REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES



Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En chimie

Spécialité : Normes et contrôle de qualité

Par :

LICHANI Yasmine
BOUHEDDA Selma

Thème :

Synthèse d'un polymère antioxydant par greffage de l'acide férulique sur l'inuline

Soutenue publiquement le : 14/06 /2017, devant le jury composé de :

KERRACHE Sonia	Grade : MCA	Univ. Médéa	Président
ZOUAMBIA Yamina	Grade : MCA	Univ. Médéa	Examinateur
YAHOUM Madiha M.	Grade : MCB	Univ. Médéa	Examinateur
KREA Mohamed	Grade : Professeur	Univ. Médéa	Encadreur
TERKMANE Naila	Grade : MAB	Univ. Médéa	Co-encadreur

Année universitaire 2016/2017

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous devons remercier Allah, Le tout Puissant, le sage, l'omniscient, l'omnipotent, à lui les noms parfaits, qui nous a donné la santé, la force, la volonté et le savoir durant la réalisation de ce présent mémoire et nous a accordé son soutien durant les périodes les plus Difficiles.

Nous tenons à remercier nos chers parents.

*Nous adressons nos remerciements les plus sincères à notre encadreur de mémoire, Pr.**KREA Mohamed**, et à notre co-encadreur de mémoire, Dr.**TERKMANE Naila,** de nous avoir proposé et dirigé ce travail, leurs encouragements, leurs rigueurs et conseils nous a permis de mener à bien ce travail. Nous les remercions pour la confiance qu'ils ont su nous témoigner.*

Nous exprimons nos remerciements les plus dévoués aux membres de jury qui nous ont honorées en acceptant d'évaluer ce travail.

Enfin nous tenons à adresser nos vifs remerciements à M^elle^ ZOUAMBIA .Y, YOUSSEF TOUMI .K, KARMET SAID.H et M^elle^ BOUDEKANI.M.

Ce serait manquer à un devoir très important de ne pas remercier l'ensemble des membres du laboratoire de recherche scientifique.

Enfin, que tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail, soient assurés de notre profonde sympathie.

Dédicaces

Je dédie ce travail

A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour

A ceux qui m'ont encouragé dans mes moments les plus difficiles

A ceux qui m'ont fait confiance, qui m'ont soutenu sans faille dans tous mes projets et qui ont toujours accepté mes choix

A mes parents, cette réussite est la vôtre.

Je le dédie à mes sœurs adorées « Amel, Nafissa, Amina et Hayet » pour leur amour et leur support continu, et à mes frères chéris « Yacine, Ibrahim et Amine» et à mes adorables neveu et nièce

Djawed et Allaa.

A Zakaria pour sa patience et présence.

A toute ma famille.

A Mounia qui m'est chère.

En fin, à mes amis de la promotion 2016-2017.

LICHANI Yasmine.

ملخص

تمت أسترة الاينولين في وسط مائي باستخدام زوجين الأكسدة و الارجاع حمض الأسكوربيك/ماء الاوكسجين كمنشط للتفاعل . تم تحسين التغيير الكميائي من خلال تغيير المؤشرات : النسبة المولية اينولين/حمض الفيرليك، عدد مولات ماء الاوكسجين و حمض الأسكوربيك، وقت و درجة حرارة التفاعل من أجل تعزيز النشاط المضاد للأكسدة للمشتقات المصنعة. لقد تم الحصول على 91.61 % من للنشاط المضاد للأكسدة للقيم المثلى التالية : النسبة المولية اينولين/ حمض الفيرليك الموافقة لـ2.5، عدد مولات تقدر ب $5.55.10^{-3}$ مول من H_2O_2، وعدد مولات تقدر ب $8.35.10^{-3}$ مول من حمض الأسكوربيك، مدة التفاعل تقدر ب 6 ساعات في درجة حرارة تقدر ب 25 درجة مئوية. و تعتبر هذه القيم هي المثلى. تم تقييم الخصائص الفيزيائية للمشتقات المتحصل عليها بتقنية الأشعة تحت الحمراء و بقياس الخاصية المضادة للأكسدة.

كلمات مفتاحية: الاينولين , التغيير الكميائي, حمض الفيرليك , مضاد للأكسدة.

Résumé

L'estérification de l'inuline avec l'Acide Férulique en phase aqueuse et en utilisant le couple d'oxydo-réduction acide ascorbique/peroxyde d'hydrogène comme initiateur de réaction a été réalisé dans cette étude. Cette modification est optimisée en variant les paramètres : rapport molaire inuline/AF, nombre de mole de H_2O_2, et de l'acide ascorbique, le temps ainsi que la température de la réaction afin de rehausser l'activité anti-oxydante du couple synthétisé. Une activité anti-oxydante de 91.61% est obtenue pour les valeurs optimales suivantes : un rapport molaire inuline/AF de 2.5, un nombre de mole de $5.55.10^{-3}$ en H_2O_2, un nombre de mole de $8.35.10^{-3}$ en acide ascorbique et un temps de réaction de 6h à la température de 25°C. Les propriétés physico-chimiques des dérivés obtenus ont été évaluées par spectroscopie infra-rouge à transformée de Fourier, et par mesure de la propriété antioxydant.

Mots clés : Inuline, Modification chimique, Acide férulique, Antioxydant.

Summary

Esterification of inulin with ferulic acid (AF) in the aqueous phase using the oxidation-reduction couple ascorbic acid / hydrogen peroxide as reaction initiator was carried out in this study. This modification is optimized by varying the following parameters: molar ratio inulin / AF, number of mole of H_2O_2, and ascorbic acid, time and reaction temperature in order to enhance the antioxidant activity of the synthesized couple. An antioxidant activity of 91.61% is obtained for the following optimal values: an inulin / AF molar ratio of 2.5, a mole number

of $5.55.10^{-3}$ H_2O_2, of acid Ascorbic acid and a reaction time of 6 h at a temperature of 25°C. The physicochemical properties of the obtained derivatives were evaluated by infrared spectroscopy with a Fourier transform, and by a measurement of antioxidant property.

Key words: Inulin, chemical modification, ferulic acid, grafting, antioxidant.

Merci

ALLAH (MON DIEU)

De m'avoir donnée la capacité d'écrire et de réfléchir et de réfléchir

La force d'y croire la patience d'aller jusqu'au bout du rêve

Je dédie ce travail a :

Ma chère mère et mon cher père

A mes frères et ma sœur

A tous mes amis et collègues

BOUHEDDA Selma

Sommaire

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Liste des Abréviation et symboles

Introduction générale ……1

Chapitre 1 : L'inuline …….....3

1.1. Généralité……..……..3

1.2. Structure……..3

1.3. Sources de l'inuline…….....5

1.4. Propriétés de l'inuline……...……...……...5

1.4.1. Propriétés physico-chimiques……...…….....….6

1.4.1.1. Solubilité ……..…....……...……6

1.4.1.2. Degré de polymérisation (DP) ……..……..6

1.4.1.3. Viscosité……..……..7

1.4.1.4. Stabilité à la chaleur .....….7

1.4.1.5. Stabilité aux acides …….....7

1.4.2. Propriétés diététiques ……...…….…….....7

1.5. Les applications de l'inuline …….....8

1.5.1. Applications alimentaires…….8

1.5.2. Applications pharmaceutiques……..……....……...8

1.5.3. Applications environnementales ……..……....9

1.6. Conclusion……....10

Chapitre 2 : Modification chimique de l'inuline……11

2.1. Introduction……11

2.2. La modification neutre……...……11

2.2.1 La réduction de l'inuline……...…11

2.2.2 L'estérification de l'inuline…….….12

2.2.3 Ethérification de l'inuline ……....….13

2.2.4 Inuline dialdéhydée……16

2.2.5 Carbamate d'inuline…….……16

2.2.6 Inuline méthylée……...17

2.2.7 Carbonate d'inuline…….….18

2.2.8 Synthèse de l'inuline O-cyanoéthylée…….….18

2.2.8.1 Réduction de l'inuline O- cyanoéthylée…….…..……19

2.2.8.2 Synthèse d'O-3-amino-3-oxopropyle d'inuline ……..20

2.2.8.3 Synthèse de l'inuline-O-carboxyéthyle ……...……21

2.2.8.4 Synthèse d'inuline-O-3-hydroxyimine-3-aminopropyle ……22

2.3. Modification anionique…….…..23

2.3.1 Synthèse de l'inuline-O-carboxyméthyle…….….23

2.3.2. Oxydation de l'inuline…….……..……..…24

2.3.2.1 Oxydation sélective du groupement hydroxyle primaire …….24

2.3.2.2. Oxydation à l'aide du catalyseur Pt …….….25

2.3.2.3. Oxydation glycolique ……....……...25

2.3.3. Synthèse des phosphates d'inuline……..27

2.3.4. Synthèse des agents complexant dérivés de l'inuline oxydée…….27

2.4 Modification cationique ……...…….…...29

2.5 Conclusion……..……32

Chapitre 3 : Matériel et méthodes…….....……33

3.1. Introduction ……..……33

3.2. Produits et matériel utilisés……...…….……33

3.2.1. Produits chimiques utilisés……...……....33

3.2.2. Appareillages utilisés …….…….….33

3.3. Acide férulique :……..…….….34

3.4. Méthodes…….....34

3.4.1. Procédure de modification…….....34

3.4.2. Optimisation de la modification de l'inuline……...35

3.4.2.1. Etude du rapport molaire inuline/AF……...……36

3.4.2.2. Influence de H2O2……..……36

3.4.2.3. Variation de la concentration de l'acide ascorbique…….....36

3.4.2.4. Effet de temps de réaction…….……....36

3.4.2.5. Effet de température……37

3.4.3. Détermination de l'activité antioxydante……..…37

3.4.3.1. Protocole opératoire……...…….37

3.5. Caractérisation des dérivés obtenus……..38

3.5.1. Analyse par spectroscopie infrarouge (FTIR)……..38

3.5.2. Détermination de l'activité anioxydante……..…38

3.5.3. Solubilité de dérivé inuline-AF…….39

Chapitre 4 : Résultats et discussion……...…….……40

4.1. Synthèse des conjugués antioxydants-polysaccharides greffés……....40

4.2. Pouvoir antioxydant……..……...42

4.3. Optimisation de la modification chimique……..……...……43

4.3.1. Etude de l'influence du rapport molaire inuline/AF……43

4.3.2. Influence de la concentration de H2O2……..…….....44

4.3.3. Influence de la concentration de l'acide ascorbique……...….45

4.3.4. Effet de temps sur la réaction…….……..…46

4.3.5. Effet de température…….…..……..……..……..47

4.4. Caractérisation du dérivé Inuline-Acide férulique……...……47

4.4.1. Analyse FT-IR…….…….…….…..48

4.4.2. Détermination de la concentration inhibitrice IC50……...….51

4.4.3. Solubilité de l'inuline-AF……...……..52

Conclusion générale ……...……...54

Références bibliographiques

Liste des Tableaux

Tableau 1.1 : Teneur en inuline (% du poids frais) de plantes utilisées dans l'alimentation humaine 5

Tableau1.2 : Solubilité des inuline à différents DP dans l'eau distillée à différentes températures 6

Tableau 3.1: Principaux produits utilisés 33

Tableau 3.2: Quantités d'AF utilisées 36

Tableau 3.3: Volumes de H2O2 utilisés 36

Tableau 3.4: Quantités de l'acide ascorbiques (AAs) utilisées 36

Tableau 4 .1: Conditions optimales de la modification chimique de l'inuline 47

Liste des Figures

Figure 1.1: Structure chimique de l'inuline (a) GFn, (b) Fn avec n est le degré de polymérisation ou le nombre d'unités β-D fructofuranose 4

Figure 2. 1: Estérification de l'inuline..... 12

Figure 2. 2:Estérification de l'inuline à l'aide d'esters méthyliques d'acides gras 13

Figure 2. 3: synthèse de l'inuline dialdéhydée..... 16

Figure 2. 4: synthèse de Carbamate d'inuline 17

Figure 2. 5: Synthèse de l'inuline méthylée 17

Figure 2. 6: Synthèse de Carbonate d'inuline 18

Figure 2. 7: Réduction de l'inuline O- cyanoéthylée 19

Figure 2. 8: Synthèse d'inuline-O-3-hydroxyimine-3-aminopropyle 22

Figure 2. 9: Synthèse de l'inuline-O-carboxyméthyle 23

Figure 2. 10: Structure du 6-carboxy-inuline 25

Figure 2. 11: Réactions d'oxydation de l'inuline à l'aide du catalyseur Pt..... 25

Figure 2. 12: Synthèse de phosphates d'inuline 27

Figure 2. 13: Synthèse des agents complexant dérivés de l'inuline oxydée 29

Figure 2. 14: Synthèse de l'inuline réticulée 31

Figure 3. 1: Structure de l'acide férulique..... 34

Figure 3. 2: Schéma du protocole de modification d'inuline 35

Figure 3. 3: Protocole de mesure de l'activité antioxydante 38

Figure 4.1: Réaction entre l'acide ascorbique et le peroxyde d'hydrogène 40

Figure 4. 2: Représentation schématique de l'activation de l'inuline en position C6 (macro-radical d'inuline) 41

Figure 4.3: Mécanisme d'insertion de l'acide férulique (AF) sur la chaine d'Inuline[20] 41

Figure 4.4: Structure chimique du radical libre DPPH• 42

Figure 4.5: réduction du radical DPPH 42

Figure 4.6: Variation de l'activité anti-oxydante (taux d'inhibition) en fonction de la concentration de l'acide férulique. 43

Figure 4.7: variation du taux d'inhibition en fonction du rapport molaire inuline/AF 44

Figure 4.8: Variation de taux d'inhibition en fonction de nombre de mole du H_2O_2 45

Figure 4.9: Variation de taux d'inhibition en fonction de nombre de mole de l'acide ascorbique..... 45

Figure 4.10: Variation de taux d'inhibition en fonction de temps de réaction..... 46

Figure 4.11: Variation de taux d'inhibition en fonction de Température de réaction..... 47

Figure 4.12: Spectre FTIR de l'inuline commerciale..... 48

Figure 4.13: Spectre FTIR de l'acide férulique..... 49

Figure 4.14: Spectre FTIR de dérivé inuline-AF 50

Figure 4.15: Superposition des trois spectres..... 50

Figure 4.16: Variation de taux d'inhibition en fonction de la concentration du dérivé inuline-AF..... 51

Figure 4.17 : solubilité de l'inuline et inuline-AF dans: (a) solution d'acide acétique (1%), (b) solution NaOH (1%), (c) mélange acide acétique/ethanol (50:50), (d) eau distillée 53

Listes des abréviations et symboles

Listes des abréviations et symboles

AAs	Acide ascorbique
AF	Acide férulique
Ca	Calcium
CMI	Inuline carboxyméthylée
DMA	Diméthyle acétamide
DMSO	Diméthyle sulfoxyde
DO	Densité optique
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
DP	Degré de polymérisation
DS	Degré de substitution
EDTA	Ethylène diaminotetracétique
FT-IR	Spectroscopie infra-rouge
H_2O_2	Peroxyde d'hydrogène
I	Taux d'inhibition (%)
IC50	Concentration inhibitrice
In	Inuline
m	Masse (g)
MCA	Acide monochloroacétique
n	Nombre de mole (mol)
NMP	N-Méthyl-2-pyrrolidone
ppm	Particules par million
Pt	Platine
R	Rendement (%)
RM	Rapport molaire
T	Température (°C)
TEMPO	2,2,6,6-tétraméthyle-1-pipéridinyloxy

Introduction générale

Introduction générale

Les polysaccharides sont des polymères naturels qui ont connu, pendant les dernières années un regain d'intérêt, du fait de leur biocompatibilité et leur biodégradabilité **[1].** Ils représentent un stock d'alimentation naturelle et renouvelable pour la synthèse de matériaux macromoléculaires de haute performance**[2]** .Ces macromolécules proviennent de sources renouvelables et abondantes telles que les végétaux (cellulose, amidon, alginate …), les animaux (chitine, acidehyaluronique…), et les microorganismes (pullulane, dextrane….).

Ces biopolymères adoptent une immense diversité structurale du fait des unités monomériques qui les composent, et de nombreuses variétés de connexions possibles entre elles. Même une infime variation de structure procure des propriétés radicalement différentes à ces biopolymères.

Cette formidable diversité structurale est d'ailleurs associée à un spectre de fonctions biologiques tout aussi large, ces polysaccharides pouvant jouer un rôle de structure, constituer des réserves énergétiques, ou intervenir dans des phénomènes d'adhésion ou de signalisation cellulaire, par exemple. De même, grâce à la diversité de leurs structures moléculaires, ces polysaccharides possèdent souvent des propriétés physico-chimiques distinctes pouvant donner lieu à des applications industrielles variées, répondant aux besoins des consommateurs et de l'industrie, et présentant généralement l'avantage d'être biodégradables et biocompatibles.

La modification de polymères naturels est une voie prometteuse pour l'élaboration de nouveaux matériaux avec des applications potentielles. Il existe de nombreux rapports dans la littérature sur la modification des polysaccharides qui emploient diverses stratégies, tels que le greffage, la réticulation, etc.

Le greffage représente un procédé de modification qui permet d'améliorer les propriétés des polymères naturels ou synthétiques. Il est l'un des moyens les plus connus dans la modification des polysaccharides. Le greffage de molécules sur une structure polysaccharidique permet d'obtenir de nouveaux matériaux fonctionnalisés caractérisés par la présence des propriétés à la fois de la molécule greffée et du polymère naturel.

Notre travail a été réalisé au niveau de laboratoire de recherche Matériaux et Environnement (LME) de l'université Yahia Fares de Médéa, il a pour objectif l'optimisation de la modification chimique de l'inuline par le greffage chimique d'une molécule anti-oxydante (acide férulique).

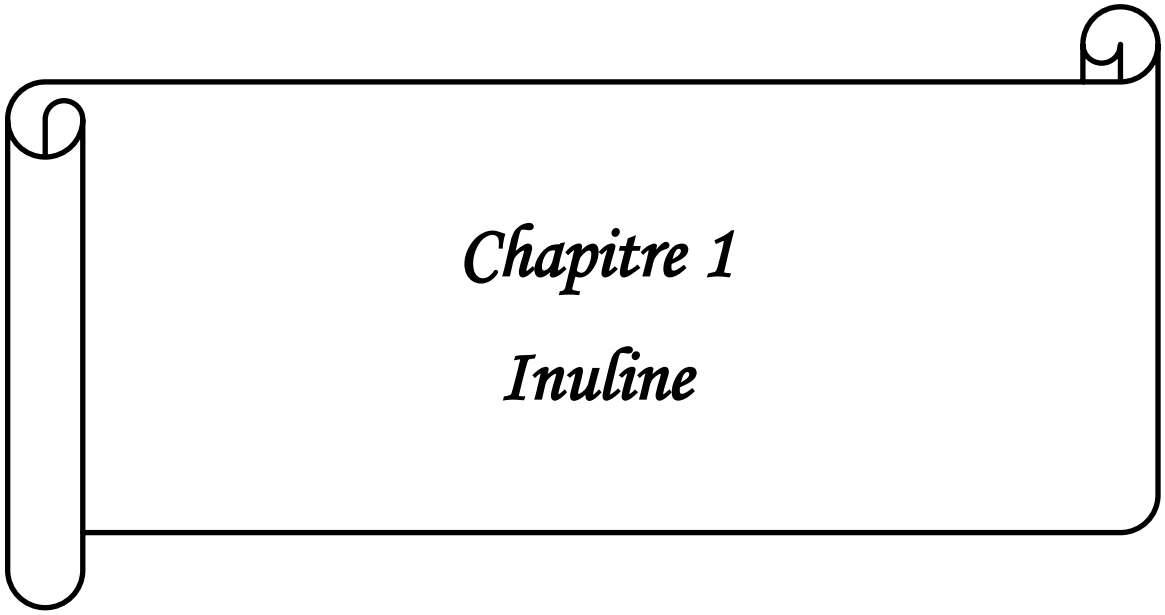
Le manuscrit comprend quatre chapitres, le premier consiste à une mise au point d'une recherche bibliographique sur l'inuline, en indiquant sa structure, son origine, ses propriétés physico-chimiqes puis son application dans différents domaines.

Le deuxième chapitre intitulé modification chimique de l'inuline dans lequel on présentera les différents procédés de fonctionnalisation de ce polysaccharide.

Le troisième chapitre présente le matériel et les méthodes utilisées pour réaliser ce travail.

Le dernier chapitre est consacré à une étude expérimentale portant sur l'étude des différents paramètres influençant l'estérification de l'inuline tels que le rapport molaire inuline/Acide Férulique, nombre de moles du peroxyde d'hydrogène, nombre de moles de l'acide ascorbique, temps ainsi que la température de réaction.

