., Loucif ,K., Elkolli, M.(2018), Etude des comportements chimiques de l'alginate oxydé, 6^{ème} Journée du Doctorant (JD'18). 23 Avril 2018, Université Ferhat Abbas, Sétif 1- Algérie.
- Mamache, M., Elkolli, M., Bounekhel , M., (2022), structure et activité anti-oxydant des produits venant de la réaction de brunissement non enzymatique lors d'une combinaison de deux biopolymères, 7^{ème} Journée du Doctorant (JD'22). 11 Mai 2022, Université Ferhat Abbas, Sétif 1- Algérie.

Encadrement de mémoires de fin d'études en licence

- **2017-2018** « Utilisation des polysaccharides dans le domaine pharmaceutique »
- **2022-2023** « Importance des hydrogels dans la régénération des tissus cutanés : exemple du Chitosane et Alginate »

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى استكشاف تكوين ونشاط منتجات تفاعل ميلارد الناتجة عن تفاعل الكيتوزان مع الألبينات، مع التركيز على خصائصها البنيوية والوظيفية. تم تسخين محاليل الكيتوزان والألبينات بنسبة (1:1) عند درجة حرارة 100 درجة مئوية ودرجة حموضة 4.5، وذلك لمدة 3 و6 ساعات، للحصول على منتجات تفاعل ميلارد Cs/Alg و Cs/Alg (3h) و Cs/Alg (6h). تم تأكيد التغيرات البنيوية باستخدام تقنيات الأشعة تحت الحمراء (FTIR)، والأشعة فوق البنفسجية-المرئية (UV-Vis)، والحيود بالأشعة السينية (XRD)، والتحليل الحراري الوزني (TGA)، بالإضافة إلى قياسات الجهد السطحي (Zeta potential). شملت التقييمات البيولوجية كلاً من المنتجات الجديدة والبوليمرات الأصلية، وتركزت على الأنشطة المضادة للأكسدة، والمضادة للالتهابات، والمضادة للميكروبات، حيث لوحظ تحسن ملحوظ، خاصة بعد 6 ساعات من التفاعل. كما أظهرت نتائج التوافق الدموي والنشاط التخثري سلامة هذه المنتجات للاستخدام الداخلي. علاوة على ذلك، أظهرت المنتجات نشاطاً مثبطاً ملحوظاً للإنزيمات، لا سيما إنزيم PPO وإنزيم α -amylase، حيث سجل المركب Cs/Alg (6h) أعلى فعالية في تثبيط α -mylase. كما تم تسجيل تحسن في عامل الحماية من أشعة الشمس (SPF). **الكلمات المفتاحية:** تفاعل ميلارد، الكيتوزان، الألبينات، النشاط المضاد للأكسدة، تثبيط الإنزيمات، التوافق الحيوي، الجهد السطحي (زيتا).

Résumé

Cette étude explore la formation et la bioactivité des produits de la réaction de Maillard entre le chitosane et l'alginate, en mettant l'accent sur leurs propriétés structurales et fonctionnelles. Une solution de chitosane et d'alginate (1:1, v/v) est chauffée à 100 °C, à pH 4,5, pendant 3 et 6 heures afin de former les produits Cs/Alg (3h) et Cs/Alg (6h). Les modifications structurales sont confirmées par spectroscopie IR-TF, UV-Vis, diffraction des rayons X (XRD), analyse thermogravimétrique (TGA) et mesure du potentiel zêta.

Les propriétés biologiques des composés formés, ainsi que des polymères de départ, sont évaluées, incluant les activités antioxydante, anti-inflammatoire et antibactérienne, avec des améliorations notables, notamment après 6 heures de réaction. Les résultats des tests d'hémostase et d'activité coagulante confirment la sécurité potentielle des produits pour une utilisation interne.

En outre, ces produits présentent une activité inhibitrice marquée vis-à-vis des enzymes, notamment la polyphénol oxydase (PPO) et l' α -amylase, Cs/Alg (6h) se distinguant par la plus forte inhibition de cette dernière. Une amélioration du facteur de protection solaire (SPF) est également constatée.

Mots clés : Réaction de Maillard, Chitosane, Alginate, Activité antioxydante, Inhibition enzymatique, Biocompatibilité, Potentiel zêta

Abstract

This study explores the formation and bioactivity of Maillard reaction products (MRPs) between chitosan and alginate, focusing on their structural and functional properties. Chitosan and alginate solutions (1:1, v/v) are heated at 100 °C and pH 4.5 for 3 and 6 hours to form Cs/Alg (3h) and Cs/Alg (6h) MRPs. Structural modifications are confirmed by FTIR, UV-Vis spectroscopy, X-ray diffraction (XRD), thermogravimetric analysis (TGA), and zeta potential measurements.

The biological properties of both the Synthesized compounds and the initial polymers are assessed, including antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial activities, with significant improvements observed, particularly after 6 hours of reaction. Blood compatibility and coagulation analysis results suggest their safety for internal use. The MRPs also exhibit significant enzymatic inhibitory activities, particularly against polyphenol oxidase (PPO) and α -amylase, with Cs/Alg (6h) showing the highest α -amylase inhibition. An increase in the sun protection factor (SPF) is also observed.

Keywords: Maillard reaction, Chitosan, Alginate, Antioxidant activity, Enzyme inhibition, Biocompatibility, Zeta potential