République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Dr Yahia FARES de MEDEA
Faculté de Technologie

Mémoire
Présenté pour obtenir le diplôme de Master
En Génie Des Procédés Pharmaceutique

Par :

BENKHAOUA Yousra

AMERI Nesrine

Thème :

Formulation et caractérisation d'hydrogel à base des biomolécules

Soutenue devant le jury composé de :

MAACHOU H.	MCA	Président
HACHACHE N.	MCA	Examinateur
YOUCEF ETTOUMI K.	MCA	Encadreur
ZOUAMBIA Y.	MCA	Co-encadreur

Promotion 2022/2023

ملـخـــــص

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو صياغة الهلاميات المائية على أساس نوعين من البوليمرات الحيوية الطبيعية وهشا وألجينات الصوديوم ، مع أو بدون إضافة حمض الأسكوربيك ، كمضاد قوي للأكسدة. تم تمييز الهلاميات المائية المحصل عليها وفحص خصائصها الفيزيائية والكيميائية والبيولوجية. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن الأشكال المختلفة للهيدروجيلات المصنعة تعتمد بشكل أساسي على تركيز البوليمرات ، وقدراتها على الامتصاص كانت حساسة لكمية $CaCl_2$ المضافة ، وتغير درجة الحرارة ، وملوحة الأنظمة وتفاوتات درجة الحموضة. إضافة حمض الأسكوربيك زاد من صلابة الهيدروجيل من ناحية وحسن درجة التوسع بشكل كبير. أظهرالتحليل البيولوجي أن الهلاميات المائية التي تمت صياغتها في وجود حمض الأسكوربيك تسبب ضًا شبه كلي لـ DPPH بنسبة 94.31٪ ، ولكن لم يتم تسجيل أي نشاط مضاد للميكروبات على *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* و *Candida sp*. *تم استخدام الهلاميات المائية المركّبة كنظام لإدراج و تحرير الأموكسيسيلين كمكون نشط ،وقد تم تسجيل تحرير أفضل في الوسط المحايد مع أقصى قدر من الأموكسيسيلين الذي تم إطلاقه في حدود 3.53 جم / لتر.*

كلمات مفاتيح: نشا ، ألجينات ، حمض الأسكوربيك ، هيدروجيل ، نشاط بيولوجي ، مادة فعالة ، تحرير

Résumé

Cette étude a pour principal objectif la formulation des hydrogels à base de deux biopolymères naturels qui sont l'amidon et l'alginate de sodium, avec ou sans ajout de l'acide ascorbique, en tant qu'un antioxydant fort. Les hydrogels obtenus ont été caractérisés et leurs propriétés physico-chimiques et biologiques ont été investiguées. Les résultats obtenus ont montré que les morphologies différentes des hydrogels formulés dépendent principalement de la concentration des polymères, et leurs capacités de gonflement étaient sensibles à la quantité de $CaCl_2$ ajouté, à la variation de température, à la salinité des systèmes et aux variations du pH. L'ajout de l'acide ascorbique (AA) a permet d'augmenter d'une part la rigidité de l'hydrogel et à améliorer considérablement le gonflement. L'analyse biologique a montré que les hydrogels formulés en présence d'acide ascorbique provoquent une réduction presque totale de $DPPH^{\bullet}$ de l'ordre de 94,31%, mais aucune activité antimicrobienne n'est enregistrée sur les *Staphylococcus aureus, Escherichia coli et Candida sp.* Les hydrogels formulés ont été utilisés comme matrices pour l'inclusion et libération de l'amoxicilline utilisée comme principe actif model. Une meilleure libération est enregistrée dans le milieu neutre avec une quantité maximale d'amoxicilline libérée de l'ordre de 3.53 g/l.

Mots clés: Amidon, Alginate, Acide ascorbique, Hydrogel, Activité biologique, Principe actif, Libération.

Abstract

The main objective of this study is the formulation of hydrogels based on two natural biopolymers which are starch and sodium alginate, with or without the addition of ascorbic acid, as a strong antioxidant. The hydrogels obtained were characterized and their physico-chemical and biological properties were investigated. The results obtained showed that the different morphologies of the formulated hydrogels mainly depend on the concentration of the polymers, and their swelling capacities were sensitive to the amount of $CaCl_2$ added, to the temperature variation, to the salinity of the systems and to the variations of the pH. The addition of ascorbic acid (AA) increases the rigidity of the hydrogel and improves swelling considerably. The biological analysis showed that the hydrogels formulated in the presence of ascorbic acid cause an almost total reduction of DPPH● of the order of 94.31%, but no antimicrobial activity is recorded on *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* and *Candida sp*. The formulated hydrogels were used as matrices for the inclusion and the release of amoxicilline as model active ingredient .A better release is recorded in the neutral medium with a maximum amount of amoxicillin released in the order of 3.53 g/l.

Key Word: Starch, Alginate, Ascorbic acid, Hydrogel, Biological activity, Active ingredient, Release.

REMERCIEMENTS

Tout d'abord ; nous remercions dieu tout puissant de nous avoir donné le courage et la puissance durant toutes ces années d'études et que grâce à lui ce travail a pu être réalises.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à notre promotrice de mémoire Dr. YOUCEF ETTOUMI Khadidja de nous avoir proposé ce sujet qui nous a permis d'approfondir nos connaissance; Mercie pour tous vos judicieux conseils, votre exigence intellectuelle, vos encouragements et surtout votre patience et la confiance que vous nous avez accordé.

Nous présentons également nos sincères remerciements et nos profonds respects à notre Co-promotrice Dr. ZOUAMBIA Yamina.

Nous remercions l'ensemble des membres du laboratoire. Nos sincères remerciements à tous nos collègues pour leur aimable contribution

Nous remercions aussi toute personne ayant contribues de près ou de loin à l'accomplissement ce modeste travail

Nous tenons aussi à exprimer nous vifs remerciement aux membres de jury pour avoir accepté d'examiner ce travail et d'évaluer le contenu de ce mémoire de Master.

Dédicaces

Je remercie tout d'abord DIEU «الله » qui m'a tracé le chemin de ma vie.

Je dédie Humblement ce travail avec une grande fierté et comme geste de gratitude :

À mes chéres parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le respect que j'ai toujours eus pour vous

À mon chér et unique frère : Mohamed….

À mes très chères sœurs : Ines et Douaa

À ma binome, Je te souhaite une bonne continuation et beaucoup de réussite.

À toute ma famille et tous ceux que j'aime et qui je respecte.

Yousra

Dédicaces

Je dédie ce travail,

A mes chers parents que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments, pour la patience illimitée, leur encouragement continu et leur tendresse, je vous invite aujourd'hui à être fière de moi.

A mon chère marie Seddik SKENDER pour son amour, son soutien et ses efforts tout à la longue de mes études.

A mes petites filles Rihem & Aya, mon chère frère Sidahmed, ma belle-famille et tout ma famille.

A tous mes amies, ainsi qu'à toutes les personnes qui m'ont encouragé et aidé le longue de mes études.

Nesrine

Table de Matières

Résumé

Remerciements

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des symboles et abréviations

Introduction générale 1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. Biopolymères 2

I.1 Introduction 2

I.2 Définition 2

I.3 Classification des biopolymères 2

I.3.1 Biopolymères d'origine biologique 2

I.3.2 Biopolymères synthétiques : 3

I.4 Avantages et inconvénients des biopolymères 4

I.4.1 Principaux avantages des biopolymères 4

I.4.2 Inconvénients des biopolymères 4

I.5 Propriétés des biopolymères 4

I.5.1 La biodégradabilité 4

I.5.2 Propriété de perméabilité à la vapeur d'eau 5

I.5.3 Biocompatibilité et biorésorbabilité 6

I.5.4 Propriétés chimiques 7

I.5.5 Autres propriétés 8

I.6 Applications des biopolymères 8

I.6.1 En médecine et pharmacie 8

I.6.2 En agriculture 10
I.6.3 En emballage 11
I.7 Alginate de sodium 13
I.7.1 Bref historique 13
I.7.2 Sources de l'alginate 13
I.7.3 Propriétés physico-chimiques 13
I.7.4 Applications 14
II. Polysaccharides 16
II.1 Définitions 16
II.2 Propriétés et utilisations des polysaccharides 17
II.3 Classification des polysaccharides 18
II.3.1 Selon la composition 18
II.3.2 Selon la structure 18
II.3.3 Selon leur fonction biologique 18
II.4 Amidon 19
II.4.1 Généralité 19
II.4.2 Structure et morphologie de l'amidon 19
II.4.3 Propriétés de l'amidon 20
II.4.4 Applications 21
III. Hydrogels 22
III.1 Définition 22
III.2 Catégories : 23
III.3 Propriétés des hydrogels 24
III.3.1 Capacité d'absorption / incorporation de fluides 24
III.3.2 La dégradabilité 25
III.3.3 La biocompatibilité 25
III.3.4 La porosité 26

III.4 Méthodes d'obtention des hydrogels 26
III.4.1 Par réticulation physique 26
III.4.2 Par réticulation covalente 26
III.4.3 Par interactions ioniques 27
III.4.4 Par réticulation par interaction hydrogène 27
III.4.5 Par interactions hydrophobes 28
III.5 Applications des hydrogels 28
III.5.1 Libération contrôlée de substances bioactives ou médicaments 28
III.5.2 Immobilisation cellulaire 29
III.5.3 Ingénierie tissulaire 29
III.5.4 Cosmétique 30

Chapitre II: Matériels et Méthodes

II. Introduction 31
II.1 Matériels 31
Le matériel utilisé pour la réalisation des expériences est le suivant : 31
II.2 Formulation des hydrogels 32
II.2.1 Formulation des hydrogels en présence d'un agent réticulant 32
II.2.2 Formulation des hydrogels en présence d'acide ascorbique 32
II.3 Caractérisation des hydrogels 32
II.3.1 Aspect général 32
II.3.2 Caractérisation FTIR 32
II.3.3 Cinétique de gonflement 33
II.3.4 Effet de la force ionique du liquide gonflant 33
II.4 Evaluation de l'activité biologique 33
II.4.1 Evaluation de l'activité antioxydante par DPPH 33
II.4.2 Evaluation de l'activité antimicrobienne 34
II.5 Application pharmaceutique 35

Chapitre III: Résultats et discussions

III. Introduction 36

III.1 Caractérisation des hydrogels obtenus 36

III.1.1 Aspect général 36

III.1.2 Analyse par infrarouge 37

III.1.3 Taux de gonflement 41

III.1.4 Effet de l'acide ascorbique sur la cinétique de gonflement d'hydrogel 46

III.2 Etude biologique 47

III.2.1 Activité antimicrobienne 47

III.2.2 Activité antioxydante 48

III.3 Cinétique de relargage de l'amoxicilline 49

Conclusion générale

Références bibliographiques

Liste des tableaux

Chapitre I

Tableau I.1 Grandes classes des biopolymères…….….3
Tableau I.2 Perméabilité à la vapeur d'eau de quelques biopolymères ……...6
Tableau I.3 Propriétés spécifiques des biopolymères et les applications attendues…… 8
Tableau I.4 Propriétés de quelques biopolymères pour usage médical …….……9
Tableau I.5 Applications médicales des biopolymères……...….10
Tableau I.6 Applications des biopolymères en emballage ……....12
Tableau I.7 Exemples de polysaccharides courants……....17
Tableau I.8 Teneur en amylose et amylopectine des amidons ……...…20

Chapitre II

Tableau II.1 Compositions des hydrogels préparés à base d'acide ascorbique (AA) …..…32

Chapitre III

Tableau III.1 Pourcentage d'inhibition des hydrogels à base d'acide ascorbique…...……...48

Liste des figures

Chapitre I

Figure I.1 Libération contrôlée des principes actifs ……6
Figure I.2 Deux formes stéréo-isomères de l'acide lactique …… ..7
Figure I.3 Structure générale des polysaccharides ……...…….17
Figure I.4 structure moléculaire de l'amylopectine……..…...19
Figure I.5 structure de l'hydrogel …….....23
Figure I.6 Les principales catégories d'hydrogels…….....24

Chapitre II

Figure II.1 Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH……...34
Figure II.4.5 Ensemencement par stries très serrées……...35

Chapitre III

Figure.III.1 Aspect macroscopique des hydrogels en présence de $CaCl_2$……..……...36
Figure III.2 Aspect macroscopique des hydrogels à base de 0.5% AA avec $CaCl_2$……..37
Figure III.3 Spectre FTIR d'amidon…….……...37
Figure III.4 Spectre FTIR de l'Alginate……..38
Figure III.5 Spectre FTIR d'hydrogel à base d'Amidon et d'Alginate…….....38
Figure III.6 Spectre FTIR d'hydrogel à base de 0.1% CaCl2…….....39
Figure III.7 Spectre FTIR d'hydrogel à base de 0.2% CaCl2……40
Figure III.8 Spectre FTIR d'hydrogel à base de 0.3% CaCl2……40
Figure III.9 Spectre FTIR d'hydrogel à base de 0.5% AA+0% CaCl2……..41
Figure III.10 Spectre FTIR d'hydrogel à base de 0.5% AA+0.1% CaCl2…….....41
Figure III.8 Cinétique de gonflement des hydrogels aux déférentes concentrations en $CaCl_2$ à pH=4……..……42
Figure III.9 Cinétique de gonflement des hydrogels aux déférentes concentrations en CaCl2 à pH=6.8……..…….....42
Figure III.10 Cinétique de gonflement des hydrogels à déférentes concentrations en CaCl2 à pH=9……..……...43
Figure III.11 Influence de la température sur le gonflement de l'hydrogel E01…….44

Figure III.12 Influence de la température sur le gonflement de l'hydrogel E02…….44
Figure III.13 Influence de la température sur le gonflement de l'hydrogel E03…….45
Figure III.14 Taux de gonflement d'E01, E02 et E03 en fonction de la concentration en NaCl, à pH neutre et température ambiante…...……...46
Figure III.15 L'influence de l'acide ascorbique sur la cinétique de gonflement d'hydrogel à 0,2% CaCl2……...……47
Figure III.16 Diamètre d'inhibition des hydrogels testés sur les différentes souches bactériennes……..……47
Figure III.17 Pourcentages d'inhibition du radicale libre DPPH● en fonction des différentes concentrations…….....**...**48
Figure III.18 Courbe d'étalonnage de l'amoxicilline……..…….....**...**49
Figure III.19 Cinétique de libération de l'amoxicilline dans les différents milieux de pH....49

Liste des Symboles et Abréviations

AA : Acide ascorbique

ATP: Adénosine-TriphosPhate

ADN : acide désoxyribonucléique

ARN : acide ribonucléique

AMP : Acide adénosine-monophosphorique

Ca 2+ : calcium élémentaire

COO– : Les esters contiennent le groupe fonctionnel -COO-

CO 2 : le dioxyde de carbone

CaCl 2 : chlorure de calcium

DPPH : 2, 2'-diphényl-1-picryhydrazyle

EA1 : Echantillon à base d'acide ascorbique (0.5 % AA+ 0% $cacl_2$)

EA2 : Echantillon à base d'acide ascorbique (1 % + 0% $cacl_2$)

EA3 : Echantillon à base d'acide ascorbique (0.5 %+0.1% $cacl_2$)

EA4 : Echantillon à base d'acide ascorbique (0.5 % + 0.02% $cacl_2$)

E01 : Echantillon

FTIR : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

HA : acide hyaluronique

m g : la masse du gel à l'état gonflé

m i : la masse du gel à l'état initial

NaCl : chlorure de sodium

PHA : les Polyhydroxyalcanoates

PLA : Poly Acide Lactique

PGA : les polyglycolides

PHA : les polyhydroxyalcanoates

PLGA : acide lactique-co-glycolique

PLL : Polyactides

PEG : polyéthylène glycol

PVA : l'alcool polyvinylique

TG : taux de gonflement (%)

t : Le temps

UV-Visible: Ultraviolet–visible.

Introduction générale

Introduction générale

Depuis quelques années, les hydrogels à base de polymères connaissent un intérêt croissant dû à leur large potentiel d'application. Ces polymères tridimensionnels hydrophiles dont la particularité est de pouvoir retenir de grandes quantités d'eau, sont effectivement utilisés dans des domaines variés. par exemple dans l'industrie pharmaceutique (administration de médicaments), biomédical (ingénierie tissulaire, pansement) et zones cosmétiques.

Récemment, une plus grande attention a été accordée aux hydrogels en tant que systèmes de délivrance de différents ingrédients actifs. La formulation réussie d'hydrogels en tant que systèmes de distribution efficaces nécessite une sélection appropriée et adéquate des polymères, des méthodes de préparation et des conditions pendant la préparation. Divers matériaux de polymérisation dont la cellulose, l'alginate, le chitosane, la gélatine et l'alcool polyvinylique sont utilisés pour leur bonne fonctionnalité et leur biodégradabilité [1]. L'amidon aussi possède des propriétés uniques et importantes, notamment des caractéristiques physicochimiques, un faible coût, une abondance, une faible toxicité, une biodégradabilité ainsi qu'une compatibilité élevée avec les cellules vivantes, et ces caractéristiques distinguent l'amidon des autres biopolymères.[2]

Le principal objectif poursuivi dans ce travail est la conception d'un hydrogel multicomposant naturel, durable et biocompatible en utilisant des biopolymères naturelle, qui possèdent des propriétés gélifiantes très intéressantes, combinés avec un antioxydant fort qui est l'acide ascorbique. Les effets synergiques de l'activité antioxydante de l'acide ascorbique, avec les propriétés rhéologiques de l'alginate et de l'amidon rendent l'hydrogel adapté à l'ingénierie alimentaire et pharmaceutique.

Ce manuscrit est divisé en trois chapitres :

Le premier chapitre propose une mise au point bibliographique mettant l'accent sur les principaux thèmes qui sont : les biopolymères, les polysaccharides, et les hydrogels.

Le deuxième chapitre qui sera consacré aux matériels et méthodes, il fait le bilan précis des outils, concepts et équipements utilisés au cours de ce travail.

Le troisième chapitre est consacré à la présentation des résultats ainsi que leurs interprétations et discussion.

Les apports de ce travail sont finalement rappelés en conclusion et accompagnés de perspectives.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I. Biopolymères

I.1 Introduction

Un matériau macromoléculaire ou polymère est un enchaînement covalent de motifs simples appelés monomères, qui peuvent être identiques (homopolymère) ou de nature différente (copolymère). Le mot « polymère » vient du grec « poly » signifiant plusieurs et « meros » : parties ou unités. La cohésion des atomes sur une même chaîne est assurée par des liaisons chimiques fortes, tandis que les liaisons inter chaînes sont plus faibles. La présence de ces deux types de liaisons apporte aux matériaux polymères des propriétés physicochimiques particulières [3].

Il existe différents types de polymères : les polymères naturels obtenus à partir de sources végétales ou animales auxquels appartiennent toutes les familles de polysaccharides (cellulose, amidon…) et de protéines (laine, soie...), les polymères semi-synthétiques (régénérés) issus de modifications chimiques des macromolécules naturelles : exemple les matières plastiques à base de caséine, les plastiques à base de cellulose. Et enfin, les polymères synthétiques produits de monomères qui n'existent pas dans la nature ; cependant, on peut remarquer que les structures réalisées par la synthèse sont souvent proches de celles des polymères naturels [4].