Enfin, une conclusion générale dans laquelle une récapitulation des résultats obtenus montrant les points les plus importants qui ressortent au terme de cette étude.



Chapitre 1

Inuline

Chapitre 1 : L'inuline

1.1. Généralité

L'inuline fut isolée pour la 1ère fois au début des années 1800 par le scientifique allemand Valentine Rose à partir des racines d'*Inula helenium* (Grande Aunée), nommée ensuite inuline par Thomson en 1817**[3]**.

L'inuline est un mélange de polysaccharides produit naturellement par de nombreux types de plantes. Elles appartiennent à une classe de fibres alimentaires appelée Fructane. Elle se trouve dans les végétaux appartenant à la famille des Astéracées telles que les bulbes de dahlia, les racines de chicorée et les artichauts**[4]**. Sa formule chimique brute est de $C_{6n}H_{10n+2}O_{5n+1}$.

Ce biopolymère naturel est largement distribué dans certaines plantes comestibles y compris les asperges, l'ail, le poireau, l'oignon et l'artichaut comme carbohydrate de stockage, où il est stocké à l'état dissous dans les vacuoles. En effet, elle représente le réserve glucidique des végétaux qui n'accumulent pas l'amidon**[5]**. Il est également possible que l'inuline joue un rôle en tant que cryo-protecteur ou osmo-régulateur. Toutes ces fonctions doivent permettre à la plante (vivace ou bisannuelle) de survivre en cas de manque d'eau, que ce soit par le froid ou par la sécheresse**[6]**.

L'inuline est également produite par des micro-organismes naturels tel que, le *Streptococcus mutans*. D'autres micro-organismes qui se sont révélés être en mesure de produire de l'inuline dans le laboratoire sont des espèces fongiques, en particulier les membres de la famille d'Aspergillus **[5]**.

1.2. Structure

L'inuline est un mélange d'unités monomériques linéaires de fructose et d'oligomères de fructose, dans lesquels les unités de fructose sont reliées entre elles par des liaisons β (2→1). Il y a souvent une molécule de glucose à l'extrémité de chacune de ces chaînes de fructose, attaché par une liaison α (1→2). Les chaînes de fructoses sont constituées de 2 à 60 unités. Ce mélange est appelé un mélange polydispersé de fructane β (2→1). L'inuline peut être fractionnée en une courte chaîne par fermentation lente, ou en oligofructose par fermentation rapide.

L'inuline extraite de la chicorée est constituée à la fois de chaînes de fructose simple (Fn) et de chaînes de fructose terminée par une unité de glucose (GFn) comme l'indique la Figure1.1**[7]**.

Les unités de fructose dans le polysaccharide sont toutes présentes sous la forme furanose, sauf lorsque l'extrémité réductrice consiste en fructose. Dans ce cas, le fructose terminal est présent sous la forme pyranose donnant ainsi des propriétés réductrices à l'inuline. En général, les propriétés de réduction de l'inuline sont rares car la terminaison de chaîne par la forme glucopyranose est dominante **[5]**.

Les fructo-oligosaccharides ou oligofructoses (FOS) sont issus de la dégradation de l'inuline ou ils sont présents tels quels dans les végétaux. Ils sont définis comme des oligosaccharides de fructose contenant de 2 à 10 monosaccharides reliés par des liaisons glycosidiques.

La structure de l'inuline dépend de nombreux facteurs, tels que la source végétale à partir de laquelle la substance est extraite, le climat, les conditions de croissance, la maturité au moment de la récolte et le temps de stockage après la récolte, par exemple le stockage des tubercules de topinambour à basse température (4°C) pendant 34 jours augmente le contenu en fructo-oligosaccharide**[8]** .

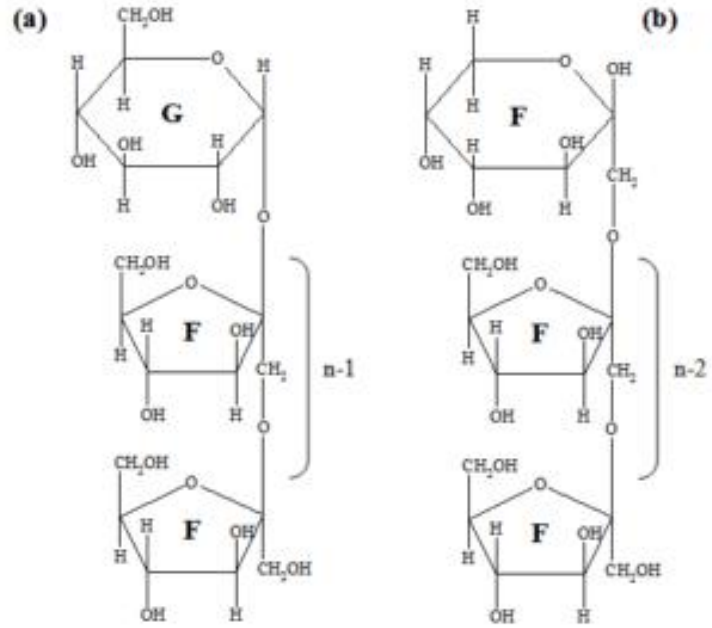


Figure 1.1: Structure chimique de l'inuline (a) GFn , (b) Fn avec n est le degré de polymérisation ou le nombre d'unités β-D fructofuranose **[4]**

1.3. Sources de l'inuline

L'inuline est particulièrement abondante dans la racine de chicorée dont elle est extraite industriellement.

On la trouve aussi dans d'autres végétaux appartenant à la famille des Asteraceae tels que l'artichaut (*Cynara cardunculus* var. scolymus), les tubercules de topinambour (*Helianthus tuberosus*), les bulbes de dahlias et la grande aunée (*Inula helenium*). En fin de saison, lors des premières gelées, l'inuline subit une hydrolyse, ce qui entraîne une baisse de son rendement **[9]**.

Plusieurs autres végétaux renferment de l'inuline (ail, asperge, poireau, topinambour, etc.), mais c'est essentiellement de la racine de chicorée que l'inuline est extraite à des fins commerciales (Tableau 1.1). En soumettant l'inuline à un procédé d'hydrolyse supplémentaire, on obtient un produit purifié qui aurait des effets plus spécifiques : l'oligofructose, aussi connu sous le nom de « fructo-oligosaccharide » (FOS) **[10]**

Tableau 1. 1: Teneur en inuline (% du poids frais) de plantes utilisées dans l'alimentation humaine [6]

Source	Teneur en inuline	Gamme de Degré de Polymérisation
La banane (*Musaca vendishii)*	0.3-0.7	2-5
L'orge (*hordeum vulgare*)	0.5-1.5	Pas de donnée
Chicorée *(Cichorium intybus)*	15-20	2-60
L'ail *(Allium sativum)*	9-16	2-5
L'artichaut *(Cynara scolymus)*	2-3	2-50
Topinambour *(Helianthus tuberosus)*	3-10	2-50
Poireau *(Alliumam peloprasum)*	16-20	Pas de donnée
L'oignon (*Allium cepa)*	1-8	2-12
Le blé (*Triticum aestivum)*	1-4	2-8

1.4. Propriétés de l'inuline

L'inuline est une substance très hétérogène qui est composée de molécules allant dans le degré de polymérisation (DP) jusqu'à 70. En outre, certaines molécules sont dépourvues de l'unité glycopyranose terminale et d'autres présentent un degré très limité de ramification. Les propriétés de l'inuline diffèrent avec sa composition, ceci est particulièrement important avec l'inuline en ce que les facteurs DP varient d'une espèce à l'autre, avec la maturité de l'organe de stockage, les conditions de distribution, les temps d'entreposage et d'autres facteurs **[3]**.

1.4.1. Propriétés physico-chimiques

1.4.1.1. Solubilité

L'inuline se présente sous forme de poudre de couleur blanche, inodore et insipide. Elle est difficilement soluble dans l'eau froide, mais peut être dissoute dans l'eau à une température entre 40-60°C. Selon Silva**[11]**, l'inuline est soluble dans l'eau mais cette solubilité est dépendante de la température. A 10 °C la solubilité est d'environ 6% tandis qu'à 90°C, elle est d'environ 35%. Kim et *al.* **[12]** Ont rapporté qu'à 25°C, l'inuline est presque insoluble dans l'eau mais sa solubilité augmente de manière significative lorsque la température augmente. Elle est insoluble dans l'éthanol et le chloroforme. En effet, Rogge et Stevens **[13]** expliquent que la solubilité de celle-ci dans les solvants organiques est limitée à la pyridine, le diméthylformamide (DMF), le diméthylsulfoxyde (DMSO), la N méthylpyrrolidone (NMP) et le diméthylacétamide (DMA) (Tableau 1. 1).

Tableau 1. 1: Solubilité de l'inuline à différents DP dans l'eau distillée à différentes températures **[14]**

Degré de Polymérisation	Solubilité	Température (°C)
4	>75% (p/v)	25
8-12	17.4% (p/p)	37
12	12% (p/v)	25
25	2.5% (p/v)	25
25	10% (p/p)	30

1.4.1.2. Degré de polymérisation (DP)

Le degré de polymérisation est le nombre total des unités de monomères contenu dans une macromolécule. Lorsque ce degré de polymérisation (DP) est inférieur à 10, on parle d'un oligofructose et lorsqu'il est supérieur à 10, on parle d'un polysaccharide. L'inuline native possède un DP compris entre 2 et 60 ou supérieur. Le plus haut DP des molécules d'inuline, connues chez les plantes, est présent dans les artichauts. La teneur maximale en inuline avec un haut DP est enregistrée avant la formation des fleurs (avant la fleuraison) **[4]**.

1.4.1.3. Viscosité

Les solutions de l'inuline native dans l'eau sont de très faible viscosité, et même les solutions de longues chaines ne présentent qu'une légère augmentation de la viscosité par rapport à l'inuline native **[4]**.

1.4.1.4. Stabilité à la chaleur

L'inuline est stable à des températures allant jusqu'à 140°C lorsqu'elle est dissoute à un pH proche de la neutralité et peut donc être traitée facilement dans la plupart des applications alimentaires. Elle se décompose à des températures supérieures à 140°C. Sous forme de poudre la stabilité à la chaleur est bien plus haute **[4]**.

1.4.1.5. Stabilité aux acides

Le degré d'hydrolyse dépend du pH, de la composition des produits alimentaires et la combinaison temps-température (pendant le traitement thermique ou la durée de conservation). En général, l'hydrolyse de l'inuline ne se produira pas à des niveaux de pH supérieur à 4. À des niveaux de pH inférieurs à 4.0, l'hydrolyse peut se produire avec un taux dépendant du pH et de la température. L'hydrolyse n'est pas observée à des niveaux de température en dessous de 10°C à des pH compris entre3.0 et 7.5, mais à un pH de 3.0 à 25°C environ 10% s'hydrolyse en 1 semaine **[3]**.

1.4.2. Propriétés diététiques :

Ni les enzymes de l'appareil digestif humain ni l'acidité gastrique ne peuvent dégrader la liaison β (2→1) liée les unités de fructose entre elles dans la molécule d'inuline, celle-ci peut donc être considérée comme une fibre alimentaire. Elle est fermentée par les micro-organismes spécifiques du côlon, ce qui stimule leur croissance, c'est l'effet prébiotique. Cette fermentation a pour effet de produire des acides gras à chaîne courte qui sont absorbés et métabolisés dans différentes parties du corps. En outre, cette fermentation induit un effet gonflant **[5]**.

L'inuline agit sur les systèmes immunitaire, cardiovasculaire et digestif, et a des vertus remarquables dans le traitement de l'obésité. Elle est aussi un aliment au potentiel immense pour les personnes atteintes de diabète.

La consommation d'inuline pourrait améliorer l'absorption des minéraux comme le calcium, le magnésium, le zinc, et le fer.

1.5. Les applications de l'inuline

1.5.1. Applications alimentaires

L'inuline est largement utilisée dans l'industrie alimentaire en Europe, Etats-Unis, Canada et l'Indonésie en tant que composant (ingrédient) dans les produits alimentaires. Cette utilisation est basée sur ses propriétés nutritionnelles et technologiques**[15]**.

L'inuline est utilisée dans l'industrie comme ingrédient dans différentes préparations agro-alimentaires. Le DP varié conditionne la fonctionnalité. Les polymères contenant moins de dix unités de fructose, nommés fructooligosaccharides (FOS), sont utilisés comme agents sucrants. Les chaines comprenant plus de dix unités de fructose n'ont pas de pouvoir sucrant mais elles sont utilisées pour améliorer la texture des aliments ou remplacer des matières grasses.

Elle est utilisée pour produire du sirop de fructose et des FOS par hydrolyse acide ou enzymatique. Elle est utilisée dans un nombre croissant d'aliments, elle peut par exemple être trouvée dans les produits laitiers, les produits de boulangerie, boissons, céréales et barres de céréales, dans la crème glacée et produits de confiserie **[15]**. Dans les pâtes à tartiner et les fromages frais.

Les propriétés gélifiantes de l'inuline permettent de remplacer une part significative de la matière grasse et de stabiliser les émulsions, tout en améliorant la tartinabilité dans les boissons laitières, les fromages blancs, yaourts et desserts laitiers, l'ajout d'une petite quantité d'inuline apporte plus de rondeur et de crémeux ; elle facilite aussi l'élaboration des mousses et améliore leur qualité.

L'inuline peut être employée également dans des produits de charcuterie comme les saucisses ou saucissons. Hadorn et *al,* ont introduit l'inuline dans la fabrication des saucisses, les résultats obtenus montrent une réduction d'environ de 40% de matière grasse sans altérer la nature sensorielle des saucisses, mais en tenant compte d'une augmentation modérée des coûts de fabrication de 5%.

1.5.2. Applications pharmaceutiques

L'inuline a aussi d'importantes applications pharmaceutiques, autant qu'excipient ou stabilisant. L'inuline peut également avoir une utilité en tant que moyen de délivrance de médicament à libération prolongée et en tant que stabilisant des médicaments et des vaccins à base de peptides et protéines. En outre l'inuline a des effets biologiques intéressantes, étant un activateur puissant du complément lorsqu'elle est sous une forme particulaire et ayant une activité anti- cancer et des propriétés immuno-modulatrices**[17]**.

L’inuline présente un code ATC (anatomique, thérapeutique et chimique) : V04CH01 **[18].**

L'inuline peut être employée dans certains protocoles de recherche afin d'apprécier très précisément la fonction rénale chez l'homme ou l'animal. En effet, cette molécule est filtrée par le glomérule et n'est pas réabsorbée, permettant de calculer, après injection d'une dose déterminée, une clairance, indice du débit de filtration des glomérules. Ce test n'est pas employé en pratique courante pour des raisons de coûts, la clairance de la créatinine suffisant largement en termes de précision.

L'inuline peut être employée au même titre que l’acide diéthylène tri-amine penta-acétique (DTPA) et l’acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) pour mesurer le volume d'eau contenu dans le secteur extracellulaire car elle est suffisamment petite pour diffuser au travers des interstices de l'endothélium capillaire **[5]**.

L’inuline est introduite aussi dans les produits cosmétiques afin de:

- ✓ Assurer un drainage et un nettoyage de la peau ;
- ✓ Lutter contre les peaux grasses, l’eczéma et les démangeaisons ;
- ✓ Hydrater, régénérer et lisser la peau.

1.5.3. Applications environnementales :

Le carboxymenthylinuline (CMI) est un dérivé de l’inuline qui peut être utilisé à la place des composés pétrochimiques tels que les polycrylaten pour éliminer les traces de calcaire et d’autres sels présents dans les systèmes d’eau. Le CMI présente de nombreux avantages par rapport à ces produit chimiques : c’est un produit biodégradable, non toxique, ne contient ni azote ni phosphate et qui est renouvelable **[8]**.

L’efficacité de CMI a été testée dans une industrie de papier a Roermond (Pays-Bas) L’adjonction de CMI aux eaux usée a sensiblement réduit les problèmes d’obstruction des tuyaux d’évacuation longs de 3Km.

1.6. Conclusion

Les polysaccharides, quelques soit leurs origines végétale ou microbienne, possèdent des propriétés physico-chimiques et des fonctionnalités variées, permettant leur utilisation dans des applications industrielles potentielles.

L’inuline est une substance naturelle qui possède un intérêt important dans de nombreux domaines (alimentaire, pharmaceutique, cosmétique et environnementale), et depuis quelques années, l’emploie de l’inuline pour ses qualités essentielles et ses propriétés nutritionnelles et fonctionnelles est en voie de développement et d’agrandissement.

Chapitre 2

Modification chimique de l'inuline

Chapitre 2 : Modification chimique de l'inuline

2.1. Introduction

Les polysaccharides neutres, macromolécules encore appelées glycanes, sont constitués par l'enchaînement d'oses. Ils présentent une grande diversité dans leur structure, aussi bien en termes d'unités oses que de nature de leurs enchaînements, longueur des chaînes, taux de ramification ... La plupart des polysaccharides naturels possèdent des masses molaires élevées (10^6g/mol). Ces polymères naturels d'origine animale, végétale ou encore bactérienne, possèdent de nombreux groupements réactifs (hydroxyle, acide carboxylique, amine) qui peuvent servir de base à une fonctionnalisation dont le but est de conférer de nouvelles propriétés aux macromolécules elles-mêmes **[19].**

La modification de polymères naturels est une voie prometteuse pour l'élaboration de nouveaux matériaux avec des applications potentielles. Les procédures traditionnelles de modification utilisent des conditions chimiques drastiques (haute température, les conditions de pH extrêmes). En outre, ces processus sont souvent effectués dans des solvants organiques, ce qui réduit l'utilisation potentielle de ces matériaux modifiés. Une des méthodes les plus prometteuses pour fonctionnaliser des matériaux polymères dans des conditions douces et biocompatibles est la procédure de greffage**[5]**.

La modification chimique de l'inuline, initiée par le travail de Dorine Verraest et Herman Van Bekkum aux Pays-Bas, et Takao Uchiyama au Japon, a été examinée par Fuchs en 1987, Verraest en 1997 et Stevens et *al.* en 2001. Ci-dessous on présentera les modifications chimiques potentielles de l'inuline**[20].**

2.2. La modification neutre

2.2.1 La réduction de l'inuline

L'inuline et ses dérivés présentent un inconvénient dans les réactions de modification en milieu alcalin en raison d'une coloration intense et d'une formation indésirable de produits secondaires. Cela provient de la présence de courtes chaînes analogues à l'inuline contenant des groupements réducteurs par exemple le glucose, le fructose et le fructosylfructose. Ces inconvénients peuvent être surmontés en traitant avant toute modification l'inuline avec un agent réducteur comme le borohydrure de sodium, l'hydrogène moléculaire ou par réduction électrochimique**[21]**.

2.2.2 L’estérification de l’inuline

En raison de l'amélioration envisagée de la solubilité, l’attention a été portée à la synthèse d'esters d'inuline. Les esters d’inuline (composé **2**) présentent des avantages importants par rapport à d'autres esters de saccharides en ce qu'ils sont plus solubles et peuvent donc être traités plus facilement par rapport aux dérivés de cellulose.

L'estérification de l'inuline (figure 2.1) est réalisée par réaction avec des chlorures d'acyle ou avec des anhydrides de certains acides carboxyliques dans lesquels la chaîne alkyle introduite peut aller de 1 à 22 atomes de carbone **[21]**, la chaîne alkyle introduite est typiquement du C12 au C22 **[22]**.

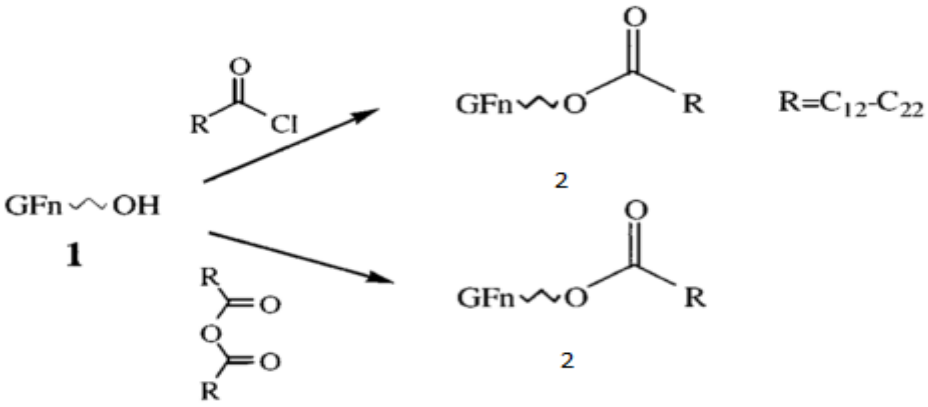


Figure 2. 1: Estérification de l’inuline

Cette réaction est habituellement effectuée dans la pyridine, le diméthyle formamide ou le diméthyle sulfoxyde. La vitesse de la réaction peut être augmentée en utilisant un catalyseur acide ou basique, par exemple la 4-diméthylamine pyridine, l'acétate de sodium, le carbonate de potassium, les résines échangeuses d'ions sous forme acide ou basique… etc**[23]**.

