République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique

Université Yahia Farés De Médéa

Faculté Des Sciences Et De La Technologie

Département De Génie Des Procédés Et De L'environnement

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master en **génie des procédés**

Option : **procédés pharmaceutiques**

Fonctionnalisation des biopolymères en vue d'élargir leurs spectres d'action. Synthèse et caractérisation physico-chimique

Présentée par

Ben khelifa Nassima

Becherair Zakia

Proposée et dirigée par

Dr. Zouambia Yamina

Dr. Gasmi Sarah

Juin 2016

ملخص

كرس هذا العمل للتغيير الكيميائي لبكتين عالية المثيلية بطريقة الاميدية. مختلف البكتيناتالاميدية جزئيا تم تحضيرها بتغيرات كيميائية لبكتين التفاح بواسطة اثنين من الأمينات الأولية و الأمونيا. تمت التفاعلات الأميدية في وسطين: أحادي الطور و ثنائي الطور بوجود محلولين الميثانول و ديمثيلفورماميد. و قد تمت متابعة تفاعلات الأميدية بواسطة أطياف الأشعة تحت الحمراء. أظهرت النتائج المتحصل عليها أن عملية الاميدية في وسط أحادي الطور أفضل من المحضرة في وسط ثنائي الطور. قياسات التوتر السطحي أظهرت أن البكتيناتالأميدية تمتاز بخصائص سطحية مع حد أدنى للتوتر السطحي سجل للبكتين الأميدية في وسط أحادي الطور يقدر ب: 33.9ملن/م. استعمال هذه البكتيناتالاميدية في تحضير مستحلبات من النوع زيت في ماء سمحت بالحصول على خصائص استحلاب و استقرار عالية مقارنة مع البكتينات العادية.

كلمات مفاتيح: بكتين, أميدية, خصائص, التوتر السطحي, خصائص الاستحلاب

Résumé

Ce présent travail est consacré à la fonctionnalisation d'une pectine hautement méthylée par amidation. Différentes pectines partiellement amidées ont été préparées par modification chimique de la pectine de pomme par deux amines primaires et par l'ammoniaque. Les réactions d'amidation ont été réalisées en deux milieux: monophasique et biphasique en présence de deux solvants à savoir le méthanol et le diméthylformamide (DMF). Le suivi des réactions d'amidation a été réalisé par FTIR. Les résultats obtenus ont montrés que l'amidation dans un milieu monophasique est meilleure comparée à celle réalisée dans un milieu biphasique. Les mesures de la tension de surface ont montré que les pectines amidées sont dotées des propriétés tensioactives avec une tension de surface minimale, enregistrée pour la pectine amidée dans un milieu monophasique, de l'ordre de 33.9 mN/m. Ainsi l'utilisation de ces pectines amidées dans la formulation des émulsions de type huile dans eau a permis d'obtenir des propriétés d'émulsifications et des stabilités supérieures à celles enregistrées pour les pectines non modifiées.

Mots Clés: pectine, amidation, caractérisation, tension de surface, propriétés émulsifiantes.

Abstract

The present work is devoted to the functionalization of a highly methylated pectin amidation. Various partially amidated pectins were prepared by chemical modification of apple pectin two by primary amines and by ammonia.The amidation reactions were performed in two environments: monophasic and biphasic in the presence of two solvents namely methanol and dimethylformamide (DMF).Monitoring amidation reactions was performed by FTIR.The results obtained have shown that the amidation in a monophasic medium is better compared with that carried out in a biphasic medium.Measurements of surface tension showed that the amidated pectins surfactant properties with minimal surface tension, recorded for pectins the amidated in a single-phase medium, of the order of 33.9 mN/m.Thus the use of these amidated pectins in formulating oil-in-water emulsions formulations allowed to obtain higher emulsifications properties and higher stability than those recorded for the unmodified pectins.

Keywords: pectin, amidation, characterization, surface tension, emulsifying properties.

.

Remerciement

Dieu merci pour nous avoir donné la volonté, la santé et le courage sans lesquels ce travail n'aurait pas été réalisé

Une chaleur remerciement aux très chers parents pour leur soutient et leur encouragement tout au long de nos études mille merci

Nous remerciements de façon particulière Dr Zouambia.Y qui n'a cessé à nous encourager et de nous conseiller tout au long de la préparation de ce mémoire

Sans oublier tous les autres professeurs qui nous ont inculqués le savoir durant toutes ces années

Nous exprimons nos remerciements à toutes personnes ayant contribué de pré ou de loin à la réalisation travail

Espérant à la fin que notre travail va satisfaire les membres jury tout en acceptant leur évaluation qui nous fait plaisir

Dédicaces

JE dédie ce travail

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifie pour me voir réussir

Que dieu te garde dans son vaste paradis,

A mon père que je n'oubliée jamais

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur

Maman que j'adore

Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour,

Mes frères: Abd Elraouf et Mohamed

Mes sœurs: Amira, Houria, Lamia, Samira

A ma nièce silya

A ma promotrice Zouambia.Y

Mes amis: Ahlem, Amina, Amira, Massika, Fati, Khadidja, Samia, Sarah, Souhila, Wissam, Hafedh ,Aissa ,Ismail Amel, Yousra

A mon binôme Zakia

A toute la famille sur tout Ben Khelifa

A tous mes compagnons de promotion

NASSIMA

Dédicase

Merci Allah (mon dieu) de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire

**Ya 9ayoum **

Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma mère …

A mon père, école de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années des études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger.

Que dieu les gardes et les protège.

A mon adorable sœur douaa

A mon unique frère Fouad

A mon promotrice zouambia

Pour toutes mes chères copines: Amel, Nassima, Ahlem, Amina, Amira 1,2, Souhila ,takia, nourah, mira

A mes cousines : Soumia ,Meriem , Imene , kaouther, nachowa , chaima .

A mon binome et soeure Nassima et toute sa famille

A tous ceux qui m'aiment.et qui ont cru en moi !

A tous ceux que j'aime.

A toute la famille sur tout Becherair

A tous mes compagnons de promotion

dédie ce travail.

Zakia

Sommaire

Introduction générale **01**

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. Définition des polymères **03**

I.2.2.Types de biopolymères **04**

I.2.2.1. Biopolymères issus de la pétrochimie **04**

I.2.2.2. Biopolymères issus de ressources renouvelables **04**

I.2.3.Propriété des biopolymères **05**

I.2.3.1.Biodégradabilité des biopolymères **05**

I.2.3.2.Perméabilité à la vapeur d'eau des biopolymères **06**

I.2.3.3.Biocompatibilité et biorésorbabilité **06**

I.2.3.4.Propriétés chimiques **07**

I.2.4.Applications des biopolymères **07**

I.2.4.1.En médecine et pharmacie **07**

I.2.4.2.En agriculture **07**

I.2.4.3.En emballage **08**

I.3.Polysaccharides **08**

I.3.1. Définition **08**

I.3.2. Types des polysaccharides **09**

I.3.2.1. Polysaccharides de réserve **09**

I.3.2.2. Polysaccharides pariétaux **09**

I.4. Substances pectiques **10**

I.4.1. Définition des pectines **10**

I.4.2. Structure des pectines **11**

I.4.3. Sources des substances pectiques **12**

I.4.4. Nomenclatures des substances pectiques **13**

I.4.5. Types de pectines **13**

I.4.6. Biosynthèse de la pectine **14**

I.4.7. Propriétés physico-chimiques des substances pectiques **14**

I.4.7.1. Masse moléculaire des pectines **14**

I.4.7.2. Degré de méthylation DM **15**

I.4.7.3. Degré d'acétylation AC **15**

I.4.7.4. Degré d'amidation DA **16**
I.4.7.5. Solubilité **16**
I.4.7.6. Viscosité des pectines en solution **17**
I.4.7.7. Propriétés gélifiantes **17**
I.4.8. Domaines d'applications des substances pectiques **19**
I.5. Modification chimique des pectines **20**
I.6. Fondements de la réaction des polymères **21**
I.7. Grandes classes des réactions sur les polymères **22**
I.8. Modification chimique des polysaccharides **23**
I.9. Fonctionnalisation de la pectine **24**
I.10. Avantages et inconvénients de la modification chimique **26**
I.11. Champs d'application des polysaccharides modifiés **26**

Chapitre II : Etude expérimental

II.1. Introduction **27**
II.2. Produits et matériels utilisés **27**
II.2.1. Produits utilisés **27**
II.2.2. Matériels utilisés **27**
II.3. Caractérisation physicochimique des pectines **28**
II.3.1. Aspect général **28**
II.3.2. Teneur en Humidité **29**
II.3.3. Taux de cendres **29**
II.3.4. Degré d'estérification **29**
II.3.5. Caractérisation par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier **30**
II.4. Modification chimique des pectines **32**
II.4.1. Amidation dans un milieu hétérogène **33**
II.4.1.1. Protocole expérimental d'amidation **33**
II.4.2. Amidation des pectines dans un milieu homogène **37**
II.4.2.1. Introduction **37**
II.4.2.2. Protocole expérimental **37**
II.4.3. Caractérisation physico-chimique des pectines modifiées **39**
II.4.3.1. Caractérisation par la spectroscopie FTIR **39**
II.4.3.2. Degré d'estérification DE **42**
II.4.3.3. Test de solubilité **42**

II.4.3.4. Mesure de la tension de surface **42**
II.5. Propriétés émulsifiantes des pectines amidées **45**
II.5.1.Pouvoir émulsifiant **45**
II.5.2. Stabilité de l'émulsion **46**
Conclusion général **47**
Références bibliographiques

LISTE DES FIGURES

Chapitre I

Figure I.1. La structure des pectines 11
Figure I.2. Schéma de la structure principale de la pectine 12
Figure I.3. Les constituants des pectines 12
Figure I.4. Résidus d'acide galacturoniquesméthylées et acétylées 15
Figure I.5.Mécanisme de gélification des pectines HM 18
Figure I .6.Mécanisme de gélification des pectines FM 19

Chapitre II

Figure II.1. Pectine de pomme utilisée 28
Figure II.2. Spectre FTIR de la pectine de pomme 32
Figure II.3. Protocole d'amidation de la pectine dans un milieuHétérogène 34
Figure II.4. Protocole d'amidation de la pectine dans un milieu Hétérogène par l'ammoniaque 36
Figure II.5. Protocole d'amidation de la pectine dans un milieu Homogène 38
Figure II.6. Spectre FTIR de PC_8-H 39
Figure II.7. Spectre FTIR de $PC_{18\text{-méthanol}}$ 40
Figure II.8. Spectre FTIR de PC_{18}-H_{DMF} 40
Figure II.9. Spectre FTIR de PC_{18}-$H_{méthanol}$ 41
Figure II.10. Spectre FTIR des pectines amidées 42
Figure II.11. Tensiomètre à arrachement d'anneau 44
Figure II.12. Tension de surface de la pectine de pomme et ses dérivésAmidées 45
Figure II.13. Différentes phases obtenues pour le test du pouvoir émulsifiant 46

LISTE DES TABLEAUX

Chapitre I

Tableau I.1. Grandes classes des biopolymères issus du monde végétal 05
Tableau I.2. Exemples des polysaccharides courants 10
Tableau I.3. Teneur en substances pectiques de quelques végétaux 13

Chapitre II

Tableau II.1. Amidation de la pectine par l'ammoniaque 35
Tableau II.2. Degré d'estérification des pectines amidées 42
Tableau II.3. Test de solubilité des pectines modifiées 43
Tableau II.4. Pouvoir émulsifiant et stabilité d'émulsion 47

Liste Des Abréviations Et Des Symboles

C	Concentration
C’	Concentration critique
°C	Celcuse
CMC	Carboxymethycellulose
DA	Degré d’amidation
Dac	Degré d’acétylation
DM	Degré de méthylation
DMF	Diméthyle Formamide
FM	Faiblement méthylées
FTIR	Spectrophotomètre Infrarouge à Transformée de Fourier
GalA	Acides D-galacturonique
HEC	Hydroxyéthylcellulose
HG	Homogalacturonane
HM	Hautement méthylées
HPC	l’hydroxypropyl cellulose
K et a	la constante de MHS.
KDA	Kilodalto
LMAP	Pectine Faiblement Méthylée Amidée
M	La masse moléculaire
MC	la méthycellulose
MHS	le modèle de Marc-Houwink-Sakurada

pH	Potentiel Hydrogène
PHA	polyhydroxyalcanoates
PHB	polyhydroxybutyrates
PLA	Acide polylactique
RG	rhamnogalacturonanes
Trs	tours
UDP - glucose	glucose-Phosphate Uridylytransferase
η	la viscosité intrinsèque

Introduction générale

Introduction générale

La volarisation de produits agricoles tels que les polysaccharides constitue aujourd'hui un enjeu environnemental et économique majeur. En effet, les polysaccarides sont les principaux constituants des végétaux et sont extraits mondialement à plusieurs millions de tonnes par an. De plus, en raison de leur très grande abondance naturelle, de leur parfaite innocuité ainsi que leur totale biodégradabilité, les polysaccharides s'imposent aujourd'hui comme une nouvelle source de matière première pour le développement de nouveaux procédés industriels respectueux de l'environnement mais également pour l'obtention de nouveaux composés à forte valeur ajoutée. Il a été montré que les polysaccharides pariétaux tels que la cellulose, les pectines ou les hémicelluloses convenablement modifiés pouvaient permettre d'atteindre de telles finalités**.[1]**

La plupart des modifications chimiques effectuées sur les polysaccharides visent à obtenir des dérivés dont les propriétés hydrophiles/hydrophobes sont modulables. Ces propriétés sont mises à profit pour la préparation d'hydrogels associatifs, de particules à propriétés de surface contrôlées ou encore la stabilisation d'émulsion. Ces modifications peuvent également conduire à des variations importantes de la stabilité du polymère, parmi les polysaccharides étudiés nous citons: le Dextrane, l'alginate, la cellulose et la pectine qui fait l'objet de cette présente étude.

C'est dans cette perspective et dans le but de mettre en valeur un biopolymère végétal (pectine) dans l'élaboration d'une nouvelle substance d'origine polysaccharidique ayant des propriétés amphiphiliques, que nous avons réalisé cette étude.

Dans ce travail, nous nous intéressons d'une part à la caractérisation physicochimique d'une pectine de pomme hautement méthylée, et d'autre part à la modification chimique de cette pectine en vue de modifier leurs propriétés hydrophiles afin de leur conférer de nouvelles propriétés. Les produits obtenus ont été soumis à des caractérisations physicochimiques appropriées.

Pour ce faire, nous avons subdivisé notre travail en deux chapitres :

Le premier chapitre sous forme d'une recherche bibliographique a été consacré pour les biopolymères et les polysaccharides d'une part en ce qui concerne leur définition, classification, propriétés …… et d'autre part aux substances pectiques (définition,

classification, caractérisation structurale, propriétés et applications), et enfin les principales méthodes de modification chimique des polysaccharides et les différents travaux ultérieurs effectués dans ce domaine.

Le deuxième chapitre, représente notre étude expérimentale qui regroupe les principaux résultats relatifs d'une part à la caractérisation physicochimique de la pectine, et d'autre part à la modification chimique de cette dernière par amidation et leur valorisation dans la formulation d'une émulsion huile dans eau (H/E).

Nous terminerons enfin ce travail par une conclusion générale.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I.1. Définition des polymères

Les polymères sont parmi les produits chimiques ayant le plus d'applications industrielles. Ce sont des macromolécules obtenues par la combinaison d'un grand nombre de molécules plus petites.

Le mot polymère vient du grec «poly», plusieurs, et de «meros », parties ou unités. Ce terme désigne donc des macromolécules constituées de longe chaine dont les unités de répétions peuvent être identiques (homopolymères) ou différentes (copolymères) [1]. Le monomère est le nom donné à la petite molécule à partir de laquelle est formée la macromolécule. La réaction est une polymérisation [2]. Les monomères sont composées d'un petit nombre d'atomes légers, parmi lesquels, on trouve toujours le carbone et l'hydrogène, souvent l'oxygène et l'azote et parfois le chlorure et certains autre éléments [3,4].