I.2 Définition

Les biopolymères, selon l'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée (UIPAC), se définissent comme étant des biomacromolécules synthétisées par des organismes vivants et selon l'Agence de l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie (ADEME), ce sont des polymères naturels issus de ressources renouvelables: plantes, algues ou animaux [5]. Ils peuvent être obtenus également par des procédés industriels et/ou de synthèse (polymérisation), à partir de monomères naturels ou identiques aux naturels [5].

I.3 Classification des biopolymères

I.3.1 Biopolymères d'origine biologique [6]

- Les polymères issus directement des ressources végétales et animales comme les polysaccharides, les protéines et les polynucléotides.
- Les polymères issus d'origine bactérienne comme les Polyhydroxyalcanoates (PHA).
- Les polymères obtenus indirectement par polymérisation de monomères eux-mêmes issus de ressources végétales comme l'acide lactique, résultant de la fermentation de sucres ou encore des composés monomères réactifs dérivés d'huiles végétale.

I.3.2 Biopolymères synthétiques :

Ils sont obtenus par voie fermentaire, on les appelle biopolymères synthétiques ou chimio synthétiques en raison de leur mode de fabrication. En effet, celui-ci consiste en une polycondensation (chauffage) de monomères naturels ou identiques aux naturels. Le plus connu est le PLA (Poly Acide Lactique) [6]. Le tableau I.1 représente les grandes classes des biopolymères:

Tableau I.1: Grandes classes des biopolymères [6]

Classes	**Descriptions**	**Exemples de biopolymères**
Polysaccharides (plantes/ animaux) Polysaccharides (issus des bactéries)	Glucides ou sucres complexes constitués de plusieurs monosaccarides liés entre eux.	Amidon, Cellulose, Alginate, Chitosane, Agar, Pectine. Xanthane, Dextrane, Gellane, Curdlane, Pululante, Elsinane.
Protéines et polypeptides	Macromolécules biologiques composées d'une ou plusieurs chaines d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques.	Polyacide aminé, Collagène, Glutèn, Caséine, Soja, Zéine.
Polyesters (synthétisés par des bactéries)	Polymères dont les motifs répétitifs de la chaine principale contienne la fonction ester.	Poly (acide lactique) (PLA).
Polyphénols	Molécules présentant plusieurs groupements phénoliques.	Légnines, Tamins, Acides humiques.
Polynucléotides et nucléotides	Molécules composées de plusieurs nucléotides. Certains nucléotides forment la base de l'ADN et l'ARN.	Triphosphate (ATP), Adénosine-5'-Monophosphate (AMP).

I.4 Avantages et inconvénients des biopolymères

I.4.1 Principaux avantages des biopolymères [7]

- Neutralité en termes de cycle CO_2.
- Gestion de fin de vie facilitée par le compostage.
- Panel varié de biopolymères disponibles.
- Issus de ressources abondamment renouvelables.
- Transformables par les processus traditionnels (extrusion, extrusion gonflage, injection, thermoformage).
- Haute valeur ajoutée.

I.4.2 Inconvénients des biopolymères [7]

- Prix de vente élevé (coût+ faible production).
- Propriétés physiques parfois limitées.
- Flou normatif et législatif concernant la notion de biodégradabilité (secteur du polymère peu structuré internationalement).
- Compostage industriel des déchets bio-polymérique peu développé.
- L'inconvénient majeur de ces biopolymères est leur coût de revient élevé.

I.5 Propriétés des biopolymères

Les biopolymères présentent des propriétés particulières et intéressantes pour des applications bien spécifiques en différente industrie. La biodégradabilité est la plus importante [8].

I.5.1 La biodégradabilité

La biodégradabilité de la plupart des biopolymères est due à la présence de liaisons facilement clivables comme les liaisons esters ou amides conduisant à la formation de m8olécules simples et de fragments de plus petite taille. Ces derniers sont assimilables par les microorganismes pour leur biosynthèse en libérant du CO_2 et de l'H_2O [8].

A l'opposé, les polymères pétrochimiques conventionnels comme le polyéthylène ou le polypropylène, dont le squelette carboné est constitué de liaisons covalentes C-C, requièrent beaucoup plus de temps et/ou la présence d'un catalyseur (thermique, radiation électromagnétique ou chimique) pour leur dégradation [8].

La propriété de biodégradabilité des biopolymères est particulièrement intéressante pour des applications bien spécifiques. Il est bien évident que dans certaines applications notamment

dans le domaine de la construction, on cherchera plutôt des matériaux stables non biodégradables [8].

Critères d'utilisation des biopolymères biodégradables [8]:

- Utilisation à courte durée de vie et jetable.
- Risque de contamination des matériaux rendant difficile le triage et le recyclage des déchets.
- Application à court terme en contact avec le sol.
- Applications qui nécessitent des précautions d'hygiène et de stérilisation dans le domaine médical.
- Les sacs de traitements des déchets pour compostage.
- D'une manière générale pour les applications, où il est difficile de contrôler les déchets.

La biodégradabilité des matériaux seule n'est pas suffisante, les matériaux doivent être en plus compostables. La compostabilité introduit la notion de délai et des conditions de température et d'humidité bien spécifiques à la biodégradation.

I.5.2 Propriété de perméabilité à la vapeur d'eau

La plupart des biopolymères comme l'amidon, la cellulose et les protéines sont hydrophiles, ce qui leur confère des propriétés de perméabilité à la vapeur d'eau. Ces propriétés sont dues notamment à la présence de fonctions polaires hydroxyle et/ou amine qui ont une forte réactivité avec l'eau par formation de ponts hydrogènes, ce qui leur confère aussi une propriété antistatique [8].

La perméabilité à la vapeur d'eau pourrait être un inconvénient dans certaines applications, notamment pour les emballages alimentaires. Quelques exemples des propriétés de perméabilité à la vapeur d'eau des biopolymères sont donnés dans le (tableau I.2) [8].

Tableau I.2**:** Perméabilité à la vapeur d'eau de quelques biopolymères [8]

Polymère	Exemple	Perméabilité à la vapeur d'eau (g.m-2 .j-1 .atm -1)
A base d'amidon	MATER-BI	250 -1000
D'acides lactiques	NATUREWORKS	325
A base de cellulose	NATUREFLEX	30 –600

I.5.3 Biocompatibilité et biorésorbabilité

Un matériau biocompatible est un matériau qui est capable d'assurer une fonction avec une réponse appropriée et sans effets indésirables sur l'environnement biologique dans lequel il est appelé à fonctionner. La réponse biologique d'un matériau dépend de 3 facteurs : ses propriétés, la caractéristique de l'hôte et la demande fonctionnelle pour le matériau [8].

En plus de la biocompatibilité, on recherche également pour des applications médicales spécifiques des matériaux biorésorbables pouvant se décomposer tout naturellement dans l'organisme humain pour être remplacés par un tissu vivant. Les biopolymères sont dégradés naturellement dans l'organisme humain par hydrolyse (enzymatique) et libèrent des molécules assimilables et non toxiques. En pharmaceutique, les médicaments à libération contrôlée sont des exemples d'application où la biorésorbabilité des polymères joue un rôle important comme illustrée à la (figure I.1) [8].

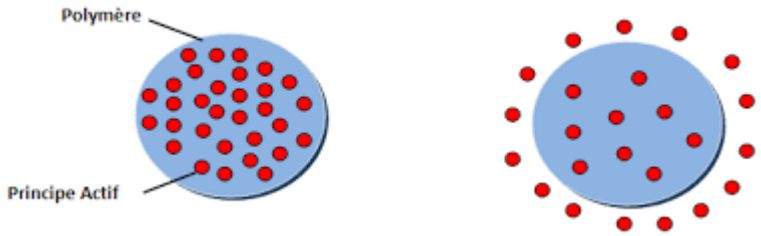


Figure I.1 Libération contrôlée des principes actifs [8]

I.5.4 Propriétés chimiques

La présence de fonctions chimiques sur les molécules leur attribue des propriétés particulières et des facilités à réagir avec d'autres molécules. Leur réactivité est due à la présence des fonctions alcool, acide, amine ou aldéhyde qui réagissent facilement grâce à leur site nucléophile et électrophile [9].

La présence de certaines instaurations et des groupements hydroxyles sur les chaînes alkyles des triglycérides permet leur fonctionnalisation et conduit à la formation de polyuréthanes, polyamides ou polyesters [9].

Une autre particularité des biopolymères est l'existence de stéréoisomères due à la présence de carbone asymétrique sur certains biomonomères comme l'acide lactique. Cette propriété influence les propriétés physiques des polymères [9].

Les propriétés physiques et mécaniques des polymères peuvent être modifiées ainsi que leurs applications. Dans l'exemple du Poly Acide Lactique (PLA), suivant la proportion des formes L et D (Figure I.2) la structure du polymère est différente. Un PLA à plus de 93 % de la forme L présente une structure semi-cristalline par exemple tandis qu'un PLA contenant moins de 93 % de forme L possède une structure amorphe [9].



L (+) Acide lactique **D(-) Acide lactique**

Figure I.2: Deux formes stéréo-isomères de l'acide lactique Suivant la composition du PLA [9]

I.5.5 Autres propriétés

Certains biopolymères possèdent des fonctionnalités qui leur apportent des propriétés physico-chimiques ou mécaniques particulières[10]. Le (tableau I.3) représente quelques propriétés physico-chimiques intéressantes des biopolymères et les applications potentielles.

Tableau I.3**:** Propriétés spécifiques des biopolymères et les applications attendues [10]

Biopolymère	**Propriétés particulières**	**Applications ciblées**
Polymères à base d'amidon	Antistatique, anticondensation, toucher naturel	Emballages et sacs
Polymères à base de cellulose	Transparence, antistatique	Emballages
Polymères à base de protéines	Comestible grande diversité chimique, des acides aminés, perméabilité sélective aux gaz	Galénique, emballage alimentaires
Polymères à base d'huile	Siccativité	Peinture, vernis
Polymères de synthèse à base de l'acide lactique	Anti-condensation, brillance antibactérien	Emballage, textile
Polyesters bactériens (polyhydroxyalcanoates)	Piézoélectrique, antioxydant, insolubilité dans l'eau	Médical, matériaux ostéosynthétiques, emballage rigide
Caoutchouc	Elastomère	Vulcanisation

I.6 Applications des biopolymères

Trois grands créneaux d'applications sont identifiés par rapport aux propriétés des biopolymères : la médecine, l'agriculture et les emballages [11].

I.6.1 En médecine et pharmacie

Les premières applications des biopolymères sont médicales d'autant plus que leurs coûts élevés de départ se justifient dans ces applications à haute valeur ajoutée. Leurs propriétés de biocompatibilité et de biorésorbabilité associées à leur résistance mécanique sont très importantes pour assurer les fonctions attendues dans ce domaine [11]. Les propriétés de

quelques biopolymères typiques utilisés dans des applications médicales sont données dans le tableau I.4 [11].

Tableau I.4**:** Propriétés de quelques biopolymères pour usage médical **[**11]

Polymère	**Température de fusion Tf (°C)**	**Température de transition vitreuse Tg (°C)**	**Module de traction (MPa)**	**Temps de dégradation (mois)**
Polyglycolides	225 – 230	35 – 40	7,0	6 -12
L- Polyactides	173 – 178	60 – 65	2,7	>24
DL-Polyactides	Amorphe	55 – 60	1,9	12 – 16
P (DL-L-coglycolide)	Amorphe	50 – 55	2,0	5 – 6

Plusieurs types de biopolymères sont actuellement employés dans le domaine médical. Les polyesters de synthèse tels que les polylactides (PLA) et les polyglycolides (PGA) ainsi que leurs copolymèrespolylactides-co-glycolides (PLGA) sont connus et utilisés pour les fils de suture et les implants médicaux. Ces biopolymères sont bien tolérés et ne présentent aucune toxicité pour l'organisme. D'autres biopolymères comme les polyhydroxyalcanoates (PHA), la cellulose ou les polyacides aminés conviennent également pour les applications médicales. (Le tableau I.5) résume les principales applications des biopolymères dans le domaine médical [12].

Tableau I.5: Applications médicales des biopolymères[12]

Biopolymère	**Applications médicales**
Polyhydroxyalcanoates (PHA)	Fil de suture, galénique, implant vasculaire, vêtement et accessoire médicaux, ostéosynthèse
Polyglycolides (PGA)	Fil de suture, clip, agrafe et adhésif
Polyactides (PLA) PLL	Fixation orthopédique, attache, vis et broche, ligament et tendon artificiel, matrice de régénération de tissu, galénique
Polyglactine (PLA-PGA)	Fil de suture, fixation orthopédique, ligament et tendon et vaisseau artificiel
Cellulose	Encapsulation des médicaments, membrane d'hémodialyse
Alginate	Encapsulation des médicaments, implantation cellulaire
Polyaspartate	Encapsulation des médicaments, fil de suture, peau artificielle
Poly-lysine	Encapsulation des médicaments, biosenseur, bactéricides

I.6.2 En agriculture

Dans ce domaine, les films de paillage à base de biopolymères s'imposent progressivement en remplacement aux paillis en polymères conventionnels [13]. Leur fonction principale est de réduire l'évaporation de l'eau et d'accroître la température du sol pour favoriser la croissance des jeunes plantes au printemps. Des travaux d'enlèvement, de nettoyage et de traitement des déchets plastiques sont dès lors indispensables par la suite. Ainsi les paillis en polymères biodégradables évitent le ramassage et le traitement des déchets puisqu'ils se dégradent in situ. Par ailleurs, leur biodégradation rapide évite l'incinération habituelle des films de paillage conventionnels, productrice d'éléments toxiques dans l'environnement et le coût de main-d'œuvre [13].

Une autre application intéressante repose sur la production des bandes d'ensemencement. Il s'agit de bandes qui contiennent les semences réparties régulièrement ainsi que des nutriments. Elles se biodégradent dans le sol au fur et à mesure que les semences germent et

s'enracinent. Les géotextiles utilisés pour contrôler l'érosion et améliorer le comportement mécanique et hydraulique des sols représentent également une application des biopolymères.
En horticulture, les pots de transplantation, les ficelles, les clips, les agrafes, les enrobages par libération contrôlée de semences, d'engrais, de phéromones pour éloigner les insectes et de pesticides, les sacs d'engrais, les enveloppes d'ensilage et les plateaux à semences sont des applications citées des biopolymères [13].
En agriculture marine, les biopolymères sont employés pour confectionner les cordes et les filets de pêche. Ils sont également utilisés comme supports pour les cultures marines.
Les polymères à base d'amidon sont les plus utilisés dans le domaine de l'agriculture. Le matériau doit répondre au critère de biodégradation et une durée de vie suffisante afin de remplir sa fonction. En effet, la dégradation trop rapide d'un film de paillage pourrait entraîner, par exemple, une croissance des adventices et des dégâts sur les cultures [13].

I.6.3 En emballage

Dans le domaine de la vie courante, le secteur de l'emballage est un autre créneau important pour le marché des polymères biodégradables [14]. Ces derniers apportent une solution aux problèmes de déchets mais nécessitent toutefois la mise en place d'une filière de gestion de déchets adéquate à ce type de produits. Ainsi l'organisation d'une filière de compostage est indispensable pour assurer une valorisation optimale de ces emballages biodégradables.
Outre leur biodégradabilité, les biopolymères présentent d'autres propriétés intéressantes pour les applications dans le domaine de l'emballage [14].
Les biopolymères offrent aux emballages d'autres fonctions grâce à leurs propriétés intrinsèques (Tableau I.6) [14]. Par exemple, leur perméabilité à la vapeur d'eau intéressante pour emballer les produits frais comme les fruits et les légumes.

Tableau I.6: Applications des biopolymères en emballage [14]

Biopolymère	Applications
Amidon	Emballages films alimentaires et produits d'hygiène, sac de pomme de terre, couverts jetables, emballage de calage,plateaux de légumes et filets.
Cellulose	Emballages films alimentaires et emballages films divers.
Polylactide (PLA)	Raviers et pots, bouteilles d'eau et de lait, gobelets jetables, divers emballage alimentaires, blisters.
Polyhydroxyalcanoates	Emballages cosmétiques, emballages films, raviers et couvets jetables.

I.7 Alginate de sodium

I.7.1 Bref historique

Les premiers brevets concernant l'obtention d'alginates à partir d'algues ont été publiés dans les années 1930 [3]. Lors de ses travaux sur l'extraction de l'iode à partir des algues brunes, il découvrit une substance aux nombreuses et intéressantes propriétés, qu'il appela « algine » [15]. Plus tard, en 1886, il l'identifia comme acide et Acide alginique. Il en conçut quelques applications industrielles, notamment dans le domaine alimentaire pour épaissir et gélifier des solutions et ce n'est qu'à partir des années 1930 que la première structure d'acide alginique fut proposée par Nelson [15].

La production industrielle des alginates s'est développée ensuite aux Etats Unis d'Amérique (USA), dans les années 1930. La seconde guerre mondiale a largement favorisé le développement et l'utilisation des alginates dans divers domaines.

Aujourd'hui, l'alginate est reconnu comme un des polymères les plus variés pour son exploitation industrielle, notamment dans l'industrie pharmaceutique [15].

I.7.2 Sources de l'alginate

L'acide alginique, également appelé algine ou alginate, est un polysaccharide anionique présent naturellement dans les algues brunes, et certaines espèces de bactéries (*Azotobacter et Pseudomonas*) et contenant jusqu'à 40% du poids sec selon les espèces d'algues. L'alginate se trouve principalement dans le mucilage intercellulaire et les cellules des algues brunes sous forme de sels de calcium, de sodium et de magnésium d'acide alginique, offrant flexibilité et résistance mécanique à la plante [15].

I.7.3 Propriétés physico-chimiques

A l'état pur, l'acide alginique est une poudre blanche, inodore et sans saveur. Comme tous les polymères, l'alginate est caractérisé par différents paramètres [16].

Le poids moléculaire : Le poids moléculaire des alginates de sodium commercialisés varie entre 32 000 et 400 000 g/mol [17].

La viscosité : La viscosité des solutions d'alginate est presque constante dans un pH compris entre 6 et 8, elle augmente en fur et à mesure que le pH diminue jusqu'à obtention d'une viscosité maximale à pH allant de 3 à 3.5, cela est dût à la prolongation des groupes carboxylates dans le squelette d'alginate, formant des liaisons hydrogènes [18,19].

La stabilité : L'alginate de sodium est hygroscopique ; par conséquent, la teneur en humidité s'équilibre rapidement avec l'humidité relative de l'eau. La poudre d'alginate de sodium pur, stockée dans un endroit sec et frais, loin de toute lumière du soleil, peut avoir une stabilité de plusieurs mois. Tandis qu'à basse températures, elle peut être gardée plusieurs années sans réduction significative de son poids moléculaire [3].