La variation de la longueur de la chaîne alkyle ou le degré de substitution donne des produits présentant une grande variété caractéristique. En particulier, les esters d'inuline à chaîne courte et faible degré de substitution (DS <1) sont capables de diminuer la tension superficielle des solutions aqueuses, et sont utilisés comme tensioactifs non ioniques ce qui les rend appropriés comme additifs dans les formulations détergentes. Les mêmes esters d'inuline avec un degré de substitution élevé (DS> 1) sont cependant particulièrement appropriés pour être utilisés comme plastifiants. Des esters d'inuline avec une longue chaîne alkyle peuvent être utilisés comme tensioactifs dans les détergents pour le lavage de linge et la vaisselle, dans la cosmétique, ou dans les produits pharmaceutiques comme émulsifiants. Ils sont également utilisés dans l'industrie textile comme agents de collage et dans l'industrie du papier ou de la peinture en raison de leur grande activité de surface.

Un brevet très récent décrit l'utilisation d'inulines acétylées, obtenues par réaction avec de l'anhydride acétique en présence d'acétate de sodium dans l'eau à 120°C (DS=0.8-1.6), comme activateurs de blanchiment exceptionnels comparables au tétra-acétyle éthylène diamine et ayant une meilleure biodégradabilité **[21]**.

Les esters d'inuline sont également appliqués en tant qu'agent modifiant la cristallisation, par exemple pendant le fractionnement des huiles de triglycéride, l'efficacité de la séparation est améliorée par l'ajout de ce qu'on appelle ''agent de cristallisation''.

L'estérification de l'inuline peut se faire aussi par Transestérification (Transformation d'un ester en un autre ester) a été brevetée récemment à l'aide d'esters méthyliques d'acides gras (FAME) dans le diméthylacétamide (DMA) (figure 2.2).

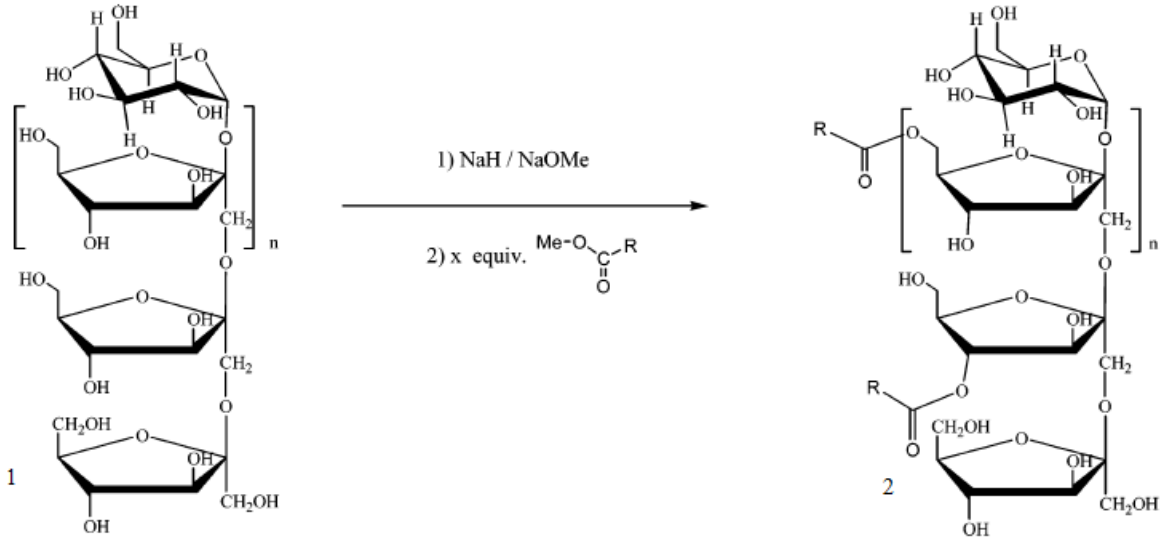
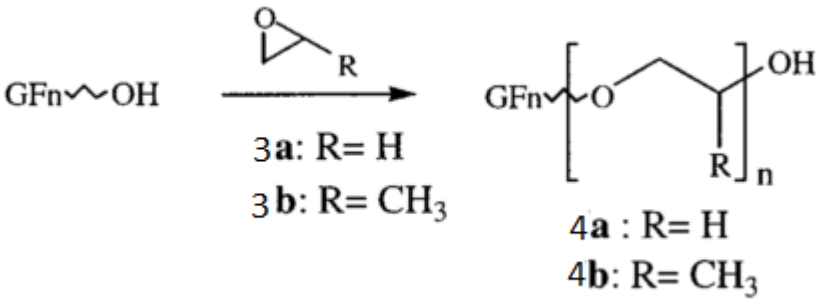


Figure 2. 2:Estérification de l'inuline à l'aide d'esters méthyliques d'acides gras

Les conditions de réaction décrites étaient très strictes, avec des réactions à 160°C pendant 6h. Steven et al. **[11]** Ont étudié la transestérification de l'inuline dans différents solvants organiques (Figure2.2) (DMSO et NMP), en utilisant différentes bases (NaH et NaMe) comme catalyseur, et ils ont trouvé que le mélange NMP avec les deux bases peut être considéré comme très utiles. Et que le NaOMe est le catalyseur préféré à l'échelle industrielle**.**

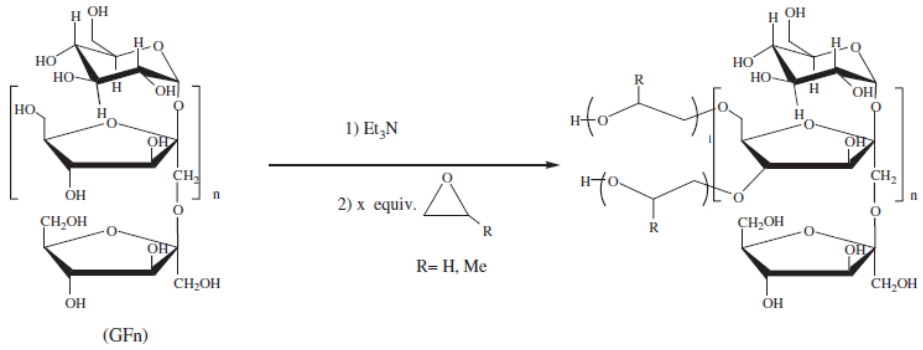
2.2.3 Ethérification de l'inuline

Dans un brevet récent, l'éthérification de l'inuline (équation 2.1) par des époxydes tels que l'oxyde d'éthylène **3**a et l'oxyde de propylène **3**b en milieu aqueux et en présence d'un catalyseur basique, principalement de l'hydroxyde de sodium 2-10% (p/p) ou d'une résine échangeuse d'ions basiques a été décrite. Cette réaction aboutie à la formation des produits éthérifiés **4** (n=1) et les dérivés o-hydroxy allyliques (n=2) **[21]**.



(2.1)

Mais cette réaction présente un désavantage de la formation de glycols polyéthylène, c'est pourquoi Rogge et al. **[10]** Ont proposé un protocole réactionnel (équation 2.2) en milieu organique N-Méthyl-2-pyrrolidone (NMP) et l'oxyde d'éthylène avec l'ajout de triéthyle amine comme catalyseur à 70°C pendant 4h. Le dérivé obtenu présente un rendement de 98% en évitant la formation des glycols polyéthylènes**.**



(2.2)

Les hydroxy alkyl éthers d'inuline (n=2) ont été obtenus par une réaction hydrophobe dans un milieu tensioactif aqueux contenant l'inuline et KOH à 80°C avec l'addition de 1,2-alkylepoxyde en présence d'un catalyseur basique (NaBH) pour activer les hydroxyles de l'inuline. L'ajout d'un tensioactif cationique tel que Bromure d'hexadécyl triméthyle d'ammonium (CTAB) ou Bromure de dodécyl triméthyle d'ammonium (DTAB) a augmenté significativement l'efficacité de la réaction. Les résultats indiquent que l'éthérification de l'inuline pourrait être limitée par l'entrave stérique de la chaîne d'inuline et que l'éthérification était limitée par l'effet hydrophobe dû à la chaîne alkyle de l'époxyde[25].

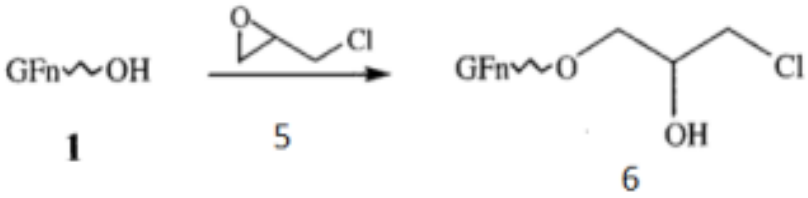
Le degré de substitution varie avec la quantité d'époxyde allant de 0.1 à 2. À mesure que la longueur de la chaîne de l'époxyde augmente, la solubilité dans l'eau diminue; cependant, une petite quantité de 2-propanole augmente la solubilité **[20]**.

L'utilisation d'une résine échangeuse d'ions basiques présente l'avantage que le produit n'a pas besoin d'être neutralisé, évitant ainsi la formation des quantités considérables de sel dans le produit final. La purification de l'inuline modifiée peut être effectuée par Chromatographie échangeuse de cations (dans le cas où on utilise une base d'hydroxyde), suivi d'un séchage. Les dérivés d'inuline modifiés présentent une meilleure solubilité dans l'eau froide et

présentent également une solubilité inverse qui signifie qu'ils se précipitent à 45-60°C et se solubilisent de nouveau pendant le refroidissement du mélange **[21]**.

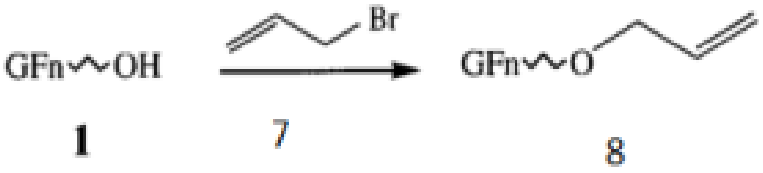
L'éthérification de l'inuline avec des groupes *o-carboxyméthyle* forme un polycarboxylate qui peut être modifié davantage pour faciliter sa conjugaison avec des érythrocytes pour des essais immunologiques même avec un excès de monochloroacétate **[20]**.

De même, la réaction avec l'épichlorhydrine **5** (équation 2.3) a été réalisée et le dérivé 3-chloro-2-hydroxypropyle **6** a été obtenu avec un très bon rendement.



1 5 6 (2.3)

Dans l'ancienne littérature, l'éthérification de l'inuline a également été décrite en utilisant le bromure d'allyle **7** (équation 2.4) et l'hydroxyde de sodium comme catalyseur basique **[21]**.



1 7 8 (2.4)

Les produits éthérifiés sont intéressants du point de vue industriel et sont revendiqués comme étant utiles dans la cosmétique et dans les produits pharmaceutiques comme supports pour les substances insolubles dans l'eau, ou comme agents stabilisants pour les solutions aqueuses de molécules peu solubles. D'autres applications potentielles sont envisagées notamment comme émulsifiants ou comme additifs dans l'industrie du textile et du papier et comme adoucissants pour des polymères thermoplastiques **[20]**.

2.2.4 Inuline dialdéhydée

L'inuline dialdéhydée se forme par l'oxydation du groupement hydroxyle voisin en fonctions aldéhyde avec une cinétique du second ordre. Ceci est accompli en utilisant le periodate comme agent oxydant (Figure2.3). Les fonctions aldéhyde générées (composé **9)** peuvent former des hemiacétals qui devraient être des anneaux à sept membres ou plus dans l'unité oxydée du fructose par une réaction intramoléculaire, soit avec un groupement hydroxyl d'une unité de fructose voisine par une réaction intermoléculaire (composé **10)** soit avec un résidu voisin non oxydé, le groupe aldéhyde en position 3 d'un résidu de fructofuranose oxydé pourrait former un anneau hemiacétallique à sept membres. De manière

similaire, le groupe aldéhyde à la position 4 d'un résidu oxydé pourrait former un hemiacétal inter-résiduel à neuf éléments, mais seulement en compétition avec un hémialdal intra-résiduel à six membres[26]. La formation d'hémiacétal, cependant, réduit considérablement l'accessibilité de la fonction aldéhyde vers d'autres réactions nucléophiles avec, par exemple, des amines, et donc aussi son application **[21]**.

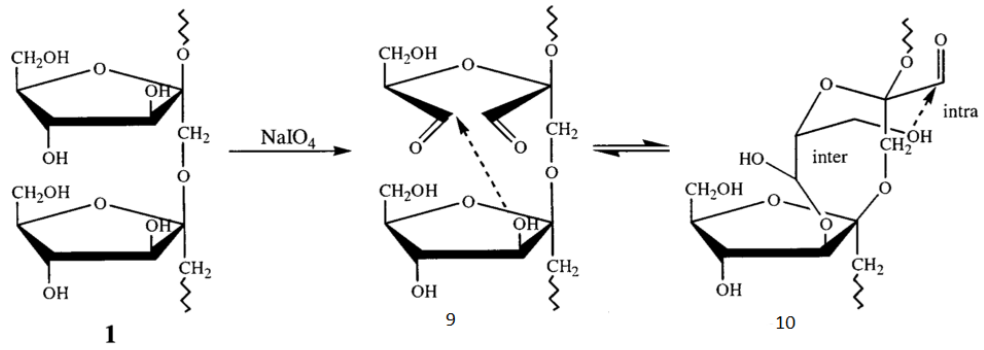


Figure 2. 3: synthèse de l'inuline dialdéhydée

2.2.5 Carbamate d'inuline

Une nouvelle application chromatographique de dérivés d'inuline a été décrite pour la séparation de mélanges d'énantiomères par Chromatographie liquide en utilisant l'inuline modifiée en tant que phase stationnaire.

L'inuline a été modifiée en utilisant l'isocyanate de méthyle, pour obtenir des carbamates d'inuline. La réaction est effectuée en présence d'un catalyseur basique tel qu'une amine tertiaire ou un acide de Lewis. La poudre résultante peut être utilisée directement ou peut être fixée sur une phase stationnaire afin d'empêcher son gonflement ou rétrécissement et d'améliorer le nombre de plaques théoriques.

La modification de l'inuline avec un isocyanate d'alkyle dans un solvant organique polaire a également été décrite récemment (Figure2.4). Les carbamates d'inuline **(**composé **11)** obtenus possèdent des propriétés tensioactives et peuvent être utilisés dans des formulations détergentes et en tant qu'émulsifiant dans des applications cosmétiques ou pharmaceutiques **[21]**.

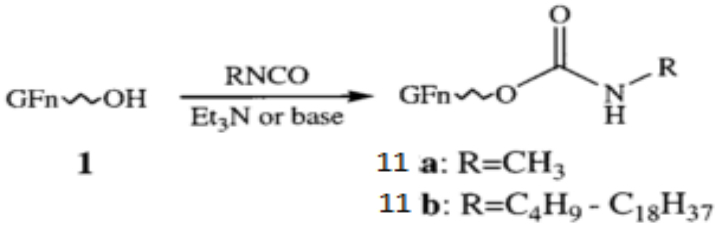


Figure 2. 4: synthèse de Carbamate d'inuline

Les émulsions de carbamates d'inuline sont très stables à des températures allant jusqu'à 50°C et à des concentrations élevées d'électrolyte.

Divers carbamates d'inuline peuvent être appropriés en tant que surfactants pour des applications domestiques et industrielles telles que des détergents, des stabilisants d'émulsion, des stabilisants de mousse et des agents mouillants **[20]**.

2.2.6 Inuline méthylée

La réaction implique d'abord un traitement de l'inuline avec une solution d'hydroxyde de potassium à 70°C pendant 2 jours. Après refroidissement du mélange à 30°C, suivie de l'addition de sulfate de diméthyle à la solution pour obtenir l'inuline méthylée **12** comme l'indique la figure 2.5 avec un très bon rendement. Pour synthétiser une inuline entièrement méthylée, la réaction a également été réalisée en utilisant de l'iodure de méthyle et de l'oxyde d'argent **[21]**.

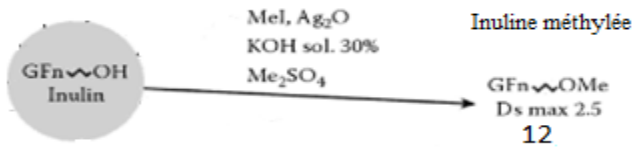


Figure 2. 5: Synthèse de l'inuline méthylée

Dans un autre brevet, la triméthyle inuline est obtenue de Triacétyle inuline. Tout d'abord l'inuline acétylée est dissoute dans l'acétone, en suite sulfate de diméthyle et l'hydroxyde de sodium sont ajouté progressivement a T maintenue à 55°C. Lorsque toutes les impuretés solubles ont été éliminées. L'inuline triméthylique a été obtenue sous la forme d'une poudre blanche fine avec un rendement théorique moyen de 95%**[27]**.

2.2.7 Carbonate d'inuline

Les carbonates d'inuline ont été étudiés en raison de leur potentiel d'insolubilisation de molécules biologiquement actives telles que les enzymes ou les immunoglobulines.

Le carbonate d'inuline a été préparé par réaction d'inuline avec du chloroformiate d'éthyle dans du diméthyle sulfoxyde en présence de triéthyle amine (composé **13)** comme catalyseur (Figure 2.6). La réaction conduit à la formation d'un mélange de deux produits : l'un avec un groupement O-éthoxycarbonyle (composé **14)** et le second avec un groupement de carbonate trans-2,3-cyclique sur le résidu D-glucose terminal (composé **16)** et le groupement trans-4,6-carbonate sur les résidus de fructofuranose de la chaîne d'inuline (composé **15)**.

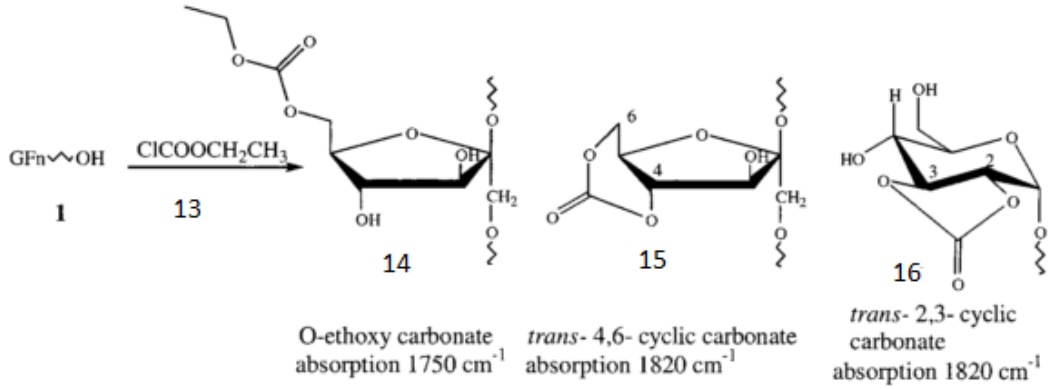


Figure 2. 6: Synthèse de Carbonate d'inuline

A partir de cette étude, il est apparu que plus la substitution de l'inuline par le carbonate est élevée, plus le produit final devient soluble dans le milieu réactionnel Diméthyle sulfoxyde (DMSO)**[28]**.

2.2.8 Synthèse de l'inuline O-cyanoéthylée

La cyanoéthylation des polysaccharides a été étudiée de manière approfondie sur la cellulose et l'amidon. L'inuline O-cyanoéthylée (composé **17)** est formée en faisant réagir l'inuline avec de l'acrylonitrile, suivant la réaction 2.5**[29]**.

$$\text{Inuline-OH} + CH_2{=}CH\text{-CN} \rightarrow \text{inline-O-}CH_2\text{-}CH_2\text{-CN} \qquad (2.5)$$

Composé **17**

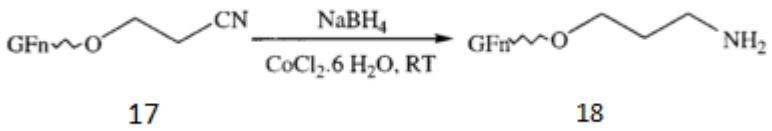
L'efficacité de la réaction diminue en utilisant de l'eau comme solvant, qui réagit avec l'acrylonitrile produisant du 3-hydroxypropane nitrile et du bis-2-cyanoéthyle éther, pour cela les conditions réactionnelles ont été optimisées. Une étude a été réalisée pour déterminer la quantité minimale, mais nécessaire, d'eau dans la réaction, l'influence de la température, la concentration en hydroxyde de sodium et le rapport molaire de l'acrylonitrile/inuline.