Le nombre moyen de ces unités dans les macromolécules est le degré de polymérisation ; si ce degré est élevé on parle de haut polymère, lorsqu'il est faible, le polymère dit oligomère. Les polymères ont une masse molaire très importante.

Les polymères sont divisés en deux catégories :

- Les polymères d'addition, obtenus par l'enchainement d'un grand nombre de molécule monomère ; si ces molécules sont identiques on obtient un homopolymère, par contre si les monomères sont différentes (en général deux) on obtient un copolymère.
- Les polymères de condensation, obtenus par la condensation d'un grand nombre de molécules, cette réaction s'effectue avec l'élimination d'une petite molécule, en général l'eau [2].

I.2. Biopolymères

I.2.1. Définition

Les biopolymères sont des polymères présents dans des organismes vivants (plantes, algues, animaux) ou synthétisés par ceux-ci **[5]**. Ces polymères sont regroupés en trois familles principales **[6]** :

- ✓ La famille la plus importante est celle des polysaccharides comme l'amidon dont les sources principales sont le maïs, le blé et la pomme de terre, la pectine (fruits, légumes), la cellulose (papier), la lignine (bois) ou le chitosane ; chitine des crustacées **[6]**.
- ✓ Une autres famille est constituée par les protéines qui sont issues des plantes oléagineuses (colza, tournesol, soja), des protéagineux (pois, fèveroles), du son des

céréales (gluten du blé), de tissus animaux (collagène, gélatine) ou de produits animaux (caséine) **[6]**.

- ✓ Enfin, les élastomères hydrocarbonés produits par les plantes (caoutchouc naturel) **[6]**.

I.2.2. Types de biopolymères

Les biopolymères sont soit issu de la pétrochimie, soit totalement dérivés de ressources renouvelables **[5]**.

I.2.2.1. Biopolymères issus de la pétrochimie

Ce sont soit des polymères issus de la pétrochimie associés à un composé naturel (amidon, cellulose,….), soit des polymères biodégradables de synthèse. Dans le cas des premiers on parlera plutôt de dégradabilité, d'autant qu'ils peuvent être considérés comme biodégradables, et c'est le cas notamment des : polyesters aliphatiques, copolyestres aliphatiques, PET modifiés,… **[5]**.

I.2.2.2. Biopolymères issus de ressources renouvelables

Ils sont fabriqués à partir de polymères naturels d'origine agricole, microbienne ou synthétique (mais non tirés de la pétrochimie).

- ➢ Les polymères d'origine agricole sont synthétisés par des organismes vivants : végétaux, animaux et micro-organismes, ils proviennent principalement de : lignine ou cellulose, amidon, chitine **[5]**.
- ➢ Les polymères d'origine microbienne s'accumulent dans le cytoplasme de bactéries en état de fermentation, qui utilisent le sucre ou l'amidon pour produire des polyesters. Ici on distingue principalement : les PHB ou polyhydroxybutyrates, les PHA ou polyhydroxyalcanoates **[5]**.
- ➢ Enfin les polymères synthétiques sont également obtenus par fermentation, mais ici le résultat est un monomère, qu'il faut chauffer pour le transformer en polymère. C'est de l'acide lactique, obtenu à partir de la fermentation de sucre (betterave…..), qui, une fois polymérisé, donne de l'acide polylactique ou PLA **[5]**.

Les différentes classes de polymères issus des plantes sont regroupées dans le Tableau I.1.

Tableau I.1.Grandes classes de biopolymères issus du monde végétal **[2]**

Classe des biopolymères	Matériaux
Polysaccharides (par fermentation bactérienne)	Xanthane, Dextrane, Gellane, Curdlane, Pullulane, Elsinane
Protéines	Zéine, Gluten, Polyacide aminés
Polyphénols	Lignines, Tannins, Acide humiques
Polyesters	Polymères d'acide lactique (PLA) Polyhydroxyalcanoates (PHA)
Polysaccharides (plantes/algues)	Pectine Gommes, Konjac Amidon, Cellulose, Agar, Alginate, Carraghénane
Autres polymère	Polymères synthétisés à partir d'huile (nylon) Polyisoprénes : caoutchouc

I.2.3. Propriétés des biopolymères

Par leur structure chimique, les biopolymères présentent des propriétés particulières et intéressantes pour des applications bien spécifiques dans plusieurs industries (plastique, alimentaire…etc.).La biodégradabilité est la plus importante **[7].**

I.2.3.1. Biodégradabilité des biopolymères

La biodégradabilité de la plupart des biopolymères est due à la présence de la liaison facilement clivable comme les liaisons esters ou amides conduisant à la formation de molécules simples et de fragment de plus petite taille, ces derniers sont assimilables par les microorganismes pour leur biosynthèse en libérant du CO_2 et de H_2O **[7]**.

Le terme « biodégradabilité » suscite beaucoup de discussions. La définition émergeante proposée par de nombreux auteurs de la biodégradabilité se traduit par une dégradation du matériau par les microorganismes comme les bactéries, les champignons et les algues **[7]**. Autrement dit, c'est une dégradation biotique qui met en jeu l'action des microorganismes par exemple par voie enzymatique conduisant à une décomposition au niveau moléculaire et

chimique. Il en résulte alors la formation de CO_2, H_2O en présence d'oxygène (ou la formation de CH_4 , CO_2, H_2O en absence d'oxygène) et une nouvelle biomasse **[7]**.

La dégradation des matériaux par les enzymes peut être le résultat d'un mécanisme radicalaire (oxydation biologique) ou d'un changement chimique (hydrolyse biologique). Dans le cas de l'oxydation biologique, les enzymes réagissent directement avec l'O_2 comme les cytochromoxidases qui sont des enzymes actives dans la chaine respiratoire. La plupart du temps, l'oxygène est incorporé directement au substrat (cas des oxygénases). Parfois, il joue le rôle d'un accepteur d'hydrogène (cas des oxygènes) **[7]**.

I.2.3.2. Perméabilité à la vapeur d'eau des biopolymères

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 fonction polaires hydroxyle et/ou amine qui ont une forte réactivité avec l'eau par formation de ponts hydrogène; ce qui leur confère aussi une propriété antistatique **[7]**.

La perméabilité à la vapeur d'eau pourrait être un inconvénient dans certaine application, notamment pour les emballages alimentaires. Par exemple, les viennoiseries ne peuvent pas se trouver dans un endroit trop humide pour conserver leur fraicheur. Par contre, pour certains types d'emballage, elle est avantageuse. En effet, en évitant la condensation, la durée de conservation des produits frais est allongée. Celle propriété trouve également une application dans les emballages des produits humides leur laissant la possibilité de continuer de les sécher pendant les étapes de stockage et de transport **[7]**.

I.2.3.3. 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, les caractéristiques de l'hôte et la demande fonctionnelle pour le matériau. Les biopolymères par origine naturelle remplissent logiquement cette fonction et les implants médicaux en matériau inerte comme les céramiques ont de plus en plus remplacés par des polymères d'origine naturelle **[7]**.

En plus de la biocompatibilité, la biorésorbabilité d'un matériau et recherchée. Pour une application médicale spécifique des matériaux biorésorbables pouvant se décomposer tout naturellement dans l'organisme humain pour être remplacés après par un tissu vivant. Les

biopolymères sont dégradés naturellement dans l'organisme humain par hydrolyse (enzymatique) et libérant des molécules assimilables et non toxiques **[7]**.

I.2.3.4. Propriétés chimique

La présence des 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 réagit facilement grâce à leur site nucléophile et électrophile. La présence de certaine insaturation et des groupements hydroxyles sur les chaines alkyles des triglycérides permet leur fonctionnalisation et conduit à la formation de polyuréthanes, polyamides ou polyesters. Une autre particularité des biopolymères est l'existence de stéréo-isoméries due à la présence de carbone asymétrique sur certains bio-monomères comme l'acide lactique. Cette propriété influence les propriétés physiques des polymères **[7]**.

I.2.4. Applications des biopolymères

Trois grands créneaux d'application sont identifiés par rapport aux propriétés des biopolymères:

- La médecine,
- L'agriculture,
- Les emballages.

I.2.4.1. En médecine et pharmacie

Les premières applications des biopolymères sont médicales d'autant plus que leurs couts 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 **[7]**.

I.2.4.2. En agriculture

En agriculture, la propriété de biodégradabilité des biopolymères est essentielle dans les applications. Dans ce domaine, les films de paillage à base de biopolymères s'imposent progressivement en remplacent aux paillis en polymères conventionnels. 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 plastique 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. Des gains économiques et environnementaux évidents sont obtenus. Par ailleurs, leur biodégradation rapide évite l'incinération habituelle des films de paillage conventionnels, productrice d'éléments toxiques dans l'environnement et le cout de main-d'œuvre **[7]**.

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 **[7]**.

I.2.4.3. 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. 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 **[7]**.

Outre leur biodégradabilité, les biopolymères présentent d'autres propriétés intéressantes pour les applications dans le domaine de l'emballage. À part leur fonction première de protection des produits, les biopolymères offrent aux emballages d'autres fonctions grâce à leurs propriétés intrinsèques. On peut citer, par exemple, leur perméabilité à la vapeur d'eau intéressante pour emballer les produits frais comme les fruits et les légumes **[7]**.

I.3. Polysaccharides

I.3.1.Définition

Les glucides (hydrate de carbone), de formules CnH2nOn, agent biochimique d'importance fondamentales, sont extrêmement répondus dans la nature vivante. Le nom d'hydrates de carbone date de l'époque où l'on ignorait encore la structure de ces composés, tandis que leur composition réponde à la formule générale $Cn(H_2O)$ n **[8]**, et sont scindés en trois sous-ensembles **[9]**.

- ***Les oses (ou monosaccharides)*** : ce sont des polyalcools de 4 à 8 atomes de carbones, composés réducteurs, non hydrolysables, ils comportent une fonction cétone tels que les pentoses (xyloses, ribose) ou les hexoses (glucose, mannose).
- ***Les osides (ou oligosaccharides)*** : ce sont des enchainements de 2 à 10 oses. Ces oses sont sous forme cyclique, relies par des liaisons glycosidiques, c'est-à-dire des liaisons éthérés entre deux carbone de deux cycle successifs (lactose, mannose, saccharose), ils donnent par hydrolyse un ou plusieurs oses.
- ***Les polysaccharides*** : ce sont des osides de haut poids moléculaire, relies en longue chaines linéaires ou ramifies, structurés en arrangement spatiaux particulaires (hélice, ruban) tels que la cellulose, l'amidon ou le glycogène. On distingue **[10]** :
    - Les polysaccharides homogènes ou les homos polysaccharides résultant de la condensation d'un grand nombre d'un même ose.
    - Les polysaccharides hétérogènes ou les hétéros polysaccharides, qui résultent de la condensation de divers types d'oses (jusqu'à cinq à six types d'oses différents).

I.3.2. Types des polysaccharides

Les polysaccharides ou glucanes sont des polymères de glucides qui résultent du mécanisme photosynthétique. Il en existe deux familles **[11]**:

1-Les polysaccharides de réserve ;

2-Les polysaccharides pariétaux.

I.3.2.1. Polysaccharides de réserve

La source d'énergie pour les êtres vivants est les glucoses. Principalement, on aura l'amidon chez les végétaux et le glycogène chez les animaux. Les polysaccharides de formules $(C_6H_{10}O_5)$ n comme l'amidon, la cellulose et l'inuline ont des substances de réserves exclusivement végétales.

On rencontre l'amidon dans les tuberculoses (pomme de terre, manioc) dans les céréales, la cellulose dans les légumes, les herbes et l'inuline dans les bulbes (d'ail, d'oignon, etc.…) et les racines de radis, de dahlia etc. **[12]**.

I.3.2.2. Polysaccharides pariétaux

Ces carbohydrates participent à la formation des structures organiques, comme la cellulose qui participe à la structure des tissus de soutien chez les végétaux. En fait, la moitié de tout le carbone organique de la biosphère est contenue dans la cellulose, ce qui en fait la molécule organique connue la plus abondante. Le bois est formé d'environ 50% de cellulose et les fibres de coton sont de la cellulose presque pure. Certains polysaccharides entrent dans la composition de la capsule entourant certaines bactéries **[12]**.

Le tableau I.2 donne des exemples des polysaccharides courants.

Tableau .I.2. Exemples des polysaccharides courants **[13]**

Sources	**Polysaccharides**
Animale	**Glycosaminoglycane :** ✓ Chitine ✓ Hyaluronate ✓ Chondroitine
Bactérienne	✓ Curdlane ✓ Gellane ✓ Pullulane ✓ Xanthane
Végétale	✓ Amidon ✓ Pectine ✓ Oligosaccharides ✓ Cellulose
Algale	✓ Agar ✓ Carraghénane ✓ Ulvane ✓ Alginates

Dans cette présente étude, on s'intéresse principalement à un biopolymère d'origine végétale qui est la pectine.

I.4. Substances pectiques

I.4.1. Définition des pectines

Les pectines sont des polyosides complexes entrant dans la composition des parois cellulaires de la plupart des végétaux supérieurs. Elles sont majoritairement présentes dans la lamelle moyenne et la paroi primaire. Elles participent à la cellule et au maintien des parois par le biais d'interactions mécaniques et chimiques avec les autres constituants de la paroi comme le montre la figure I.1 **[14]**.

La quantité de substance pectique dans le végétal varie fortement en fonction de son origine botanique et de son historique (mode de culture, période de croissance ….) **[15]**. La structure des pectines est influencée par des réactions enzymatiques et des modifications chimiques pendant la croissance, la maturation et le stockage des fruits et des légumes **[16]**.

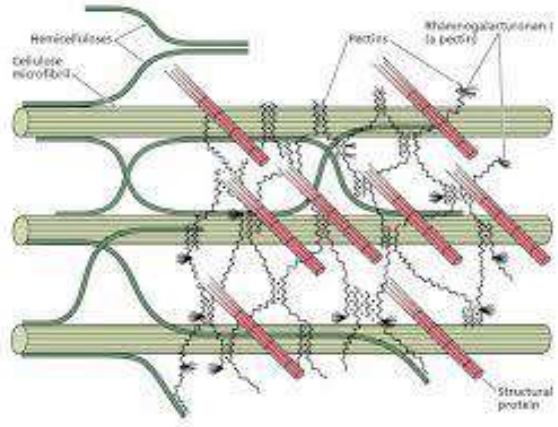


Figure I.1. Localisation de la pectine

I.4.2. Structure des pectines

La pectine est un hétéro polysaccharide complexe avec une composition variable selon l'origine de la matière première et les méthodes d'extraction, de ce fait elle ne peut pas être caractérisée en termes de structure et conformation globales spécifiques. Il est cependant, possible d'identifier les éléments structuraux distinctifs contenus dans toute la substance Pectique.

Les pectines ont pour structure de base un enchainement linéaire d'unités acide D-galacturonique (ou Homogalacturonane (**HG)** reliées entre elles par des liaisons glycosidiques α (1-4), plus ou moins estérifiés (méthyles) et/ou partiellement acétylés en **O**-2 ou **O**-3 (figure I.2). La chaine principale peut être interrompue par des enchainements alternés de résidus rhamnose et acide D-galacturonique rhamnogalacturonanes (**RG**).Ces derniers

enchainements peuvent être ramifiés par des chaines latérales riches en unités arabinose et galactose (arabinanes, galactanes et arabinogalactanes) (voir figure I.3) **[2]**.