La solubilité : L'alginate de sodium est soluble dans l'eau froide formant une solution colloïdale visqueuse. Il est insoluble dans l'alcool et dans les solutions hydro-alcooliques dans lesquels la teneur en alcool est supérieure à 30 % (m/m). Il est également insoluble dans les autres types de solvants organiques (chloroforme, éther…) [3].

La gélification : La propriété la plus importante des alginates est leur capacité à former des hydrogels en présence de cations divalents (tels que Ca^{2+} ou Ba^{2+}) qui interagissent avec les groupes carboxyliques, présents dans le squelette d'alginate pour former des réticulations ioniques [14].

Pouvoir rotatoire : L'acide alginique, avec une constante de dissociation ($pK=20.10^{-5}$), se situe entre l'acide acétique le plus faible ($pK=1,15.10^{-5}$) et l'acide monochloroacétique le plus fort ($pK=l, 75.10^{-3}$). Il dérive la lumière à droite avec un angle de rotation a = -139° [16].

I.7.4 Applications

Les alginates trouvent des applications dans de nombreux domaines et de nombreuses industries. Ils sont utilisés dans l'industrie textile, alimentaire, dans l'imprimerie… etc.

Toutes ces industries y trouvent une propriété commune : la capacité de gélification de ce produit naturel qui est très bien perçue actuellement dans notre société. Le milieu médical fait aussi partie des consommateurs d'alginates [20]. Des inserts oculaires ont été mis au point à base d'alginate. Ils sont constitués d'un réservoir central chargé en pilocarpine dans une matrice d'acide alginique : ce sont les Ocusert. Ces implants permettent le traitement du glaucome. Les chirurgiens-dentistes se servent également de l'alginate pour effectuer des moulages dentaires en vue de la prise d'empreintes. Ces produits à base d'alginates sont faciles à gérer à la fois pour le dentiste et le patient car elles durcissent rapidement à température ambiante et sont rentables. Par ailleurs, les propriétés adoucissantes, filmogènes, hydratantes font des alginates de bons composés pour les produits de beauté. En effet, ils ont la capacité de former des préparations qui s'étalent bien sur la peau et sont agréables au toucher [20].

Dans le domaine pharmaceutique, les alginates sont employés pour trois propriétés différentes. Ils constituent d'abord le principe actif de pansements cutanés et gastriques. Lorsque l'alginate fusionne avec les exsudats de la plaie, un échange d'ions se produit entre les ions calcium de l'alginate et les ions sodium dans le sang conduisant à la formation d'un gel à la surface de la plaie. Ce gel absorbe l'humidité et conserve un environnement humide approprié qui stimule à la fois l'activation des plaquettes et la coagulation sanguine par rapport au simple contact avec de la gaze traditionnelle. Les alginates sont par ailleurs présents dans de nombreux médicaments en tant qu'excipients, où ils agissent comme agents de viscosité et stabilisants. Enfin, des technologies comme la microencapsulation emploient l'alginate en vue de modifier la cinétique de libération du ou des principes actifs encapsulés [20].

II. Polysaccharides

II.1 Définitions

Les polysaccharides sont des biopolymères naturels que l'on trouve dans la nature au cours des cycles de croissance de tous les organismes. Ces polymères sont souvent chimiquement modifiés afin de changer le taux de dégradation et améliorer leurs propriétés mécaniques [21].

Ils sont d'origine végétale (amidon), algue (carraghénane), animale (chitosane), bactérienne (xanthane) ou fongique (pullulane) (Tableau II.1) [21]. Ils sont constitués d'unités monosaccharides ou oses (sucres), reliées entre elles par des liaisons osidiques et répétées n fois. Une classification chimique permet de distinguer deux grands types de polysaccharides :

- Homopolysaccharides formés d'un seul type de monosaccharide;
- Hétéropolysaccharides constitués de plusieurs unités d'oses différents.

Certains polysaccharides tels que le pullulane, le dextrane sont neutres ; d'autres sont chargés (polyélectrolytes). Parmi les polyélectrolytes, on retrouve principalement :

- les polysaccharides anioniques (chargés négativement) portant sur leur squelette carboné des fonctions acide carboxylique tels que l'alginate ou l'acide hyaluronique mais aussi parfois des fonctions sulfates comme les carraghénanes.

- Les polysaccharides cationiques (chargés positivement) sont beaucoup plus rares ; on peut citer le chitosane qui possède des fonctions amine facilement protonables mais qui est un polysaccharide artificiel car obtenu après traitement de la chitine neutre et insoluble dans l'eau.

D'un point de vue structural (figure I.3), les polysaccharides peuvent être soit linéaires tels que le pullulane, le chitosane ou encore l'acide hyaluronique, soit ramifiés tels que l'amylopectine, le dextrane, le xanthane. La plupart de ces macromolécules naturelles sont hydrosolubles car portant un grand nombre de fonction hydroxyle, cependant certains polysaccharides sont très peu ou pas solubles dans l'eau en raison de structures particulières (ex: cristallinité de la cellulose) ou de fonction chimique spécifique [22].

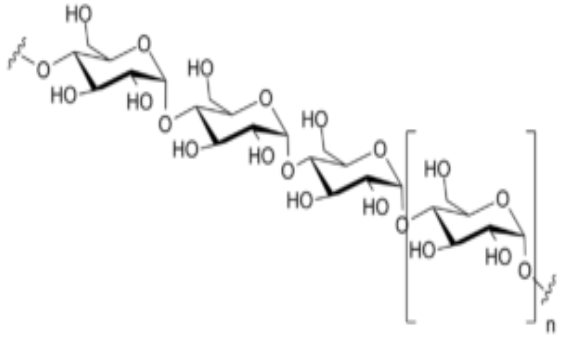


Figure I.3: Structure générale des polysaccharides [22]

Tableau I.7 : Exemples de polysaccharides courants [**21]**

Sources	**Polysaccharides**
Végétale	Arabinoxylanes, Oligosaccharides, Beta-glucanes, Pectine, Cellulose, Amidon, Galactomannanes, Xyloglucanes
Animale	Glycosaminoglycanes , Chitine, Hyaluronate, Chondroïtine
Bactérienne	Curdlane, Pullulane, Gellane, Xanthane
Algue	Agar, Carraghénane, Alginates, Ulvane

II.2 Propriétés et utilisations des polysaccharides

Les polysaccharides présentent des propriétés qui suscitent un grand intérêt pour leur application dans des secteurs variés (agro-alimentaire, pharmaceutique, cosmétique, industrie du papier, du textile et autres) [23].

Ce sont des polymères naturels, hydrosolubles, biodégradables et biocompatibles. Ils sont connus et utilisés dans l'alimentaire pour leurs propriétés remarquables en solution, notamment épaississantes (ex: l'xanthane, la gomme de guar, la carboxyméthyl cellulose) et gélifiantes (ex : l'alginate, la pectine, l'agar). Saha et al [23].précisent d'une part que l'épaississement d'une solution de polysaccharide nécessite l'établissement d'enchevêtrements non-spécifiques entre les chaines du polysaccharide qui se présentent sous formes de pelotes statistiques en solution. Ce processus dépend d'une manière générale de plusieurs paramètres tels que : la nature du polysaccharide, la concentration d'étude, la masse molaire, la température et/ou le pH [23].

En dehors des aspects épaississants ou gélifiants, de nombreux polysaccharides présentent des activités biologiques. Liu et al. Mentionnent des activités anti inflammatoires, anticancéreuses, Antivirales, antioxydantes notamment pour plusieurs polysaccharides provenant de diverses espèces d'algues [23]. On peut citer comme exemple d'antioxydants, le fucoïdane ou encore l'alginate provenant d'algues 3 brunes. Des études ont également rapporté l'activité antimicrobienne de polysaccharides présents chez certains animaux. Hydrophiles, ils forment des gels (propriétés de gélification) et intéressants pour les raisons suivantes [23]:

- Fibres alimentaires (pectines, gommes)
- Agents gonflants de fluidification ou de lubrification (mucilages)
- Agents osmotiques (inuline)

II.3 Classification des polysaccharides

II.3.1 Selon la composition

Les polysaccharides peuvent être classés sur la base de leur composition en monomères en: Homopolysaccharides (ou homoglycanes) constitués du même monosaccharide: fructanes, glucanes, galactanes, mannanes. Ces macromolécules peuvent être linéaires (amylose, celluloses, chitine) ou ramifiés (amylopectine, glycogène) [24].

II.3.2 Selon la structure

Selon l'architecture de leur chaine, les polysaccharides peuvent être:

✓ Linéaires : cellulose, carraghénane

✓ Ramifiés : gomme arabique, amylopectine, dextrane, hémicellulose

✓ Mixtes: amidon [24].

II.3.3 Selon leur fonction biologique

Ils sont constitués d'enchaînements linéaires ou ramifiés d'unités saccharides, connectées par des liaisons glycosidiques ; ils sont divisés en cinq groupes selon leurs fonctions :

- les polysaccharides de structure qui confèrent aux cellules, aux organes ou aux Organismes une stabilité mécanique.
- Les polysaccharides fixant l'eau qui empêchent le dessèchement des cellules et des Tissus.
- Les polysaccharides de réserve qui servent au stockage des sucres riches en énergie.
- Les oligosaccharides et polysaccharides impliqués dans des phénomènes de reconnaissance moléculaire. [24].

II.4 Amidon

II.4.1 Généralité

L'amidon est un polysaccharide d'origine végétale qui constitue la principale réserve glucidique des plantes supérieures. Il représente une fraction pondérale importante dans un grand nombre de matière première agricole telle que les céréales (30 à 70 %), les tubercules (60 à 90 %) et les légumineuses (25 à 50 %). L'amidon est la principale source d'énergie dans l'alimentation animale et humaine [25].

L'amidon trouve des applications dans divers secteurs industriels non alimentaires, notamment dans l'industrie du papier, l'industrie pharmaceutique, cosmétique et textile [25].

II.4.2 Structure et morphologie de l'amidon

La composition chimique de l'amidon varie suivant son origine végétale. Cependant, tous les amidons sont constitués de D-glycopyranose en chaînes linéaires avec la liaison α (1-4) dans l'amylose, ou en chaînes ramifiées (environ 5% de ramifications) par la liaison α (1-6) sur des chaînes α (1-4) dans l'amylopectine (figure I.4). L'amidon est donc constitué de deux principales molécules : l'amylose et l'amylopectine. La teneur en chacun des constituants est différente suivant l'origine de l'amidon (Tableau I.8) [25].

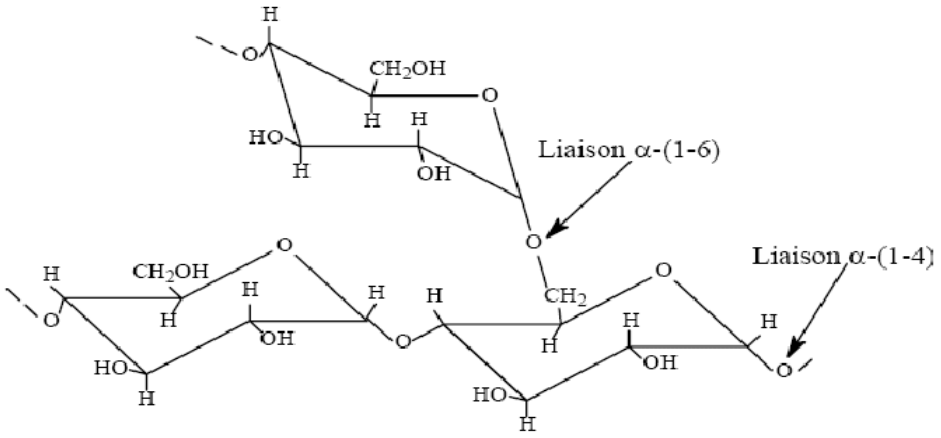


Figure I.4: structure moléculaire de l'amylopectine [25]

Tableau I.8 : Teneur en amylose et amylopectine des amidons de différentes sources botanique [25].

Source botanique	Amylose (%)	Amylopectine (%)
Maïs	28	72
Pomme de terre	21	79
Blé	28	72
Maïs cireux	0	100
Amylomaïs	50_80	50_20
Ris	17	83
Pois	35	65
Manioc	17	83

II.4.3 Propriétés de l'amidon

II.4.3.1 Propriétés physiques [26]

L'amidon a, comme tout produit, des propriétés physiques qui lui sont propres. Plusieurs facteurs entrent en jeu :

- Influence de la température : l'amidon est insoluble dans l'eau. Il forme, en revanche à chaud (70°C) une solution colloïdale qui épaissit en donnant un gel communément appelé empois.
- Température de gélification : la gélification commence graduellement à partir de 50°C mais est effective ensuite à une température dépendante de l'agitation moléculaire, de la grosseur des grains, de la nature de l'amidon, de l'eau employée et de la concentration en amidon.
- Effet stabilisant : l'épaississement ayant lieu a une température inférieure à celle de la coagulation du jaune d'œuf, les crèmes aux œufs contenant de l'amidon peuvent être portées à ébullition.

II.4.3.2 Propriétés chimiques

Les amidons sont influencés par trois types d'action : thermique, chimique, Enzymatique.

- Action thermique : elle change la couleur et le gout de l'amidon par dextrinisation.
- Action chimique et enzymatique : les acides entraînent une hydrolyse partielle de l'amidon qui conduit à la formation de dextrines. Le gel formé est moins épais. Cette hydrolyse est accélérée par une augmentation de température.

- L'amidon peut subir aussi l'action d'enzymes comme des enzymes végétales, ou animales (amylase) ou microbiennes. On constate que les amidons natifs ont déjà beaucoup d'influence sur la texture cependant leur fragilité face à certains paramètres comme la température ont conduit à l'utilisation d'amidons modifies. [26]

II.4.4 Applications

Les débouchés industriels de l'amidon sont essentiellement :

- L'agroalimentaire à travers l'industrie des boissons, confiseries et boulangeries
- L'industrie chimique qui l'utilise dans les procédés de fermentation pour la production de bioéthanol, les traitements de surface, la formulation de colles, l'encapsulation de produits pharmaceutiques, les cosmétiques, la papeterie et les matières plastiques biodégradables. [25].

III. Hydrogels

III.1 Définition

Les hydrogels sont définis comme des réseaux macromoléculaires tridimensionnels composés de polymères hydrophiles, qui absorbent et maintiennent de très grandes quantités d'eau ou de fluide biologique, sans se dissoudre et sans perdre leur structure [27]. Ces biomatériaux sont capables de gonfler et de dégonfler rapidement et peuvent retenir d'importantes quantités d'eau dans leur structure gonflée (jusqu'à 99% en masse d'eau). Ils subissent des changements de volume réversibles en réponse à des stimuli externes tels que le pH, la température et la concentration ionique; ils sont de ce fait dits intelligents.

Le caractère hydrophile élevé des hydrogels est dû à la présence de groupes hydrophiles dans la chaîne polymère, tels que des groupes hydroxyde, carboxyle, amide ou amine. La forte teneur en eau, la porosité et l'élasticité, leur confère des propriétés semblables à celles des tissus vivants, et les rend donc très intéressants pour des applications biomédicales [27].

La structure poreuse des hydrogels permet également à des molécules de différentes tailles de diffuser vers l'intérieur ou vers l'extérieur du réseau, ce qui les rend attractifs pour des applications de libération de molécules actives [27].

L'utilisation des hydrogels pour des applications biomédicales remonte aux années 60 lorsque Wichterle et Lim ont mis au point les premières lentilles de contact flexibles à base de poly (hydroxyéthyl méthacrylate). Depuis lors, la technologie des hydrogels a progressé de façon spectaculaire pour couvrir une large gamme d'applications industrielles, telles que l'industrie agroalimentaire, cosmétique et la pharmacie. Les hydrogels jouent désormais un rôle majeur dans l'ingénierie tissulaire et l'immobilisation cellulaire ou encore comme vecteurs de médicaments [27].

La structure réticulée des hydrogels est caractérisée par les nœuds de réticulation formés à partir de liaisons chimiques fortes (comme les liaisons covalentes), d'enchevêtrements physiques permanents ou temporaires (telles que les liaisons hydrogènes). La Figure I.5 illustre la structure générale d'un hydrogel. Macroscopiquement, un hydrogel est un matériau mou qui est capable de conserver sa forme. Il peut être vu comme une matrice solide poreuse emprisonnant de l'eau. Ce réseau tridimensionnel est caractérisé par la fonctionnalité des nœuds de réticulation, qui traduit le nombre de chaînes connectées à un nœud, et par la masse moyenne des chaînes entre deux nœuds consécutifs [27].

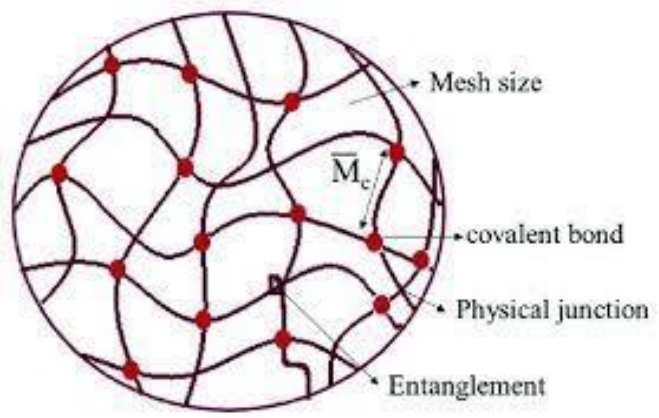


Figure I.5: structure de l'hydrogel [27]

Une large gamme de polymères naturels, semi-synthétiques et synthétiques peut être utilisée comme matériaux de départ pour la synthèse des hydrogels. Les polymères d'origine naturelle les plus rencontrés sont l'alginate, le collagène et l'acide hyaluronique (HA). Le polyéthylène glycol PEG, l'alcool polyvinylique (PVA), les polymères à base de monomères acryliques et les siloxanes sont utilisés dans la formation de gels synthétiques [27].

III.2 Catégories :

En raison de la grande diversité des hydrogels, différents critères peuvent être considérés pour leur classement (Figure I.6) [27], tels que :

- La source du polymère ;
- La nature de la réticulation ;
- La méthode de préparation ;
- La charge globale des groupes fonctionnels dans le réseau polymère ;
- Leur durée de vie dans l'organisme ;
- Les propriétés physiques.