Le degré de substitution varie et à mesure qu'il augmente, la solubilité diminue. Les groupements hydroxyles (typiquement le C-4) sur la molécule réagissent avec l'acrylonitrile en présence d'un alcali pour former un ester cyanoéthylique **[20]**.

L'inuline cyanoéthylée (composé **17)** est utilisée comme matière de départ pour produire l'amine correspondante par réduction, l'inuline O-carboxyéthyle par hydrolyse et l'amidoxime par réaction avec l'hydroxylamine **[21]**. Les avantages de ces composés par rapport aux dérivés de la cellulose et de l'amidon sont une viscosité et une solubilité généralement plus faibles **[20]**.

2.2.8.1 Réduction de l'inuline O- cyanoéthylée

Le groupe nitrile en **17** peut être réduit en son amine primaire correspondant en utilisant du borohydrure de sodium et en présence de chlorure de cobalt hexahydraté (Figure 2.7). L'activation de la fonction nitrile par complexation avec le centre du métal cobalt polarise la liaison C-N de sorte que le carbone électrophile peut être facilement attaqué par l'hydrure. Au cours de la réaction, la réduction du Co(II) par le borohydrure de sodium en Co(0) et Co (II) catalyse la dégradation du borohydrure en H_2 et borate. Par conséquent, un grand excès de borohydrure de sodium et de chlorure de cobalt est nécessaire.



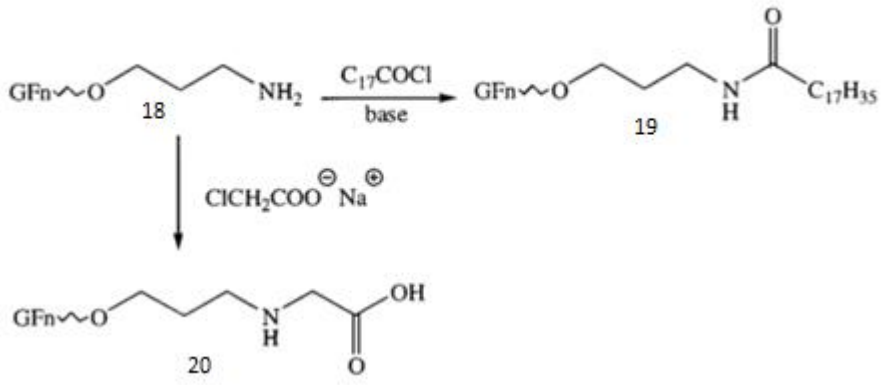
17 18

Figure 2. 7: Réduction de l'inuline O- cyanoéthylée

La réduction peut également être réalisée par hydrogénation catalytique du réactif **17** en utilisant des catalyseurs métalliques de transition tels que Pt / C et nickel de Raney, mais seules des traces d'aminés primaires ont été formées. De meilleurs résultats ont été obtenus en utilisant du cobalt de Raney comme catalyseur conduisant à une conversion de 10% des groupements O-cyanoéthyle en groupements O-aminopropyle. Le rendement diminue avec la longueur de chaîne croissante et avec le degré de substitution du matériau de départ. On peut obtenir un meilleur rendement en ajoutant de l'ammoniaque au mélange réactionnel (afin d'améliorer la désorption des amines de la surface du catalyseur) ou en ajoutant de l'acide (pour former des amines protonées qui ont une faible affinité vis-à-vis le catalyseur).

La réduction peut également être effectuée en utilisant un métal (sodium, lithium, calcium) dans l'ammoniaque liquide et le méthanol. Lorsque le méthanol est ajouté en tant que cosolvant et source de protons, la basicité diminue et le rendement de la réaction augmente de 25% à 70%.

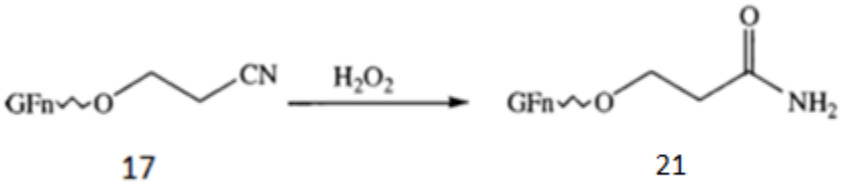
O-aminopropyle d'inuline (composé **18)** peut ensuite être convertie en stéaroyl amide (produit **19)** correspondant comme l'équation 2.6 en utilisant du chlorure de stéaroyle. Le produit présente de bonnes propriétés tensioactives et émulsifiantes. La réaction avec le chloroacétate de sodium donne l'inuline-N-carboxyméthyle aminopropylée **20** (espèce anionique) qui est utilisée comme agent séquestrant dans des formulations détergentes, comme agent dispersant et comme inhibiteur de cristallisation pour le carbonate de calcium **[21]**.



(2.6)

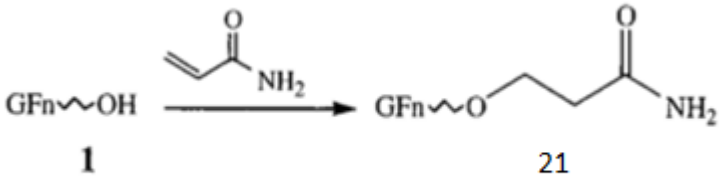
2.2.8.2 Synthèse d'O-3-amino-3-oxopropyle d'inuline

La conversion d'un nitrile en un amide par hydratation nécessite des catalyseurs fortement acides ou basiques ; cependant, avec l'inuline, de telles conditions provoquent un clivage de la liaison glycosidique et une décyanoéthylation de la matière de départ. Le groupe nitrile peut être converti en amide correspondant par hydratation en utilisant une petite quantité de peroxyde d'hydrogène (équation 2.7) dans des conditions de base douces **[21]**. L'anion peroxyde qui est un fort nucléophile attaque le groupe nitrile, Formant un intermédiaire percarboxylique imide. Ceci est réalisé en faisant réagir l'inuline O-cynoéthylée avec deux équivalents molaires de peroxyde d'hydrogène à pH 9.5 et T=60°C pendant 1 heure. Le DS était de 0.66 à 0.68 et la décyanoéthylation était faible.



(2.7)

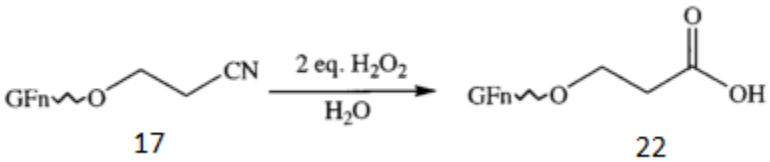
En variante l'inuline O-3-amino-3-oxopropyle **21** est également synthétisée par addition de Michael de groupement acryle à l'inuline (équation 2.8). Le produit avec un DS de 1 a été obtenu lorsqu'un équivalent d'inuline molaire a été mis à réagir avec 2 équivalents molaires d'acrylamide. Il peut être utilisé comme agent tensioactif ou comme composé émulsionnant après introduction d'une longue chaîne alkyle sur l'amide ou peut être hydrolysé pour donner l'inuline O- carboxyéthyle **22** (espèce anionique) **[29]**.



(2.8)

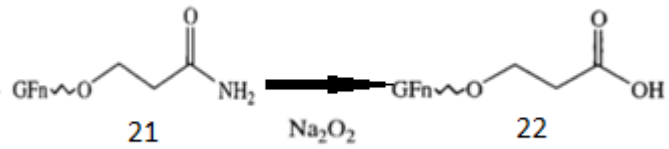
2.2.8.3 Synthèse de l'inuline-O-carboxyéthyle

La fonction nitrile peut être convertie en une fonction carboxylate par transformation en amide et hydrolyse subséquente avec du peroxyde de sodium en milieu alcalin. La réaction (équation2.9) se produit par l'intermédiaire d'un composé peroxyde qui se décompose en carboxylate. L'inuline-O-carboxyéthyle (produit **22)** obtenue présente d'excellentes propriétés d'inhibition de la cristallisation pour les sels faiblement solubles tels que le carbonate de calcium. Elle peut également être utilisée en tant que support d'ion métallique, agent dispersant et fixateur de cheveux lorsqu'il est mélangé à l'inuline O-3-amino-3-oxopropyle **21.**



(2.9)

L'inuline-O-carboxyéthyle **22** peut être obtenue aussi par l'hydrolyse des groupes amides sur l'inuline O-3-amino-3-oxopropylique en utilisant du peroxyde de sodium aqueux (équation 2.10).

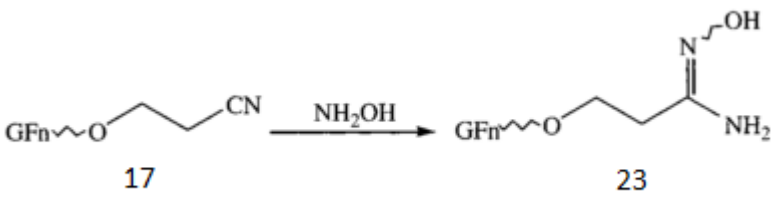


(2.10)

Il existe une certaine dégradation de la longueur de chaîne dans l'hydrolyse lorsque le peroxyde de sodium est utilisé et la dégradation est plus élevée dans les fractions avec des degrés de substitution plus élevés. Il peut être utilisée pour inhiber la précipitation du carbonate de calcium, en particulier lorsqu'il a un faible DS (0,65) **[29]**.

2.2.8.4 Synthèse d'inuline-O-3-hydroxyimine-3-aminopropyle

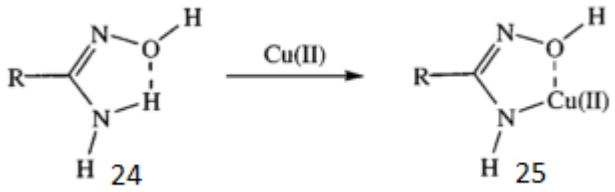
L'inuline cyanoéthylée (composé **17**) est également un précurseur de l'amidoxime correspondant (produit **23)** par réaction avec de l'hydroxylamine en milieu neutre (Figure 2.8). Environ 80% des groupements O- cyanoéthyle sont convertis en produit sans aucune désalkylation **[21]**.



17 23

Figure 2. 8: Synthèse d'inuline-O-3-hydroxyimine-3-aminopropyle

Les amidoximes sont des composés particulièrement réactifs et présentent de très bonnes propriétés comme agent chélatant pour les ions de métaux de transition, en particulier pour les ions Cu (II) (équation 2.11) **[20]**.



24 25

(2.11)

Les amidoximes peuvent exister sous deux formes géométriques et tautomères **24** et **25**, mais la forme syn-hydroxyimine **24** étant le plus stable en raison de la formation d'une liaison hydrogène intramoléculaire **[21]**.

2.3 Modification anionique

2.3.1 Synthèse de l'inuline-O-carboxyméthyle

La réaction de carboxyméthylation a été réalisée en utilisant des mono-, oligo- et polysaccharides. L'inuline peut être carboxyméthylée dans une solution alcaline aqueuse en la faisant réagir avec de l'acide monochloroacétique en présence d'un excès d'hydroxyde de sodium, formant ainsi O-carboxyméthyle inuline (Figure 2.9)**[30]**.

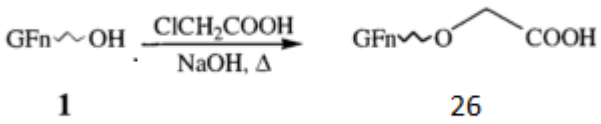
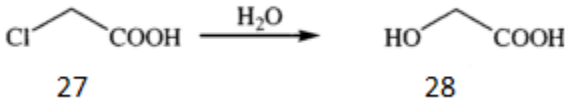


Figure 2. 9: Synthèse de l'inuline-O-carboxyméthyle

En utilisant un milieu aqueux, la compétition entre la carboxyméthylation et l'hydrolyse de l'acide monochloroacétique (MCA **27**) dans l'acide glycolique (composé **28)** a été détectée (équation 2.12).



(2.12)

Le degré de substitution est affecté par le rapport molaire l'inuline/MCA et la température de réaction. Le dérivé O-carboxyméthyle inuline (produit **26**) présente une viscosité très faible dans les solutions aqueuses.

L'inuline carboxyméthylée (CMI) a été synthétisée aussi par incorporation de groupes carboxyméthyle dans le squelette de l'inuline; En faisant réagir l'inuline avec du sel de sodium d'acide monochloroacétique (SMCA) en présence d'hydroxyde de sodium **[31]**.

L'inhibition de la précipitation du carbonate de calcium est une application commerciale potentielle pour l'O-carboxyméthyle inuline (CMI). La formation de cristaux de carbonate de calcium est un problème majeur dans les chaudières, les échangeurs de chaleur, le dessalement de l'eau de mer, la production de gaz et de pétrole, la lessive et d'autres champs. À mesure que la température de l'eau augmente, la solubilité des carbonates de calcium diminue, ce qui entraîne une cristallisation/une formation d'incrustation, une diminution de l'efficacité de l'opération et des coûts croissants.

Les inhibiteurs actuels ont tendance à être non biodégradables ; par conséquent, des produits chimiques qui inhibent la cristallisation seraient avantageux telle que le CMI qui agit même à des concentrations très faibles (5 à 200 ppm) et présente une bonne biodégradabilité. La CMI peut également être utilisé pour d'autres modifications en utilisant une diamine et le chlorhydrate de 1-éthyl-3-3-diméthylaminopropyle carbodimide consécutivement pour préparer des polysaccharides alcalis-stables. Ceux-ci ont été utilisés pour le couplage à des supports d'immunogène ou à des globules rouges de mouton pour une utilisation en hémaglutination **[30].**

2.3.2 Oxydation de l'inuline

En modifiant le degré d'oxydation, une variété de produits peut être formée à partir de l'inuline. Par exemple, l'oxydation sélective donne des polycarboxylates, ayant un certain nombre d'applications possible.

La limitation de l'oxydation aux groupements hydroxyles primaires sur les sous-unités fructofuranosides donne des polyuronates, qui sont censés présenter des propriétés similaires aux polyuronates naturels, tels que l'alginate et la pectine industriels. Une oxydation glycolique plus importante, en revanche, entraîne l'ouverture du cycle et la mise en forme des polycaroxylates qui possèdent du potentiel sous forme d'agents indésirables au calcium. Ces composés peuvent représenter des substituts commerciaux pour les polycarboxylates synthétiques non biodégradables existants (type polyacrylate) utilisés actuellement dans la formulation détergente Error! Bookmark not defined..

2.3.2.1 Oxydation sélective du groupement hydroxyle primaire

L'Oxydation avec TEMPO, une nouvelle méthode pour l'oxydation sélective de l'alcool primaire des polysaccharides a été développée récemment. L'hydroxyle primaire dans la position C-6 sur les sous-unités de fructfuranoside de l'inuline a été oxydé en utilisant du 2,2,6,6-tétraméthyle-1-pipéridinyloxy (TEMPO) comme catalyseur Cela forme un radical stable qui peut être oxydé par un système hypobromite / bromure, ou un réactif similaire, pour donner un ion nitrosonium (Figure 2.10). Le pH préféré de la réaction est de 9.5 ; cependant, à pH 10.5, le 6-carboxy-inuline est formée avec un bon rendement (82%). Cependant, l'oxydation des groupements hydroxy primaires est suivie d'une oxydation supplémentaire en C-4 et C-6, ce qui peut conduire à une dégradation de la molécule. Par conséquent, la réaction doit être désactivée après ajout de 1 mmol d'hydroxyde de sodium par millimole de fructose anhydre pour maintenir la sélectivité > 90% (rendement de 87%)**[32]**.

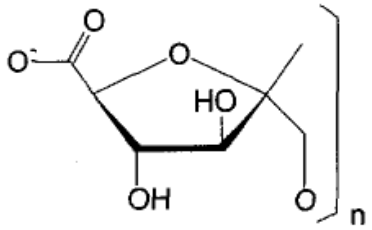


Figure 2. 10: Structure du 6-carboxy-inuline

2.3.2.2. Oxydation à l'aide du catalyseur Pt

L'inuline est facilement oxydée en utilisant l'oxygène comme oxydant et le platine (Pt) comme catalyseur en présence d'hydroxyde de sodium (Figure 2.11).

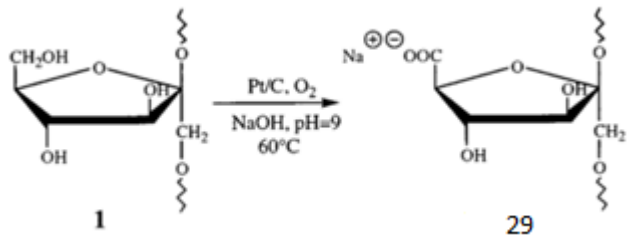
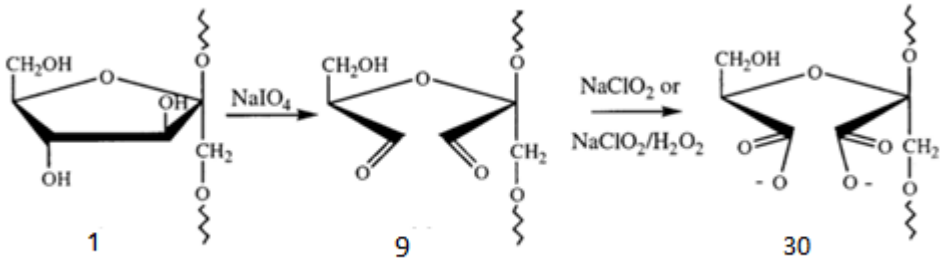


Figure 2. 11: Réactions d'oxydation de l'inuline à l'aide du catalyseur Pt

L'oxydation se produit sélectivement en position C-6 avec un rendement relativement élevé (97%) et la réaction est contrôlée par la consommation d'hydroxyde de sodium. Le poids moléculaire de l'inuline influence le taux de réaction, le degré d'oxydation et la vitesse de la réaction Error! Bookmark not defined..

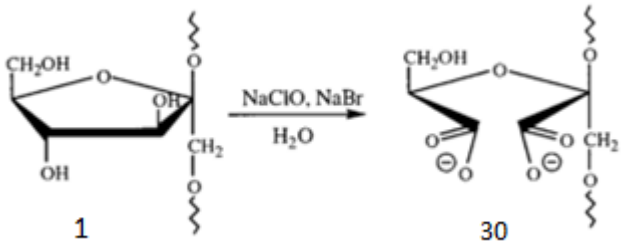
2.3.2.3 Oxydation glycolique

L'oxydation glycolique implique l'ouverture du cycle et peut être réalisée par plusieurs méthodes. Dans un procédé d'oxydation en deux étapes (équation 2.13), le periodate de sodium est utilisé pour convertir les sous-unités glycoliques en forme de dialdéhyde (composé **9)**, puis en réagissant avec du chlorite de sodium ou du chlorite de sodium et du peroxyde d'hydrogène pour former de l'inuline dicarboxylique (dérivé **30)**. En raison de La formation de composés hémiacétal stables dans la première étape de réaction, les produits finals présentent initialement une faible capacité de liaison au calcium.



(2.13)

L'oxydation de l'inuline peut également être réalisée en une seule étape (équation 2.14) par un clivage oxydatif direct des unités glycoliques avec de l'hypochlorite de sodium en présence de bromure de sodium, ce qui augmente le rendement et la vitesse de réaction Error! Bookmark not defined..



(2.14)

Les dérivés obtenus sont isolés avec un très bon rendement (80-95%). De meilleurs résultats ont été obtenus en ajoutant l'oxydant (hypobromite) en une seule fois au mélange réactionnel et en effectuant l'oxydation à un pH supérieur à 10. En raison de l'hydrolyse de l'inuline, la réaction ne peut être effectuée à un pH inférieur à 7, et par variation de la quantité d'hypochlorite de sodium, il est possible d'obtenir des produits avec un degré d'oxydation différent, qui peut être facilement déterminé par titrage de la forme acide avec de l'hydroxyde de sodium Error! Bookmark not defined..

La capacité de fixation de carbonate de calcium s'est révélée excellente (2,0-2,5 mmol de Ca / g), comparable à celle des constructeurs commerciaux et mieux que les produits préparés à partir de l'amidon. L'activité séquestrante de l'inuline oxydée montre en effet une relation linéaire avec le degré d'oxydation de l'inuline.

2.3.3 Synthèse des phosphates d'inuline

Les phosphates d'inuline ont été synthétisés par réaction avec le trimetaphosphate de sodium (composé **31)**. La réaction (figure 2.12) donne lieu à la formation des mono-et diphosphates (dérivés **32** et **33)** respectivement.