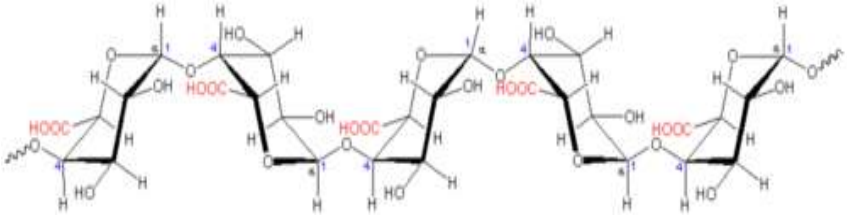


Figure I.2 : Schéma de la structure principale de la pectine **[17]**

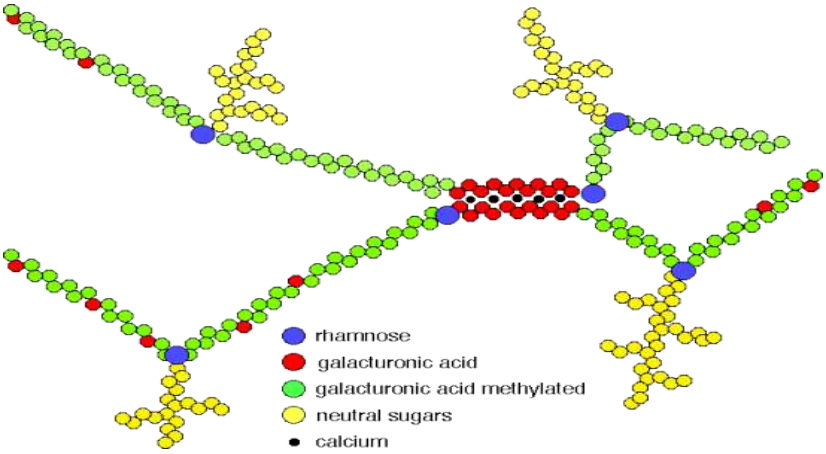


Figure I.3 : Constituants des pectines **[17]**

I.4.3. Sources des substances pectiques

Les substances pectiques sont des polymères de l'acide galacturonique avec des groupements carbonyles plus ou moins estérifiés par des radicaux méthyles. La pectine est continue naturellement dans l'endocarpe des fruits sous formes de protopectines qui sont libérées sous forme de pectines lors de la cuisson. La teneur en pectines des fruits est variable en fonction de la nature de fruits et de leur maturité **[15]**.

Les marcs de pomme (teneur en pectines 15-20%) et les écorces des agrumes (30-35%) constituent les principales sources des pectines industrielles. Le Tableau.3 donne la teneur en substances pectiques de quelques végétaux.

Tableau I.3. Teneur en substances pectiques de quelques végétaux

Origine	Teneur en pectines (% de la matière sèche)
Pomme	4,5
Carotte	10
Raifort	15
Tomate	3
Marc de pomme	15-20
Capitules de tournesol	25
Marc de betterave	15-20
Albédo des agrumes	30-35

I.4.4. Nomenclatures des substances pectiques

Les substances pectiques sont un groupe de polysaccharides colloïdaux et complexes de l'acide galacturonique **[18]**. Dans la paroi cellulaire on distingue de nombreuses natures chimiques de ces substances :

- **Les protopectines :** qui sont des pectines insolubles dans l'eau.
- **Les acides pectiniques** (pectines) : ce sont des acides polygalacturoniques partiellement ou entièrement estérifiés.
- **Les pectinates :** ce sont des sels d'acide pectinique (pectines).
- **Les acides pectiques :** qui sont essentiellement des acides polygalacturoniques non estérifiés.
- **Les pectates :** ce sont les sels d'acide pectique.

I.4.5. Types de pectines

Les pectines sont divisées en référence à leur degré de méthylation en deux catégories **[19]** :

A. **Pectines hautement méthylées ou HM (High Methoxyl)** : ce sont les pectines dont plus de 50% des groupements carboxyles sont estérifiés avec le méthanol.
B. **Les pectines faiblement méthylées ou LM (Low Methoxyl),** ce sont les pectines dont moins de 50% de groupements carboxyles sont estérifiés.

Chez certaines pectines LM, les fonctions acides sont neutralisées par de l'ammoniac (NH_3) et forment une fonction amide. Ce sont les pectines amidées ou pectines LMA (low Methylated Amidated pectins).

I.4.6. Biosynthèse de la pectine

La biosynthèse des polysaccharides non cellulosiques aurait lieu dans l'appareil de golgi. Deux types d'enzymes sont exigés pour la synthèse des polysaccharides de la paroi cellulaire. Le premier type catalyse la production des résidus glycosyliques énergétiquement activés pour la synthèse de polysaccharides, alors que la seconde transfère les résidus glycosyliques à partir des donateurs activés sur une chaine croissante de polysaccharides.

Les connaissances actuelles de la biosynthèse de polysaccharides pectique sont plutôt limitées. Il y au moins 46 glycosyltransferases exigées pour la synthèse de la pectine, basée sur l'enzyme la structure de la pectine. Apres les étapes de la biosynthèse, les polysaccharides sont transportés vers la membrane cellulaire dans des vésicules **[20]**.

On dispose cependant de quelques éléments de réponses concernant la synthèse de l'acide polygalacturonique et l'introduction des groupes méthyles dans cet acide. La biosynthèse s'effectue selon deux voies **[20]**.

- ✓ La première part du bornesitol aboutit à la pectine, mais cette voie n'explique pas l'inclusion du rhamnose dans la chaine pectique.
- ✓ La deuxième voie consiste essentiellement en une suite de deux réactions nucléotidiques à partir de L'UDP-glycose, cette hypothèse explique la présence du rhamnose dans la chaine principale et l'existence de chaine latérale de sucre neutre (arabanes, galactanes). En revanche elle n'explique pas la méthylation des groupes acides.

I.4.7. Propriétés physico-chimiques des substances pectiques

Les substances pectiques regroupent un ensemble complexe de polysaccharides caractérisées par une forte teneur en acide polygalacturonique. Ces substances jouent un rôle important dans les propriétés physico-chimiques de la paroi cellulaire.

I.4.7.1. Masse moléculaire des pectines

La détermination de la masse moléculaire des pectines est à l'heure actuelle, un défi à cause des problèmes hétérogénéité **[21, 22].**La masse moléculaire (M) est calculée en fonction de la viscosité intrinsèque [η], d'après le modèle de Marc-Houwink-Sakurada(MHS)

$$[\eta]=K.\ M^{a} \qquad (I.1)$$

K et **a** sont les constantes de MHS.

Il existe d'autres techniques pour la détermination de la masse moléculaire moyenne en poids et en nombre, en utilisant des méthodes de chromatographie (par perméation de gel) ou par le détecteur de diffusion de lumière (laser light scattering detector) **[23].**La masse moléculaire de la pectine commerciale varie entre 50,000 et 150,000daltons**[24]**.

I.4.7.2. Degré de méthylation DM

Les acides D-galacturonique (GalA) liés par des liaisons α (1-4) peuvent être estérifiés par le méthanol sur le groupe carboxylique (C6) (Figure I.4) **[24, 25]**. Le degré de méthylation(DM) est définit comme le pourcentage des groupes carboxyliques estérifiés avec du méthanol **[26, 27]**. Le DM peut atteindre des valeurs allant souvent jusqu'à 70-80%.

I.4.7.3. Degré d'acétylation DE

Les acides D-galacturonique (GalA) liés par des liaisons α (1-4) peuvent être acétylés les positions C2 et/ou C3 (Figure I.4).Le degré d'acétylation (Dac) est définit comme le pourcentage des résidus de GalA estérifiés par un groupe d'acétyle **[26, 27]**.

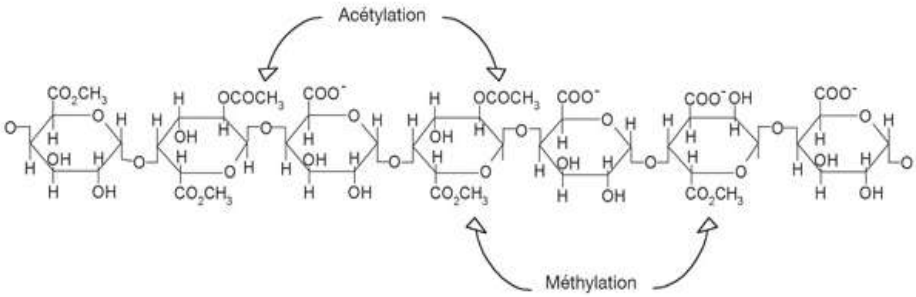


Figure I.4. Résidus d'acide galacturoniques méthylées et acétylés

Il faut noter qu'il n'y a aucune explication claire au sujet de l'origine des propriétés émulsifiantes des pectines. Suite à la présomption qu'un contenu élevé d'acétyles pourrait augmenter l'hydrophobicité de la pectine, des études de la capacité d'émulsification de la pectine de betterave sucrière par rapport à sa structure chimique, ont conclu qu'il n'y avait

aucune évidence pour un rapport entre la composition chimique et les capacités d'émulsification. Néanmoins, les capacités d'émulsification de la pectine de betterave peuvent être expliquées par la présence des groupes acétyles (4-5%).

De nouvelles études sur les propriétés d'émulsification des pectines de citron ont monté que la pectine de citron de faible teneur en degré d'acétylation, peut avoir une capacité d'émulsification intéressante. La pectine de faible poids moléculaire d'environ 60-70 kg/mole et un degré de méthylation élevé présente les meilleures propriétés d'émulsification **[27]**.

I.4.7.4. Degré d'amidation DA

Ce paramètre concerne surtout la pectine faiblement méthylée amide(LMAP). Le degré d'amidation (DA) est le pourcentage de groupes carboxyliques sous la forme d'amide. Un DA autour de 17%, permet à ce type de pectine de tolérer plus de variation de contenu de calcium et de degré plus élevé de thermo réversibilité **[**28**]**. Les pectines faiblement méthylées amidées sont obtenues par amidation et estérification partielle des pectines hautement méthylées (HM) dans un système hétérogène en présence d'ammoniaque et d'alcool ou dans un système homogène en présence d'ammoniaque aqueuse concentrée [29]. Il n'est pas permit d'avoir plus de 25% de l'ensemble des groupements carboxyliques sous la forme amide pour la pectine amidée destinée aux produits alimentaire **[30]**.

I.4.7.5. Solubilité

Les pectines se comportent comme des poly électrolytes grâce à la présence de groupements carboxyliques dans leur squelette. La solubilité des pectines dans l'eau est donc liée à l'état d'ionisation des groupes carboxyles mais aussi au degré de polymérisation et à leur distribution. En effet, l'ionisation des fonctions carboxyliques permet l'individualisation des chaines grâce aux répulsions électrostatiques entre les charges et donc la solubilisation des polymères. Bien que le pH, la température, la nature et la concentration des pectines aient un rôle important sur la solubilité, celle-ci peut être augmentée en empêchant les associations moléculaires (présence de substituant, augmentation du DM) ou en augmentant la force ionique (écrantage des charges). Dans un milieu aqueux, il se produit d'abord un gonflement des chaines, puis celles-ci s'individualisent et la solubilisation proprement dite a lieu. Ce processus se traduit par une augmentation de la viscosité du milieu **[14]**.

La solubilité de la pectine sera donc conditionnée par un certain nombre de facteurs liés essentiellement à leurs structures et notamment : leur masse moléculaire, l'importance de leur taux de ramification, la valeur de leur degré de méthylestérification ainsi que la répartition des

groupements méthylestér le long de la chaine pectique. Ainsi il est admis qu'une pectine sera d'autant plus soluble que sa masse moléculaire est faible, que sa structure est fortement ramifiée et que ces fonctions carboxyliques sont engagées dans une estérification avec le méthanol le pka intrinsèque des GalA est de l'ordre de 3. Ainsi lorsque le pH des solutions est >3, les pectines sont sous forme ionique **[31]**.

Les substances pectiques sont insolubles dans les solvants organiques. Elles peuvent être aisément précipitées en présence de solvant organique (éthanol, acétone …) de détergents quaternaire, des cations mono- et multivalents (Na+..) et de polymères basiques (protéine et polyamide) **[31]**.

I.4.7.6. Viscosité des pectines en solution

Les solutions des pectines ont des viscosités relativement faibles comparées à d'autres hydrocolloïdes végétaux, et dans l'eau, les substances pectiques forment des solutions visqueuses, la mesure de la viscosité est utile pour étudier leur dégradation ou pour évaluer leur masse moléculaire. La viscosité des substances pectiques est une fonction de leur concentration et de leur masse moléculaire mais le caractère de polyélectrolytique des pectines leur confère un comportement particulier: la viscosité dépend aussi du DM, de la présence d'électrolytes et du pH **[32]**.

Dans les solutions diluées, ou les interactions entre les molécules de pectine sont négligeables, la viscosité augmente avec l'augmentation de la dissolution des groupes carboxylique, et atteint un plateau quand presque la dissolution complète est obtenue. Ce phénomène peut être interprété par l'augmentation de volume hydro dynamique de la molécule provoqué par la répulsion entre les groupes carboxylique chargés adjacents. La valeur de pka de la pectine est approximativement 3.3, est l'augmentation observés de la viscosité correspond à un changement de pH de 2 à approximativement 5 **[33]**.

I.4.7.7. Propriétés gélifiantes

Les substances pectiques peuvent former des gels qui sont des réseaux macromoléculaires tridimensionnels. Les substances pectiques hautement méthylées(HM) et faiblement méthylées (FM) donnent des gels dans des conditions différentes :

- **Gels de pectine hautement méthylées**

  Ces pectines (DE=60-75%) forment des gels non thermoréversibles à texture courte et cohérente, dans des milieux dont l'extrait sec est supérieur à 60% et le pH compris entre 2.5 et 4. L'addition de sucre permet une diminution de l'hydratation par fixation

de l'eau, quant à la baisse du pH, elle a pour rôle un déplacement de l'équilibre de dissociation de la fonction acide et donc une diminution de la charge (diminution de la répulsion entre les groupes). La figure I.5 montre les deux types d'interactions prédominantes dans le mécanisme de gélification des pectines HM **[31]**.

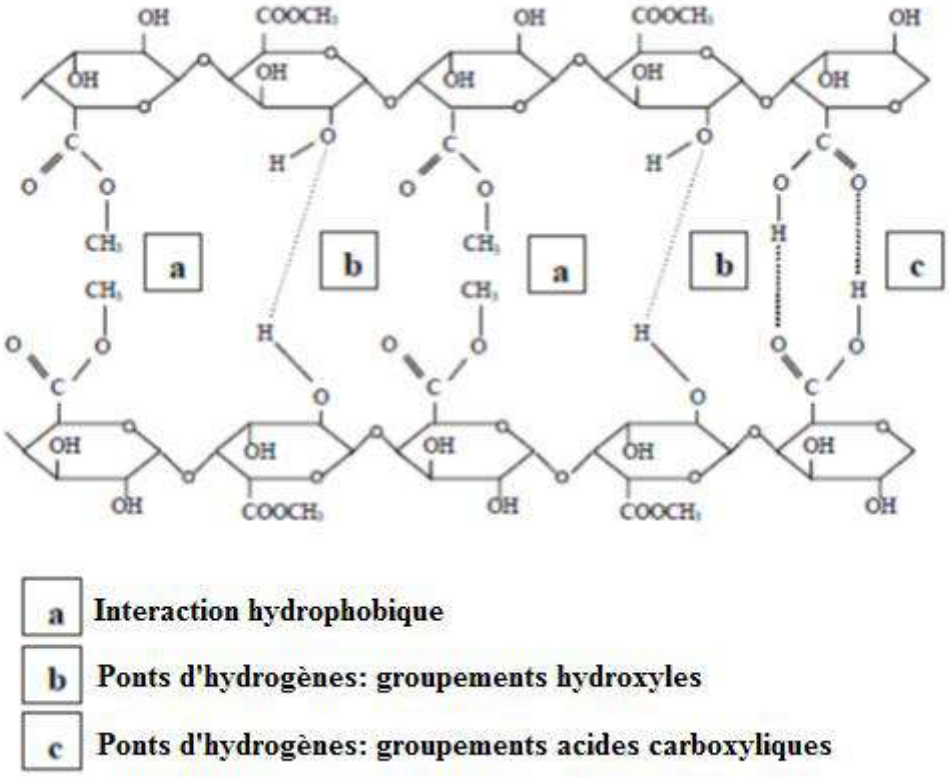


Figure I.5 : Mécanisme de gélification des pectines HM

- **Gels de pectine faiblement méthylées**

Les pectines faiblement méthylées), forment des gels thermoréversibles par interaction avec le calcium présent dans le milieu, le pH et la teneur en sucre sont des facteurs secondaires influençant la vitesse et la température de gélification, l'ion de calcium prendrait part à neuf liaison de coordinence avec deux oxygène des liaisons glycosidiques, deux oxygènes des cycles, deux fonctions acides et trois fonctions alcools formant ainsi le modèle de la boite à œuf(Figure I.6) **[31]**.