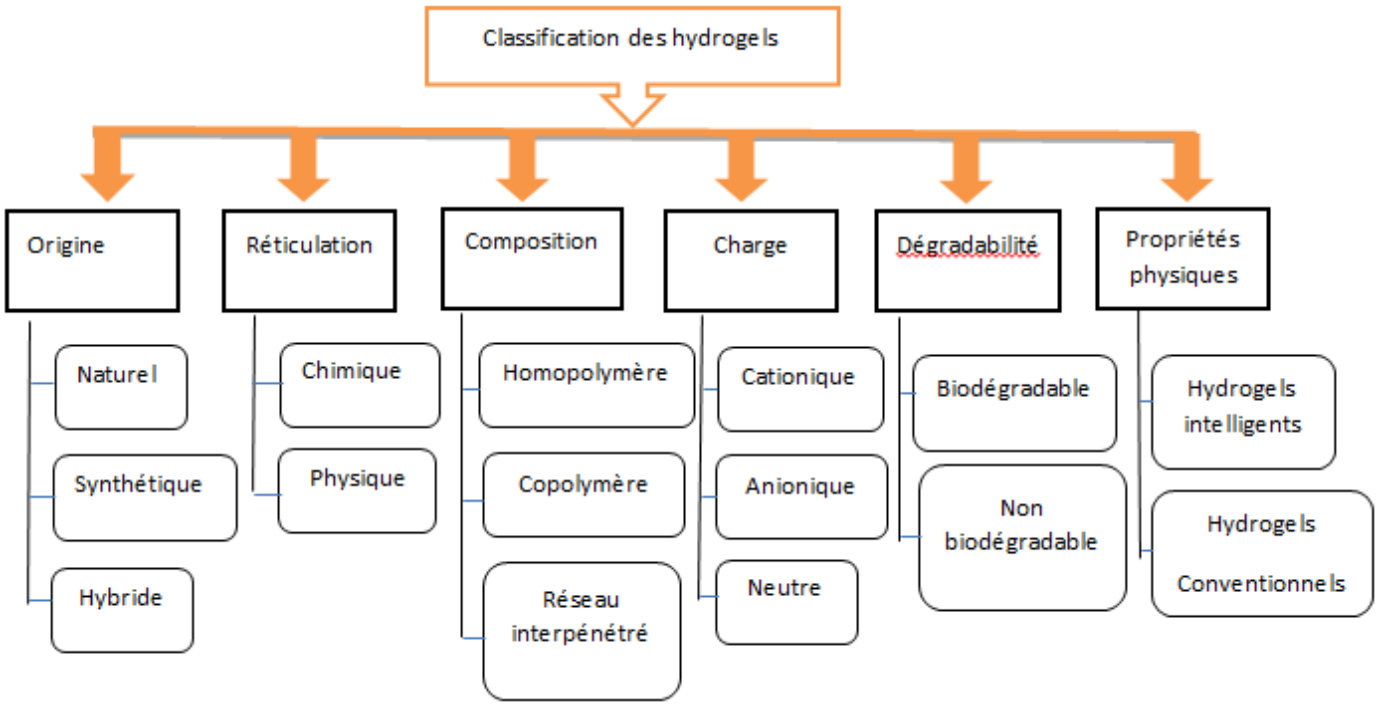


Figure I.6 : Les principales catégories d'hydrogels [27]

III.3 Propriétés des hydrogels

Les hydrogels utilisés comme biomatériaux dans les biotechnologies nécessitent certaines propriétés physico-chimiques que l'on doit pouvoir caractériser et contrôler. Deux caractéristiques importantes sont la biocompatibilité et les propriétés mécaniques. La perméabilité dans les hydrogels est également un paramètre nécessaire à étudier aux vues des applications potentielles d'encapsulation et de relargage [28].

III.3.1 Capacité d'absorption / incorporation de fluides

Les hydrogels sont généralement caractérisés par leurs propriétés de gonflement dans l'eau ou dans d'autres solvants. Grâce à leurs propriétés de gonflement, ces réseaux peuvent donner lieu à de nombreuses applications dans divers domaines. Globalement, le processus de gonflement est influencé par de nombreux facteurs incontournables :

- la quantité de réticulant [28] ;
- la structure chimique du polymère – celle-ci peut affecter le gonflement des hydrogels
- la force ionique;
- le pH pour certains hydrogels;
- la température;
- les techniques de séchage [29].

III.3.2 La dégradabilité

Le contrôle de la dégradation est une caractéristique importante des hydrogels utilisés pour des applications biomédicales. En se dégradant, le matériau laisse diffuser les molécules bioactives ou laisse de l'espace pour la croissance d'un nouveau tissu. L'avantage de la libération de molécules par dégradation, et non par injection, réside dans la possibilité de réguler la libération spatiale et temporelle de ces molécules en contrôlant la dégradation de l'hydrogel [27].

Le processus de dégradation peut être provoqué chimiquement ou biologiquement, en fonction du type d'agent qui agit sur la chaîne de polymère. La biodégradation dépend de l'action dégradante des microorganismes, et particulièrement des enzymes, sur les chaînes de polymères. Elle affecte les propriétés d'un hydrogel par l'action directe sur la chaîne, en rompant les liaisons chimiques, et modifie ainsi la cristallinité, la masse molaire, le degré de gonflement [27].

III.3.3 La biocompatibilité

La biocompatibilité est la troisième propriété caractéristique importante requise par l'hydrogel pour application médicale [30].

La biocompatibilité nécessite non seulement la compatibilité de l'hydrogel avec le système immunitaire mais aussi avec ses produits de dégradation, qui ne doivent évidemment pas être toxiques. Idéalement, ils devraient être métabolisés en produits inoffensifs ou être excrétés par filtration rénale. Généralement, les hydrogels possèdent une bonne biocompatibilité car leur surface hydrophile présente une faible énergie interfaciale lorsqu'elle est en contact avec des fluides corporels, ce qui entraîne une faible tendance à ce que les protéines et les cellules adhèrent à ces surfaces. En outre, la nature douce et caoutchouteuse des hydrogels minimise l'irritation des tissus environnants [30].

Bien que les polymères naturels soient fréquemment considérés comme ayant une biocompatibilité supérieure aux polymères synthétiques, la présence de réticulant et d'amorceurs utilisés dans les polymérisations de monomères et prépolymères naturels est soumise aux mêmes problèmes de toxicité que les hydrogels purement synthétiques [30].

III.3.4 La porosité

La porosité des hydrogels, comme le paramètre de maille ou encore la perméabilité, est une propriété structurale qui estime la masse entre nœuds d'un hydrogel. La dimension des pores peut être affectée par plusieurs facteurs tels que: le degré de réticulation du gel, la structure chimique du polymère et l'environnement extérieur (pH, température et force ionique). La connaissance de la porosité du gel, la taille des pores, la distribution des tailles, la forme des pores, sont des caractéristiques à prendre en compte car elles influent sur leur utilisation [31].

III.4 Méthodes d'obtention des hydrogels

Les hydrogels peuvent être préparés à partir de diverses substances naturelles et synthétiques, en utilisant une gamme de différentes compositions ainsi que des techniques de réticulation physique [32]. Les liaisons croisées dans les hydrogels peuvent être due à des liaisons covalentes, des interactions ioniques, des enchevêtrements de chaîne, conduisant à une variété de configurations physiques, arrangements chimiques et interactions. C'est la nature même de la réticulation qui détermine en grande partie les propriétés physicochimiques de l'hydrogel et ses applications éventuelles [32].

III.4.1 Par réticulation physique

Les hydrogels physiques ou « réversibles » sont, à l'inverse des hydrogels chimiques, formés à partir d'interactions de faible énergie. Il s'agit de gels dans lequel les chaînes macromoléculaires sont réticulées entre elles par l'intermédiaire d'interactions ioniques, de liaisons hydrogène ou encore d'interactions hydrophobes. Toutes ces interactions sont réversibles et dans certains cas, ces zones d'association sont stimulables sous l'effet du pH, la température ou l'application du stress mécanique. Ces enchevêtrements de chaînes macromoléculaires permettent une formation de réseau simple, éventuellement sans utilisation de réticulant ou amorceurs chimiques toxiques [27].

III.4.2 Par réticulation covalente

La réticulation covalente des chaînes polymères peut se réaliser soit sur le même polymère (la réticulation ayant lieu sur des unités structurales qui appartiennent à la même chaîne macromoléculaire ou sur des chaînes différentes) ou sur un mélange de polymères (chaque polymère contribuant à la réaction avec une unité fonctionnelle). Les hydrogels covalents peuvent être obtenus avec l'utilisation de petites molécules de réticulant, par polymérisation secondaire ou par irradiation [32]. Le problème dans l'utilisation de ces réticulant covalents est représenté par la toxicité que les éventuelles traces de réticulant qui n'a pas réagi

représentent et le potentiel de lier le médicament chargé. C'est pourquoi les hydrogels sont soumis à des purifications rigoureuses afin d'améliorer la compatibilité avec l'organisme qui complique et augmente le prix de production d'un biomatériau. En outre, à côté de la toxicité des aldéhydes, l'utilisation des enzymes comme la transglutaminase et même l'utilisation de la génipine (agent de réticulation naturel) est très cher [32].

III.4.3 Par interactions ioniques

Ces hydrogels sont formés entre des polymères ioniques réticulés avec des espèces multivalentes, à contre-charge. Les polymères polyanioniques qui sont complexés avec des polymères polycationiques forment des hydrogels par un processus de complexationpolyélectroyte, qui est également appelé coacervation complexe. Les pansements hydrogels d'alginate utilisent du calcium divalent [33].

Pour obtenir des hydrogels avec une durée de vie plus courte dans le milieu biologique que des hydrogels covalents et avec des propriétés de biocompatibilité supérieures, on utilise des agents de réticulation ionique comme les sulfates, les citrates et les phosphates ou les anions métalliques. Ce type de réticulation peut se réaliser à l'aide de molécules anioniques et aussi à l'aide des molécules cationiques selon la nature ionique du polymère. La réticulation ionique se réalise soit par l'immersion dans une solution contenant le réticulant ionique soit par un mélange de la solution polymère avec la solution de réticulant. La réticulation ionique peut être réalisée aussi bien avec des ions de masse molaire petite que grande [34]. L'ionisation des groupes fonctionnels du polymère et de l'agent de réticulation, outre le caractère hydrophile des matériaux, le degré de réticulation ou le pH déterminent la capacité de gonflement de ces hydrogels. Ce type de réticulation produit des hydrogels qui gonflent en milieu aqueux et éventuellement se détruisent [34].

III.4.4 Par réticulation par interaction hydrogène

La structure tridimensionnelle des hydrogels est due aux jonctions qui peuvent être formées par des liaisons covalentes ou ioniques, par l'intermédiaire de réseaux polymères enchevêtrés, par la formation de zones microcristallines ou par des interactions faibles telles que les interactions hydrogène. Les interactions hydrogène peuvent se former entre un atome d'hydrogène et des atomes d'azote, oxygène et fluor par exemple. Des exemples de polymères qui forment des interactions hydrogène sont le poly (alcool vinylique), des mélanges poly (alcool vinylique) /POE (poly (oxyde d'éthylène)), la gélatine et d'autres. À l'aide de la technique congélation/décongélation on peut obtenir des hydrogels à base de poly (alcool vinylique) par interactions hydrogène [35]. Les facteurs qui affectent les hydrogels sont le

rapport molaire de chaque polymère, la concentration en polymère, le type de solvant, la température de la solution et la structure du polymère [36].

III.4.5 Par interactions hydrophobes

Les polymères avec des domaines hydrophobes peuvent réticuler en milieu aqueux par thermo gélification réversible. Dans ce cas un segment hydrophobe est couplé à un polymère hydrophile par greffage ou par la synthèse directe d'un copolymère à blocs pour obtenir un polymère amphiphile hydrosoluble à basse température. Lorsque la température augmente, les domaines hydrophobes s'associent pour minimiser le contact avec l'eau. Cette température dépend de la concentration du polymère, de la longueur de la chaîne hydrophobe et de la structure chimique du polymère [36]. Après que l'on dépasse la concentration ou la température critique, les copolymères à blocs forment des micelles et aux grandes concentrations celles-ci se compactent et des interactions physiques peuvent apparaître entre les micelles ou des domaines entre les chaînes qui forment la couronne. Ces matrices peuvent être utilisées dans l'ingénierie tissulaire du cartilage ou dans la libération contrôlée de médicament. En utilisant les interactions hydrophobes apparues entre les chaînes polymères comme une méthode complémentaire aux interactions hydrogène, des matrices ont été réalisées dont la stabilité à la rupture a été améliorée [37].

III.5 Applications des hydrogels

III.5.1 Libération contrôlée de substances bioactives ou médicaments

Une des applications importantes des hydrogels est leur utilisation en pharmacie pour la libération contrôlée de molécules bioactives. Un système de libération doit pouvoir contrôler le relargage du soluté en fonction du temps. Parmi les biomatériaux disponibles, les hydrogels possèdent un ensemble de caractéristiques qui les rend très adaptes à cette application, car la diffusion des molécules actives peut être contrôlée.

Les hydrogels biodégradables sont favorisés puisqu'ils se dégradent assez rapidement dans des conditions relativement douces, et évitent ainsi une intervention chirurgicale supplémentaire de retrait d'un implant d'hydrogel non dégradable. La prédiction du temps de dégradation des hydrogels est cruciale pour garantir le succès du relargage du médicament et maximiser les effets thérapeutiques [38].

Les systèmes de distribution contrôlée de médicaments à base d'hydrogels peuvent être utilisés pour une application orale, oculaire, sous-cutanée ou épidermique. L'administration de médicaments par voie orale est la méthode la plus utilisée. Cela permet de délivrer les

substances dans quatre sites spécifiques majeurs: la bouche, l'estomac, l'intestin grêle et le colon. Les propriétés d'adhésion spécifique des hydrogels permettent d'augmenter la concentration locale en médicament et augmentent son absorption dans le corps. Plusieurs types d'hydrogels bioadhésifs ont été développés depuis les années 80 et certains sont sur le marché [39].

III.5.2 Immobilisation cellulaire

L'immobilisation cellulaire consiste à faire croitre des cellules immobilisées dans une matrice d'hydrogel. Il est donc nécessaire que cet hydrogel soit biocompatible et assure la viabilité des cellules [40]. Il existe différentes méthodes pour immobiliser des cellules dans un hydrogel: l'adsorption, la capture et la micro encapsulation. L'adhésion est généralement utilisée pour stabiliser les cultures cellulaires et effectuer des analyses, ou pour fournir une matrice structurelle qui dirige la croissance et/ou la différenciation des cellules. Les hydrogels utilisés pour l'adhésion doivent posséder de bonnes propriétés bioadhésives. L'affinité des cellules peut être affectée par la structure moléculaire des monomères de l'hydrogel, et ses propriétés de surface (charges). Il est possible d'améliorer l'adhésion des cellules sur l'hydrogel en greffant des protéines adhésives. D'autre part, les gels macroporeux sont la plupart du temps utilisés, afin de fournir un espace suffisant à la croissance des [40].

III.5.3 Ingénierie tissulaire

Afin de traiter des patients ayant besoin de nouveaux tissus ou organes, une nouvelle stratégie de conception de tissus ou organes artificiels a été développée. Elle consiste à combiner les cellules du patient avec une matrice polymérique à trois dimensions qui agit comme la matrice extra-cellulaire naturelle. Cette matrice permet de délivrer les cellules à l'endroit désiré dans le corps et fournit un nouvel espace pour la croissance du tissu. Elle permet également de contrôler la structure et la fonction de ce dernier. Une grande variété de tissus artificiels peut être conçue par cette méthode. Comme des artères, de la peau, du cartilage, des os, des ligaments ou encore des tendons. Ainsi, l'ingénierie tissulaire est apparue comme une technologie prometteuse dans la fabrication de substituts de tissu vivant ayant des propriétés similaires aux tissus naturels. Le polymère utilisé pour la matrice artificielle est un élément déterminant, puisqu'il doit être capable de mimer tous les rôles des matrices extracellulaire naturelles, tout en permettant la diffusion des nutriments, des métabolites ou des facteurs de croissance [41].

III.5.4 Cosmétique

Les hydrogels sont également très utilisés dans le secteur de la cosmétique. Ils permettent de piéger des ingrédients actifs cosmétiques et de les libérer de manière contrôlée, grâce à un stimulus extérieur comme une variation de pH par exemple. De plus, les actifs piégés dans l'hydrogel sont protégés de l'environnement extérieur pouvant éventuellement les dégrader. Les propriétés mécaniques des hydrogels confèrent à la formulation une stabilité et une résistance utiles pour le stockage pendant plusieurs mois, voire plusieurs années, dans un flacon soumis éventuellement à des contraintes et des chocs (transport). De plus, il est possible de jouer sur la rhéologie des hydrogels et de leur donner des formes et des textures variées et adaptées à l'usage que l'on souhaite en faire (solution viscoélastique, solide plus ou moins mou, membrane fine, billes, etc…) [42].

Dans leurs travaux, décrivent et évaluent un traitement cosmétique contre la cellulite, dont la formulation utilise un hydrogel qui libère les actifs. Leurs études rhéologiques montrent que la formulation exhibe un comportement viscoplastique qui lui confère une texture plaisante et appropriée à l'application sur la peau. D'autre part, les profils de relargage révèlent que les actifs ont été libérés en quantités suffisantes et dans des temps raisonnables [42].

Les principes actifs cosmétiques sont la plupart du temps des molécules instables dans l'air, sensibles à l'oxygène, aux rayons lumineux, à la chaleur et aux ions métalliques. Ainsi, des efforts considérables ont été faits dans la recherche de moyen d'encapsulation et de protection de ces molécules actives [41].

Chapitre II

Matériels et Méthodes

II. Introduction

La partie expérimentale a été réalisée au niveau des laboratoires pédagogiques de la faculté de technologie (Université de Médéa). Dans cette étude, nous nous sommes intéressés au préalable à l'élaboration des hydrogels à base de deux biopolymères naturels qui sont l'amidon et l'alginate de sodium, avec ou sans l'ajout de l'acide ascorbique, en tant qu'un antioxydant fort. L'effet de la concentration des biopolymères et de l'acide ascorbique sur la stabilité des formulations a été étudié. Ainsi, nous avons étudié l'influence de quelques paramètres comme le taux d'agent réticulant, la température, le pH et la salinité des systèmes élaborés sur le taux de gonflement des hydrogels élaborés. L'évaluation des activités biologiques des hydrogels formulés a été aussi effectuée.

Enfin, l'étude de la possibilité d'utilisation des hydrogels élaborés comme système de libération de l'amoxicilline a été également effectuée.

II.2.Matériels et méthodes

II.2.1.Matériels et produits

- Amidon
- Alginate de sodium
- Chlorure de calcium ($CaCl_2$)
- Solution de phosphate de sodium di-sodique (Na_2HPO_4),
- Solution d'acide citrique ($C_6H_8O_7$)
- Acide ascorbique **(**vitamine C)
- Mueller-Hinton agar
- DPPH (2,2-DiPhenyl-1-PicrylHydrazyl)

II.1 Matériels

Le matériel utilisé pour la réalisation des expériences est le suivant :

- Balance électronique : Adventurer ™
- Agitateur/ plaque chauffante : Adventurer ™
- Thermomètre
- Spectrophotomètre IR a Transformé de Fourier : BRUKER TENSOR II
- Spectrophotomètre UV-VIS
- Pipettes pasteurs
- Bec bunsen
- Boites de pétrie en plastique

II.2 Formulation des hydrogels

II.2.1 Formulation des hydrogels en présence d'un agent réticulant

Des hydrogels à base des biopolymères ont été préparés en faisant disperser 6g d'amidon dans une solution d'alginate de sodium de 2% déjà préparé dans l'eau distillée. La dispersion des polymères se fait sous agitation magnétique (700 trs/min), en chauffant jusqu'à 90°C pendant 30 min. Différentes quantités de chlorure de calcium (0, 0.1, 0.2, 0.3 et 0.4 %), comme agent de réticulation, ont été ajoutées. Les hydrogels ainsi obtenus sont versés immédiatement dans des moules en silicone et laissés au repos pendant 24h.