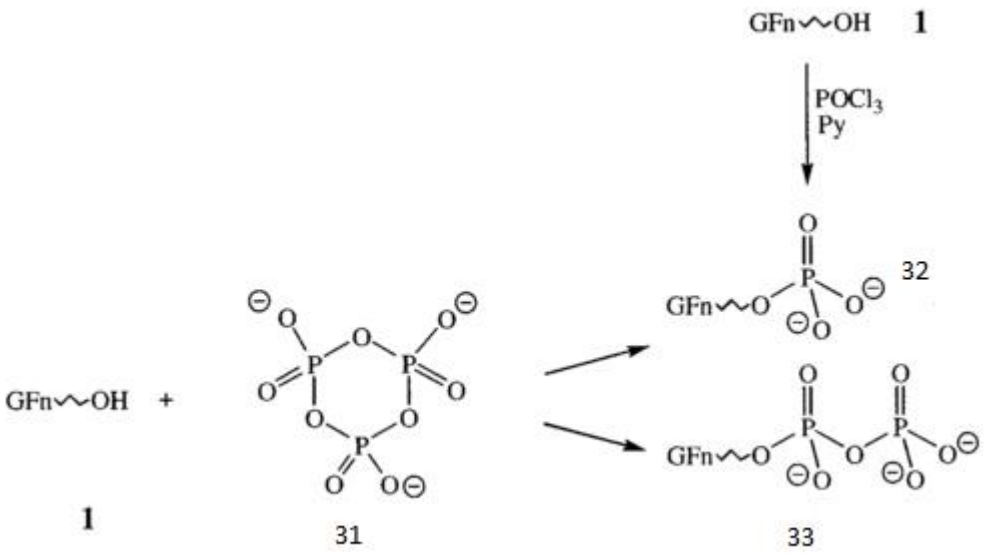


Figure 2. 12: Synthèse de phosphates d'inuline

Les dérivés de phosphate présentent une viscosité accrue par rapport à l'inuline native, ce qui reste relativement constant même à des températures de 60°C lorsqu'ils commencent à se dissoudre. L'inuline native et ses dérivés phosphatés forment des « gels thermoréversibles » qui sont stables à température ambiante et fondus à des températures supérieures à 60°C **[20]**.

Les dérivés de phosphates sont également obtenus par réaction d'inuline avec de l'oxychlorure de phosphore. La réaction est effectuée dans la pyridine pendant 12 h, et les produits sont analysés par la détermination de la teneur totale en phosphore. Cette méthode révèle que la réaction de l'inuline avec 1 équivalent de $POCl_3$ conduit uniquement à l'inuline mono phosphate **32 [21]**.

2.3.4 Synthèse des agents complexant dérivés de l'inuline oxydée

L'inuline peut être modifiée en composés présentant de bonnes propriétés de complexation de métaux lourds similaires à l'acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA) mais avec de meilleures propriétés de biodégradation.

L'inuline est d'abord oxydée à l'aide de periodate de sodium en entrainant la formation de dialdéhyde, Dans la deuxième étape, le dialdéhyde (composé **9)** est réduit au diol correspondant **34** en utilisant du borohydrure de sodium, ou réduit catalytiquement en utilisant Pt/C et de l'hydrogène (figure 2.13). Le polyol peut ensuite être modifié avec du disulfure de carbone et en présence de NaOH pour former du xanthate **35** ou avec de la SO_3-pyridine pour obtenir un sulfate d'inuline **36**. Alternativement, le dialdéhyde **9** peut également être aminé avec un diaminoéthane **37** et un cyanoborohydrure de sodium.

Le produit **38** a été mis ensuite à réagir avec du sel de sodium d'acide monochloroacétique pour former de l'inuline carboxyméthyle amine **39 [20]**. Le DS de ces dérivés d'inuline varie de 0,2 à 1,5 **[21]**.

Plusieurs métaux lourds tels que le zinc, le cadmium, etc. se trouvent dans les boues et les lisières, qui sont utilisés pour la reconstitution du sol ou comme engrais, respectivement. Ces matériaux doivent être traités comme des déchets où les métaux lourds doivent être éliminés. Le procédé le plus important pour éliminer les métaux lourds est la complexation en utilisant une solution aqueuse d'éthylène diaminotetracétique (EDTA) comme agent séquestrant. L'inconvénient de l'utilisation de l'EDTA est sa faible biodégradabilité et le fait qu'une grande quantité d'EDTA est nécessaire en raison de la complexation préférentielle et de la floculation du complexe à base de calcium. Par conséquent, les dérivés d'inuline ont été synthétisés afin d'évaluer le remplacement de l'EDTA pour la complexation des métaux lourds **[21]**.

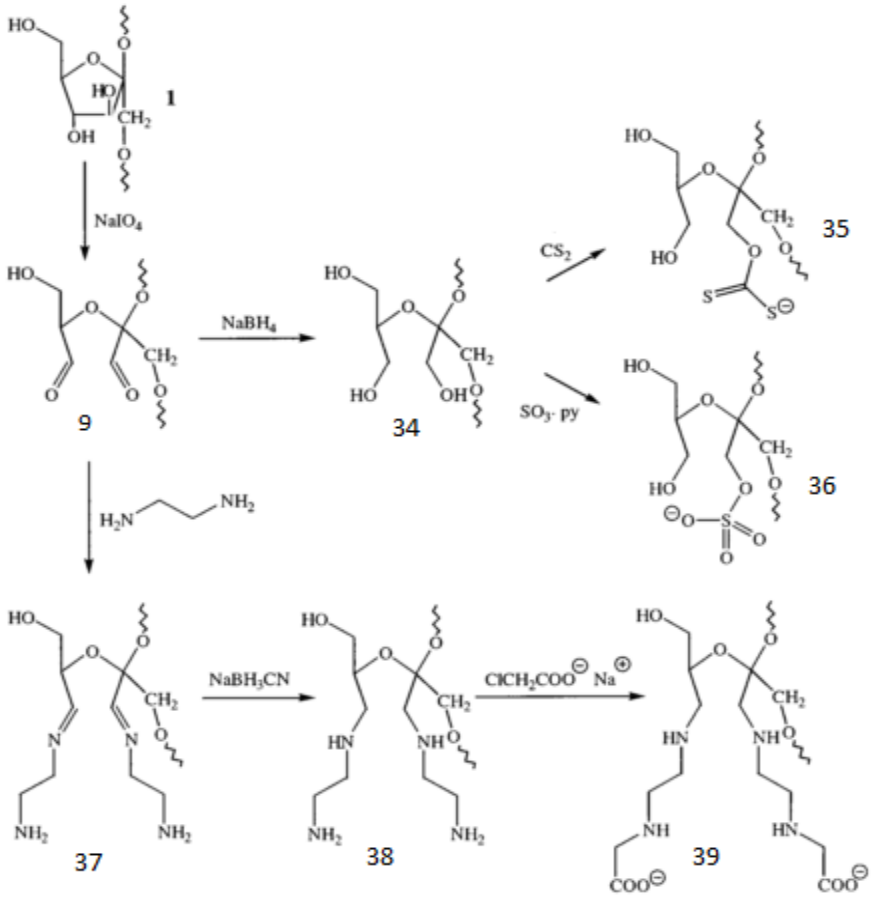
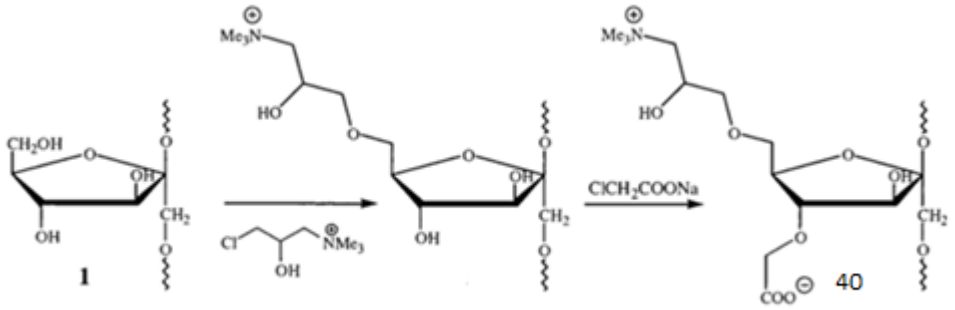


Figure 2. 13: Synthèse des agents complexant dérivés de l'inuline oxydée

2.4 Modification cationique

Il est maintenant découvert que des dérivés cationiques peuvent être préparés à partir de fructanes, y compris l'inuline, dont les dérivés ont une meilleure solubilité, un degré de substitution plus élevé, une viscosité plus faible et / ou une meilleure biodégradabilité que les polysaccharides cationiques connus[33].

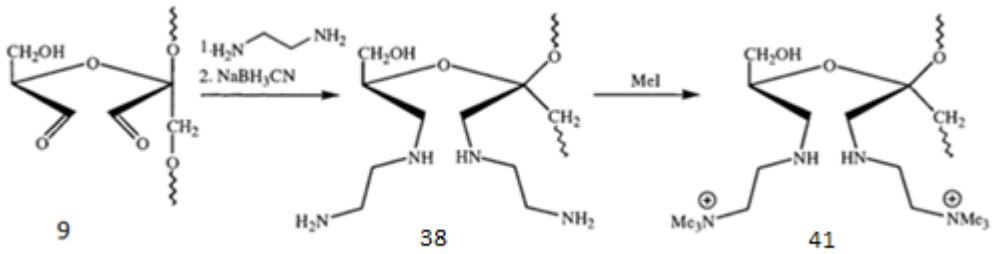
L'inuline cationique contient un groupe azoté qui peut être un groupe ammonium quaternaire ou une amine primaire, secondaire ou tertiaire (chargée positivement dans un milieu acide). Dans un brevet récent, plusieurs modifications de l'inuline ont été décrites, appliquant plusieurs réactifs tels que N,N,N-tris-2-chloroéthyle amine, l'éther trialkylammoniuméthyl-2-chloroéthylique, l'acide 2-dialkylamino-3-halopropionique et la 4-chloro-1-méthylpipéridine … etc. Les fructanes hydroxyalkylés, carboxyméthylés et oxydés peuvent également servir de base à la modification cationique conduisant à des inulines multifonctionnalisées. L'introduction de groupes cationiques sur des dérivés d'inuline contenant des groupes carboxyle conduit à des composés amphotères tels que le dérivé **40** (équation 2.15) qui ont des propriétés intéressantes, les réactions sont effectuées en milieu aqueux, en présence d'une base et à une température allant de 30 à 150 ° C.



(2.15)

Un procédé avantageux pour ces réactions implique l'utilisation d'un réacteur d'extrusion avec un malaxage intensif et une petite quantité de solvant. Après la réaction, le mélange est neutralisé suite à l'addition d'une solution acide. Le produit est purifié à partir de sels en utilisant des techniques normales telles que l'électrodialyse, la nanofiltration ou la précipitation avec de l'alcool. Le degré de substitution des produits varie de 0.1 à 1.5 et l'efficacité de la réaction est de 80 à 90%.

L'inuline réduite est particulièrement appropriée pour la conversion en dérivés cationiques avec les réactifs mentionnés ci-dessus. En variante, l'inuline dialdéhydée peut être aminée par réduction pour produire des aminopolyols **38** qui peuvent être quaternisés pour produire les dérivés cationiques **41** (équation 2.16).



(2.16)

Les dérivés cationiques de l'inuline présentent une meilleure solubilité, une viscosité plus faible et une meilleure biodégradabilité que les polysaccharides cationiques connus.

Les produits dérivés avec un haut degré de substitution peuvent être utilisés comme désinfectants ou comme ingrédient pour les agents de conditionnement des cheveux et les gels de moulage. Une autre application est en tant qu'inhibiteurs de schiste dans l'extraction de l'huile en raison de la capacité à protéger la charge négative dans les couches d'argile sur lesquelles la boue de forage est alimentée. Ils peuvent également être utilisés comme floculants et inhibiteurs de corrosion (dans le traitement des boues, des effluents et de l'eau de process), en tant que d'émulsifiant (dans les industries du traitement des métaux et de la pétrochimie), en tant qu'additifs dans le textiles (comme les adoucissants, les agents anti-

écrémage), en tant qu'adhésifs, et comme auxiliaire pour les industries de la construction, des plastiques et de la céramique.

L'inuline aminée est produite par réaction de l'inuline avec du bromhydrate de 2-bromoéthylamine dans le DMSO, ce produit est utilisé à des fins biologique (dans l'étude de la détection de lésions glomérulaires diffuses chez les rats).

Pour développer des super-absorbants et des systèmes d'administration de médicaments. Par conséquent, l'inuline a été traitée avec de l'épichlorhydrine. L'étude des propriétés physiques et chimiques de ces échantillons réticulés a révélé leur capacité de gonfler dans les gels producteurs d'eau et à former des complexes avec une stabilité thermique plus élevée par rapport à l'inuline. Une autre méthode pour synthétiser l'inuline réticulée comme l'indique la Figure 2.14 qui consiste en la réaction avec du méthacrylate de glycidyle **42** (GMA) afin d'introduire des doubles liaisons, qui pourraient être réticulées de manière radicale **[21]**.

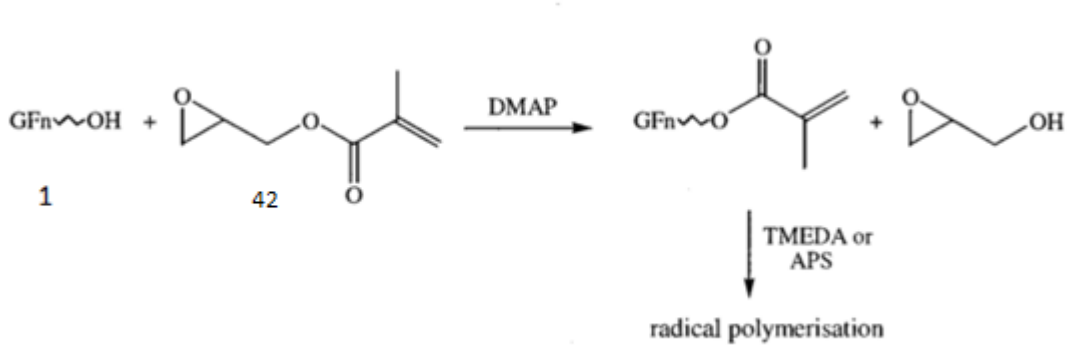


Figure 2. 14:Synthèse de l'inuline réticulée

2.5 Conclusion

La modification chimique des polysaccharides représente une voie prometteuse pour l'élaboration de nouveaux matériaux avec des applications potentielles.

L'utilisation de l'inuline en tant que matière première ou comme réactif indispensable dans la production en général a augmenté de façon spectaculaire, étant donnée sa non toxicité et sa bonne biodégradabilité. La modification chimique de l'inuline lui confère de nouvelles propriétés intéressantes permettant ainsi son inclusion dans une très large gamme d'applications notamment pharmaceutiques et alimentaires.

Chapitre 3

Matériels et méthodes

Chapitre 3 : Matériels et méthodes

Introduction

La partie expérimentale a été réalisée au niveau de laboratoire de recherche matériaux et environnement (LME) de l'université de Médéa. Cette étude expérimentale consiste en une optimisation de la modification chimique de l'inuline ainsi que la caractérisation physico-chimique des dérivés obtenus.

Produits et matériel utilisés

3.2.1. Produits chimiques utilisés

Les différents produits chimiques utilisés lors de cette étude expérimentale sont rassemblés dans le Tableau 3.1.

Tableau 3. 1: Principaux produits utilisés

Produits	M (g/mol)	Pureté (%)
Inuline	4200	96
Acide férulique	194	/
Acide ascorbique	176	99.9
L'eau oxygénée	34	/
DPPH	394.5	99.6
Ethanol	46	96
Acétone	58	/

3.2.2. Appareillages utilisés

- Etuve de type Binder
- Balance électronique : de type Adventurer (OHAUS)
- Agitateur de type Heidolph
- Spectrophotomètre UV-Visible : de type Tensor (BRUKNER)
- Spectrophotomètre IR : de type Tensor (BRUKNER)
- Générateur d'azote : de type NM32LA / PEAK sientific
- Centrifugeuse : de type EBA.20 / HETTICH ZENTRIFUGEN

Acide férulique :

L'acide férulique est un acide organique présent, lui ou ses esters, dans de nombreuses plantes. Ce dérivé de l'acide cinnamique participe à la synthèse de la lignine qui forme les parois des cellules végétales et il est un précurseur de molécules aromatiques.

Son nom provient de Ferula, un genre de plantes herbacées de la famille des Apiacées **[34]**. L'acide férulique (AF) [acide 4-hydroxy-3-méthoxycinnamique] (Figure 3.1)est Présent dans de nombreux aliments fonctionnels : le blé, le riz, l'orge, l'avoine, Les agrumes, les tomates, etc.

L'acide férulique a été proposé comme un nouveau composé antioxydant doué d'une forte activité cytoprotectrice due à la fois à sa capacité de piéger les radicaux libres et d'activer la réponse des cellules au stress. En plus de ses propriétés anti-oxydante, l'acide férulique est connue pour ses propriétés antidiabétique, anti-cancer et anti-hypertensive**[35]**. Cette molécule subit un métabolisme marqué du premier passage, ce qui limite sa biodisponibilité orale (9-20%) et ont également une biotransformation très rapide**[36]**.

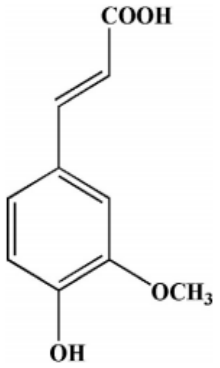


Figure 3. 1: Structure de l'acide férulique

Méthodes

3.4.1. Procédure de modification

La synthèse des dérivés inuline-acide férulique est réalisée en utilisant le couple redox acide ascorbique/peroxyde d'hydrogène selon la procédure proposée par Spizzirri et al **[37] .**avec quelques modifications. Dans une fiole de 250 ml, 1g d'inuline est dissoute (T= 65-80°C) dans 50ml d'eau distillée, Le mélange est maintenu sous agitation et sous azote durant 3h et sans azote pendant 21h. Après 15 minutes 2.93g d'acide ascorbique et 1.54ml d'eau oxygénée sont ajoutées. Le mélange est porté sous agitation pendant 30min, c'est la période nécessaire pour l'activation des groupements hydroxyles de l'inuline, puis de 3.23 g d'acide férulique sont insérés dans la solution. Après 24h, la réaction s'est arrêtée par l'ajout de l'acétone à un volume égal à trois fois le volume du mélange réactionnel (Figure 3.2). Le précipité obtenu est centrifugé puis lavé deux fois avec l'acétone. Le dérivé purifié inuline-acide férulique est récupéré et séché à l'air libre.