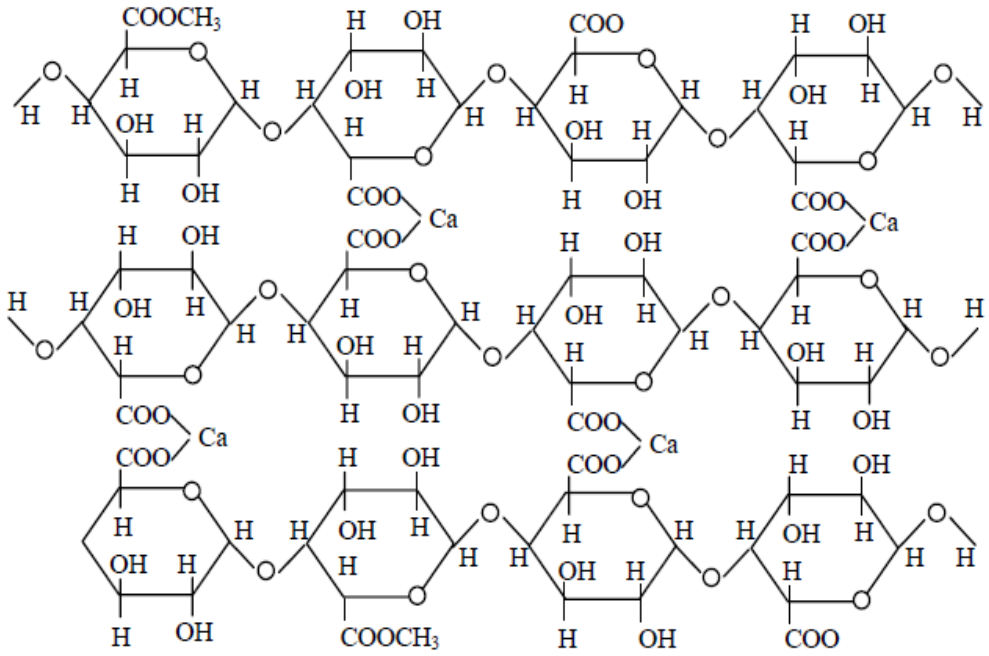


Figure I.6 : Mécanisme de gélification des pectines FM

I.4.8. Domaines d'applications des substances pectiques

La pectine est largement utilisée entant qu'agent gélifiant, épaississant, et stabilisant dans l'industrie alimentaire principalement pour les produits à base de fruits. Dans plusieurs applications les pectines de pomme sont caractérisées par les propriétés de gélification supérieures par rapport aux pectines d'agrumes **[2]**.

A/Industrie alimentaire: La pectine a la propriété de former un gel avec du sucre. Pour cette raison, la pectine est employée, en combinaison avec le sucre, comme agent d'épaississement ; dans l'industrie alimentaire **[34]**. Les différentes utilisations des pectines en industrie alimentaire peuvent être résumées comme suit **[20]** :

- Préparation des confitures et des gelées ; la pectine est ajoutée aux confitures pour compenser les variations de la teneur en pectine de fruits. La pectine est incorporée dans la confiture pour améliore sa consistance.
- Confiture pour yaourt et produits laitiers divers.
- En confiserie dans les pâtes à fruits et confiseries gélifiées.
- Produits pour fourrage et décor (biscuiterie et pâtisserie).
- Produits pauvres en matière sucré (laits gélifiés, sauces de nappage ou de décors aux fruits pour crèmes glacés..).

Les pectines sont également employées comme stabilisateurs dans l'industrie laitière, où la fonction principale est d'agir en tant qu'hydrocolloïdes protecteur. La stabilisation de la protéine dans les boissons (pH=4) est un domaine d'application de plus en plus important pour la pectine HM **[34]**.

B/Industrie pharmaceutique: Dans le sang, les pectines ont une action immunologique par l'activité de formation des anticorps est une action détoxifiante sur les métaux lourds (plomb). Elles ont par ailleurs, une action antidiabétique et antivomitive. Les pectines protègent les vaisseaux sanguins contre l'athéroxlérose par la diminution d'absorption intestinale des lipides et du cholestérol.

Dans des applications pharmaceutiques modernes, la pectine a beaucoup d'intérêt comme excipient pour des systèmes de la libération des médicaments. La libération du médicament du côlon peut être réalisée avec des formes galéniques contenant la pectine, seul ou en combinaison avec d'autre polymères. Le profil de libération du médicament peut être changé en fonction de degré d'estérification. La pectine a des propriétés bioadhésives, qui peuvent être d'exploitées pour la libération nasale, de plus, la pectine est une fibre alimentaire soluble qui diminuerait les risques de cancer de colon **[20, 35]**. La pectine peut être formulée en solution, gel, ou un film et être employée en sirops, suspensions, pastilles, pates, comprimés et capsule.

C/Industrie cosmétique: Les propriétés de la pectine sont utilisées dans une variété d'applications personnelle de soin, y compris des produits de peau et de cheveux. Les gels de pectine peuvent être employés pour préparer des pâtes sans utilisation des agents tensioactifs.

Dans l'industrie cosmétique, la pectine est utilisée dans des fabrications des vernies, des huiles et des crèmes. Elle est aussi utilisée comme un agent épaississant et stabilisant des gels pour les cheveux, les lotions et les shampooings **[36,37]**.

I.5. Modification chimique des pectines

Les macromolécules glucidiques sont très largement présentes dans tous les organismes vivants, constituant la majeure partie des carapaces d'insectes, des parois cellulaires, des bactéries et se trouvent impliquées chez l'homme et l'animal dans la protection et le bon fonctionnement de certains tissus de l'organisme. Associées à des protéines et à des lipides, elles apparaissent comme le chainon nécessaire à de nombreux processus biologiques. Ces

différences d'origine se traduisent par des différences de structure, différences étroitement liées à des fonctions et à des propriétés spécifiques, qui permettent de comprendre l'intérêt économique de cette macromolécule. Avec ou sans valeur nutritionnelle, les biopolymères glucidiques sont les composes de base des industries alimentaires, qui vont affecter les propriétés rhéologiques pour renforcer, modifier, stabiliser la texture des différents aliments **[33]**.

Depuis, les polysaccharides naturels traditionnels jusqu'à ceux issus de la biotechnologie, c'est toute une palette des propriétés physico-chimiques qui est ainsi disponible, en permettant toutes les mises en œuvre envisagées en fonction des applications visées : épaississant, rétenteur d'eau, stabilisant, liant, gélifiants, floculant, etc.

Compte tendue tout ce potentiel, l'usage de ces biopolymères intéresse de nombreux autres domaines d'application, pour lesquels l'utilisation de méthodes de modifications chimiques n'est plus prescrite, modifications qui vont encore permettre d'élargir l'éventail de toutes les propriétés **[33]**.

Dans ce qui suit, les différentes voies de modification des propriétés physico-chimiques des polymères seront exposées. Une importance particulière est accordée à ce sujet aux polysaccharides du fait de la diversité exceptionnelle de leur structure et de leurs fonctions qui justifie leurs large utilisation pour des applications biologiques (alimentaire, médecine, pharmacie et cosmétique).Les différents travaux effectués à ce sujet seront aussi exposés brièvement en particulier ceux d'obtenir des biopolymères amphiphiles.

I.6. Fondements de la réaction des polymères

La modification chimique des polymères permet de préparer d'autres polymères dont le monomère n'existe pas tel que le poly (alcool vinylique), de modifier des polymères naturels (cellulose, caoutchouc…..) et de préparer une gamme très large de produits à partir d'un seul polymère **[38]**.

Les polymères peuvent participer aux mêmes réactions que leur homologue de faible masse. Toute réaction de la chimie organique peut être appliquéeà un polymère. Cependant, les mécanismes et la cinétique peuvent être très différents dans le cas d'une molécule de faible taille et de polymère **[38]**.

Le comportement chimique d'un groupe appartenant à un polymère dépend de sa réactivité intrinsèque et de son voisinage immédiat. Il peut en plus y avoir des interactions entre des groupes éloignés de la macromolécule par suite de repliement de chaines **[38]**. D'une façon

générale, la réactivité d'un groupe appartenant à un polymère dépend des facteurs suivants [38] :

- Groupes fonctionnels isolés.
- Concentration.
- Cristallinité.
- Effet de la solubilité.
- Réticulation.
- Effet stériques.
- Effet électrostatique.
- Influence des groupes voisins.
- Interactions hydrophobes.

La modification chimique de polymère permet de fixer, par liaison covalente à la surface d'un support polymérique une ou plusieurs molécules ou fragments apportant des propriétés spécifiques **[39]**.

D'habitude, cette insertion se déroule selon deux voies **[32]**:

1. réaction sur la principale chaine de polymère qui provoque des réactions de dégradation accompagnées par une diminution du poids moléculaire ou des réactions intermoléculaires qui donnent des structures tridimensionnelles et la synthèse de copolymère.

2. réaction sur les unités de chaine non principale produisant un changement de la composition chimique du polymère sans aucune influence sur le poids moléculaire.

I.7. Grandes classes des réactions sur les polymères

A partir d'un polymère de départ on peut souvent préparer un nombre important de polymères dérivés. Par exemple, on peut préparer à partir de la cellulose des produits de grande importance industrielle qui ne peuvent être obtenus que par modification (ex : la carboxymethycellulose (CMC), hydroxyéthylcellulose (HEC), la méthycellulose (MC), l'hydroxypropyl cellulose (HPC)…….etc. **[40]**.

Les principales voies de modification chimiques d'un polymère sont **[41]**:

A. **Réaction de substitution**: dans ce cas, il peut y avoir une substitution entre un groupement du polymère et un agent chimique approprié. On cite principalement la chloration, l'amination (quaternisation) ; l'estérification et enfin l'ajout d'un agent chimique réducteur comme les hydrures.

B. **Réaction d'élimination**: Différentes réactions d'élimination sont susceptibles de modifier la structure primaire du polymère et d'apporter de nouvelles fonctionnalités. Citons par exemple les réactions de Déshydrochloruration, Déshydratation .....etc.

C. **Réaction d'addition** : un certain nombre de réactions d'addition par voie radicalaire contribue de toute évidence à la modification chimique d'un composé polymérique. Les additions par mécanisme ionique ou par mécanisme concerté conviennent aussi dans certaines démarches visant la modification chimique.

I.8. Modification chimique des polysaccharides

Les polysaccharides offrent un ensemble impressionnant de structures primaires et de conformations. Leurs omniprésences et leurs divers rôles dans les systèmes biologiques témoignent du large spectre de leurs fonctionnalités. Il est connu depuis longtemps que les caractéristiques et les utilisations des polysaccharides natifs peuvent être considérablement élargies par des modifications de sa structure primaire et la présence de charge anionique ou cationique. Ces transformations vont influer directement sur la conformation du polymère, son hydrophobie, sa solubilité, voir sa stabilité. Toutes ces modifications auront donc un impact conséquent sur les propriétés biologiques, chimiques et physiques **[42]**.

De nombreuses connaissances sont disponibles concernant la modification de polysaccharides. Les techniques de modification des polysaccharides peuvent être classées en deux catégories selon qu'elles soient sélectives ou non **[42]** :

- Les méthodes non sélectives introduisent les substituants de façon plus ou moins aléatoire.
- Les méthodes sélectives exploitent les différences de réactivités chimiques des groupements fonctionnels disponibles tels que les fonctions carboxyles ; hydroxyles ou amines. En absence de tels sites, la sélectivité de la réaction dépend d'activations sélectives ou de l'introduction des fonctions réactives appropriées.

Parmi les avantages des réactions sélectives, l'utilisation de réactifs et de conditions de réactions douces permettent d'éliminer ou de minimiser la formation de produits secondaires et/ou la dégradation partielle ou la dépolymérisation des polymères natifs qui sont associées de façon aussi systématiques aux méthodes de fonctionnalisation non sélectives. Des réactions classiques tels que l'introduction de groupements alkyles, hydro alkyles, halogènes, nitrates, phosphates, sulfates, sulfonâtes……..ne sont généralement pas sélectives mais un certain degré de sélectivité peut être obtenu sous des conditions de réactions bien choisies. Parmi les

avantages des fonctionnalisations sélectives on peut aussi citer que celle-ci facilitent la caractérisation des produits et elles peuvent également jouer un rôle essentiel dans l'établissement de connaissances fondamentales sur les relations structures/propriétés, limitées dans le cas spécifique des polysaccharides du fait, entre autre, de leur complexité intrinsèque (hétérogénéité en termes de structures, de distribution de masse molaire …….). Un autre facteur important qui distingue les polysaccharides des autres types de polymères est leur réactivité chimique unique, en effet, même pour les polysaccharides les plus simples, il existe intrinsèquement plusieurs sites de fonctionnalisations potentiels par monomère, ceci implique donc des réactivités différenciées, complexes à contrôler **[42]**.

La fonctionnalisation des polysaccharides c'est l'apport des charges (amination, sulfatation, phosphatation…….etc.), ou augmentation de l'hydrophobie ou l'hydrophile de ces polysaccharides par greffage des groupements fonctionnels appropriés. En général, l'hydrophobisation des polysaccharides hydrophiles peut être effectuée soit en dérivant des groupes fonctionnels intrinsèques (par ex : COOH, NH_2, OH……..etc.), ou en introduisant des groupes fonctionnels réactifs en utilisant la méthodologie chimique ou enzymatique. Pour des modifications chimiques, des réactifs chimiques contenant de longs groupements d'alkyles ou d'acyles (C_{10}-C_{18}) ont été généralement employées **[43,44]**.

I.9. Fonctionnalisation de la pectine

Plusieurs polysaccharides tels que l'alginate, le chitosane, la cellulose, la dextrine…..etc. ont été utilisés pour le développement de nouvelles gammes de dérivés polymériques amphiphiles grâce à leurs haute biocompatibilité, innocuité, biodégradabilité et leur possibilité de modification chimique. La structure amphiphile détermine les propriétés tensioactives. Ils présentent principalement des pouvoirs mouillant, stabilisant, détergent et émulsifiant **[45]**.

La pectine est un hétéropolysaccharide (pka=3-4) des parois cellulaire végétales **[46]**. Ce caractère anionique de la pectine la rend susceptible aux interactions avec d'autres groupements réactionnels de divers composés **[47]**. La multifonctionnalité de la pectine est due principalement au degré d'estérification des groupements carboxyliques qui influencent la solubilité, la gélification et les propriétés émulsifiants. Ces propriétés fonctionnelles de la pectine peuvent être augmentées ou même changées en introduisant de nouveaux groupements fonctionnels sur sa chaine principale **[44, 48,49]**.

La modification chimique de la pectine (amidation, trans-estérification) est relativement facile à cause de la présence de groupements naturels d'ester méthylique dans les

macromolécules pectiques et elle modifie de façon significative les propriétés physico-chimique et biologique des pectines. L'introduction de groupements non polaires augmente le caractère hydrophobe de ces macromolécules, et il a été signalé que les esters d'alkyle de la pectine et des acides pectiques adsorbent les acides biliaires, les acides gras et le cholestérol.

Crescenzi et Callegaront préparé un certain nombre de pectines très substituées d'alkyle et d'aryl-esters, pratiquement insolubles dans l'eau. L'acylation et la méthylation des pectines ont été utilisés pour réduire la solubilité de ces polysaccharides pour les rendre utilisables en tant que systèmes de libération des médicaments **[31]**.

Un polymère amphiphile contient deux groupements : polaire et apolaire. Le N-alkylpectinamide est un exemple d'un polymère amphiphile avec groupe polaire; la chaine principale (D-galacturonique) et un groupe apolaire, c'est le n-alkylamine. Les polymères légèrement substitués ont des propriétés tensioactives. Les N-Alkylpectinamides ont certains avantages en comparaison avec d'autres dérivés alkyles de la pectine. Premièrement, leur préparation ne nécessite pas des conditions extrêmes. Deuxièmement, la liaison amide est suffisamment résistante à l'hydrolyse acide ou alcaline. De plus les rendements de N-alkylamides préparés par la réaction de la pectine avec des amines aliphatiques non ramifiés sont relativement élevés. Le rendement le plus élevé a été observé pour la réaction de la pectine avec la méthylamine.Les caractéristiques physico-chimiques de ces dérivés, notamment leur solubilité dans l'eau, dépend du degré de substitution, c'est-à-dire du contenu des groupements hydrophobes liés à la pectine. Les dérivés ainsi obtenus montrent de nouvelles propriétés intéressantes **[31]**.