II.2.2 Formulation des hydrogels en présence d'acide ascorbique

L'effet de l'acide ascorbique sur la stabilité et les propriétés inhérentes des hydrogels a été étudié en incorporant différentes concentrations d'acide ascorbique (0.5 et 1%) par agitation magnétique à la température ambiante. L'ajout de ce dernier a été fait juste avant de mettre le $CaCl_2$ pour éviter l'apparition des grumeaux. Le tableau II.1 résume la composition des hydrogels préparés.

Tableau II.1 : Compositions des hydrogels préparés à base d'acide ascorbique (AA).

Echantillons	EA1	EA2	EA3	EA4
Alginate (%)	2	2	2	2
Amidon (%)	6	6	6	6
$CaCl_2$ (%)	0	0	0.1	0.2
Acide ascorbique (%)	0.5	1	0.5	0.5

II.3 Caractérisation des hydrogels

II.3.1 Aspect général

Toutes les formulations préparées ont été soumises à des analyses visuelles et organoleptiques telles que l'aspect et l'homogénéité.

II.3.2 Caractérisation FTIR

La caractérisation par la spectroscopie FTIR a été réalisée en utilisant un spectrophotomètre FTIR type BRUKER TENSOR II. Les hydrogels avec un aspect ferme ont été directement déposés (sans préparation préalable) sous forme d'une membrane sèche très mince. Les spectres d'absorption infrarouge ont été enregistrés dans la gamme de nombres d'onde comprise entre 400 et 4000 cm^{-1}.

II.3.3 Cinétique de gonflement

Des études du taux de gonflement ont été effectuées afin d'évaluer l'influence de la composition des hydrogels et des conditions externes comme le changement de pH, de température et de salinité sur les propriétés de gonflement dynamique des hydrogels obtenus. Pour cela, la cinétique de gonflement a été réalisée dans différents milieux : Eau distillée, milieux tampons à pH= 7, pH =4 et pH=10. Et dans le but d'étudier l'influence de la température, ces tests de gonflement ont été réalisés aux différentes températures : 25°C, 37°C et 50°C.

Le protocole suivi consiste à faire peser la masse initiale d'un petit morceau d'hydrogel (m_i) avant son immersion dans les différents milieux tampons, puis à des intervalles de temps régulier, ce morceau est retiré du milieu, séch[illegible]r papier filtre pour enlever l'excès du liquide puis pesé à nouveau (m_g). Le taux de gonflement (TG) est calculé par la formule (II.1) suivante :

$$TG\ (\%) = (m_g - m_i)\ /m_i\ *100 \qquad (II.1)$$

Avec : mi est la masse de l'hydrogel à l'état initial et mg est la masse de l'hydrogel à l'état gonflé.

II.3.4 Effet de la force ionique du liquide gonflant

Cinq solutions de différentes concentrations en NaCl (10^{-3} mol.L^{-1} à [illegible]$^{-1}$ mol.L^{-1}) ont été préparées. Les hydrogels sont immergés pendant 24 heures dans la solution de concentration la plus faible puis pesés et plongés dans la solution de concentration croissa[illegible] Le taux de gonflement des hydrogels testés a été déterminé en fonction de la concentration en sel de sodium, sous les conditions optimales de pH et de la température.

II.4 Evaluation de l'activité biologique

II.4.1 Evaluation de l'activité antioxydante par DPPH

- **Principe**

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle est un radical libre de couleur violacée qui absorbe dans le 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 II.1). 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 [43].

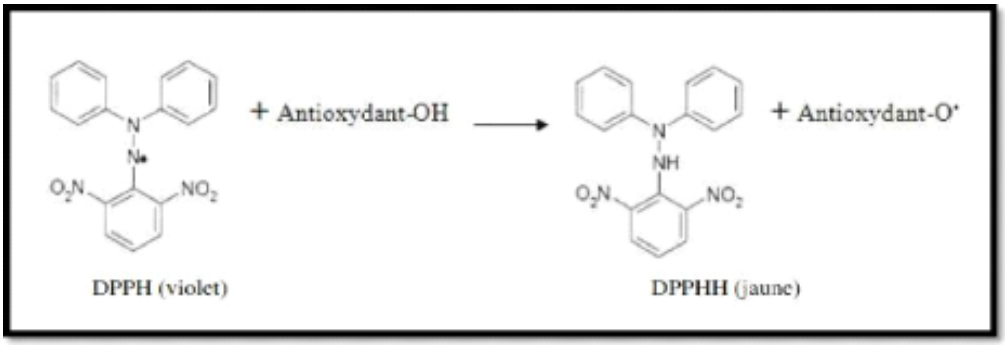


Figure II.1 Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.

- **Protocole opératoire**

Une solution de DPPH a été préparée par solubilisation de 0.004% de DPPH dans l'éthanol, différentes concentrations de solutions échantillons sont ajoutées à 1.5ml de la solution de DPPH, après incubation de 30 min à l'obscurité et à température ambiante, les absorbances sont mesurés à 517 nm contre le blanc correspondant. Le pouvoir d'inhibition (%) est déterminé en appliquant la formule suivante **:**

% d'activité antioxydante = [Abs contrôle – Abs échantillon / Abs contrôle] x 100
(II.2)

II.4.2 Evaluation de l'activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des hydrogels testés a été réalisée par la méthode de chromatogramme appelée également méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques.

II.4.2.1 Microorganismes testés

Le choix des bactéries s'est porté sur deux souches de bactéries fréquentes et une souche de levure (*Candida*) en pathologie humaine, appartenant à deux catégories différentes (Gram positive et Gram négative). L'efficacité des produits testés ainsi que leur modalité de pénétration dans la bactérie sont différentes. Les souches bactériennes utilisées sont :

- Bactérie Gram négatives *: Escherichia coli.*
- Bactérie Gram positive : *Staphylococcies aureus.*
- Levure du genre *Condidas albicans*

II.4.2.2 Préparation de l'inoculum

A partir des cultures jeunes sur MH, on prélève 1 à 2 colonies bien isolées et identiques dans 5 ml d'eau physiologique stérile, on agite au vortex pendant quelques secondes.

II.4.2.3 Ensemencement

Après avoir coulé le milieu de culture gélosé Mueller Hinton dans les boites de pétri, l'ensemencement a été fait par technique d'écouvillonnage en faisant un ensemencement par stries très serrées (figure II.2).



Figure II.4.5. Ensemencement par stries très serrées

II.4.2.4 Application des disques

Dans des boites contenant de culture bactérienne déposée à la surface de gélose, des disques d'hydrogels sont appliqués à la surface à des distances déterminées. Les boites sont incubées dans une étuve à 37°C pendant 24h.

La lecture des résultats se fait par la mesure de la zone d'inhibition, qui est représentée par un halo formé autour de chaque disque où aucune croissance n'est observée.

II.5 Application pharmaceutique

L'objectif de cette partie est d'utiliser les hydrogels formulés comme matrices pour l'inclusion et libération de principes actifs. Nous avons choisi l'amoxicilline comme principe actif modèle.

- **Mode opératoire**

L'encapsulation de l'amoxicilline dans les hydrogels a été réalisée par regonflement des gels, ces derniers étant immergés à l'état sec (0,1g) dans une solution d'amoxicilline de concentration 1% pendant [illegible]urs.

L'étude de la libération a été effectuée par immersion d'une quantité de 0,1 g d'hydrogel dans 20 mL d'une solution tampon de pH : 4, 7 et 9. Le suivi de la cinétique de libération de l'amoxicilline dans les différentes solutions tampons a été fait par spectrophotométrie UV-Vis à la longueur d'onde λmax= 290 nm.

Chapitre III
Résultats et discussions

III. Introduction

Après avoir décrit dans le chapitre précédent toutes les méthodes expérimentales utilisées, nous présentons dans le présent chapitre les résultats obtenus ainsi que les interprétations et les conclusions que nous avons tiré.

III.1 Caractérisation des hydrogels obtenus

III.1.1 Aspect général

L'aspect macroscopique des hydrogels formulés à base de $CaCl_2$ est représenté dans la Figure III.1. Les hydrogels avec 0% et 0.1% $CaCl_2$ présentent une forme liquide. Alors que les hydrogels de 0.2, 0.3 et 0.4% de $CaCl_2$ présentent une forme ferme et rigide pour chacun. Cet aspect peut être justifié par l'effet de pontage du $CaCl_2$.

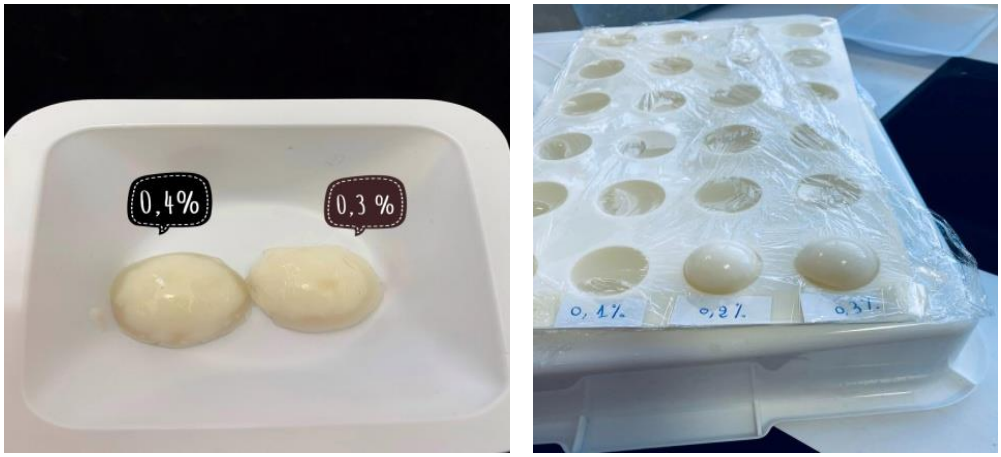


Figure.III.1 : Aspect macroscopique des hydrogels en présence de $CaCl_2$ (0.1%, 0.2% ,0.3% et 0.4%).

Les vues macroscopiques des différentes formulations à base de $CaCl_2$ et en présence de l'acide ascorbique sont représentées dans la Figure III.2. L'examen macroscopique montre un aspect mou des hydrogels de 0% $CaCl_2$/0.5% AA et de 0% $CaCl_2$/0.5% AA. Alors que pour les hydrogels de 0.1% CaCl2, 0.5% AA et 0.2% CaCl2, 0.5% AA, une forme rigide est observée.



Figure III.2 : Aspect macroscopique des hydrogels à base de 0.5% AA avec 0.1% et 0.2% $CaCl_2$

III.1.2 Analyse par infrarouge

Les spectres FT-IR des hydrogels formulés à base de $CaCl_2$ en présence de l'acide ascorbique sont illustrés dans les Figures III.3-10.

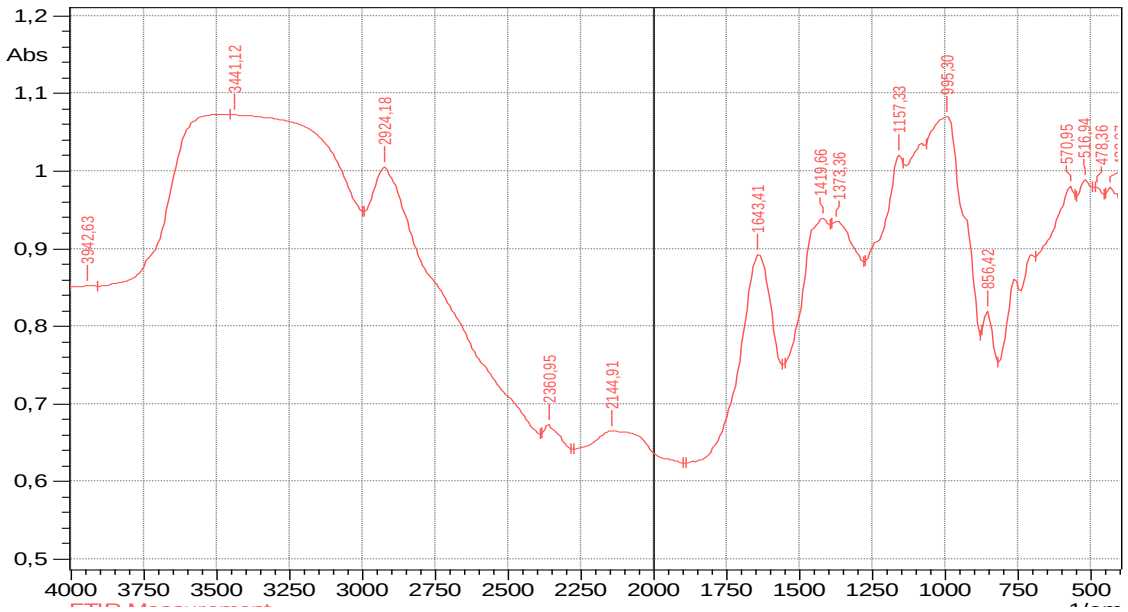


Figure III.3: Spectre FTIR d'amidon

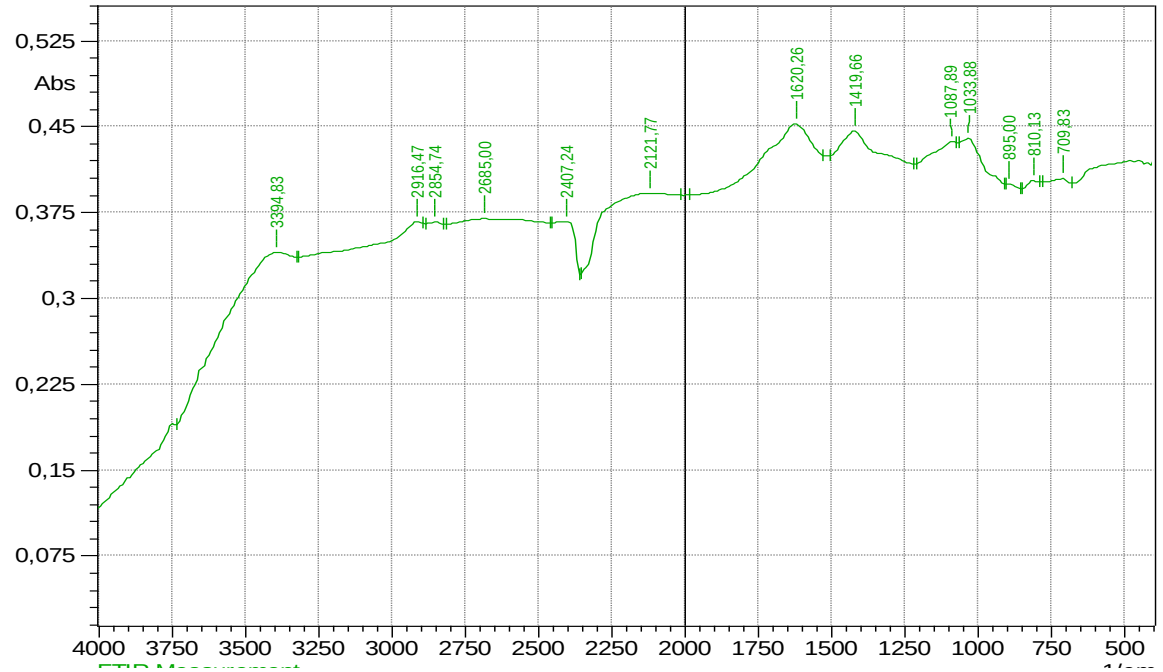


Figure III.4: Spectre FTIR de l'Alginate

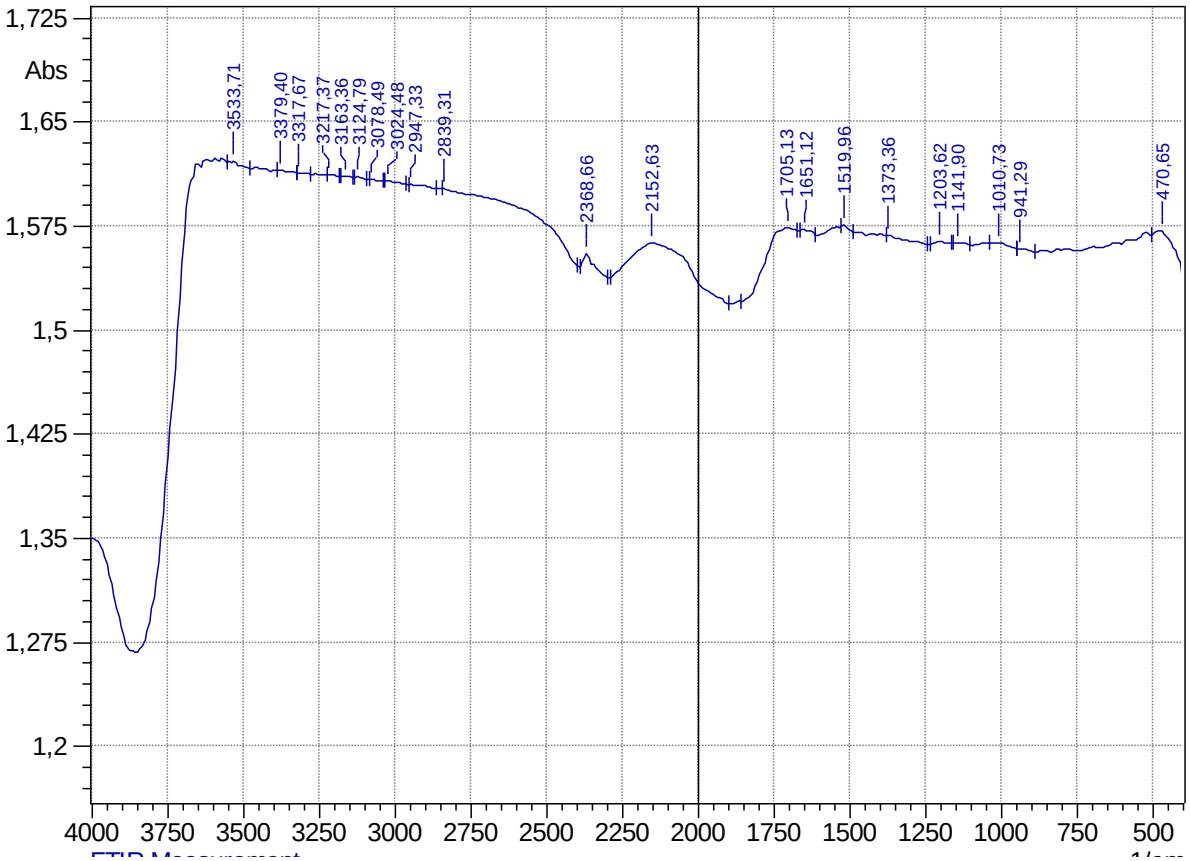


Figure III.5 : Spectre FTIR d'hydrogel à base d'Amidon et d'Alginate

Après avoir identifié les différents groupements présents dans les fractions analysées, le pic principal du spectre FTIR dans 3000–3600 cm^{-1} a été attribué à la vibration des groupements OH. Le pic à 2929 cm^{-1} correspond à la vibration de valence du groupement CH de l'unité glucose de l'amidon. Des pics proches de 1616 cm^{-1} et 1420 cm^{-1} ont été attribués à des vibrations d'étirement asymétriques et symétriques du groupement COO– de l'alginate [44]. Les pics d'absorption à 931 cm^{-1}, 861 cm^{-1} et 761 cm^{-1} ont été attribués aux sucres de l'amidon [45]. Comparé à l'amidon natif, l'hydrogel avait un pic de liaison hydrogène plus faible. La force de la bande d'absorption à 3000–3600 cm^{-1} s'est affaiblie, indiquant que la force de la liaison hydrogène intermoléculaire entre l'amidon et l'alginate a progressivement augmenté.