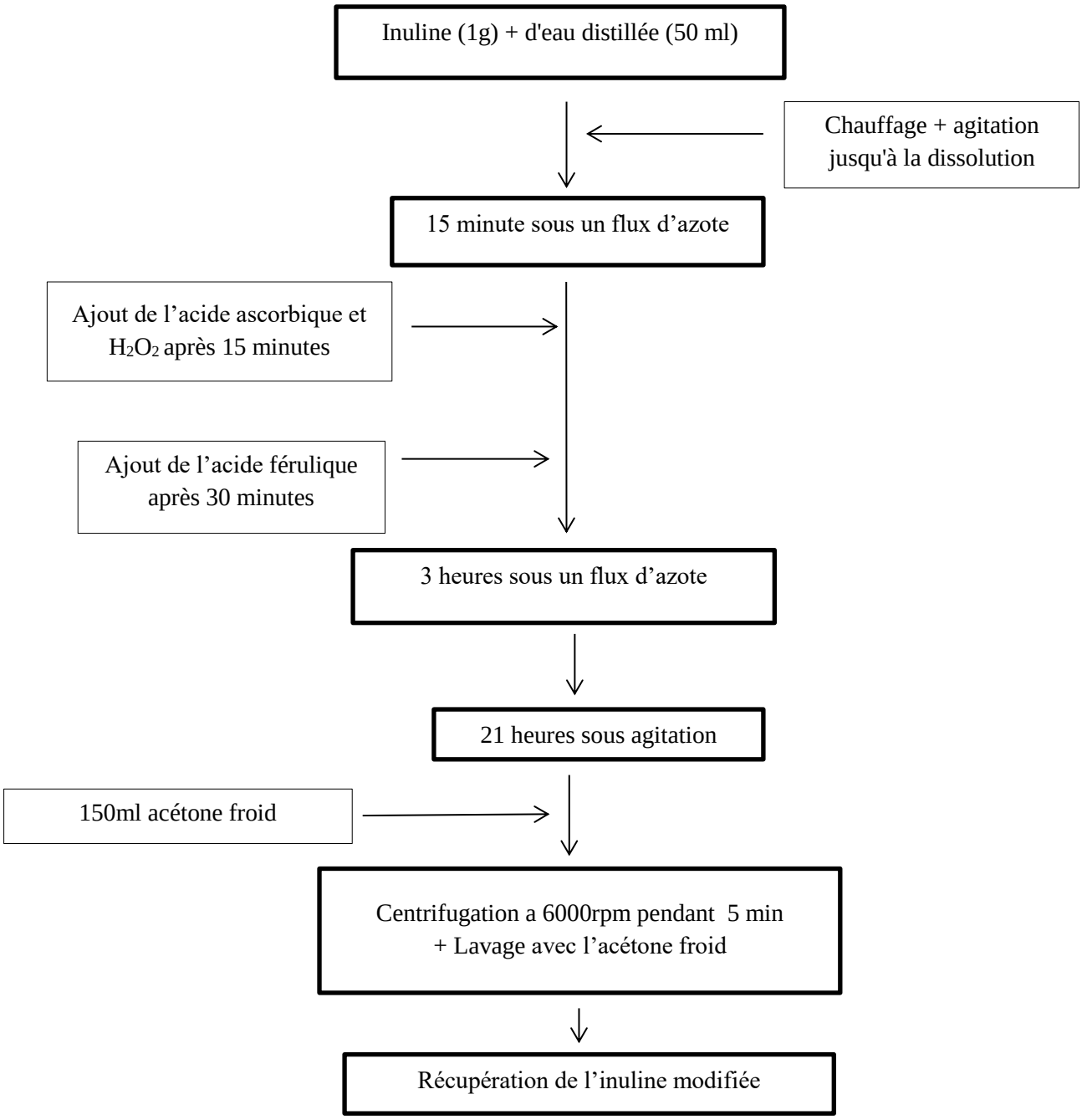


Figure 3. 2: Schéma du protocole de modification d'inuline

3.4.2. Optimisation de la modification de l'inuline

La réaction de l'estérification de l'inuline avec l'acide férulique en phase aqueuse est influencée par plusieurs paramètres notamment la concentration des différents réactifs, le temps de réaction et la température. Dans ce qui suit, on va étudier l'influence de chaque paramètre afin de déterminer les conditions optimales de l'estérification de l'inuline.

3.4.2.1. Etude du rapport molaire inuline/AF

Afin de déterminer l'influence de l'acide férulique (AF) sur la réaction d'estérification, la quantité de l'AF est introduite avec un rapport molaire inuline/AF varié entre 0.5 et 3. Le tableau 3.2 résume les

Tableau 3. 2: Quantités d'AF utilisées

Expérience	1	2	3	4	5	6
RM	0.5	1	1.5	2	2.5	3
n_{AF} (mmol)	2.775	5.55	8.325	11.1	13.87	16.65
m_{AF}(g)	0.538	1.076	1.615	2.153	2.691	3.23

3.4.2.2. Influence de H_2O_2

Le nombre de mole de H_2O_2 utilisé lors de cette étude est compris entre 2.77 et 16.65mmlo. La procédure de modification est résumée dans la section 3.3.1 en fixant le nombre de mole de l'AF utilisé (13.87 mmol). Les volumes de H_2O_2 utilisés sont résumés dans le tableau 3.3.

Tableau 3. 3: Volumes de H_2O_2 utilisés

Expérience	7	8	9	10	11	12
n_{H2O2} (mmol)	2.775	5.55	8.325	11.1	13.87	16.65
V_{H2O2} (ml)	0.25	0.51	0.77	1.02	1.28	1.54

3.4.2.3. Variation de la concentration de l'acide ascorbique

Après la fixation du rapport molaire inuline/AF et le volume de H_2O_2 utilisé, le 3ème paramètre à étudier est la quantité (nombre de mole) de l'acide ascorbique. Cette dernière variée entre 2.78 et 16.65 mmol. Les quantités prises sont regroupé dans le tableau 3.4.

Tableau 3. 4: Quantités de l'acide ascorbiques (AAs) utilisées

Expérience	13	14	15	16	17	18
$n_{(AAs)}$ (mmol)	2.78	4.43	8.35	11.07	13.87	16.65
m_{AAs} (g)	0.49	0.78	1.47	1.95	2.44	2.93

3.4.2.4. Effet de temps de réaction

La réaction d'estérification de l'inuline avec l'acide férulique est réalisée à sept intervalles de temps différent, à savoir 1, 2, 3, 4, 6, 24 et 48h**.**

3.4.2.5. Effet de température

Le dernier paramètre à étudier est la température, pour cela notre réaction a été mise sous différentes températures telles que 4, 25, 40 et 60°C.

3.4.3. Détermination de l'activité antioxydante

La réaction étudiée consiste à greffer une molécule antioxydante (acide férulique) sur l'inuline, pour cela la mesure de l'activité antioxydante par la méthode de DPPH est le test choisi pour optimiser cette réaction.

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) est un radical libre de couleur violacée qui absorbe dans l'UV-visible à la longueur d'onde de 517nm. Il fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (figure 3.2). Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères. Le radical DPPH reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire **[38].**

3.4.3.1. Protocole opératoire

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH. L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par Spizzirri et *al.* **[37]** avec quelques modifications.

A 0.5ml d'une solution de dérivé d'inuline de concentration 2mg/ml, on ajoute 0.5ml d'une solution de DPPH (200µM) et 2ml de l'éthanol. Le mélange est incubé à l'obscurité et à la température ambiante pendant 30min. les absorbances sont mesurées à une longueur d'onde de 517nm contre le blanc correspondant (figure 3.3). Le pouvoir d'inhibition est exprimé en % et il est déterminé en appliquant la formule suivante **[39]** :

$$I\ (\%) = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

Où I (%) est le taux d'inhibition, A_0 est l'absorbance du blanc, A_1 est l'absorbance de l'échantillon.

Une courbe d'étalonnage à base de l'acide férulique est réalisée en utilisant des concentrations en acide férulique variant entre 0.0005 et 0.02mg/ml.

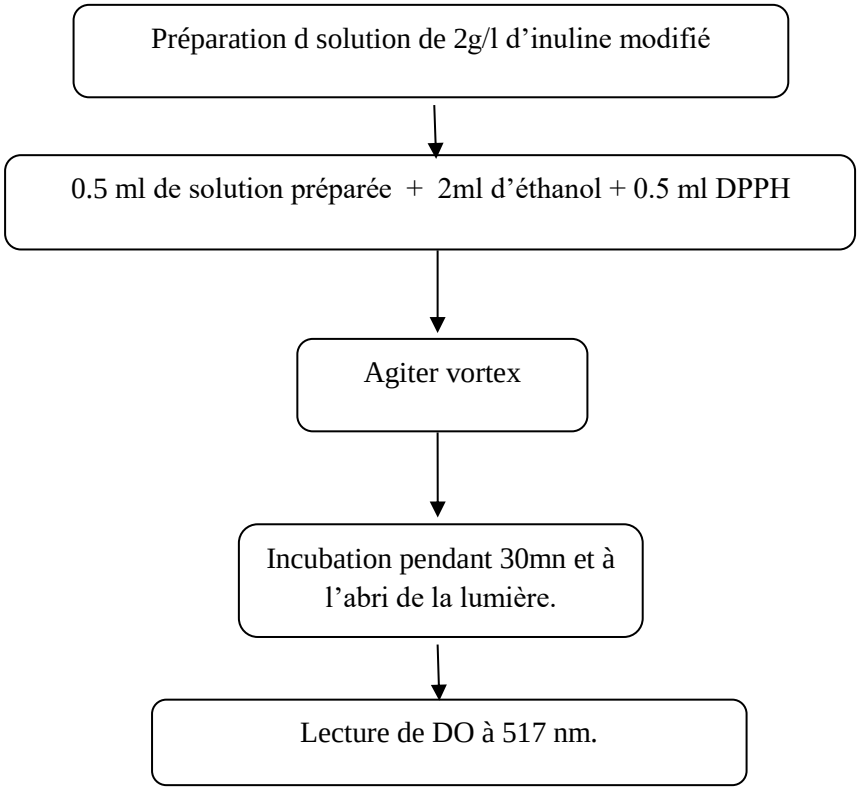


Figure 3. 3: Protocole de mesure de l'activité antioxydante

3.5. Caractérisation des dérivés obtenus

Après l'optimisation de la modification, le dérivé obtenu est caractérisé en utilisation la méthode FTIR, l'activité antioxydante et la solubilité dans différents solvants.

3.5.1. Analyse par spectroscopie infrarouge (FTIR)

Le dérivé sous forme de poudre fine est déposé directement sur une plaque de base d'un spectrophotomètre IR (Bruker Tensor II). Les spectres IR sont enregistrés dans la gamme de nombres d'onde comprise entre 400 et 4000cm^{-1}, avec une résolution de 4cm^{-1} et un nombre de scanne égale à 10.

3.5.2. Détermination de l'activité anioxydante

L'activité anioxydante de l'échantillon est déterminée selon la procédure décrite dans la section 3.3.3.2. Le paramètre IC50 (concentration inhibitrice à 50% de DPPH perdu) est défini comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH. Le pouvoir antioxydant est déterminé de façon à ce qu'une quantité de l'extrait d'une concentration bien déterminée neutralise 50% du radical. Les résultats exprimés en IC50 qui sont calculés à partir des courbes de la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration de chaque échantillon.

3.5.3. Solubilité de dérivé inuline-AF

La solubilité de l'inuline-AFest testée dans l'eau distillée, une solution d'acide acétique 1% (P/V), une solution de NaOH 1% (P/V) et une solution d'acide acétique 1%/éthanol (50 :50)**[40]**.

Chapitre 4

Résultats et discussion

Chapitre 4 : Résultats et discussion

Dans le chapitre précédent, on a décrit toutes les méthodes appliquées lors de l'étude expérimentale. A présent, ce chapitre est consacré aux résultats obtenus ainsi que toutes les interprétations concernant les différentes parties de cette étude.

4.1. Synthèse des conjugués antioxydants-polysaccharides greffés

Les conjugués antioxydants-polysaccharides sont synthétisés en utilisant une paire redox d'acide ascorbique/peroxyde d'hydrogène en tant que système initiateur biocompatible et hydrosoluble. La figure 4.1 représente le mécanisme d'interaction des réactifs redox (acide ascorbique / peroxyde d'hydrogène) impliquant l'oxydation de l'acide ascorbique par le H_2O_2 à température ambiante avec formation d'un radical hydroxyle et un radical ascorbate intermédiaires qui déclenchent la réaction**[5]** .

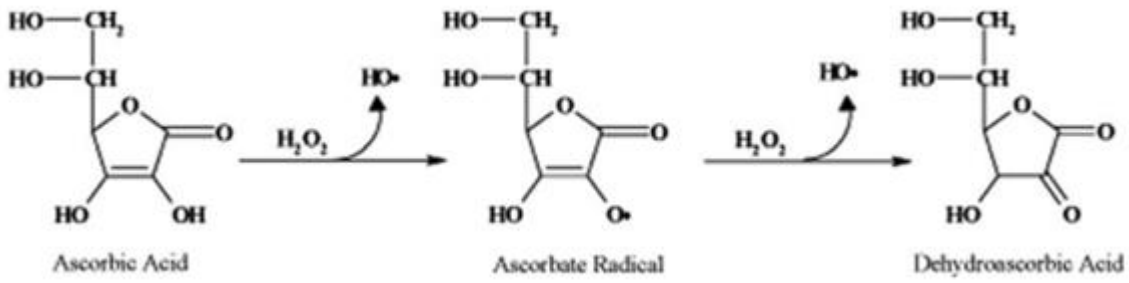


Figure 4.1 : Réaction entre l'acide ascorbique et le peroxyde d'hydrogène

La stratégie de synthèse s'est déroulée en deux étapes : la première a permis d'activer les chaînes polysaccharidiques par formation d'un macro-radical et la seconde consiste à lier de manière covalente la molécule antioxydante et le macro-radical préformé**[37].**

Les travaux ultérieurs montrent que l'activation de l'inuline via l'abstraction des atomes hydrogène des groupes hydroxyles par les radicaux hydroxyles produits par le système initiateur (AAs/H_2O_2) peut toucher aussi bien les hydroxyles en position C3, C4 et C6 de l'inuline**[5].**

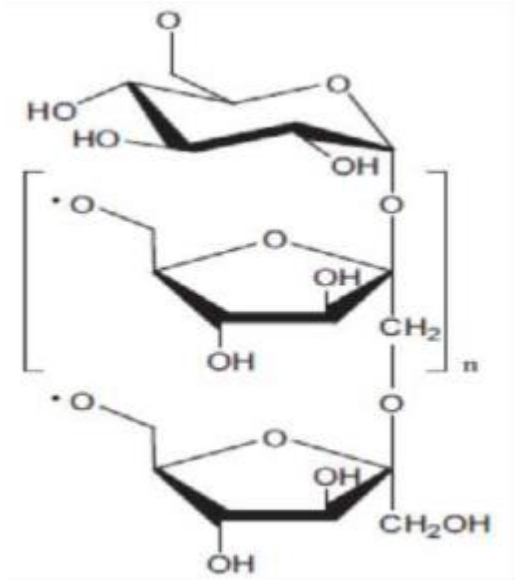


Figure 4.2 : Représentation schématique de l'activation de l'inuline en position C6 (macro-radical d'inuline)

Le mécanisme proposé pour une telle réaction (figure 4.3) suppose qu'il y a une abstraction des atomes d'hydrogène des groupes hydroxyles du polysaccharide par les radicaux hydroxyles produits par le système initiateur ce qui permet l'activation du polysaccharide (étape 1), avec la formation consécutive des sites de radicaux libres où l'insertion de la molécule anti- oxydante peut se produire (étape 2) **[37].**

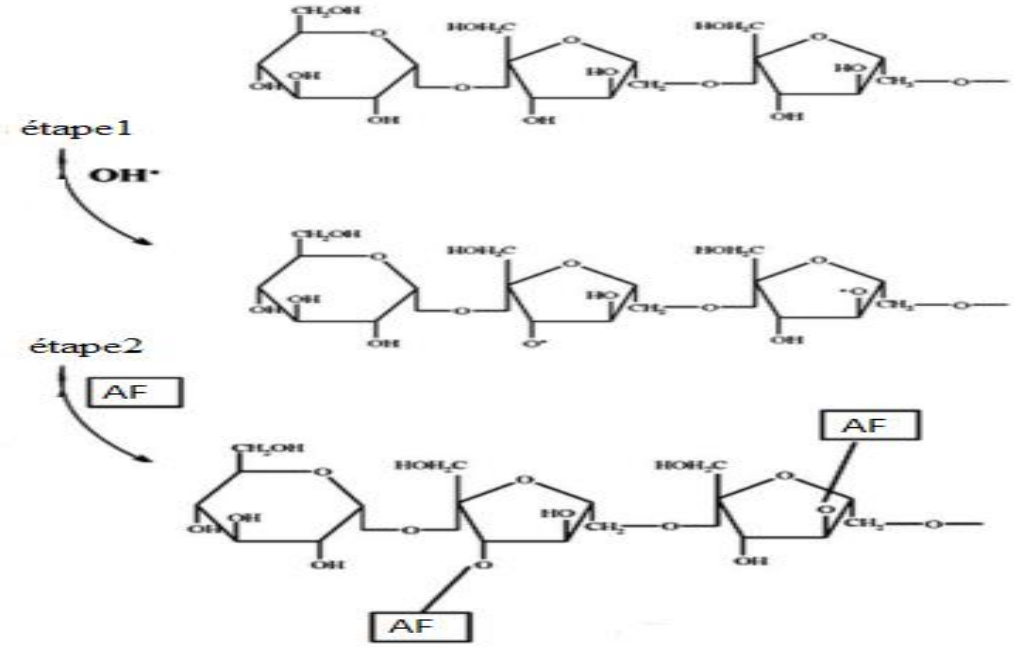


Figure 4.3 : Mécanisme d'insertion de l'acide férulique (AF) sur la chaine d'Inuline

4.2. Pouvoir antioxydant

Le composé chimique DPPH possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (figure 4.4). Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères, i.e. DPPH• reste sous sa forme monomère relativement stable à la température ordinaire. La délocalisation provoque aussi la couleur mauve bien caractéristique de la solution de DPPH•. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration (les antioxydants réduisent le radical DPPH en un composé de couleur jaune), due à une recombinaison des radicaux DPPH• (figure 4.5), mesurable par spectrophotométrie à 515-518 nm**[41] .**

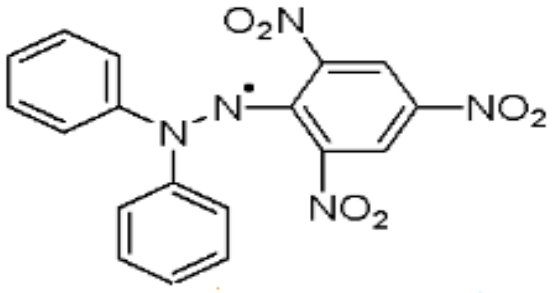


Figure 4.4 : Structure chimique du radical libre DPPH•

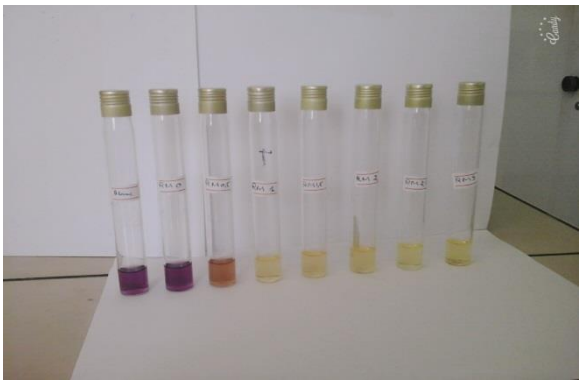


Figure 4.5 : réduction du radical DPPH

Dans le cas de l'acide férulique ($C_{10}H_9O_3$–OH), le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert de l'atome H de l'acide férulique sur le DPPH•, ce qui forme une molécule stable (DPPHH) (réaction 4.1)

$$\text{DPPH•} + C_{10}H_9O_3\text{–OH} \rightarrow \text{DPPHH} + C_{10}H_9O_3\text{–O•} \qquad (4.1)$$

La courbe d'étalonnage a été déterminée par rapport à l'acide férulique (Figures 4.6), cette courbe présente une forme linéaire avec un coefficient de corrélation (R^2) de 0.95. Les valeurs de taux d'inhibition sont calculées selon l'équation 3.1 :

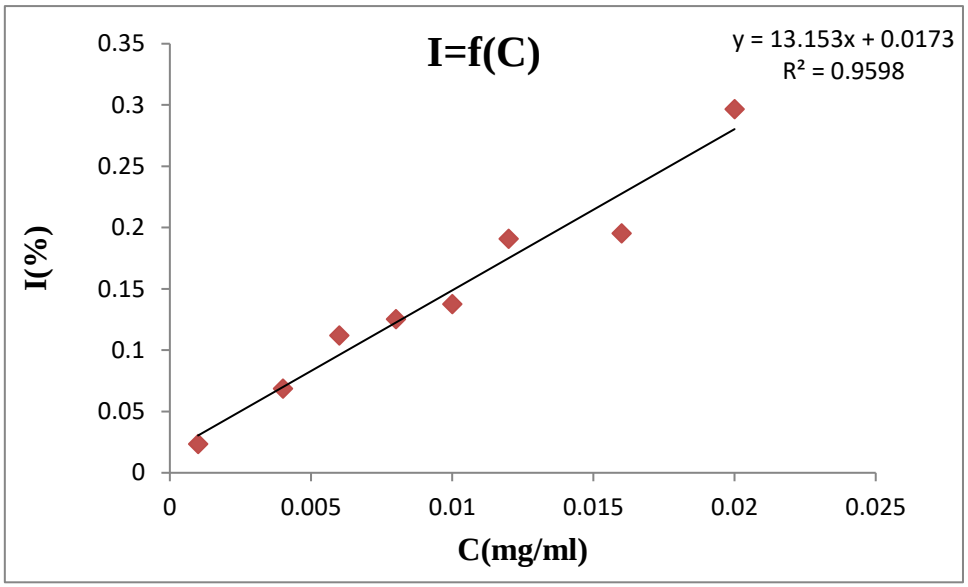


Figure 4.6 : Variation de l'activité anti-oxydante (taux d'inhibition) en fonction de la concentration de l'acide férulique.

4.3. Optimisation de la modification chimique

Au cours de l'optimisation, les résultats de la variation des paramètres obtenus sont récapitulés et schématisé dans les graphes qui suivent.