De plus, Zouambia et al. **[50]** ont préparés des pectines modifiées par des amines primaires dans un milieu biphasique en présence du méthanol. Ils ont attient des degrés de substitution allant jusqu'à 18% déterminés par décomposition des spectres infrarouge. Ces dérivés marquent des solubilités importantes dans l'eau. Les dérivés obtenus révèlent de nouvelles propriétés tensioactives.

I.10. Avantages et inconvénients de la modification chimique

Pouvoir modifier chimiquement un polymère pour lui conférer de nouvelles propriétés en fonction d'une application donnée, peut présenter un intérêt capital pour son développement. Cependant, cette voie associée à une simplicité apparente assure un produit avec une bonne forme physique **[51]**, cette dernière est attachée à un certain nombre d'avantages et mais aussi d'inconvénients qui peuvent s'illustrer comme suit **[45, 46]**:

- Difficulté de la purification du polymère après la modification.
- Les réactions peuvent être quantitatives et effectuées dans des conditions modérées parce que chaque groupement indésirable qui constitué par une réaction secondaire deviendra une partie de la chaine du polymère.
- Il faut prouver que la dégradation du polymère (éventuellement sensible) ne se produit pas pendant la réaction de modification.
- La distribution des groupements fonctionnels dans les polymères modifiés n'est pas toujours uniforme.
- Les réactions secondaires indésirables conduisent à un changement de la nature chimique et des propriétés physique du polymère initial.

I.11. Champs d'application des polysaccharides modifiés

La modification et la production des polysaccharides peuvent être utilisées dans la chimie et les matériaux (polymères, texturants, principe actif, cosmétique, intermédiaires chimiques…….etc.) dans le but de [**36]**:

- Réduire les couts de production (compétitivité des procèdes d'obtention de ces molécules).
- Obtenir de nouvelles ou meilleures fonctionnalités.
- Diminuer l'impact sur l'environnement (substitution de la biomasse aux ressources fossiles, biodégradabilité, faible écotoxicité……etc.).

Les polymères fonctionnalisés qui contiennent des nouveaux groupements fonctionnels ont connu une attention considérable dans les industries suivantes **[36]**:

- Agroalimentaire (agent gélifiant, texturant).
- Cosmétique (agent émulsifiant, lubrifiant, tensioactifs).

Pharmaceutique (système de libération des matières actives, tensioactive)

Chapitre II
Etude expérimentale

II.1. Introduction

L'étude expérimentale, réalisée au sein des laboratoires de chimie au niveau du hall technologique et le laboratoire de recherche de l'université de Médéa, comporte trois parties :

- Le premier est relatif à la caractérisation physicochimique d'un biopolymère végétale qui est la pectine de pomme;
- La deuxième partie a été consacrée à la fonctionnalisation de ces pectines par amidation dans deux milieux : un milieu homogène et milieu hétérogène.
- La troisième partie est consacrée à la caractérisation physicochimique des dérivés de pectines obtenus.

II.2. Produits et matériels utilisés

II.2.1. Produits utilisés

Les différents produits utilisés lors de la réalisation de cette étude sont :

- ✓ Pectine de pomme,
- ✓ Ethanol pur,
- ✓ Phénophtaléine,
- ✓ Hydroxyde de sodium (0.1M),
- ✓ Acide chlorhydrique (0.1M),
- ✓ Ammoniaque (25%),
- ✓ Acétone,
- ✓ Amines primaires : Octadecylamine, octylamine,
- ✓ Méthanol.
- ✓ Déméthylformamide (DMF)

II.2.2. Matériels utilisés

- **Etuve** : appareil de séchage d'une température maximale de 220°C
- **Four à moufle**: type LM 312.06, DB 005001, Naitrez : 230 v/50HZ/2.8KW.
- **pH-mètre:** le pH mètre utilisé est de type Jenway muni d'une cellule qui peut mesurer le pH de 0 à 14 à une température de 0 à 80°C.
- **Spectrophotomètre FTIR-8400**: c'est un Spectrophotomètre à transformée de Fourier (FTIR) adapté aux mesures des bandes d'absorptions entre 400cm-1 et 4000 cm-1.

- **Tensiomètre**: c'est un tensiomètre bidirectionnel de type CSC Du Nouy 70545 à anneau en platine. La méthode de mesure est basée sur le principe d'arrachement de l'anneau.
- **Balance électronique** : précision 10^{-4}g.
- **Agitateur à plaque chauffante**: type Janke et Kunckel IKA-WERK.
- **Pompe à vide:** de type Stuart.
- **Secoueur** : type Vortex – Germany (VTX 400) avec une vitesse maximale de 40 Hertz.
- **Centrifugeuse :** est un appareil destiné à imprimer une accélération, grâce un mouvement de rotation, à un mélange liquide-solide avec une vitesse maximale de 6000 trs/min.
- **Dessiccateur :** Un dessiccateur est un équipement servant à protéger des substances contre l'humidité

II.3. Caractérisation physicochimique des pectines

La pectine utilisée, et avant de commencer la modification chimique proprement dite, a été soumis à divers tests physicochimiques.

II.3.1. Aspect général

La pectine utilisée est une poudre fine inodore avec une couleur marron clair comme le montre la figure II.1.



Figure II.1. Pectine de pomme utilisée

II.3.2. Teneur en Humidité

La teneur en humidité a été calculée selon la méthode proposée par Mc Cready **[52].** Un échantillon de pectine (0.25g) est chauffé dans l'étuve à105°C pendant 3h. L'échantillon est

gardé pour la détermination du taux de cendres. La teneur en humidité (H) est exprimée en pourcentage, et elle est donnée par la formule II.1.

$$\mathbf{H(\%) = \frac{Po - P1}{Po}} \qquad \textbf{(II.1)}$$

Avec :Po: Poids initial de la pectine en g.

P_1: Poids de la pectine après séchage en g.

- **Résultat**

Le résultat obtenu montre que la pectine de pomme a une teneur en humidité inférieur à 10% qui est de l'ordre de 9.396%. Ce niveau d'hygroscopie permet une bonne conservation de la pectine. Il faut noter ici que, le mode de stockage a aussi une influence sur la teneur en humidité. De ce fait, il faut stocker la pectine dans des flacons hermétiquement fermées et dans des endroits secs.

II.3.3. Taux de cendres

Un échantillon de pectine (0.2g) a été incinéré dans un four à moufle à 600°C pendant 4h, puis refroidi et stocké dans un dessiccateur. Le taux de cendres (C) est exprimé en pourcentage, et il est donné par la formule II.2.

$$\boldsymbol{C}(\%) = \frac{\boldsymbol{P2}}{\boldsymbol{P1}} \times \mathbf{100} \qquad \textbf{(II.2)}$$

Avec : P_1 : Poids initial de pectine en g.

P_2 : Poids de pectine après incinération en g.

- **Résultat**

La pectine utilisée a un taux de cendres de 0.743% ce qui montre que cette dernière est pauvre en minéraux.

II.3.4. Degré d'estérification

Le degré d'estérification des pectines est déterminé par la méthode titrimétrique. Un échantillon de pectine (0.25g) a été transféré dans un erlenmeyer de 250 ml, humidifier avec 2 ml d'éthanol et dissous dans 100 ml d'eau distillée (libre de CO_2). Après la dissolution

complète, 5gouttes de phénophtaléine ont été ajoutées, et la solution a été titrée avec NaOH (0.1M) et le résultat est enregistré comme titre initial. Puis, 10ml de NaOH (0.1M) a été ajoutée, et le mélange a été agité rigoureusement, et laissé reposer 5 min, en suite 10ml d'HCl (0.1ml) a été ajouté et le mélange a été agité jusqu'à disparition de la couleur rose. Cinq gouttes de phénophtaléine ont été ajoutées et la solution est titrée avec NaOH (0.1M) à une couleur rose clair. Ce volume de titrage est enregistré comme le titre final.

Le degré d'estérification est calculé par la formule II.3.

$$\boldsymbol{DE}(\%) = \frac{\boldsymbol{Vf}}{\boldsymbol{Vi+VF}} \times \mathbf{100} \qquad \textbf{(II.3)}$$

Avec : V_i : volume initial

V_f : volume final

- **Résultat**

La détermination du degré d'estérification nous a permis de conclure que la pectine utilisée est dite hautement méthylée avec un degré d'estérification supérieur à 50% et qui est de l'ordre de 70.58%. Il est à noter que le DE est un paramètre d'intérêt qui influence fortement la solubilité des pectines et leur tendance de former un gel.

II.3.5. Caractérisation par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

A. Principe

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (ou FTIR : Fourier Transformed Infra Red-spectroscopy) est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau.

Lorsque la longueur d'onde (l'énergie) apportée par le faisceau lumineux est voisine de l'énergie de vibration de la molécule, cette dernière va absorber le rayonnement et on enregistrera une diminution de l'intensité réfléchie ou transmise.

Le domaine infrarouge entre 4000 cm^{-1} et 400 cm^{-1} (2.5-25 µm) correspond au domaine d'énergie de vibration des molécules. Toutes les vibrations ne donnent pas lieu à une absorption, cela va dépendre aussi de la géométrie de la molécule et en particulier de sa symétrie. Pour une géométrie donnée on peut déterminer les modes de vibration actifs en infrarouge grâce â la Théorie des Groupes. La position de ces bandes d'absorption va dépendre en particulier de la différence d'électronégativité des atomes et de leur masse. Par

conséquent â un matériau de composition chimique et de structure donnée va correspondre un ensemble de bandes d'absorption caractéristiques permettant d'identifier le matériau. L'analyse s'effectue à l'aide d'un spectromètre à transformée de Fourier qui envoie sur l'échantillon un rayonnement infrarouge et mesure les longueurs d'onde auxquelles le matériau absorbe les intensités de l'absorption **[53]**.

B. Protocol expérimental

Les spectres FTIR ont été obtenus pour des pastilles de pectine / KBr, la proportion de pectine étant de 1 %. Pour produire les pastilles, la pectine est broyée en présence du KBr, le mélange est ensuite comprimé sous une pusse (presse) Perkin-Elmer. Nous avons obtenus des pastilles translucides. Les spectres d'absorption infrarouge ont été enregistrés dans la gamme de nombres d'onde comprise entre 400 et 4000 cm^{-1}, avec une résolution de 8 cm^{-1} et un nombre de scanne égale à 128.

Résultat

Le spectre FTIR de la pectine de pomme utilisée (Voir figure II.2) donne des pics, spécifiques aux substances pectiques, pour un certains groupements :

- les pics d'absorption entre 3200 et 3600 cm^{-1} correspondent à l'absorption O-H et entre 2900 et 3000 cm^{-1} correspondent à l'absorption C-H (CH_3).
- Les bandes entre 1730 et 1750 cm^{-1} représentent les groupements carbonyles esters $COOCH_3$ et entre 1600 et 1630 cm^{-1} les ions carboxyles COO^-.
- Les pics entre 1330 et 1430 représentent l'absorption C-H (CH_3) et entre 1000 et 1200 cm^{-1} (Elongation C-C-O), entre 800 et 1100 cm^{-1} (liaisons glucidiques).

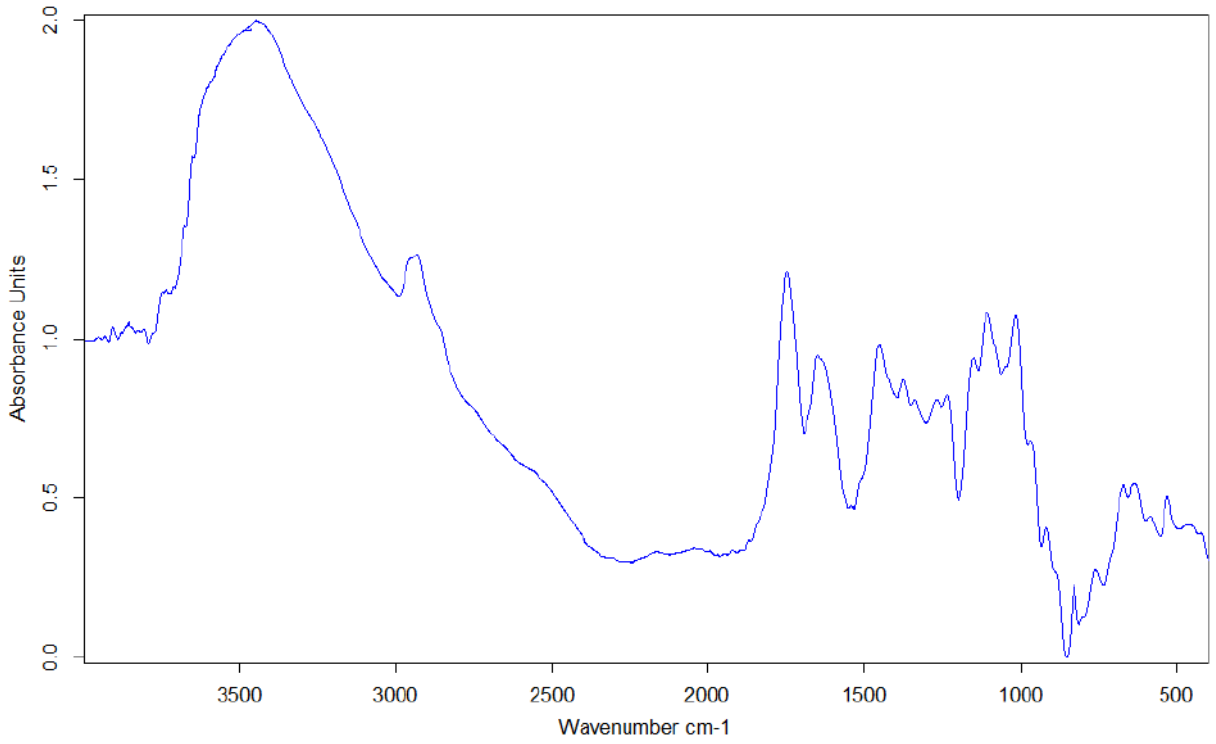


Figure II.2. Spectre FTIR de la pectine de pomme

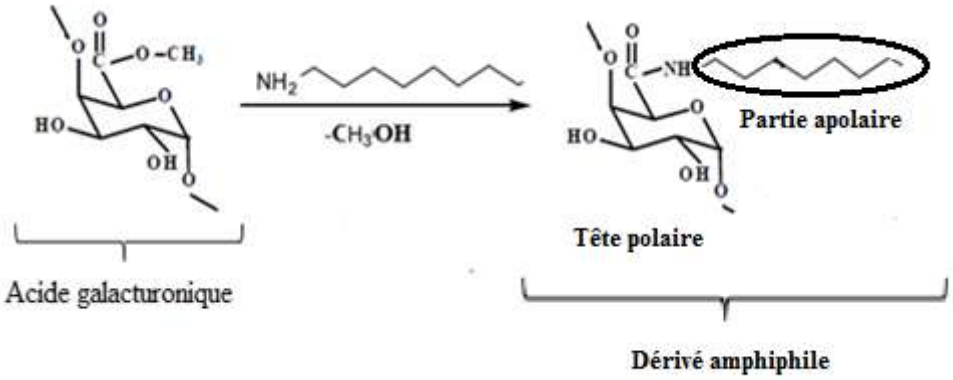
II.4. Modification chimique des pectines

Dans cette partie du travail, nous nous intéressons à l'hydrophobisation des substances pectiques par greffage des chaines hydrocarbonées aliphatiques et plus essentiellement par greffage des amines primaires de différentes longueurs des chaines alkyles sur les unités de l'acide galacturonique, ce qui correspond à la fixation de groupements très hydrophobes. Nous avons cherché à obtenir de nouveaux polysaccharides modifiés en dérivés amphiphiles.

L'hydrophobisation de la pectine par amidation a été effectuée dans :

1. Un milieu hétérogène (biphasique) selon la méthode décrite par Synytsya et al **[54]**
2. Un milieu homogène (monophasique) dans lequel, la pectine et l'amine sont complètement dissout.