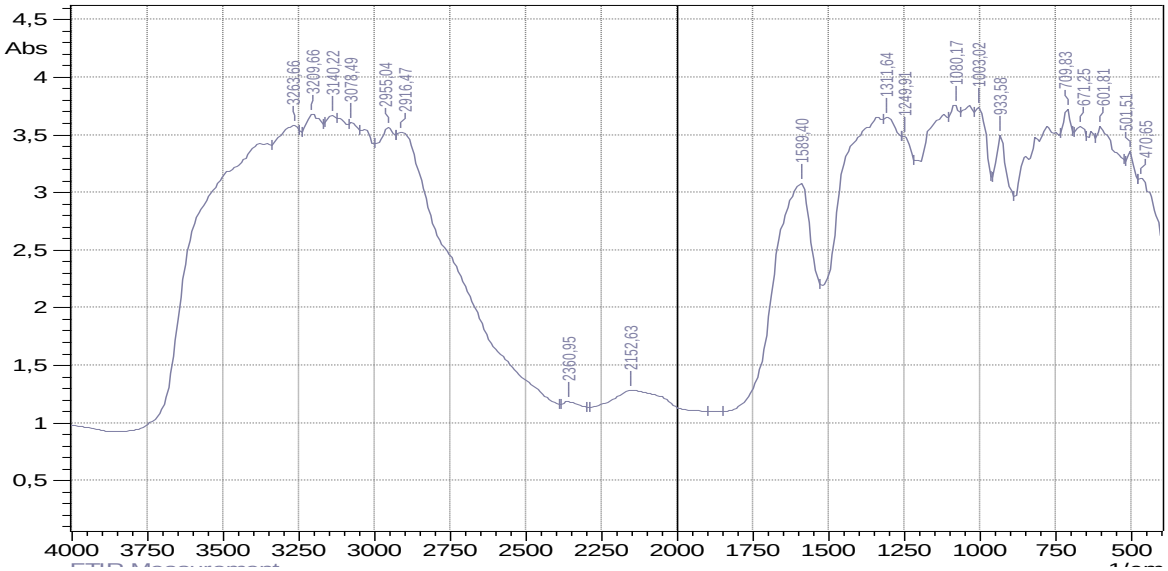


Figure III.6: Spectre FTIR d'hydrogel à base de 0.1% $CaCl_2$

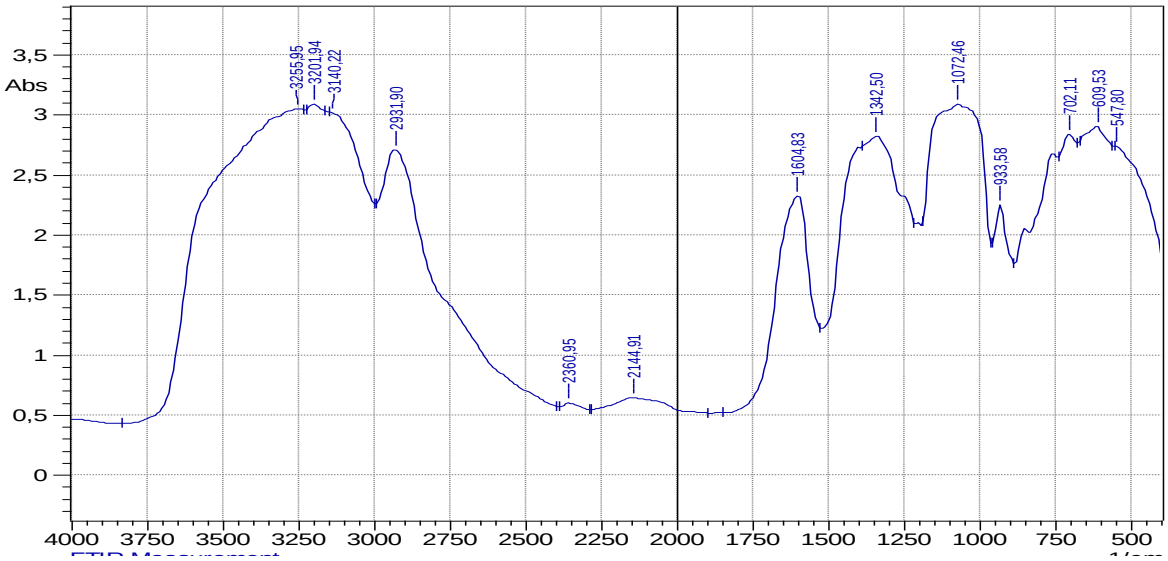


Figure III.7: Spectre FTIR d'hydrogel à base de 0.2% $CaCl_2$

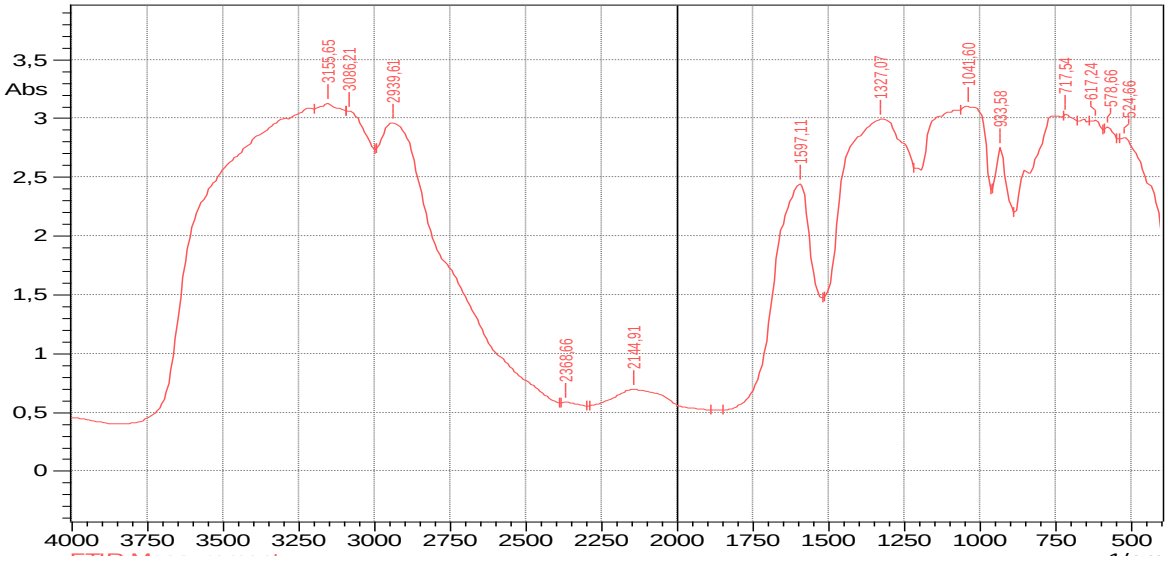


Figure III.8 : Spectre FTIR d'hydrogel à base de 0.3% $CaCl_2$

L'intensité maximale du pic d'hydrogel autour de 1616 cm^{-1} a augmenté progressivement à mesure que la concentration de Ca^{2+} augmentait, ce qui peut être lié à l'interaction entre COO^{-} de l'alginate et des ions Ca^{2+}. Le changement d'intensité maximale a prouvé la formation du réseau de gel de point de vue moléculaire [46].

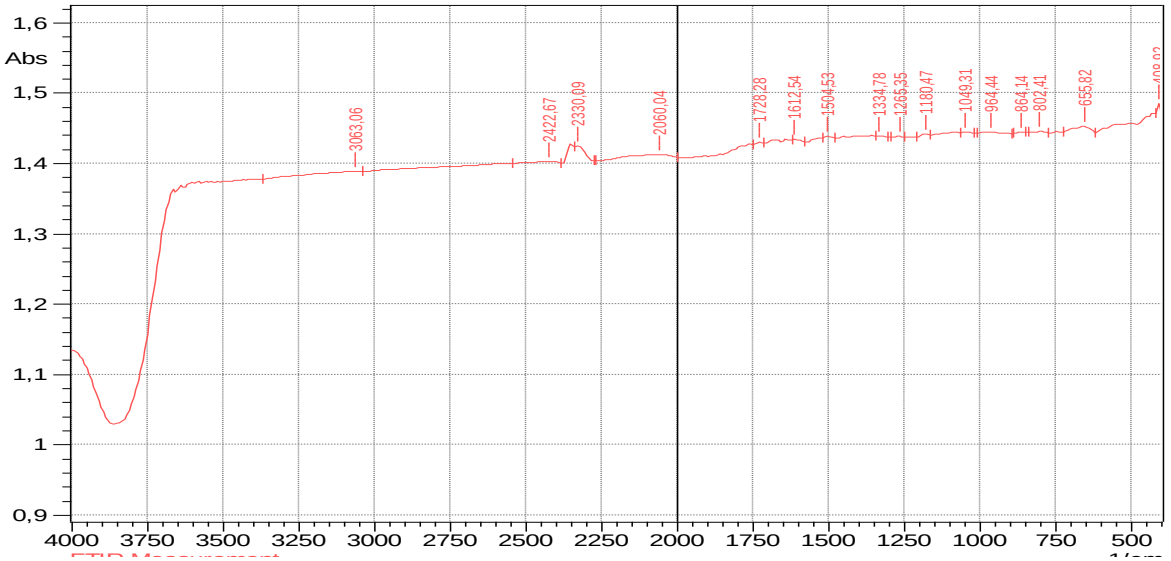


Figure III.9 : Spectre FTIR d'hydrogel à base de 0.5% AA+0% $CaCl_2$

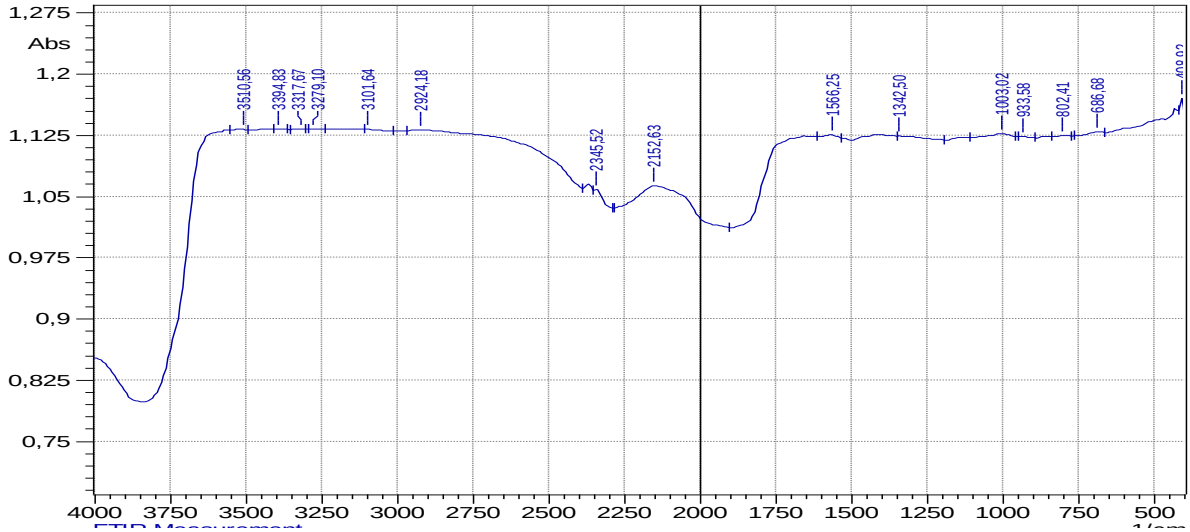


Figure III.10 : Spectre FTIR d'hydrogel à base de 0.5% AA+0.1% $CaCl_2$

III.1.3 Taux de gonflement

III.1.3.1 Effet de pH sur le gonflement

Une étude du gonflement des divers hydrogels à base d'alginate et d'amidon aux différentes concentrations de $CaCl_2$ a été effectuée. Les résultats obtenus dans les différents milieux acide (pH 4), neutre (pH 6.8) et alcalin (pH 9) sont illustrés dans les Figures III.8, III.9 et III.10.

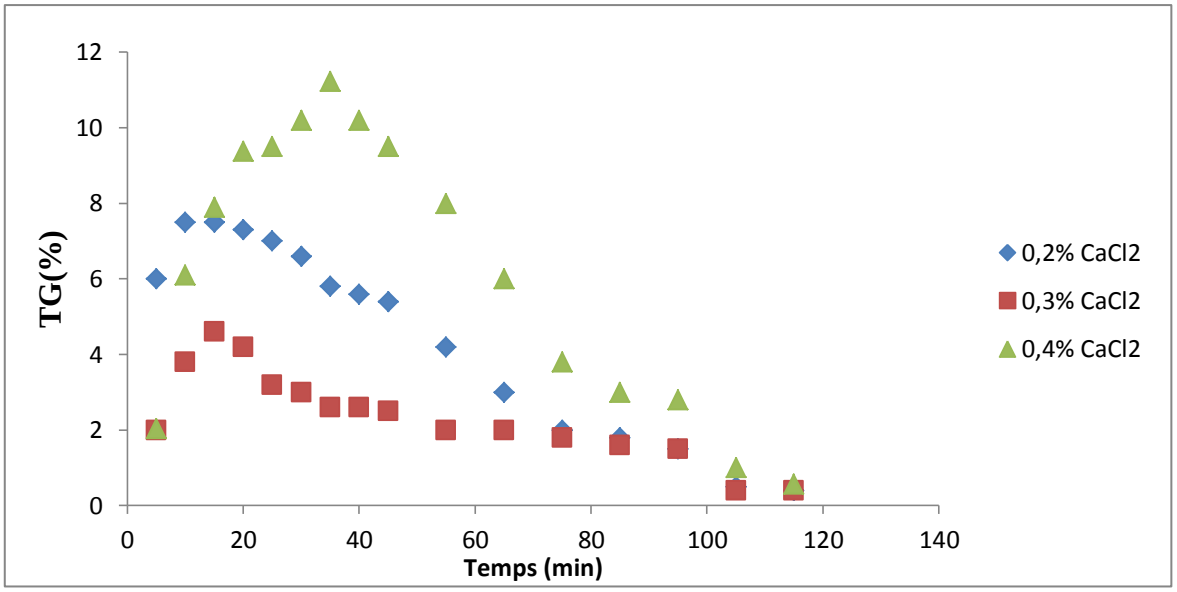


Figure III.8 Cinétique de gonflement des hydrogels aux déférentes concentrations en $CaCl_2$ à pH=4.

En milieu acide, les hydrogels ont atteint l'équilibre après presque une heure. Le pourcentage de gonflement de l'hydrogel E03 est de 11.22%, de 7.5% pour E01, et de l'ordre de 4.6% pour la formulation E02.

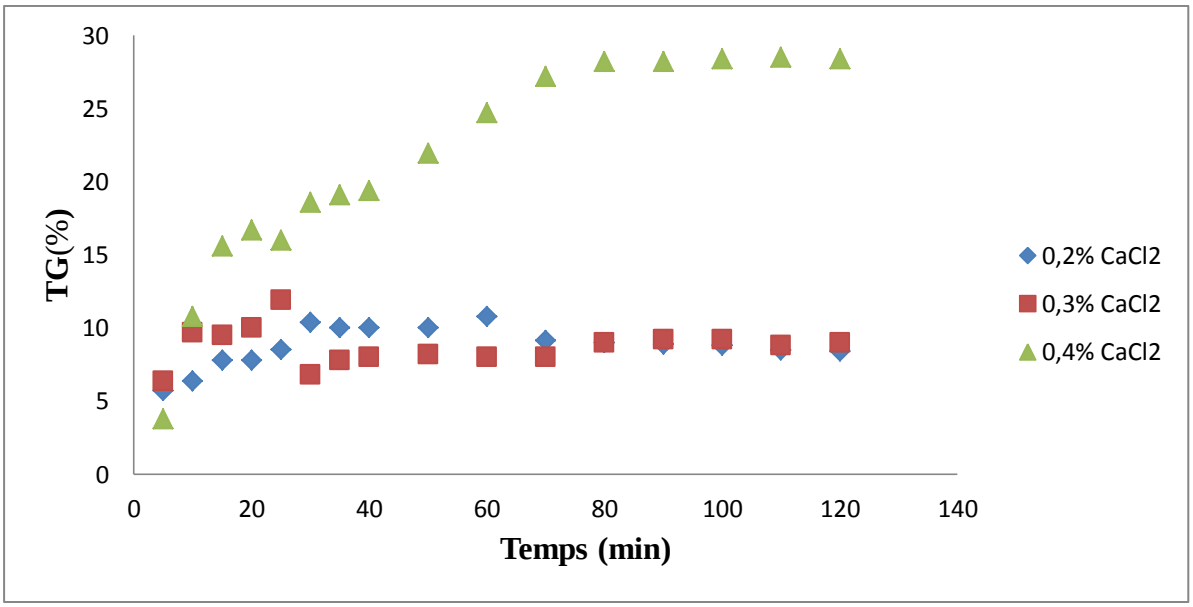


Figure III.9 Cinétique de gonflement des hydrogels aux déférentes concentrations en $CaCl_2$ à pH=6.8

En milieu neutre, les hydrogels ont gonflé davantage et les échantillons E03, E02 et E01 ont été gonflé jusqu'à 28.5%, 11.9% et 10.8 %, respectivement.