4.3.1. Etude de l'influence du rapport molaire inuline/AF

Plusieurs travaux ultérieurs affirment que le pouvoir antioxydant de l'inuline est très faible, La figure 4.7 montre clairement que l'activité anti-oxydante augmente avec l'augmentation de la concentration de l'acide férulique dans le milieu réactionnel pour atteindre un seuil maximal enregistré pour le RM (inuline/acide férulique) de 2.5 avec une inhibition de 93.72% puis elle diminue et cela peut être due à l'encombrement stérique de l'inuline qui empêche la fixation d'autres molécules d'AF **[42].**

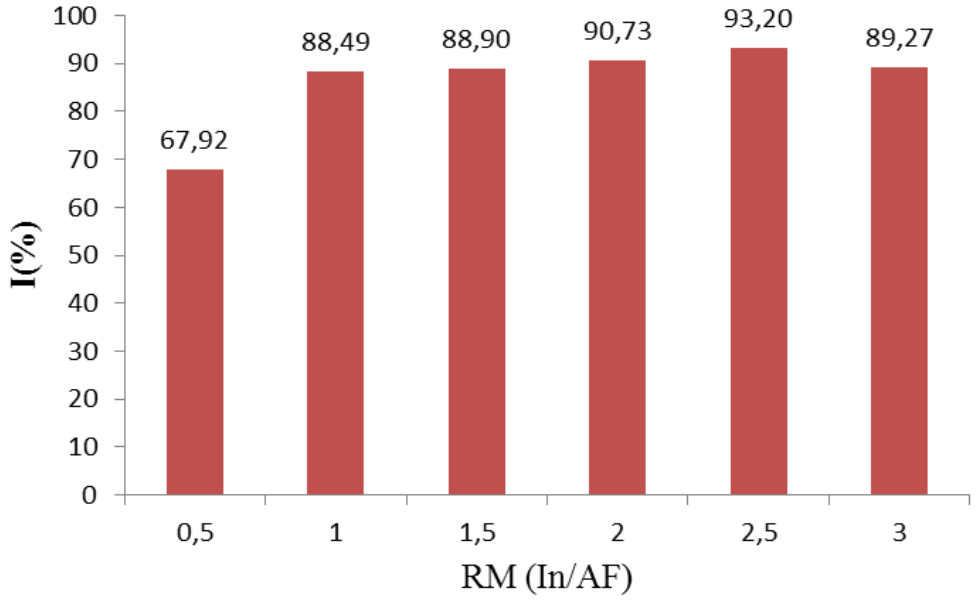


Figure 4.7 : variation du taux d'inhibition en fonction du rapport molaire inuline/AF

4.3.2. Influence de la concentration de H_2O_2

En dehors des techniques de greffage sous rayonnement, toute réaction de greffage chimique nécessite un initiateur, sa nature, sa concentration, sa solubilité ainsi que sa fonctionnalité doivent être considérées.

Une augmentation de la concentration en H_2O_2 est réalisée avec des nombres de moles variant entre 2.78 et 16.65 mmol. Les résultats de taux d'inhibition obtenus sont représentés sur la figure 4.8.

La figure au-dessous montre une activité anti-oxydante élevée malgré la faible concentration de H_2O_2(n= 2.78mmol) puis elle atteint la limite avec 97.12% (n= 5.55 mmol) mais par la suite elle diminue, on pense que cela est due à l'excès des groupements hydroxyles résultant de la scission homolytique du H_2O_2 ($H_2O_2 \rightarrow 2$ HO) qui occupent les sites libre sur l'inuline empêchant ainsi l'insertion de la molécule anti-oxydante.

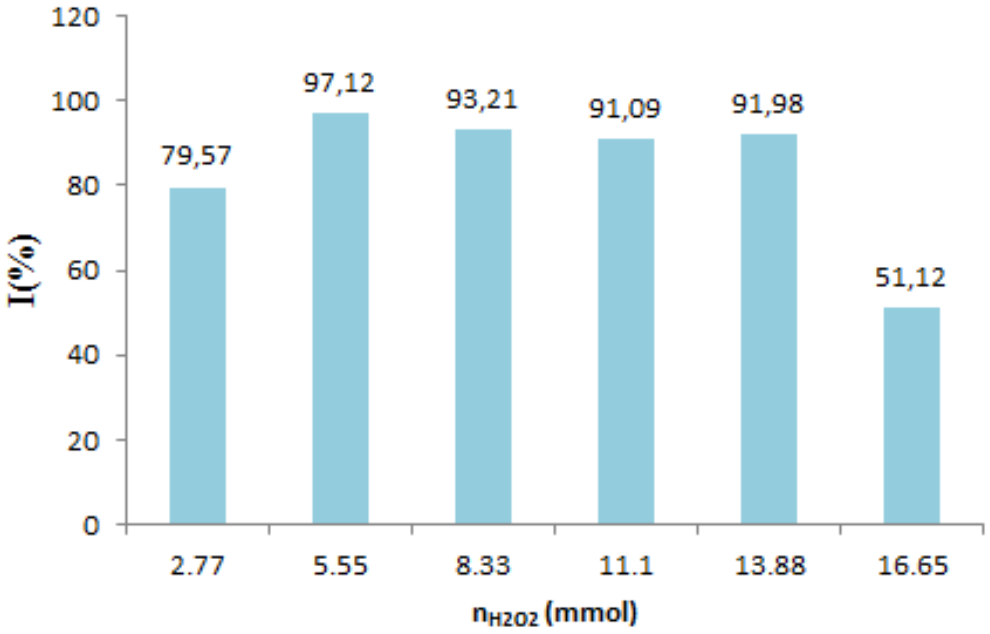


Figure 4.8 : Variation de taux d'inhibition en fonction de nombre de mole du H_2O_2

4.3.3. Influence de la concentration de l'acide ascorbique

L'acide ascorbique (AAs) est l'activateur de la réaction, il permet une meilleure décomposition du peroxyde d'hydrogène. Une variation de nombre de mole est réalisée allant 2.77 à 16.65mmol. Les résultats obtenus sont représentés sur la figure 4.9.

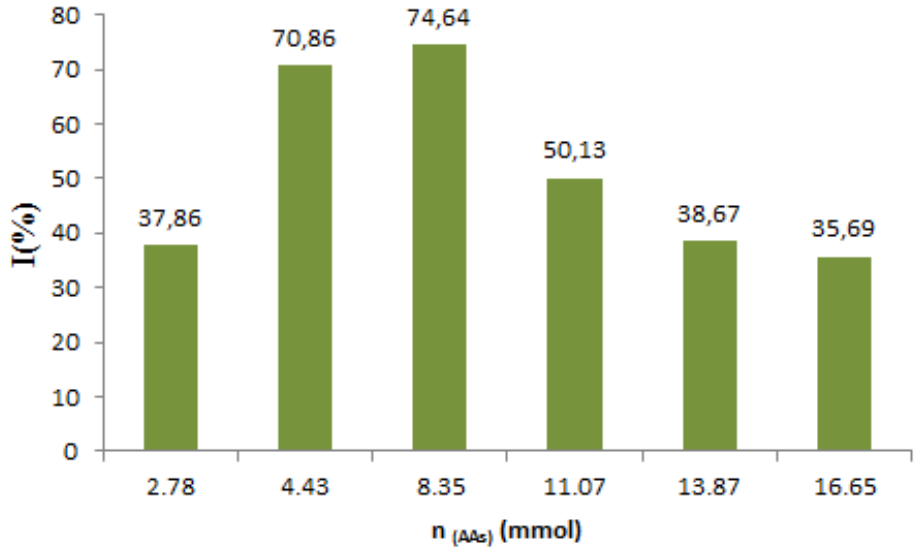


Figure 4.9 : Variation de taux d'inhibition en fonction de nombre de mole de l'acide ascorbique.

La figure 4.8 présente les différents pourcentages de piégeage des radicaux libres, on constate tout d'abord que le taux d'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration en acide ascorbique jusqu'à une valeur optimale de 74.64% qui correspond à un

nombre de mole de 8.35 mmol, ensuite elle diminue malgré que la quantité de l'AAs reste toujours en augmentation, on pense que l'efficacité de la réaction a baissée due à une forte présence de l'acide dehydroascorbate dans le milieu réactionnel engendrée par l'oxydation de l'acide ascorbique par peroxyde d'hydrogène.

4.3.4. Effet de temps sur la réaction

Dans notre protocole opératoire l'ajout de l'AF se fait après 30 min de l'insertion de l'inuline durant lesquelles cette dernière est sensée activée. La réaction est réalisée à différents intervalles de temps allant de 2 à 48h, les résultats des taux d'inhibitions obtenues sont illustrés dans la figure 4.10.

A partir de cette figure, on constate qu'au début de la réaction l'activité anti-oxydante augmente en fonction du temps de fixation, où elle atteint la valeur maximale (82.38 %) à un temps de 6h, entre 6 et 24h le taux d'inhibition diminué avec une petite différence de 5% tandis qu'après 48h l'activité antioxydante diminuée à la moitié de celle de 24h, cela peut être justifié par la dégradation de l'inuline en phase aqueuse .

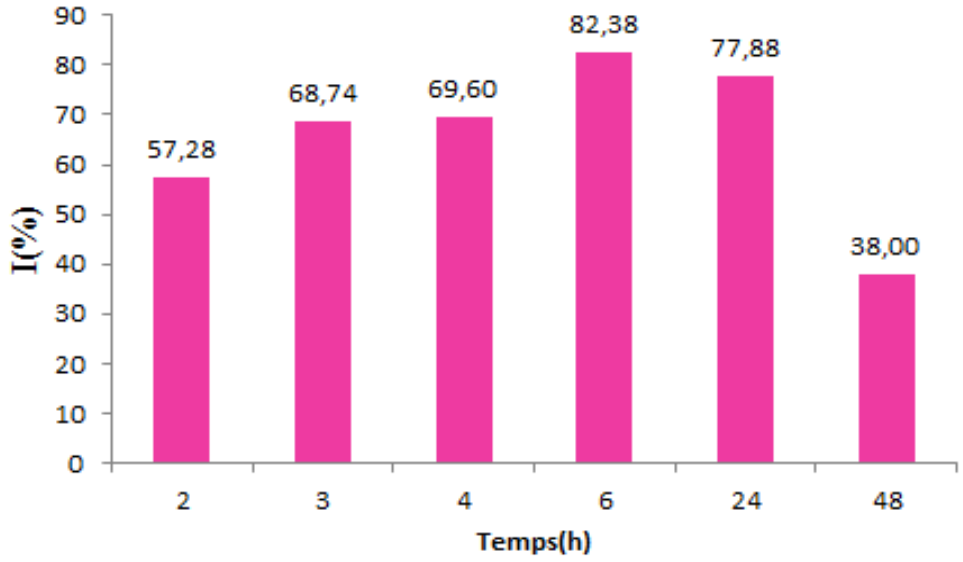


Figure 4.10 : Variation de taux d'inhibition en fonction de temps de réaction

4.3.5. Effet de température

Durant la pratique, on a fait varier la température réactionnelle, tout d'abord on a effectué la réaction à 4, 25 et 40°C mais celle de 60 et 80°C n'ont pas pu être réalisées car la présence de chauffage et le flux de l'azote au même temps cause l'évaporation de l'eau et par la suite le séchage du milieu réactionnel.

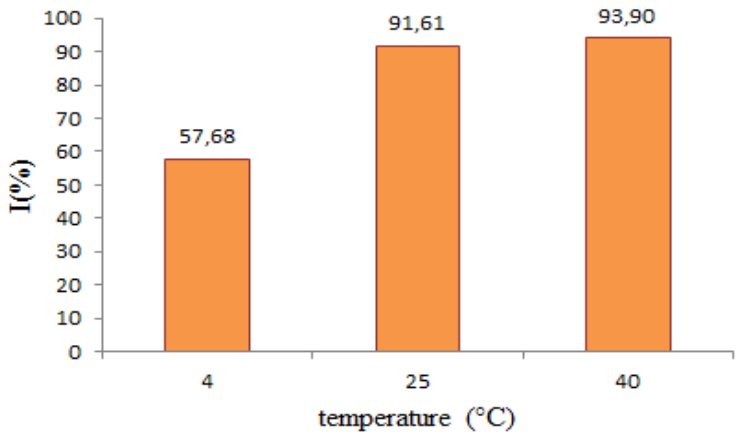


Figure 4.11 : Variation de taux d'inhibition en fonction de la Température de réaction

Le Figure au-dessus montre que le pourcentage d'inhibition est en hausse avec l'augmentation de la température. On remarque que l'activité anti-oxydante à 25 et 40°C est quasiment la même et qu'on a pu remarquer lors de récupération que la quantité de l'inuline modifiée à 40°C est vraiment faible par rapport à la quantité 25°C, c'est pourquoi on considère que 25°C est la température optimale de notre réaction.

Suite à l'optimisation de la modification chimique de l'inuline, il s'est avéré que le polymère optimal présentant la meilleure caractéristique anti-oxydante est celui qui est synthétisé dans les conditions suivantes :

Tableau 4.1 : Conditions optimales de la modification chimique de l'inuline

paramètre	AF	H_2O_2	AAs	t (h)	T (°C)
Nombre de mole (mmol)	13.87	5.55	8.35	/	/
équivalent	2.69 g	0.51 ml	1.47g	6 h	25

4.4.Caractérisation du dérivé Inuline-Acide férulique

La caractérisation du dérivé inuline-acide férulique obtenu dans les conditions optimales est réalisée par spectroscopie infra-rouge et en calculant l'activité anti-oxydante.

4.4.1. Analyse FT-IR

Pour vérifier et confirmer la réussite du greffage de l'Acide furélique sur l'Inuline, on a eu recours à la caractérisation par spectrophotométrie FT-IR (la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier) du polymère optimal. La piste à rechercher est simple : l'apparition d'un ou de nouveaux pics caractéristiques de la molécule à greffer (AF) sur le squelette polysaccharidique.

Dans la littérature les spectres infrarouges de l'AF et de l'inuline sont bien détaillés. Le spectre de l'inuline commerciale utilisée dans notre étude est donné par la figure 4.12, il présente les caractéristiques suivantes:

- ✓ une bande intense à environ 3367 cm^{-1} qui est attribuée à la vibration de valence des groupements OH du polysaccharide.
- ✓ une bande à 2931 cm^{-1} qui est due à la vibration d'élongation CH du CH_2.
- ✓ des bandes dans la région de 1500 cm^{-1} et 1200 cm-1 ont été assignées à la vibration de déformation de CH.
- ✓ des bandes comprises entre 1132 et 1032 cm^{-1} correspondent aux vibrations d'élongation COC et COH**[23].**

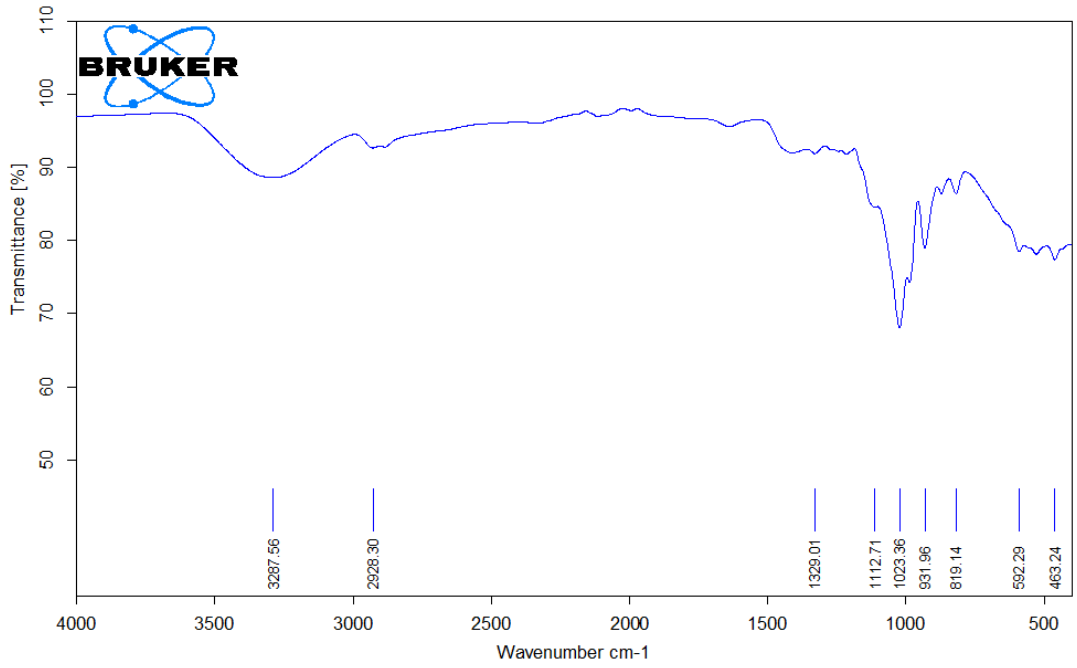


Figure 4.12 : Spectre FTIR de l'inuline commerciale

A partir de la Figure 4.13, les spectres FTIR de l'acide Férulique présentent les caractéristiques suivantes :

- ✓ un pic caractéristique de FA était Trouvé à 3430 cm^{-1} attribué à la liaison O-H d'acide carboxylique
- ✓ une très large élongation correspondant à la liaison O-H vers 2835 cm^{-1}
- ✓ une élongation variable entre 1462-1661cm^{-1} correspond aux vibrations d'élongation C=C du cycle aromatique

- ✓ des bandes comprises entre 1266 et 1029cm^{-1} correspondent aux vibrations d'élongation C-O
- ✓ des bandes inferieures à 1000 cm^{-1} qui correspondent à la liaison C-H**[36] [43]** .