La structure générale des molécules ciblées est décrite comme suit :



De plus, une amidation de la pectine par démethylation en présence de l'ammoniaque a été également réalisée selon la méthode décrite par Lockwood **[55]**.

II.4.1. Amidation dans un milieu hétérogène

II.4.1.2. Protocole expérimental d'amidation

A) Amidation par une amine primaire

La pectine (1g) a été suspendue dans 25 ml de méthanol (solution 1) et 2 g de N-Octadecylamine a été dissoute dans 60 ml de méthanol (solution 2). La solution 2 a été ajoutée graduellement à la première solution sous agitation continue. Les réactions ont été effectuées dans des erlenmeyer fermés et couverts en papier aluminium sous agitation continue à une température ambiante pendant 7 jours. À la fin de chaque réaction, le mélange a été filtré afin de séparer le produit sous forme solide, puis lavé avec le méthanol trois fois à la température appropriée pour éliminer l'amine libre, puis lavé 3 fois avec l'HCl (0.1mol /l) pour convertir les groupements carboxyliques ionisés à la forme de protonie . Cette étape est nécessaire pour l'hydrolyse du sel d'alkyl ammonium qui peut être formé au cours de la réaction de la pectine avec l'alkylamine. Finalement, le produit a été lavé avec l'éthanol à 80%, filtré et séché à 60°C pendant 6h **[49].**

Le protocole expérimental d'amidation de la pectine dans un milieu biphasique est résumé sur l'organigramme de la figure II.3.

La pectine issue de cette amidation est notée : $\mathbf{PC_{18\text{-méthanol}}}$

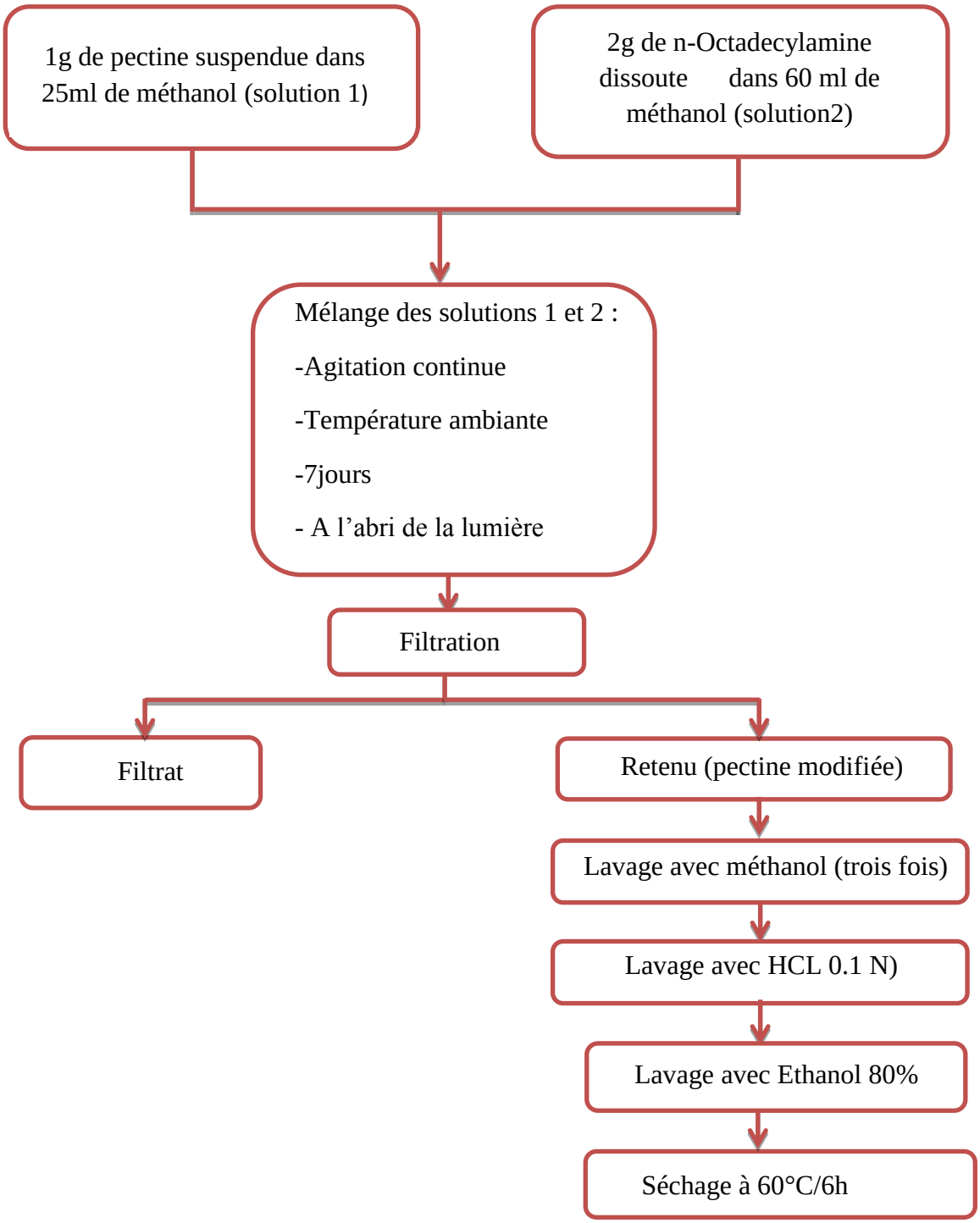


Figure II.3. Protocole d'amidation de la pectine dans un milieu hétérogène

B. Amidation par démethylation en présence d'ammoniaque

La pectine (1g) est dissoute dans 20 ml d'un mélange pré refroidi d'éthanol, d'eau distillée et d'ammoniaque (25%) selon les proportions données dans le tableau II.1. Le mélange est agité doucement pendant 2h à la température de 12°C. A la fin de la réaction, la pectine modifiée a subis les différents traitements résumés dans la figure II.4.

La pectine issue de cette modification est notée $\mathbf{P_{NH3}}$

Tableau II.1. Amidation de la pectine par l'ammoniaque

Conditions expérimentales	
Ethanol pure (ml)	**12**
Eau (ml)	**6**
Ammoniaque 25% (ml)	**2**
Temps d'agitation (h)	**2**
Température de la réaction (°C)	**12**

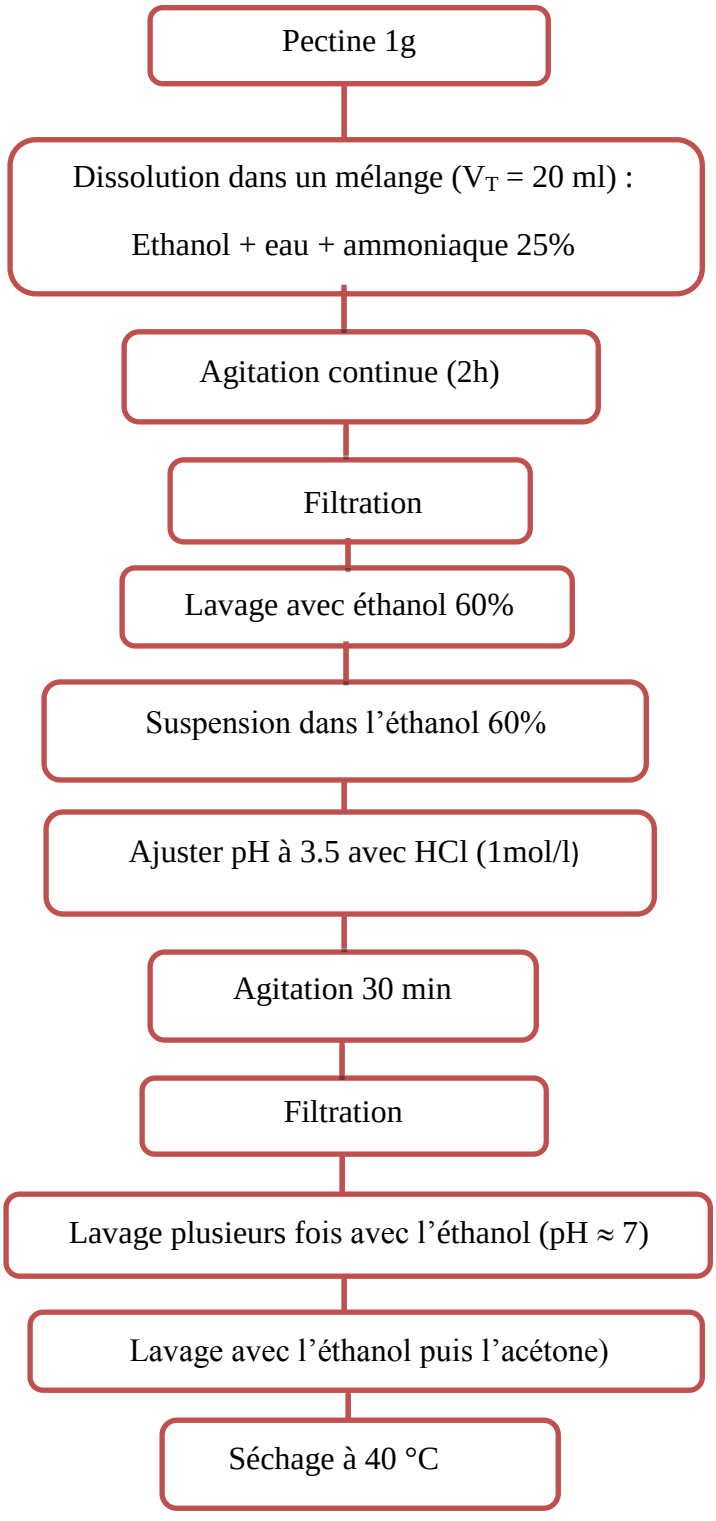


Figure II.4.Protocole d'amidation de la pectine dans un milieu hétérogène par l'ammoniaque

II.4.2. Amidation des pectines dans un milieu homogène

II.4.2.1. Introduction

L'objectif de cette partie d'étude est de réaliser le processus d'amidation des pectines dans un milieu homogène ou plus spécifiquement dans un milieu monophasique. Donc, nous nous sommes intéressés initialement à la recherche d'un solvant ou bien un mélange de solvants qui nous permet de dissoudre à la fois la pectine et l'agent hydrophobisant.

Généralement, les pectines sont solubles dans l'eau et insolubles dans la plupart des solvants organiques. Selon la littérature, les pectines sont souvent solubles dans le diméthylsulfoxyde (DMSO), le Formamide, le Déméthylformamide (DMF) et le glycérol **[56].**

De plus, et dans l'optique de la chimie verte, nous avons pensé à minimiser au maximum possible l'utilisation des solvants organiques, c'est la raison pour laquelle, nous avons pensé à un mélange de solvants pour la dissolution de la pectine et du n-Octadecylamine au même temps. Notre choix s'est porté sur le mélange eau/méthanol et eau/DMF.

II.4.2.2. Protocole expérimental

A. Dans le mélange eau/méthanol

Une solution de n-Octadecylamine préparée dans le méthanol est ajoutée à une solution de pectine préparée dans l'eau distillée dont les proportions sont données sur la figure II.5. L'amidation de la pectine a été réalisée sous les mêmes conditions opératoires de l'amidation dans un milieu hétérogène (rapport pectine/amine : 1/2, température ambiante, 7jours, sous agitation continue et à l'abrie de la lumière).À la fin de chaque réaction, deux volumes d'éthanol (96%) sont ajoutés à un volume du mélange sous agitation continue pendant 20 min. Par la suite, la pectine est filtrée, lavée plusieurs fois avec le méthanol et puis avec l'HCl (0.1mol/l). Finalement, le produit a été lavé avec l'éthanol à 96%, filtré et séché à 60°C pendant 6h.

La pectine issue de cette modification est notée $\mathbf{PC_{18}\text{-}H_{méthanol}}$.

B. Dans le mélange eau/DMF

En ce qui concerne l'amidation en utilisant le DMF, la réaction d'amidation a été réalisée dans les mêmes conditions opératoires utilisées dans le cas du mélange eau/méthanol sauf à la place du méthanol nous avons utilisé le DMF.

La pectine issue de cette modification est notée : $\mathbf{PC_{18}\text{-}H_{DMF}}$

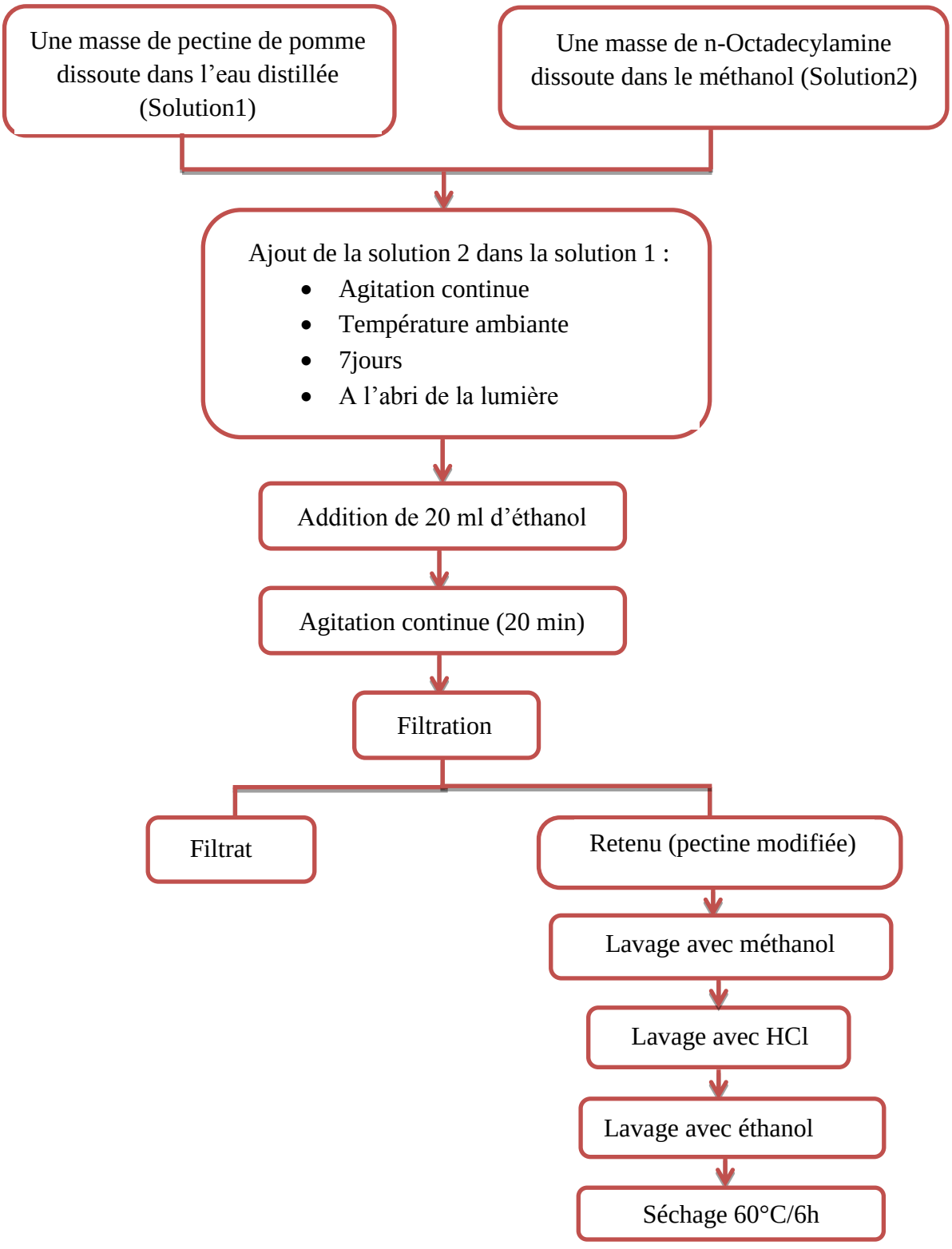


Figure II.5. Protocole d'Amidation de la pectine dans un milieu homogène

C. Amidation par une amine liquide

Dans cette partie, nous avons procédé à l'amidation de la pectine de pomme en milieu homogène en utilisant une amine liquide qui est octylamine. La réaction d'amidation a été réalisée dans les mêmes conditions opératoires de l'amidation dans un milieu homogène en présence et sans ajout du DMF.