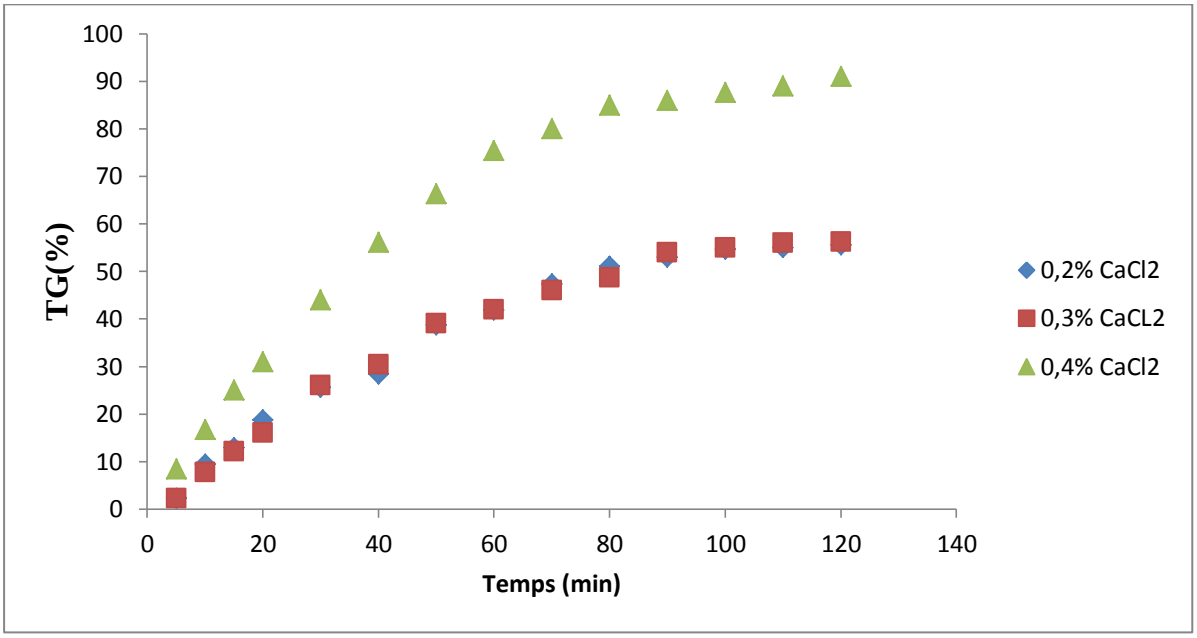


Figure III.10 Cinétique de gonflement des hydrogels à déférentes concentrations en $CaCl_2$ à pH=9

En milieu alcalin, nous remarquons que le taux de gonflement augmente avec le temps pour les différentes concentrations des gels jusqu'à l'équilibre après presque une heure et demie (1h30). Des taux de gonflement de l'ordre 91%, 56.2% et 55.5% pour les échantillons E03, E02 et E01 respectivement.

En effet, l'augmentation des valeurs du pH favorise l'ionisation des groupements acides et par conséquent des répulsions électrostatiques entre les sites chargés sont apparues, ce qui facilite la pénétration du liquide dans le gel et augmente son taux de gonflement [47].

III.1.3.2 Effet de la température sur le gonflement

L'influence de la température sur la capacité d'absorption d'hydrogel a été également étudiée. Les expériences ont été réalisées dans différentes températures (25, 37 et 50 °C) dans de l'eau distillée. Les résultats obtenus sont donnés sur les Figures III.11, III.12, et III.13

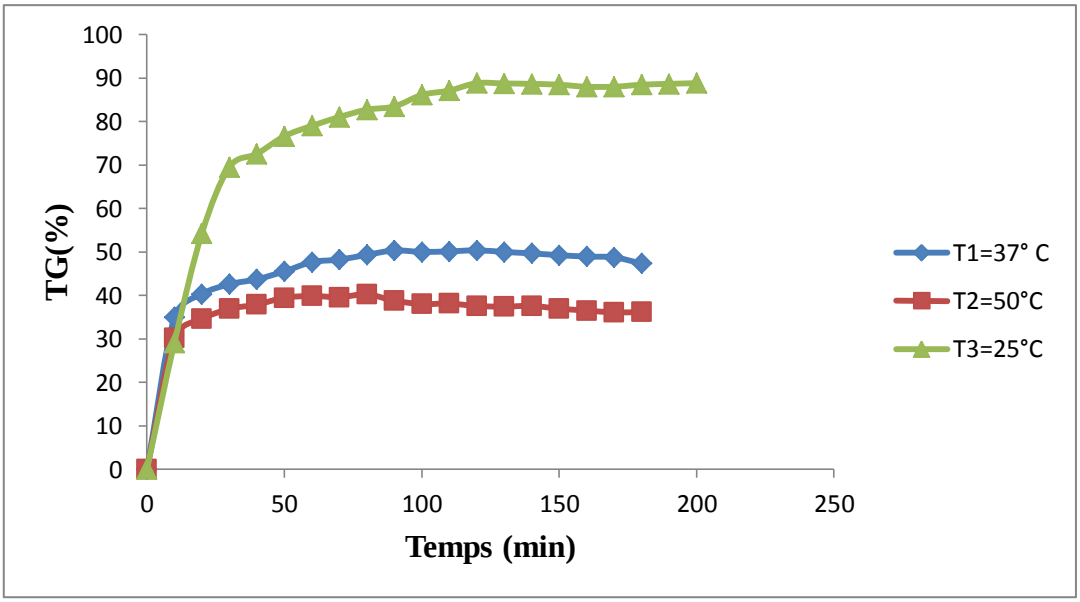


Figure III.11: Influence de la température sur le gonflement de l'hydrogel E01

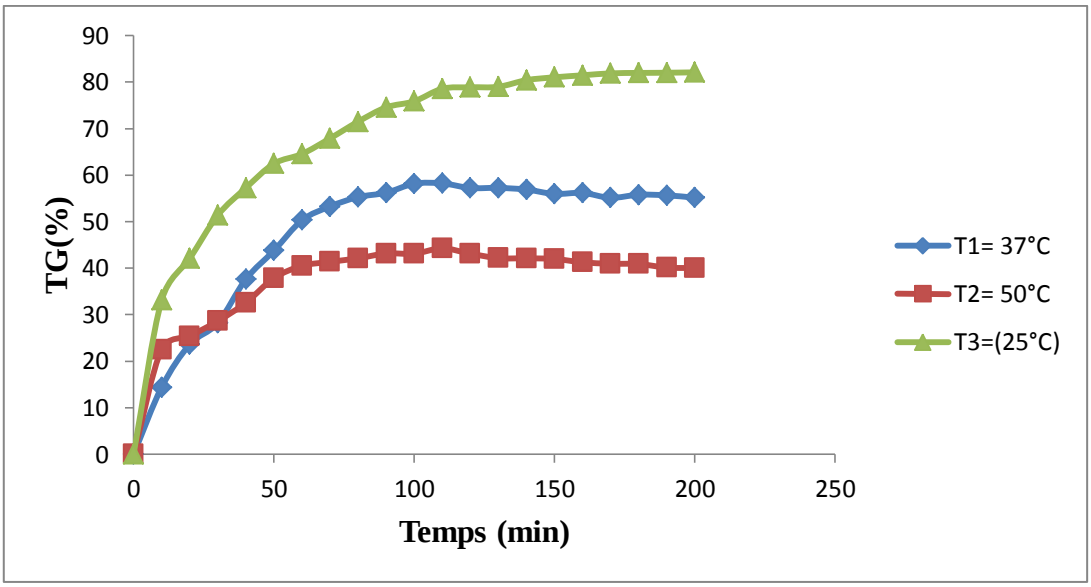


Figure III.12: Influence de la température sur le gonflement de l'hydrogel E02

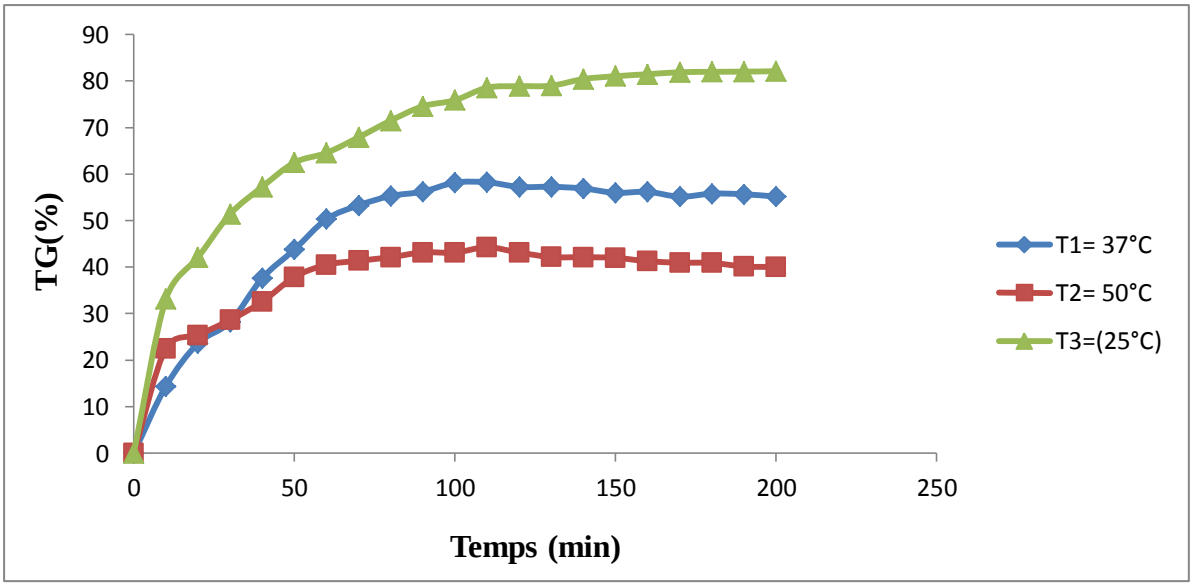


Figure III.13: Influence de la température sur le gonflement de l'hydrogel E03

Pour tous les hydrogels étudiés, nous remarquons un même profil de gonflement pour les trois températures. Les résultats obtenus montrent que l'augmentation de la température est inversement proportionnelle au taux de gonflement. Le meilleur TG est enregistré pour la température de 25°C (82.09%) suivi par la température de 37°C avec un TG = 55.14 et enfin la température de 55°C avec un TG = 40.028. ces résultats sont probablement dus au changement de la structure tridimensionnelle des hydrogels sous l'effet de la température.

2.3.3 Effet de la force ionique

La Figure III.14 ci-après représente le taux de gonflement des échantillons E01, E02 et E03 en fonction de la concentration en chlorure de sodium, sous les conditions optimales de pH et de la température.

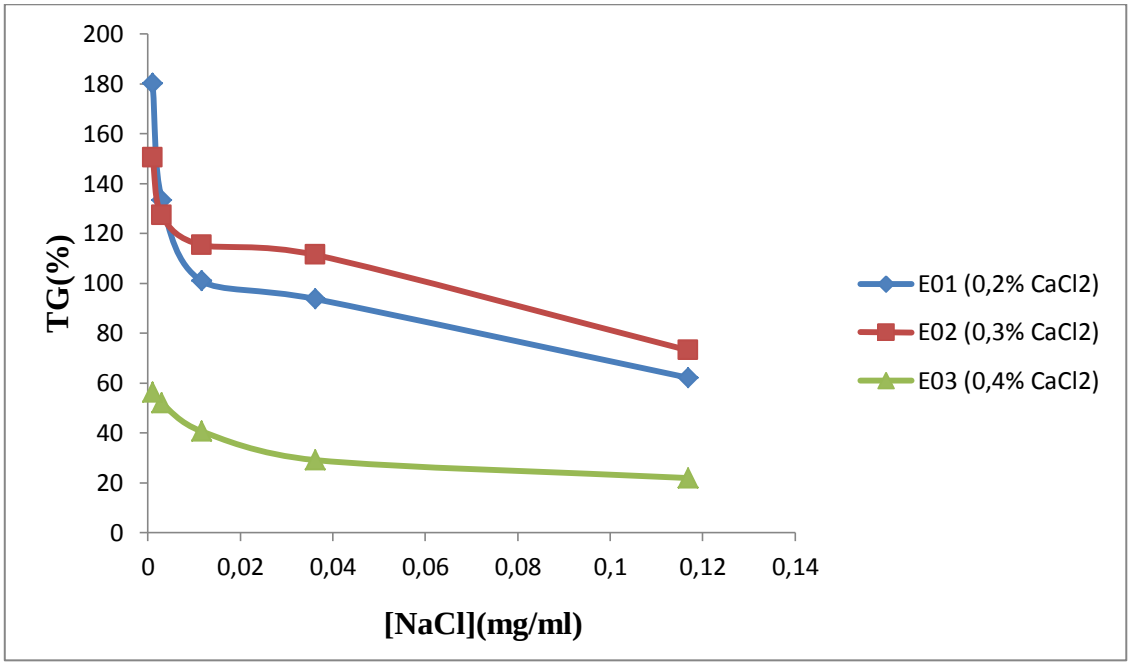


Figure III.14: Taux de gonflement d'E01, E02 et E03 en fonction de la concentration en NaCl, à pH neutre et température ambiante.

Comme le montre clairement la figure III.14**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**, les inétiques de gonflement obtenues ont pratiquement la même allure pour les trois échantillons des hydrogels étudiés, Il apparait clairement que le taux de gonflement diminue lorsque la force ionique augmente. Ce phénomène peut être expliqué par l'insertion des ions Na^+ entre les chaînes polymériques provoquant de ce fait un effet d'écran de charges ce qui réduit l'intensité des répulsions électrostatiques entre les charges négatives. Aussi, il faut tenir compte de la baisse de la différence des pressions osmotiques interne et externe au gel [47].

III.1.4 Effet de l'acide ascorbique sur la cinétique de gonflement d'hydrogel

L'étude de la cinétique de gonflement des hydrogels à base d'acide ascorbique a été réalisée sur l'échantillon d'hydrogel le plus rigide (0,5% acide ascorbique + 0,2% $CaCl_2$). La Figure III.15 représente l'influence de l'acide ascorbique sur la cinétique de gonflement d'hydrogel.

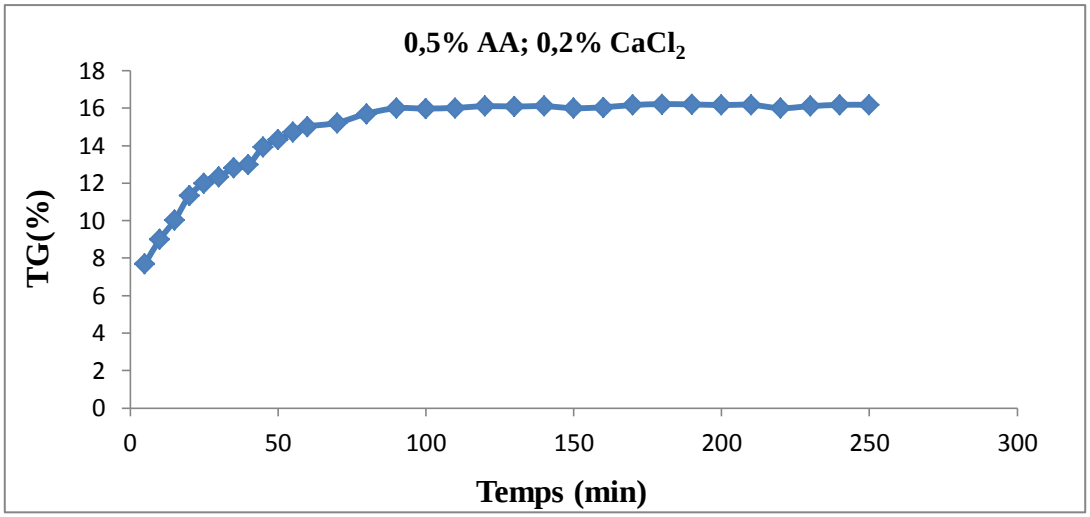


Figure III.15: L'influence de l'acide ascorbique sur la cinétique de gonflement d'hydrogel à 0,2% $CaCl_2$

Un taux de gonflement entre 7.7 et 16.18 % est enregistré après presque une heure et demie d'équilibre.

Par comparaison avec les déchantions formulés sans acide ascorbique, on remarque que l'ajout de ce dernier à augmenter d'une part la rigidité de l'hydrogel et à améliorer considérablement le gonflement de 10.8 % à 16.18 %.

III.2 Etude biologique

III.2.1 Activité antimicrobienne

L'évaluation du pouvoir antimicrobien des hydrogels est testée vis-à-vis de 3 souches microbiennes pathogènes via la méthode des disques. Les observations effectuées sur l'effet d'hydrogels sur la croissance des souches microbiennes testées, sont représentées dans la Figure III.16.

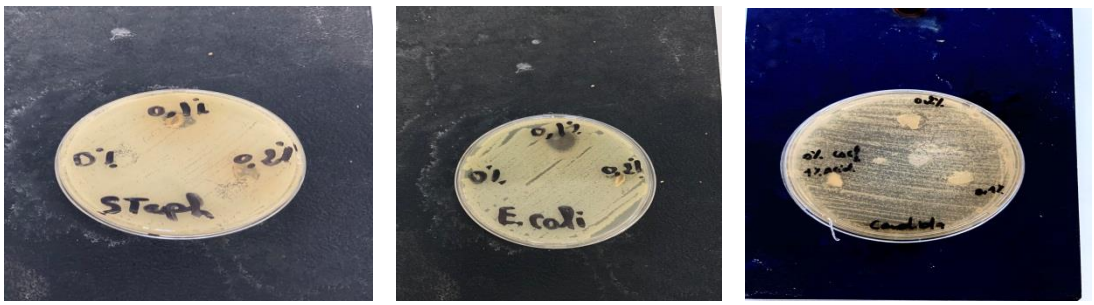


Figure III.16 : Diamètre d'inhibition des hydrogels testés sur les différentes souches bactériennes.

A partir des résultats présentés dans la Figure III.16, aucun halo n'est enregistré autour de des échantillons étudiés pour toutes les souches microbiennes testées, ce qui permet de dire que notre hydrogel n'a aucun pouvoir inhibiteur sur ces microbes.

III.2.2 Activité antioxydante

Le Tableau III.1 et la Figure III.17 regroupent les résultats du test DPPH des hydrogels à base d'acide ascorbique et d'acide ascorbique seul comme témoin.

Tableau III.1: Pourcentage d'inhibition des hydrogels à base d'acide ascorbique

Concentration (g/ml)	2	4	6	8	10
AA + 0,1% $CaCl_2$	89,80	90,96	92,28	93,41	94,31
AA (Témoin)	90,96	91,82	92,97	94,38	95,77

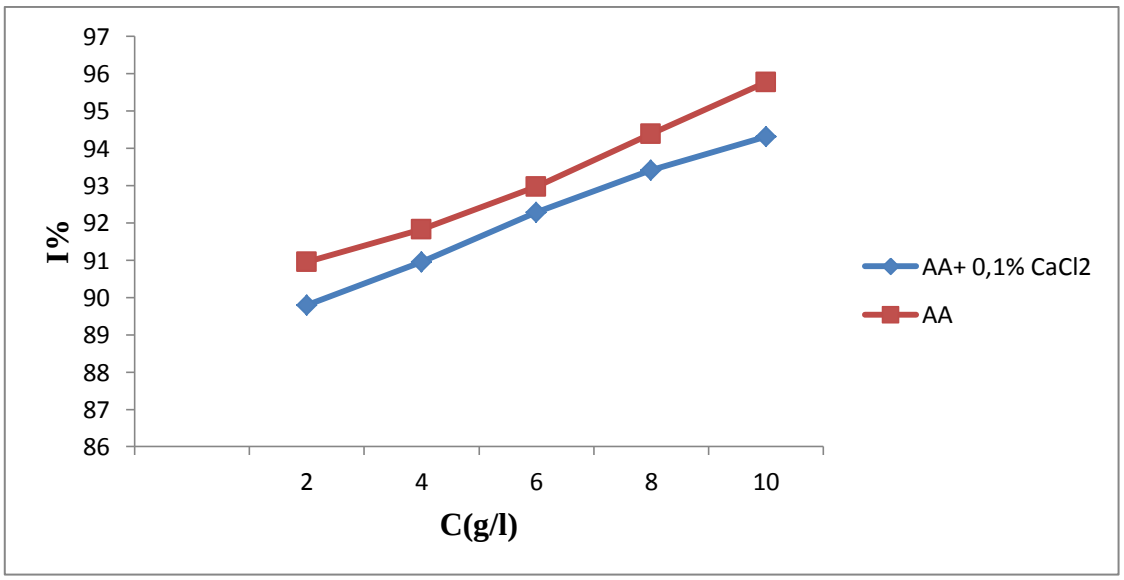


Figure III.17: Pourcentages d'inhibition du radicale libre DPPH● en fonction des différentes concentrations

L'analyse des résultats montre que les hydrogels formulés à base d'acide ascorbique provoquent une réduction presque totale de DPPH$^{\bullet}$ avec des pourcentages d'inhibition de l'ordre de 89,80 % à 94,31%, c'est une activité similaire à celle de témoin.