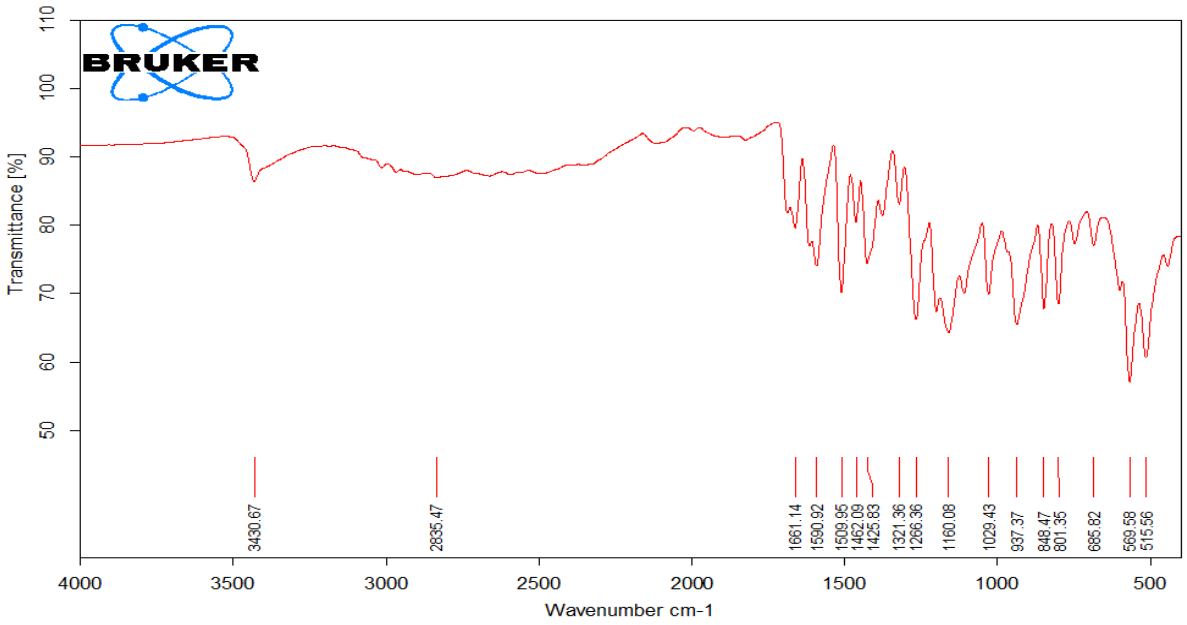


Figure 4.13: Spectre FTIR de l'acide férulique

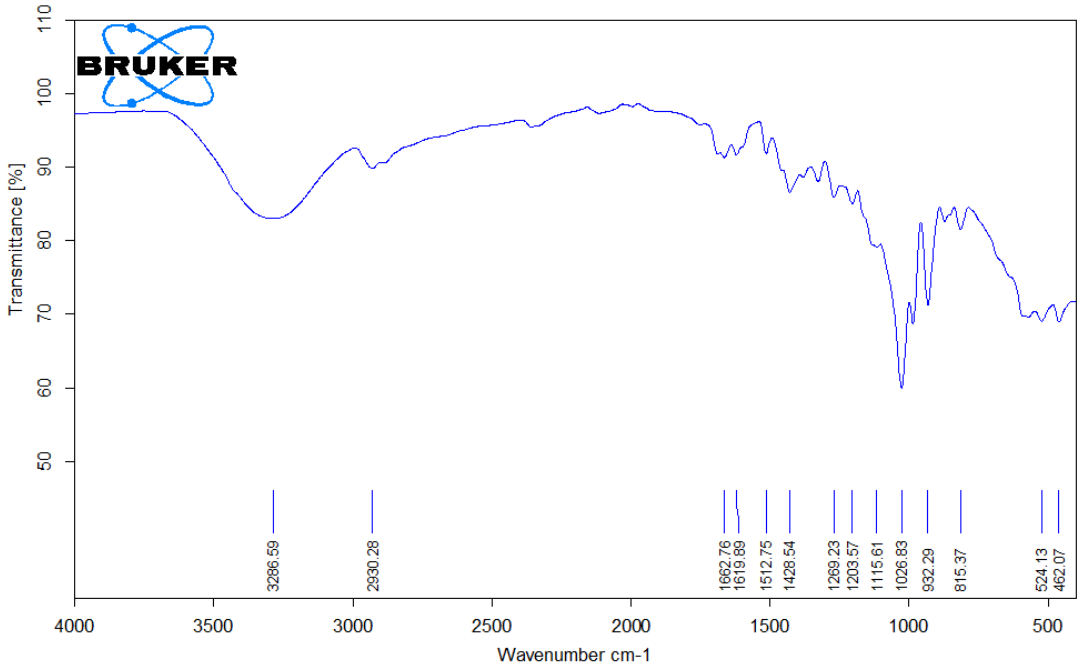


Figure 4.14 : Spectre FTIR de dérivé inuline-AF

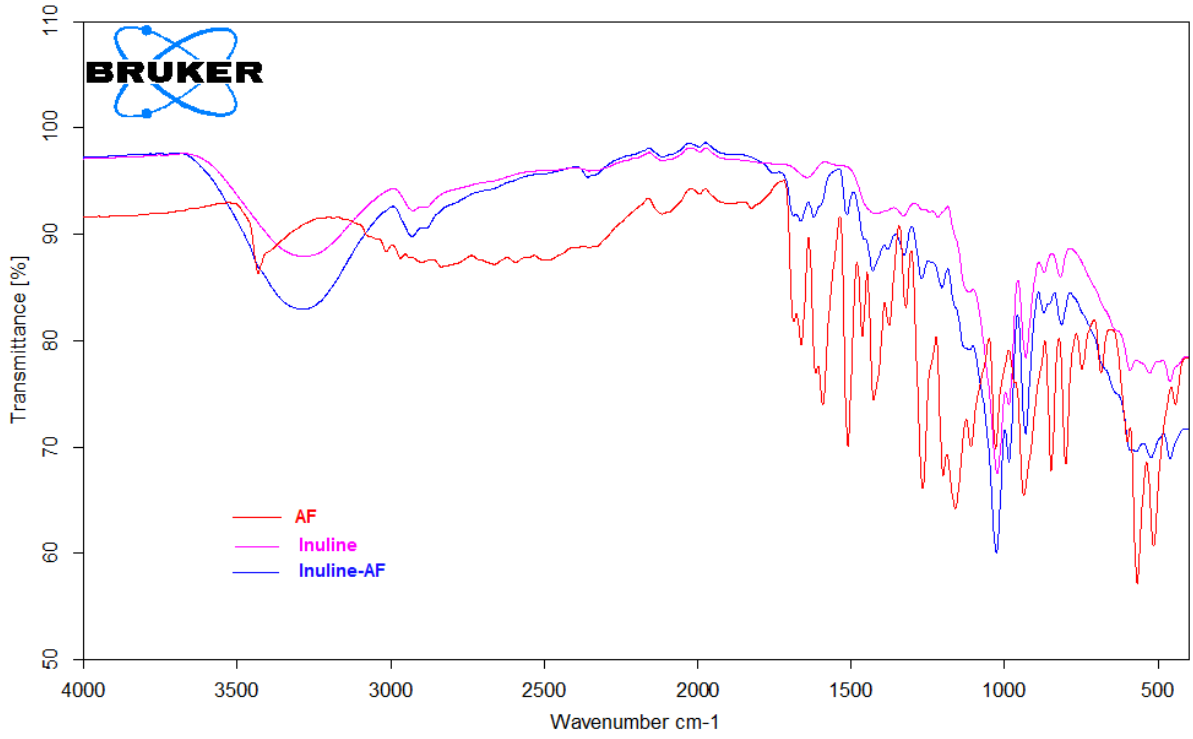


Figure 4.15 : Superposition des trois spectres

Les spectres IR qui apparaissent sur la figure 4.15 dévoile clairement et confirme l'insertion de la molécule d'acide férulique sur le squelette de l'inuline par le biais d'une liaison ester (apparition d'un pic d'adsorption à 1700 cm^{-1} correspond à la formation d'une liaison ester).

4.4.2. Détermination de la concentration inhibitrice IC50

La IC50 ou concentration inhibitrice de 50% (aussi appelée EC50 pour Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH●. Les IC50 sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testée**[40].**

Plusieurs dilutions d'une solution mère (2mg/ml) du dérivé sont réalisées pour une mesure de DO. Les valeurs obtenues sont schématisé dans la figure suivante :

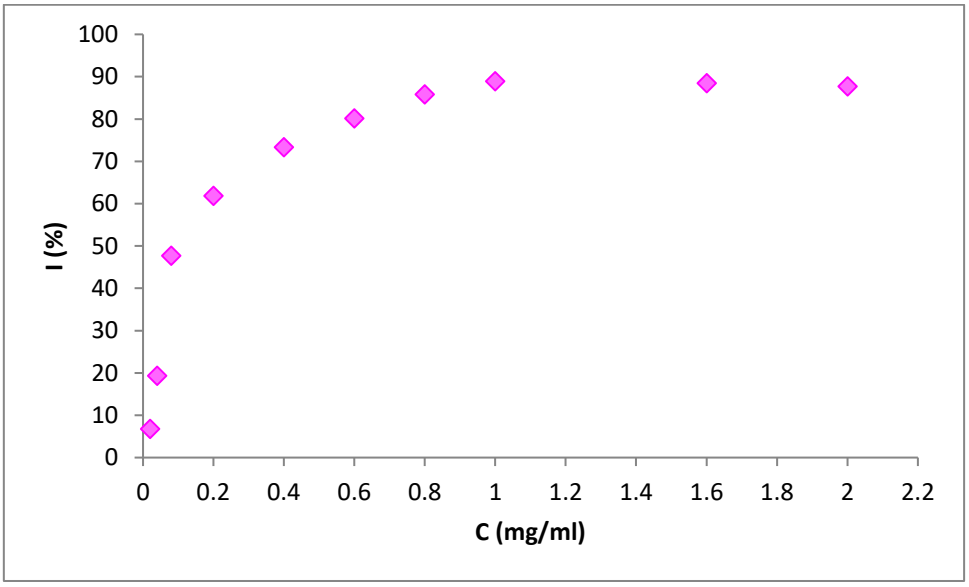


Figure 4.16 : Variation de taux d'inhibition en fonction de la concentration du dérivé inuline-AF

La figure 4.16 montre les résultats de mesure de pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration de dérivé inuline-AF. On remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration jusqu'à la valeur de 1mg/ml. Après cette concentration le pourcentage d'inhibition reste fixe quel que soit la valeur de concentration.

L'IC50 est inversement proportionnel à la capacité antioxydante d'un composé, parce qu'il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC50 est petite, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande**[44].** D'après la figure 4.14, La valeur d'IC50 déterminée est dans les environs de 0.08mg/ml.

En utilisant la courbe d'étalonnage de l'acide férulique citée dans la section 4.3, l'IC50 calculée de cette molécule anti-oxydante est égale à 0.036mg/ml. En comparant les deux IC50 trouvée on peut dire que notre dérivé inuline-AF possède une activité antioxydante moyenne par rapport à celle de l'AF.

4.4.3. Solubilité de l'inuline-AF

La solubilité de l'inuline greffée optimal est testée en faisant dissoudre 0.5g de l'échantillon dans les solutions suivantes : 50 ml d'eau distillée, une solution d'acide acétique à 1%, une solution de NaOH à 1% et enfin, un mélange d'acide acétique à 1% et Ethanol (1 :1). Les solutions sont préparées et laissées 24h pour l'observation**[40]**. En parallèle le protocole est effectué sur l'inuline native pour faire la différence. Les résultats obtenus montre que l'inuline native présente une meilleure solubilité dans l'acide acétique par rapport au dérivé comme le montre la figure 4.17-**a**, alors que dans la solution NaOH (figure 4.16-**b**) les deux substances sont très soluble où on remarque une coloration marron dans le cas de dérivé inuline-AF. On

peut constater à partir de la photo **c** que dans le mélange d'acide acétique et l'Ethanol, le polymère n'est pas vraiment soluble car la solution est plus trouble par rapport à celle de l'inuline native. En fin, dans l'eau distillée (photo **d**) on remarque que les substances ne sont pas solubles car des particules sont précipitées au fond des fioles.



Figure 4.17 : solubilité de l'inuline et inuline-AF dans: (a) solution d'acide acétique (1%), (b) solution NaOH (1%), (c) mélange acide acétique/éthanol (50:50), (d) eau distillée

Conclusion générale

Conclusion générale

A travers ce travail, nous avons essayé de synthétiser un polymère antioxydant à base d'inuline comme macromolécule et l'Acide furélique comme molécule anti-oxydante par le biais de greffage induite par les radicaux libres en utilisant le couple d'oxydoréduction acide ascorbique/H_2O_2 comme initiateur de la réaction.

Tous d'abord, une optimisation des conditions de greffage est effectuée en jouant sur la variation des paramètres suivants : le rapport molaire inuline/acide férulique, le nombre de mole de H_2O_2, le nombre de mole de l'acide ascorbique, le temps ainsi que la température de réaction afin d'avoir un biopolymère antioxydant.

L'étude du pouvoir antioxydant est effectuée par la méthode du DPPH. Cependant, le conjugué optimal est obtenu en faisant réagir 2.96g d'AF et 0.51ml d'H_2O_2 , 1.47g d'AAs avec 1g d'inuline pendant 6h à une température ambiante. Ce dérivé montre un taux d'Inhibition de 91.61%. La concentration nécessaire pour réduire 50% des radicaux libres du DPPH (IC50) est trouvée dans les environs de 0.08mg/ml.

Le dérivé obtenu dans les conditions optimales a subi une caractérisation par la spectroscopie infrarouge, le spectre obtenu présente une bande d'absorption à 1700cm^{-1} qui correspond à la liaison ester. L'apparition de cette bande ester prouve la bonne fonctionnalisation de l'inuline.

En fin, la solubilité du polymère optimal dans plusieurs solvant est comparée avec celle de l'inuline HPX, on peut dire que dans le cas de NaOH, les 2 substances sont très solubles, voir même que le dérivé inuline-AF a montré une coloration, on pense qu'elle est due à une réaction de dégradation de ce dernier. Tandis que dans le cas de l'eau distillée, les deux substances sont insolubles.

En perspective de ce travail, il serait intéressant de :

- Réaliser d'autres caractérisations pour le dérivé inuline-AF notamment la résonance magnétique nucléaire (RMN), la diffraction des rayons X (DRX) ainsi que la DSC.
- Faire la modification chimique de l'inuline en milieu organique.
- Voir des applications pour le dérivé obtenu.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

[1] COVIELLO,T., MATRICARDI,P., MARIANECCI,C. ALHAIQUE,F.“ Polysaccharide hydrogels for modified release formulations”. Journal of Controlled Release, 119(1), 5-24,2007.

[2] INGH, V., KUMAR,P. SANGHI,R. “Use of microwave irradiation in the grafting modification of the polysaccharides -A review. Progress in Polymer Science, 37, 340-364, 2012.

[3] Conceic, A., Esberard, N., Beltrão, D.M., Pessoa, A., Converti, A., Alexsandro, J., “Inulin-type fructans : A review on different aspects of biochemical and pharmaceutical technology”, 101(2014) 368–378.

[4] Abdeldaim, A., Boukhedimi A., “Mise en plae d'un hydrogel thermosensible pour la libération prolongée d'un principe actif”, Mémoire de Master en Normes et Contrôle de Qualité, Université de Médéa, 2016.

[5] Amel, G., “Essai de synthèse d’un conjugué acide gallique-inuline et étude in vitro de leurs activités anti- oxydante et prébiotique”, Mémoire de Magister en Biochimie Appliquée aux Bio-industries, Université de Tizi ouzou, 2014.

[6] Tarasrasset, I., Rabiai, Z., “Optimisation d’un procde déxtraction d’un polysacharide” Mémoire de Master en génies des procédés, Université de Médéa, 2013.

[7] Tournié, J.M.O., “Méta-analyse des effets de l’oligofructose et de l’inuline sur le risque de cancer colorectal dans deux modèles murins : rats traités par un carcinogène et souris Min”, Thèse de doctorat en vétérinaire, Université Paul-Sabatier de Toulouse, 2008.

[8] Ronkart, S.N., Blecker, C.S, Fourmanoir, H., Fougnies, C, Deroanne, C., Van Herck, J.C, Paquot, M., “Isolation and identification of inulooligosaccharides resulting from inulin hydrolysis”, Analytica Chimica Acta, 604 (2007) 81-87.

[9] Van Loo, J., Coussement, P., de Leenheer, L., Hoebregs, H., Smits, G., “On the presence of inulin and oligofructuose as natural ingredients in the western diet .Critical Review in Food Science and Nutrition, 35 (1995) 535-552.

[10] Ramchandran, L., Shah, N.P., “Effect of exopolysaccharides and inulin on the α -glucosidase-inhibitory activities as well as on textural and rheological properties of low-fat yogurt during refrigerated storage”, Dairy Science & Technology, 89 (2009) 583-600

[11] Silva, R.F., "Use of inulin as a natural texture modifier", Cereal Foods World, 41 (1996) 792-794.

[12] Kim, Y., Faqih, M.N., Wang, S.S., "Factors affecting gel formation of inulin", Carbohydrate Polymers, 46 (2001) 135-145.

[13] Rogge, T.M., Stevens, C.V., "Facilitated synthesis of inulin esters by transesterifiction", Biomacromolecules, 5 (2004) 1799-1803.

[14] Mensink, M.A., Frijlink, H.W, .van der Voort Maarschalk, K., Hinrichs, W.L., "Inulin, a flexible oligosaccharide I: Review of its physicochemical characteristics", Carbohydrate Polymers, 130 (2015) 405–419.

[15] Cimmino, T., Metidji, S., Labas, N., Le Page, S., Musso, D., Raoult, D., Rolain, J.M., "Genome sequence and description of Actinomyces polynesiensis str . MS2 sp . nov . isolated from the human gut," New Microbes New Infections, 12 (2016) , 1–5.

[16] Niness, K.R., "Inulin and oligofructose: what are they?", Journal of Nutrition, 129 (1999) 1402S-1406S.

[17] Barclay, T., Ginic-Markovic, M., Cooper, P., Petrovsky, N., "Inulin-a versatile polysaccharide with multiple pharmaceutical and food chemical uses", Journal of Excipients and Food Chemistry, 3 (2010) 27-50

[18] http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/rcp/R0217524.htm (dernière consultation 02/07/2017)

[19] COVIS, R., "Synthèse de polysaccharides amphiphiles à partir de dextrane et application à la stabilisation d'émulsions directes et inverses", Thèse de doctorat, Vandoeuvre-les-Nancy, INPL, 2011.

[20] Kays, S.J., Nottingham, S.F., "Chemical composition and inulin chemistry, in Biology and chemistry of jerualem artichoke Hilianthus tuberosus L.", CRC Press, Taylor and Francis Group, (2008), pp 75-90.

[21] Stevens, C.V., Meriggi, A., Booten, K., "Chemical modification of inulin, a valuable renewable resource, and its industrial applications", Biomacromolecules, 2 (2001) 1-15.

[22] Ehrhardt, S., Haji Begli, A., Kunz, M., Scheiwe, L., "Aliphatic carboxylate esters of inulin". US 5877144 A, 2 mars 1999.

[23] Wu, X.Y., Lee, P.I., "Preparation and Characterization of Inulin Ester Microspheres as Drug Carriers", Journal of Applied Polymer Science, 77 (2000) 833-840.

[24] Rogge, T.M., Stevens, C.V., Booten, K., Levecke, B., Vandamme, A., Vercauteren, C., Haelterman, B., Corthouts, J., D'hooge, C., "Improved synthesis and physicochemical properties of Alkoxylated Inulin", Topic in catalysis, 27 (2004) 39-47.

[25] Morros, J., Levecke, B., Infante, M.R., "Chemical hydrophobic modification of inulin in aqueous media: synthesis of β-hydroxyalkyl ethers of inulin", Carbohydrate Polymers, 81 (2010) 681-686.

[26] Fahmy Ishak, M., Painter, T., "Formation of inter-residue hemiacetals during the oxidation of polysccharides by periodate ion", Acta Chemica Scandinavica, 25, (1971) 3875-3877.

[27] Haworth, W.N., Lyle Streight, H.R., "The Acetylation and Methylation of Inulin" Helvetica Chimica Acta, 15 (1932) 609-615.

[28] Kennedy, J.F., Cho Tun, H., "Preparation of carbonate polysaccharides and cycloamyloses", Carbohydrate Research, 26 (1973) 401-408.

[29] Verraest, D.L., da Silva, L.P., Peters, J.A., van Bekkum, H., "Synthesis of Cyanoethyl inulin, aminopropyl inulin and carboxyethyl inulin", Starch/Stärke, 48 (1996) 191-195.

[30] Verraest, D.L., Peters, J.A, van Bekkum, H., van Rosmalen, G.M., "Carboxymethyl inulin: a new inhibitor for calcium carbonate precipitation", Journal of the American Oil Chemists Society, 73 (1996) 55-62.

[31] Rahul, R., Jha, U., Sen, G., Mishra, S., "Carboxymethyl inulin: A novel flocculant for wastewater treatment", International Journal of Biological Macromolecules, 63 (2014) 1-7.

[32] De Nooy, A.E.J., Besemer, A.C., van Bkkum, H., "Highly selective tempo mediated oxidation of primary alcohol groups in polysaccharides", Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas, 113 (1994) 165-166.

[33] Kyzee, H.C., Boukje Bolkenbaas, M.E., Jonker, R., «Fructan derivatives». united states Brevet US 20020082399 A1, 27 juin 2002.

[34] https://fr.wikipedia.org/wiki/Acide_f%C3%A9rulique (dernière consultation juin 2017)

[35] S. K. P. Swamy, V. Govindaswamy, "Therapeutical properties of ferulic acid and bioavailability enhancement through ferulyol esterase", Journal of functional foods 17 (2015) 657-666.

[36] R. K. Harwansh, P. K. Mukherjee, S. Bahadur, and R. Biswas, "Enhanced permeability of ferulic acid loaded nanoemulsion based gel through skin against UVA mediated oxidative stress" Life Sci, 141(2015), pp. 202–211.

[37] Spizzirri, U.G., Parisi, O.I., Iemma, F., Cirillo, G., Puoci, F., Curcio, M., Picci, N., "Antioxidant–polysaccharide conjugates for food application by eco-friendly grafting procedure", Carbohydrate Polymers 79 (2010) 333–340

[38] Benhammou, N., Atik bekkara, F., Kadifkova panovska, T., "Antiradical capacity of the phenolic compounds of Pistacia lentiscus L. and Pistacia atlantica Desf", Advances in Food Sciences, 29(2007) pp 155-161

[39] Curcio, M., Puoci, F., Iemma, F., Parisi, O.I., Cirillo, G., Spizzirri, U.G., Picci, N., "Covalent insertion of antioxidant molecules on chitosan by a free radical grafting procedure", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57 (2009) 5933-5938.

[40] Liu, J., Lu, J.-F., Kan, J., Wen, X.-Y., Jin C.-H., "Synthesis, characterization and in vitro anti-diabetic activity ofcatechin grafted inulin", International Journal of Biological Macromolecules 64 (2014) 76– 83.

[41] Popovici, C., Saykova, I., Tylkowski, B., (2009). "Evaluation de l'activité des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH" Revue de Génie industriel4, 25-39

[42] B. L. M. R. I. Jordi Morrosa, "Synthesis of hydroxyalkyl ethers of inulin in aqueous surfactant media" Carbohydrate Polymers(2010) 1168–1173.

[43] N. K. M. S. V. P. Priya Vashisth, "Biomedical applications of ferulic acid encapsulated electrospun nanofibers" Biotechnology Reports8(2015), 36-44.

[44] S. Khoudali1, D. Benmessaoud left, A. Essaqui, M. Zertoubi, M. Azzi , M. Benaissa, Étude de l'activité antioxydante et de l'action anti corrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (Chamaerops humilis L.) du Maroc , J. Mater. Environ. Sci. 5 (3) (2014) 887-898