Les pectines issues de cette modification sont notées : **PC_8-H et PC_8-H_{DMF}**

II.4.3. Caractérisation physico-chimique des pectines modifiées

II.4.3.1. Caractérisation par la spectroscopie FTIR

Les résultats de l'analyse par spectroscopie infrarouge (FTIR) des pectines amidées sont représentés sur les figures (II.6, II.7, II.8 et II.9). L'amidation de la pectine avec des n-alkylamines et l'ammoniac résulte dans l'apparition des nouvelles bandes d'absorption correspondantes aux nouveaux groupements substitués.

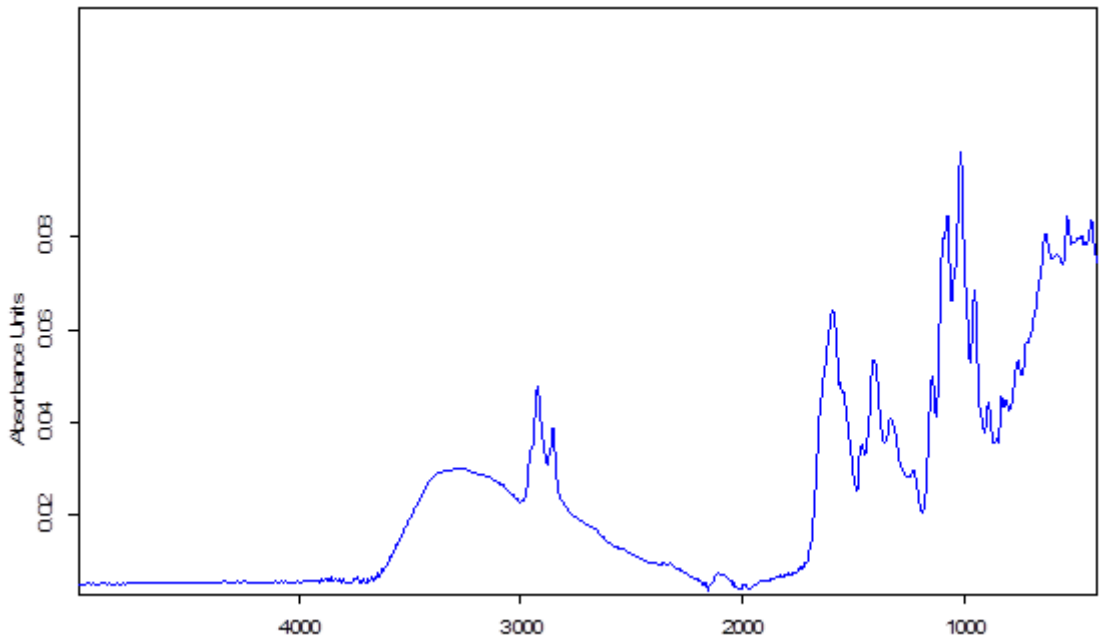


Figure II.6. Spectre FTIR de **PC_8-H**

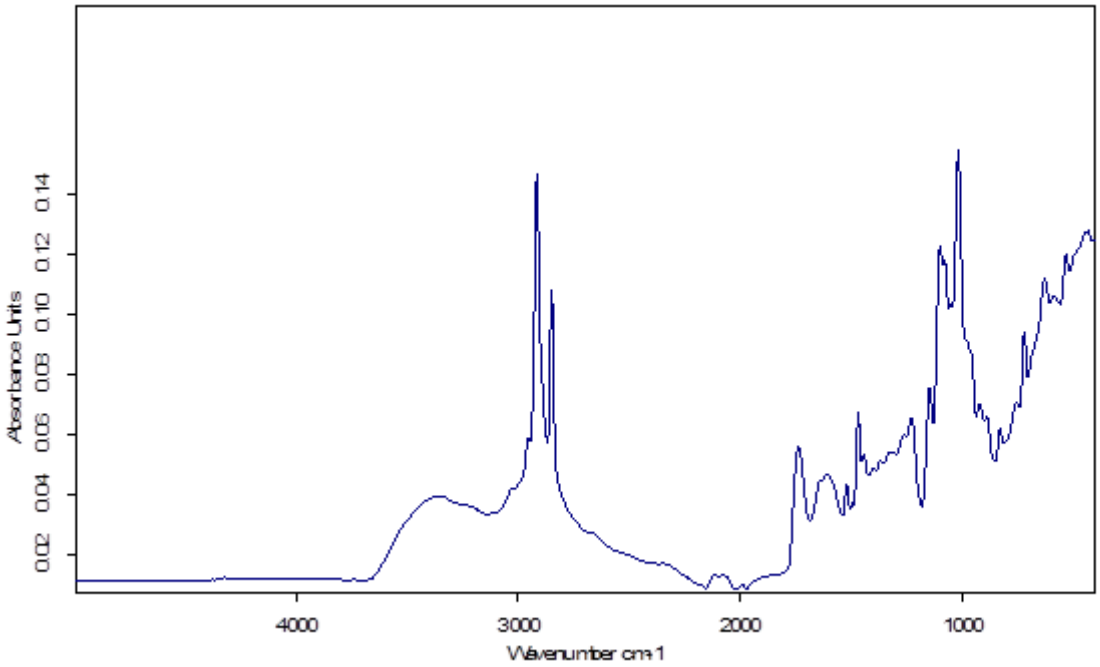


Figure II.7. Spectre FTIR de **$PC_{18\text{-méthanol}}$**

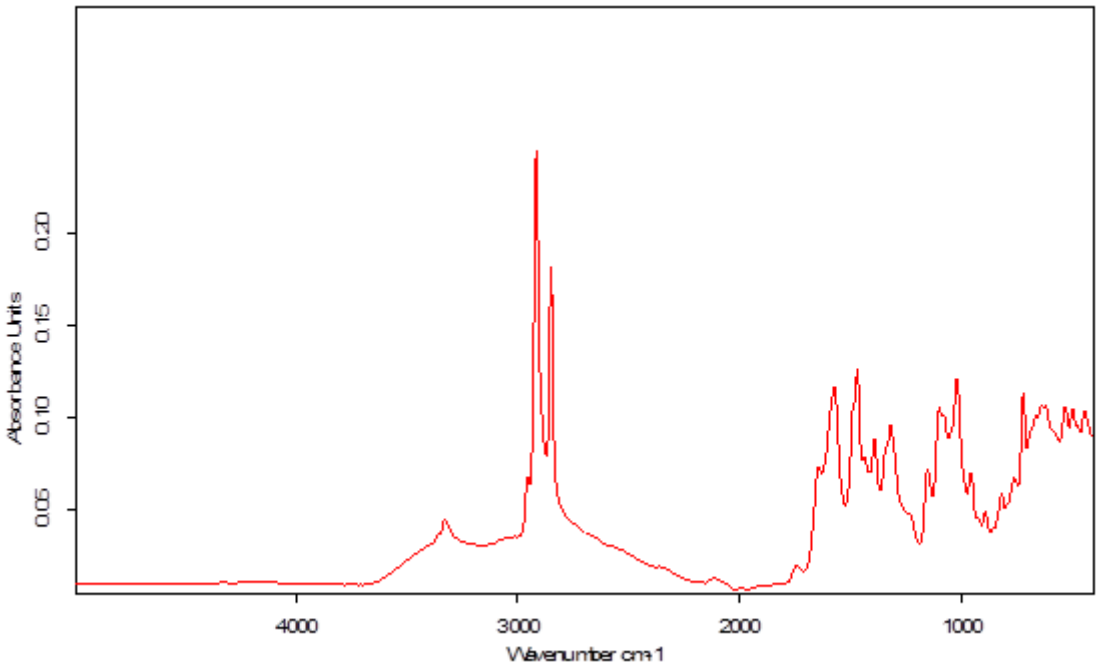


Figure II.8. Spectre FTIR de **PC_{18}-H_{DMF}**

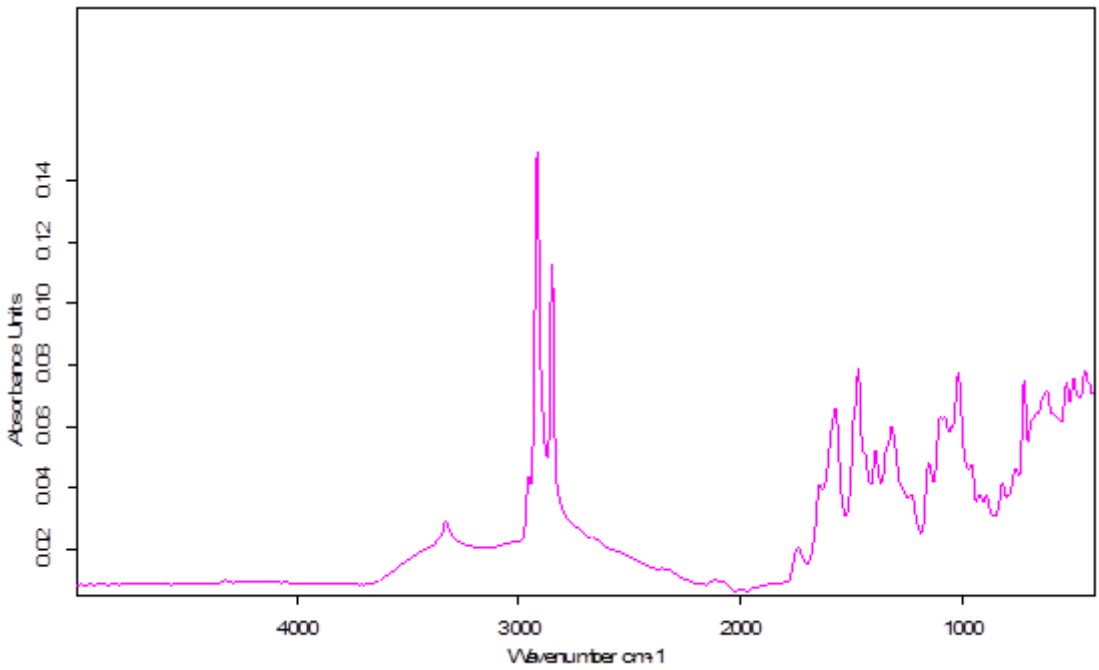


Figure II.9. Spectre FTIR de **PC_{18}-$H_{méthanol}$**

La région de vibration carboxyle entre 1900-1500 cm^{-1}est la plus importante pour l'analyse des pectines. Les quatre spectres FTIR des pectines amidés (figure II.6 à II.9) en milieu biphasique et monophasique, montrent tous l'appariation de nouvelles bandes entre 1500 cm^{-1} et 1580 cm^{-1} assignés aux groupements CONHR substitués.

Les spectres des dérivés des pectines présentent aussi deux pics intenses à 2920±5 cm^{-1} et 2850±5 cm^{-1} qui ont été assignés aux élongations C-H symétriques et asymétriques des groupements méthylènes. De plus, les bandes à 1458±5 cm^{-1} et 720±5 cm^{-1} sont aussi indicatives des groupements méthylènes des n-alkyls.

De plus, les spectres FTIR des pectines amidés montrent aussi que l'intensité des pics dans la région entre 2930 et 2855cm^{-1}est proportionnelle à la longueur de la chaîne hydrocarbonée des n-alkylamines comme le montre la figure II.10.

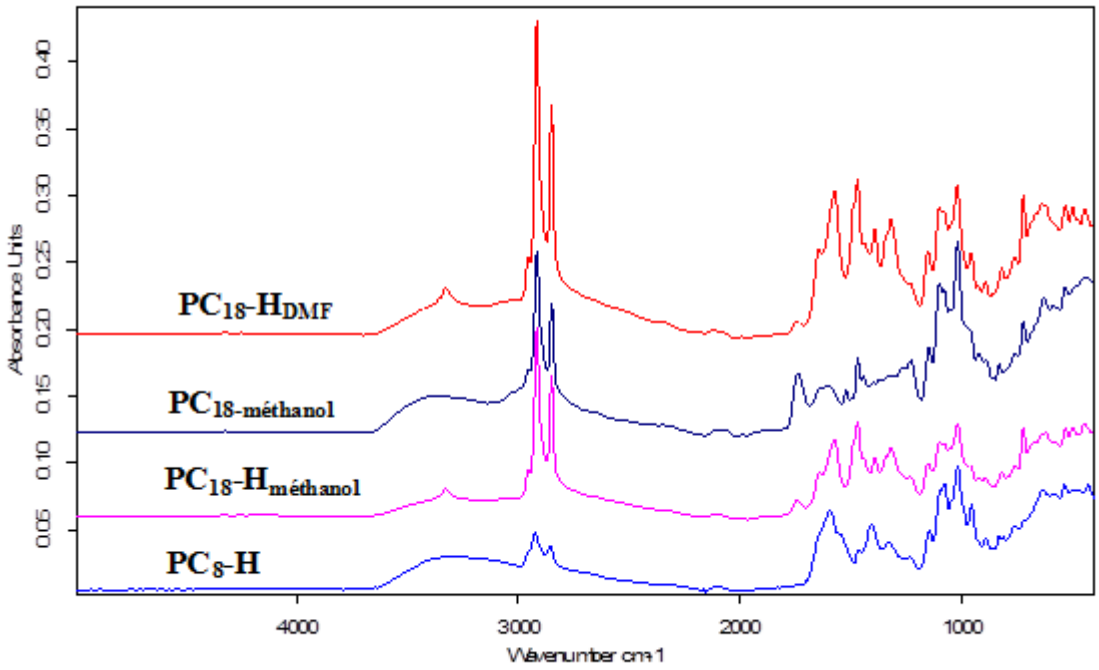


Figure II.10. Spectre FTIR des pectines amidées

II.4.3.2. Degré d'estérification DE

Le degré d'estérification des pectines modifiées a été déterminé de la même méthode décrite dans la section II.3.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau II.2.

Tableau II.2:Degré d'estérification des pectines amidées

Pectine amidée	**$PC_{18\text{-méthanol}}$**	**P_{NH3}**	**$PC_{18}\text{-}H_{méthanol}$**	**$PC_{18}\text{-}H_{DMF}$**	**$PC_8\text{-}H$**	**$PC_8\text{-}H_{DMF}$**
DE (%)	46	41.66	41.18	58.82	37.5	50

L'analyse des résultats donnés sur le tableau IV.2 montre que l'amidation des pectines mène à une diminution des DE. Ce résultat confirme la réaction de substitution.

II.4.3.3. Test de solubilité

Une quantité (0.05 g) de pectine modifiée a été pesée dans un petit bécher. Puis 20 ml d'eau distillé a été ajouté au bécher. Le mélange a été agité en continu pendant 5 jours. Puis le mélange est filtré à travers un papier filtre. Le papier filtre avec le résidu solide ont été séchés à 50°C pendant 2 h puis pesés pour l'estimation du solide non soluble.

Les résultats sont présentés dans le tableau II.3

Tableau II.3. Test de solubilité des pectines modifiées

Pectine modifiée	**Solubilité (à 2.5 g/l)**
PC_{18}	Soluble
PC_{NH3}	Soluble
PC_{18}-$H_{méthanol}$	Partiellement soluble
PC_{18}-H_{DMF}	Partiellement soluble
PC_{8}-H	Partiellement soluble
PC_{8}-H_{DMF}	Partiellement soluble

Le test de solubilité des dérivés des pectines amidées dans une solution aqueuse d'eau, montre que les pectines modifiées dans un milieu hétérogène donne une meilleure solubilité dans l'eau comparées à celles préparées dans un milieu homogène. Ce résultat peut être expliqué par la différence en taux de substitution qui peut être meilleur dans le cas de la modification en milieu homogène. Donc on peut conclure que la solubilité des pectines amidées est inversement proportionnelle au taux de substitution.

II.4.3.4. Mesure de la tension de surface

La tension superficielle est un paramètre physicochimique important qui permet la caractérisation des tensioactifs. Dans le but de voir dans quel sens agisse l'hydrophobisation des pectines sur les propriétés superficielle de ces dernières, nous avons mesuré la tension superficielle des solutions des pectines amidées dans un milieu homogène et la pectine de pomme native à la température ambiante (23°C) à l'aide d'un tensiomètre à lecture directe (Figure II.11).