III.3 Cinétique de relargage de l'amoxicilline

L'étude de la libération de l'amoxicilline à partir des hydrogels utilisés en fonction du temps, dans les trois milieux de pH, est représentée dans la figure III.19.

La figure III.18 représente la courbe d'étalonnage de l'amoxicilline.

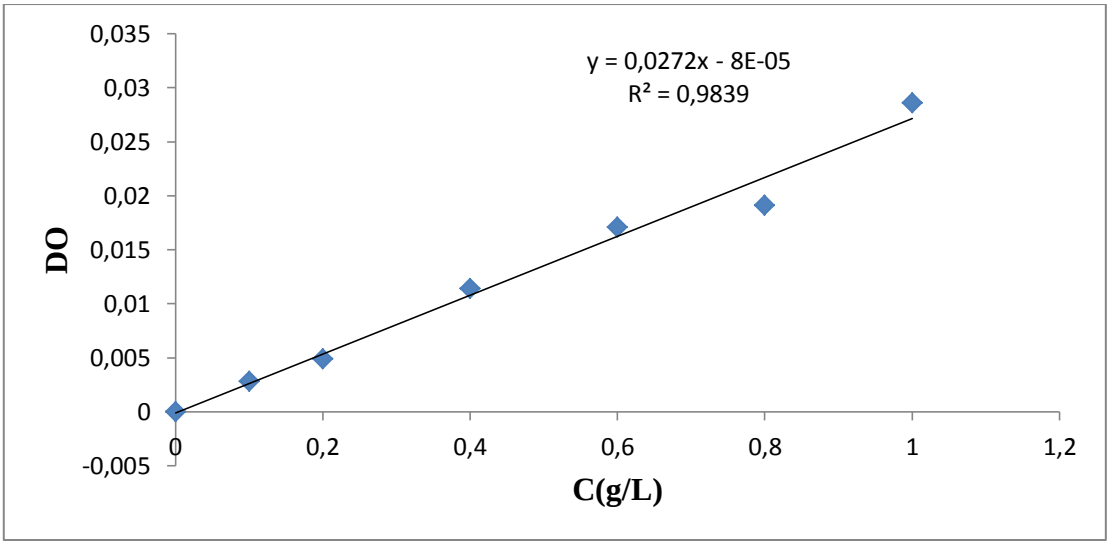


Figure III.18 : Courbe d'étalonnage de l'amoxicilline

La courbe d'étalonnage de l'amoxicilline est une droite qui passe par l'origine avec un coefficient de corrélation proche de 1 (0.98).

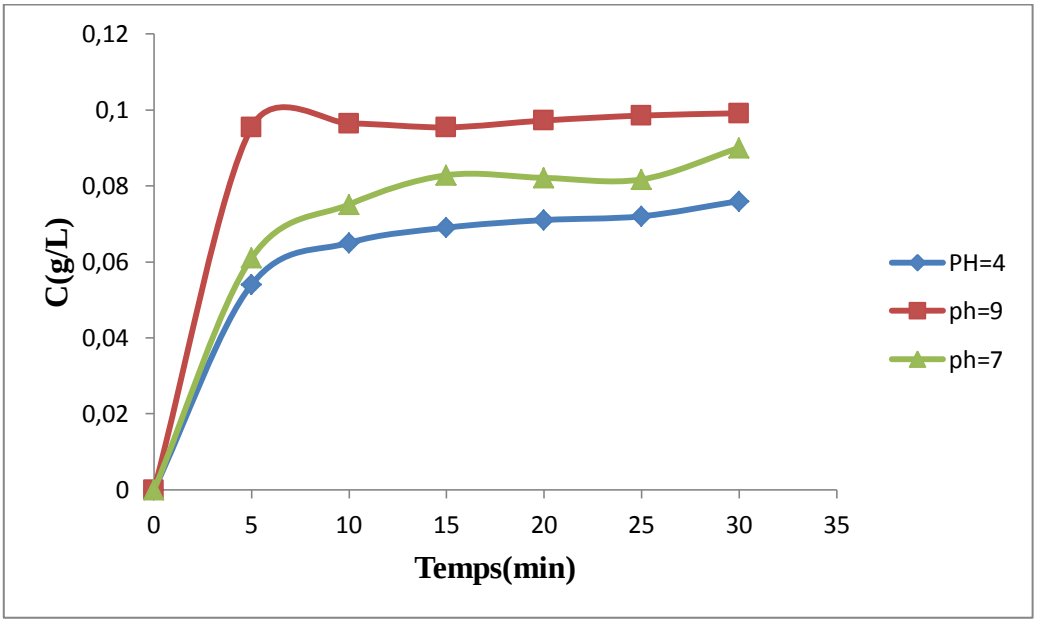


Figure III.19 : Cinétique de libération de l'amoxicilline dans les différents milieux de pH

L'analyse de la Figure III.19 nous a permis de tirer les résultats suivants :

- Pour le milieu neutre l'équilibre est atteint dès les cinq premières minutes (5 min).
- Pour les milieux acide et alcalin, l'équilibre est atteint après plus de 15 minutes de contacte.
- la quantité de l'amoxicilline libérée dans le milieu neutre est légèrement supérieure aux celles libérées dans les deux autres milieux acide et alcalin.
- La meilleure libération de l'amoxicilline est enregistrée dans le milieu neutre avec une quantité maximale d'amoxicilline libérée de l'ordre de 3.53 g/l
- La quantité d'amoxicilline libérée dans le milieu alcalin est de l'ordre de 3.33 g/l
- La quantité d'amoxicilline libérée dans le milieu acide est de l'ordre de 2.8 g/l.

Conclusion générale

Conclusion générale

Le travail présenté dans ce manuscrit avait pour objectif la conception d'un hydrogel multicomposant naturel. Notre choix s'est porté sur l'amidon et l'alginate, qui sont des polymères largement utilisés dans les domaines pharmaceutique et alimentaire, plus de l'acide ascorbique, en tant qu'antioxydant fort. Les hydrogels obtenus sont caractérisés du point de vue profil de gonflement et structure chimique.

Des analyses physico-chimiques et biologiques ont été réalisées afin d'évaluer l'efficacité de ces systèmes dans le but de leurs utilisations dans une éventuelle application pharmaceutique comme système de libération de l'amoxicilline qui a été opté comme model.

Notre travail s'est axé sur les points suivants:

- Formulation des hydrogels à base d'amidon et d'alginate et en présence de $CaCl_2$ sous différentes concentrations.
- Etude d'ajout de l'acide ascorbique sur la stabilité des hydrogels.
- Caractérisation physico-chimiques des hydrogels formés du point de vue profil de gonflement sous l'influence de quelques paramètres comme le taux d'agent réticulant, la température, le pH et la salinité des systèmes élaborés.
- Evaluation de l'activité biologique à savoir l'acticité antimicrobienne et antioxydante
- Application des hydrogels formés comme systèmes de libération de l'amoxicilline.

D'après les résultats obtenus, on peut tirer les conclusions suivantes :

- Seules les formulations en présence de $CaCl_2$ avec des concentrations de 0.2%, 0.3 % et 0.4% présentent un aspect ferme, alors que les autres formulations restent pratiquement sous forme liquide. Par ailleurs, il a été observé aussi que l'ajout d'acide ascorbique à des hydrogels avec des quantités en $CaCl_2$ allant de 0 à 0.3%, augmente la rigidité des hydrogels formulés.
- L'analyse par FTIR a montré la formation d'une liaison hydrogène entre l'alginate de sodium et l'amidon et la réticulation par Ca^{2+} forme un double réseau de réticulation physique.
- Dans tous les milieux le meilleur taux de gonflement est enregistré pour l'hydrogel avec 0.4% en $CaCl_2$ à la température de 25°C.
- L'ajout de l'acide ascorbique à permet d'obtenir un hydrogel possédant un bon pouvoir antioxydant, qui peut provoquer une réduction presque totale de DPPH● avec des pourcentages d'inhibition de l'ordre de 90 %.

- Le test microbiologique a montré que l'hydrogel formulé n'a aucune activité antimicrobiènne sur les souches *Staphylococcus aureus, Escherichia coli et Candida sp.*
- La quantité de l'amoxicilline libérée dans le milieu neutre est légèrement supérieure aux celles libérées dans les deux autres milieux acide et alcalin.
- La meilleure libération de l'amoxicilline est enregistrée dans le milieu neutre avec une quantité maximale d'amoxicilline libérée de l'ordre de 3.53 g/l.

Les résultats obtenus à l'issue de cette étude semblent prometteurs et peuvent être utilisés dans différentes applications cosmétiques, biomédicales, alimentaires….etc

Enfin, cette étude nous a permis de tirer les perspectives suivantes :

- Utiliser d'autres polymères et mélanges de polymères
- Améliorer les propriétés biologiques des hydrogels par l'ajout des composés bioactifs
- Elaborer d'autres formes de systèmes d'encapsulation comme les beads ou des films.

Références bibliographiques

[1]: Wang.L; Ali.J; Zhang.C; Mailhot.G; Pan.G; Simultaneously enhanced photocatalytic and antibacterial activities of TiO2/Ag composite nanofibers for wastewater purification, J. Environ. Chem. Eng 8 (1),2020.

[2]: Noè. C ; Tonda-Turo.C ; Chiappone. A ; Sangermano. M ; Hakkarainen. M ; Light processable starch hydrogels. Polymers 12, 1359. 2020.

[3]: Kessal. F, L'obtention du Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie –Microparticules polymériques: « optimisation de l'approche d'encapsulation et caractérisations physicochimiques », Université Mouloud Mammeri; 2019/2020.

[4]: Bouzid. L, « Modélisation Moléculaire des copolymères » PMMA-PS, Thèse de doctorat. Oran: Université des sciences et de la technologie Mohamed Boudiaf; 2012.

[5]: Benyahia. S; Abdallah Bouamrane. A, « Encapsulation de la doxycycline et de l'aspirine: étude de l'effet des paramètres physicochimiques de préparation sur la stabilité des microcapsules d'alginate », Mémoire de master, Khemis Miliana: Université Djilali Bounaâma ; 2017.

[6]: Bouzidi. L; Chanoune. S, « Elaboration et caractérisation d'un composite totalement biodégradable », mémoire de master, université Abderahmen Mira – Bejaia, Algérie; 2017.

[7]: Behloul. L ; Hamdaoui. L, « Effet d'un Renfort biodégradable sur les propriétés physico-mécaniques d'un biopolymère », mémoire de master, université Abderahmen Mira- bejaia, Algérie; 2015.

[8]: Fiche technique : « Les polymères biodégradables », http://version2.eco-conceptionprediag.fr/documents/Polymeresbiodegrad; 2020/2021.

[9]: Copinet.A, « L'éco-conception et les matières premières renouvelables. La biodégradabilité: l'exemple des polymères », réalités industrielles; Novembre 2008.

[10] : Jean-Luc Wertz, « l'amidon et le PLA: deux polymères sur le marché » ; 28 janvier 011.

[11] : Jean-Luc Wertz, « Polymères biobasés : amidon PLA, PHA, PE et PET » ; Novembre 2016.

[12] : Guy CASTELAN, « Polymères biodégradables » ;10 Mai 2010.

[13]: Guilbert. S; Feuilloley. P; Bewa. H and Bellon-Maurel. B, « In Biodegradable polymers in agricultural applications ». « In Biodegradable polymers for industrial applications ». Edited by Ray Smith, Woodhedpublishinglimited. Cambridge England; 2005.

[14] : Lapointe. R, Essais « Bioplastiques biodégradables, composables et biosourcés pour les emballages alimentaires, distinctions subtiles mais Significatives »; septembre 2012.

[15]: BOUDERGA .M , Adsorption du vert malachite par des composite « alginate/bentonite » mémoire de master. Tlemcen : Université Abou BekrBelkaid; 2015.

[16]: Goujon. I, « les alginates, excipients d'origine marine utilisés dans l'industrie pharmaceutique: application a la synthèse d'un gel chimique », Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré; 2004.

[17]: Agarwa. A ; Abbott. N, « Polymeric materials for chronic wound and burn dressings ». In : Farrar D. Advanced Wound Repair Therapies. Woodhead Publishing; p. 186-208, 2011.

[18]: Kuen. YL; Mooneye. DJ, « Alginate: Properties and biomedical applications ». Progress in Polymer Science 106– 126, 2007.

[19]: Rinaudo. M, « Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials ».Centre de recherches sur les MacromoléculesVégétales (CNRS), affiliated with Joseph Fourier University; 2008.

[20]: Vincent. E, « Les alginates et leurs applications en pharmacie et en ingénierie, application à la construction d'un biomatériau », Thèse de doctorat, Unversité HENRI POINCARE - NANCY 1; 2010.

[21]: Kouassi. M, « Polysaccharides fonctionnalisés par des composés d'origine naturelle aux propriétés antioxydantes et antibactériennes », Chimie organique, Normandie Université; 2017.

[22]: Benkeblia. N, « Ganoderma lucidum Polysaccharides and Terpenoids », Profile and Health Benefits ; 2015.

[23]: Shelke. N; JAMES. R; LAURENCIN. C; KUMBAR. S, « Polysaccharide Biomaterials for Drug Delivery and Regenerative Engineering ». Polym. Adv. Technol; 2014.

[24]: Jaspreet. K; Bhatia. B; Singh. K and Susheel. K , "Polysaccharide Hydrogels: Synthesis,Characterization, and Applications", Publisher: Springer Berlin Heidelbe; 2013.

[25]: BOUREMEL.CH, « Elaboration et caractérisation d'un composite à base d'Amidon/ Charge naturelle ». Université Mohamed Khider de Biskra; 2019/2020.

[26]: Henri. JL ; Irène. M, « Amidon Alimentaire et nutrition humaine », Paris : esf éditeur France ; 1992.

[27]: ABID.S, « Elaboration et caractérisation de réseaux thermosensibles et d'hydrogels biosourcés via la réaction de DIELS-ALDER », pour obtenir le garde de docteur de l'université de SFAX et de l'université jean monnet saint-etienne, université de sfax; le 13 juillet 2018.

[28]: Hoare.T ; Cranston.E.D , « Propriétés des hydrogels", de france, 29, 4609-4631; 2017.

[29]: Omidian. H; Park. K, "Introduction to hydrogels", în R.M. Ottenbrite, K. Park, T. Okano. Biomedical applications of hydrogels Handbook, Springer Science+Business Media, New York, USA, ISBN 978-1-4419-5918-8, 1–15; 2010.

[30]: Smetana.K, "Biomaterials", 14, 1046-1050; 1993.

[31]: Phull.M; Eydmann.T; Roxburgh.J; Lawrence.W.D; Phillips.G; Martin. Y, « porosité des hydrogels », Med, 24, 461-467 ; 2013.

[32]: Bhattarai. N; Gunn . J et Zhang. M, « Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery, Advanced Drug Delivery Reviews", 62; 2010.

[33]: Gupta. A; Kowalczuk. M; Heaselgrave. W; Britland. S; T, "The production and application of hydrogels for WoundManagement: A Review". EuropeanPolymer Journal; 2018.

[34]: Ibezim E.C; Andrade C.T; Marcia C; Barretto B; Odimegwu D.C, "Ionically Crosslinked Chitosan/Tripolyphosphate Microparticles for the Controlled Delivery of Pyrimethamine, an Antiprotozoal", Journal of Medicine and Biomedical Sciences; 2011.

[35] : Rosa. R; Slaughter.V; Khurshid.S; Fisher.Z ; Khademhosseini. A," Hydrogels in Regenerative Medicine", Adv. Mater; 2009.

[36]: Shailesh Kumar. S; Archana. D and Divya. J, « Hydrogen: Preparation, Characterization and Applications », The Pharma Innovation Journal; 2017.

[37]: Tuncaboylu.C; Sari. M; Oppermann.W et Okay. O, "Tough and self-healing hydrogels formed via hydrophobic interactions", Macromolecules; 2011.

[38]: Lin.C; Metters. A," Hydrogels in controlled release formulations": network design and mathematical modeling, Advanced Drug deliveryreviews ; 2006.

[39]: Honore.T, « Valorisation des polysaccharides marins: élaboration de nanocomposites et synthèse de graphène dopé », Chimie organique, Normandie Université ; 2017.

[40]: Abdeldaim . A; Boukhedimi. A, « Mise en place d'un hydrogel thermosensible pour la libération prolongée d'un principe actif », Faculté des Sciences et de la Technologie, Département de Génie des Procédés et Environnement ; 2016.

[41]: Temenoff J.S and Micos.A.G, "Injectable biodegradablematerials for orthopedic tissue energineering. Biomaterials", 21, 02405-2412; 2000.

[42]: Morales M.E; Gallardo.V; Clares.B; Garcia.M.B, and Ruiz. M.A "Study and description of hydrogels and organogels as vehicles for cosmetic active ingredients", Journal of cosmetic science; 2009.

[43]: Boubekri.C , Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques. Thèse de doctorat, Université de Biskra,Alger ,2014.

[44]: Zeng.S; Zhang.J; Zu.G; Huang.J, Transparent, flexible, and multifunctional starch-based double-network hydrogels as high-performance wearable electronics, Carbohyd Polym 267 (2021).

[45]: Zhu.B.D; Ma D.Z; Wang.J; Zhang J.W; Zhang.S, Multi-responsive hydrogel based on lotus root starch, Int. J. Biol. Macromol. 89 (2016) 599–604.

[46]: Zhang.Y; Chen.Y; Alfred.M; Huang.F; Liao.S; Chen.D; Li.D; Wei.Q; Alkaline sodium polyacrylate-starch hydrogels with tolerance to cold conditions for stretchable zinc-air batteries, Compos Part B-Eng 224 (2021).

[47]: Sehil.H ; Bengharez.Z, D. Le Cerf. Hydrogels based carboxymethylpullulan: preparation and investigation on the rheological and swelling behavior. Biointerface Research in Applied Chemistry, 2016.