Les solutions des pectines amidées et la pectine native ont été préparées dans l'eau distillée sous agitation continue pendant 24h avant d'être analysées.



Figure II.11 : Tensiomètre à arrachement d'anneau

Les résultats de la tension superficielle (TS) d'eau distillée, de la pectine native (Pp) et les différentes pectines amidées sont illustrés sur la figure IV.5.

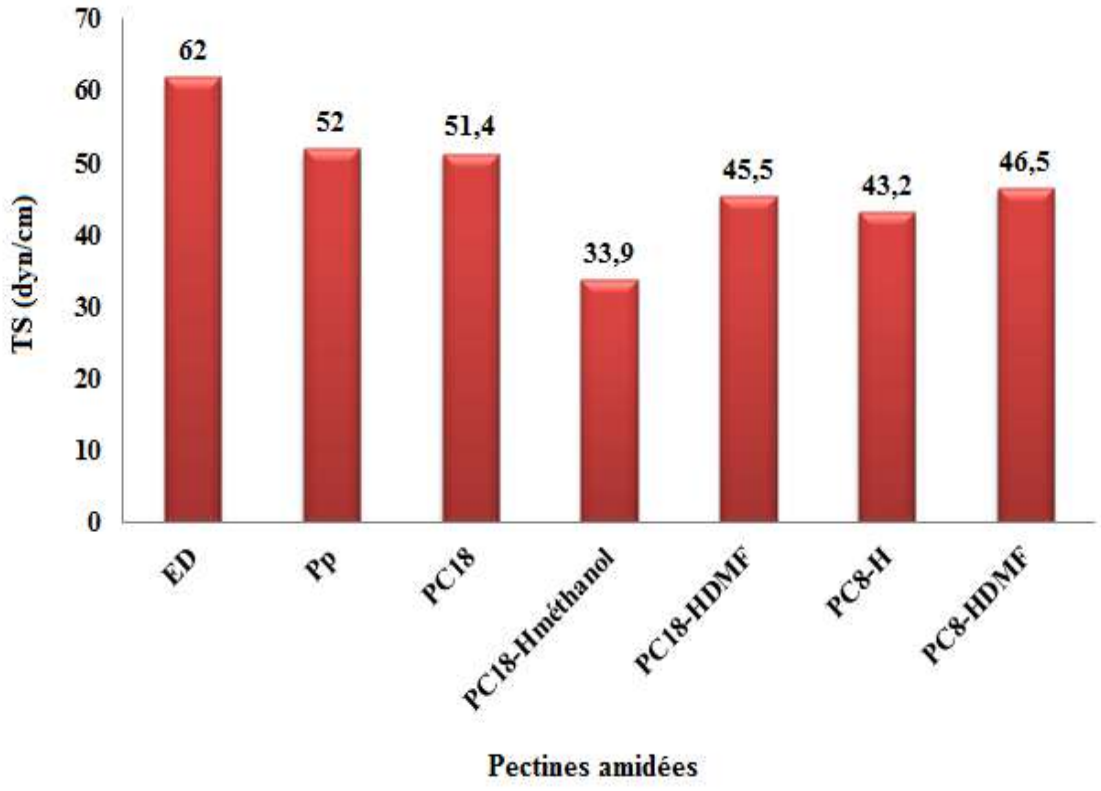


Figure II.12 : Tension de surface de la pectine de pomme et ses dérivés amidés

L'analyse de la figure II.12 montre que la pectine native mène à une diminution de la tension de surface avec une valeur de 52 dyn/cm comparée à celle d'eau distillée qui est de l'ordre de 62 dyn/cm. Ce résultat confirme les propriétés tensioactives des pectines natives comme rapportées dans la littérature **[57].**

De plus nous remarquons que les pectines amidées provoquent une diminution appréciable de la tension de surface comparée à celle trouvée pour la pectine native. La meilleure diminution est enregistrée pour la pectine PC18-$H_{méthanol}$ qui est de l'ordre de 33.9 dyn/cm. Ces résultats montrent que les dérivés amphiphiles des pectines obtenus possèdent un bon caractère tensioactif.

II.5. Propriétés émulsifiantes des pectines amidés

II.5.1. Pouvoir émulsifiant

Afin d'étudier le pouvoir émulsifiant des pectines amidés, des émulsions de types huile dans eau (H/E) ont été préparées en ajoutant 3ml d'hexadecane à 3ml de pectine (0.5%) dans des tubes de centrifugation gradué de 15 ml. Les solutions ont été mélangées vigoureusement dans un secoueur (vortex) en mode continu à la vitesse maximale pendant 2 min. Les

émulsions obtenues ont été finalement centrifugées à 500trs/min, pendant 5 min. Le volume total (Vt) et le volume de la couche d'émulsion (Ve) ont été mesurés.

L'activité émulsifiante (EA) a été calculée en utilisant la relation II.4:

$$\mathbf{EA(\%)= \frac{Ve}{V} \times 100} \qquad \mathbf{(II.\ 4)}$$

II.5.2. Stabilité de l'émulsion

Pour étudier la stabilité des émulsions (ES), les échantillons du test du pouvoir d'émulsion ont été stockés à la température ambiante pour une durée de 21 jours. Après 1 et 21 jours, les volumes de la couche d'émulsions (Vf) ont été mesurés. La stabilité d'émulsion a été calculée par la formule II.5.

$$\mathbf{ES(\%) = \frac{Vf}{Vi} \times 100} \qquad \mathbf{(II.5)}$$

- **Résultats**

Après centrifugation des émulsions préparées, trois phases ont été observées, une petite phase d'huile en haut, une phase aqueuse de pectine et une couche d'émulsion comme le montre la figure II.13.

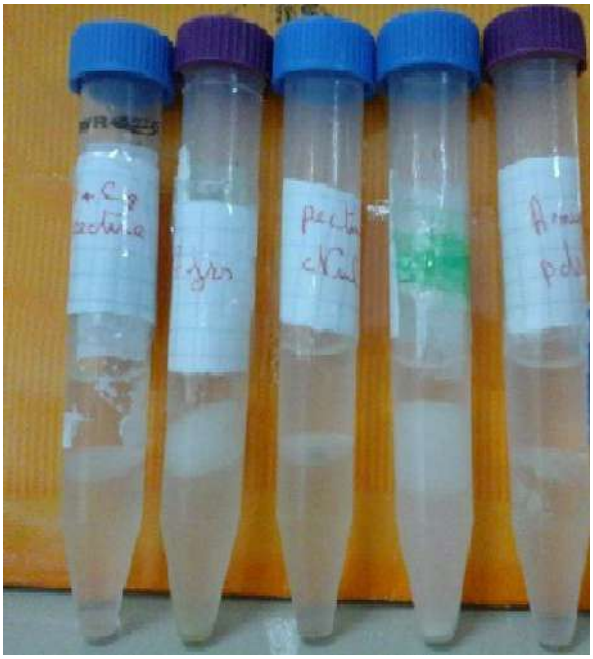


Figure II.13. Différentes phases obtenues pour le test du pouvoir émulsifiant

Les différents résultats relatifs aux calculs du pouvoir émulsifiant et de la stabilité de l'émulsion sont récapitulés dans le Tableau II.4.

Tableau II.4. Pouvoir émulsifiant et stabilité d'émulsion

Echantillons	**EA(%)**	**ES(%)**	
		1 jour	**21 jours**
Pp	8.33	100	20.75
PC_{18}-$H_{méthanol}$	25	100	66.64
PC_{18}-H_{DMF}	8.33	100	20.75
PC_{8}-H	33.33	100	75.01
PC_{8}-H_{DMF}	8.33	100	39.97

L'analyse des résultats présentés dans le Tableau II.4 montre que le pouvoir émulsifiant des pectines amidées est supérieur à celui de la pectine native. Ceci nous permet de conclure que l'hydrophobisation des pectines mène aux dérivés amphiphiles dotés de propriétés d'émulsification considérables.

En ce qui concerne la stabilité d'émulsion, les résultats obtenus montrent que les émulsions formulées à base des dérivés amidées sont à 100% stables à la température ambiante et ceci après 1 jour de stockage. Alors qu'après 21 jours de stockage, la stabilité des émulsions préparées variée de 20 ~ 76 %.

D'après ces résultats, nous constatons que tous les dérivés amidées montrent un bon niveau de stabilité des émulsions à la température ambiante.

Conclusion générale

Conclusion générale

Ce présent travail a pour objectif de valoriser un extrait d'une plante naturelle dans l'élaboration d'une nouvelle substance d'origine polysaccharidique ayant des propriétés tensioactives et ceci par modification chimique. Il s'agit d'un polysaccharide végétal qui est la pectine de pomme.

Donc, nous nous sommes intéressés premièrement à la caractérisation physicochimique de la pectine étudiée puis à leur fonctionnalisation par amidation et leur éventuelle caractérisation.

Pour ce faire, nous avons subdivisé ce travail en quatre parties:

- La première consiste en une caractérisation physicochimique de la pectine de pomme utilisée (degré d'estérification, humidité, cendres, FTIR…). Les résultats obtenus ont montré que cette pectine est faiblement hygroscopique avec une teneur en humidité inférieur à 10% ce qui permet une bonne conservation de cette dernière. De plus, la détermination du degré d'estérification par la méthode titrimétrique a montré qu'on était en présence de pectine hautement méthylée avec un degré d'estérification supérieur à 50% et qui est de l'ordre de 70.58%.
- La deuxième partie est consacrée à l'amidation de la pectine dans un milieu hétérogène en présence du méthanol avec un rapport massique pectine /amine : 1/2 et à la température ambiante. Les résultats trouvés ont montré que le DE est diminué après l'amidation ce qui confirme la réaction de substitution. De plus l'analyse des pectines amidées par la spectroscopie FTIR révèle la présence de nouvelles bandes à 1550 cm^{-1} correspondantes aux nouveaux groupements amides ainsi substitués.
- La troisième partie de ce travail, a été consacrée à l'amidation dans un milieu homogène (monophasique) dans lequel la pectine et l'amine sont complètement dissout. cette partie se résume comme suit :
    - ✓ Dans un premier temps, une amidation de la pectine est réalisée dans deux solvants organiques : le méthanol et le DMF sous les mêmes conditions. Les résultats de l'analyse par la spectroscopie FTIR ont montrés que l'amidation dans un milieu monophasique en présence du DMF est meilleure comparée à celle réalisée en présence du méthanol. De plus l'amidation en milieu

monophasique mène à une pectine plus substituée comparée à celle obtenue en milieu biphasique.

- ✓ Dans le deuxième point, une amidation de la pectine est réalisée dans un milieu monophasique en utilisant une amine liquide avec ou sans DMF. les résultats obtenus ont montré que l'amidation sans DMF peut donner une meilleure substitution

- Enfin dans la quatrième partie, nous avons opté pour la détermination des propriétés de surfaces et émulsifiantes des pectines amidés :
  - ✓ Les résultats du tensiomètre, ont montrés que les dérivés amidés représentent une nouvelle classe de macroamphiphiles dotés de bon caractère tensioactif avec une valeur de la tension de surface minimale de l'ordre de 33.9 mN/m.
  - ✓ L'étude des propriétés émulsifiantes des dérivés amidés de pectines, réalisé par la mesure du pouvoir émulsifiant et la stabilité de l'émulsion, a permis d'enregistrer un pouvoir émulsifiant de l'ordre de 33.33% et une bonne stabilité des émulsions allant jusqu'au 75%.

Cependant, il faut signaler que ce travail est loin d'être achevé, et, il serait intéressant de poursuivre cette recherche en :

- ➢ étudiant la modification dans un milieu monophasique sous différentes conditions (température, temps de contact, nature du solvant…etc.),
- ➢ utilisant les moyens de caractérisations les plus appropriées surtout en ce qui concerne la détermination des degrés de substitution (degré d'amidation…).

Les références

[1] :Céline GINEAU « procède d'élaboration d'agro matériaux composite naturel par extrusion bivis et injection Molége de tourteau de tournesol » thèse doctorat 2006.

[2] : formulation des systèmes de libération des principes actifs à bases des biopolymères présentée par mazoun khadidja et djouat soumia.

[3] : Ram, A, « fondamental of polymère engineering » EdPhenum pression, new York 1997.

[4] : Mercier, JP. « chimie des polymères : synthèse, réaction, dégradation »,Ed Lavoisier, pris 1993.

[5] : François STAUDER « fiche technique agro-industrie : biopolymères et bioplastique », fiche n°17, Ed Mai 2006.

[6] :ADEMA, érection des énergies Renouvelables, des Réseaux et des Marchés Energétiques HilaireBEWA « Matériaux polymères biodégradables et applications Note de synthèse II », 2006.

[7] : Holly Nadia, Rabtafika , Michel Paquot , Philipe Dubois « Les polymères issus du végétal : Matériaux à propriétés spécifiques pour des applications ciblées en industrie plastique » Biotechnol. Agron-son . Environ-2006 1053-2006 1053,185-196.

[8] : E.OUMANSKI, « chimie organique » Ed Mir 1981 .p391-409.

[9] : Jansson P.E , Kennel, Lindberg B, « structure of the extracellular polysaccharide from xanthomonas camppestris, carbohydrate » Reseoeth, vol 45 p275-282, 1975.

[10] : Scander, A. « étude physico-chimique et rhéologique des solutions des biopolymères combinées avec des bio tensioactifs », Magister en génie chimique, Médéa 2005.

[11] : Gaël RUIZ, « extraction, détermination structurale et valorisation chimique de phycocolloïdes d'algues Rouges » thèse doctorat, université de limoges 2005.

[12] : Boussalem .K, Belferrah.R , « caractérisations des pectines extraites à partir des albédos du citrang », mémoire fin d'étude 2008.

[13] : G.O.Phillips, et P.A. Williams,Hand Books of Hydrocolloids, CRC Press,Boca Raton,p450,04,2000.

[14] : Danato L., (2004).Gélification et séparation de phase dans les mélanges protéines globulaires/pectines faiblement méthylées selon les conditions ioniques. Thèse doctorat de l'école nationale supérieur des industries agricoles et alimentaires.

[15] : Michel B. (2002).conservation par les sucres : confitures , gelées, fruits sur sucre .In : Technologies de transformation des fruits. Technique et documentation-Lavoisire(Ed).paris, pp 421-425.

[16] : Shuryo N. (2003). Pectine and their manipulation-book review-food Research International, 36(6) :643

[17] : SEDAN David « étude des interactions physico-chimiqueaux interfaces fibres de chanvre/ciment .influence sur les propriétés mécaniques du composite » thèse doctorat, Limoges 2007.

[18].Prasanna V , Prabha T.N., and Tharanatha R.N (2007). Fruit ripening Phenomena –An Overview-. Critical Reviews in Food Science and Nutrition,47 : 19.

[19] : Leroux H. &Schubert E.(1983).Actualités des industries alimentaires et agroalimentaires : les applications des pectines HM dans les industries agroalimentaires .Revenues des I.A.A : 615-618.

[20] : Zouambia .Y « extraction et qualité de pectine de déférentes compartiments des fruits de trois d'agrumes (citron, pomme et orange) », rapport IRSN/DRPH/2005-008

[21] : Hwang J.K.Kim C.J & Kim C.T.,(1998).Extrusion of appel pomace facilitâtes pectin extraction. Journal of Food Science ,63(5) : 841-844.

[22] : Constenla D ,Ponce A.G.&Lozano J.E .,(2002) .Effect of pomace drying on appel pectin .Le bensmittel Wissenschaft und Technologie.35(3) : 216-221.

[23] : Belhamri R. , (2005). Extraction des macromolécules pariétales des eaux de presse de betteraves sucrières : étude de leurs compositions, de leurs propriétés physico-chimiques et de leur effet sur le procès sucrier .thèse de doctorat de l'université de Reims Champagne Ardenne.

[24] : Steen, H., Christeusen « pectin in Food hydrocolloids », volume III Maetin Glicksman, Chap 12, P205-229.

[25] : Tillmann S., Roland W., Rob V.& Werner L,.(2202). Enzymatic Modifications of Pectins and the impact on their rheological propriéties. Carbohydrate Polymers ,47[2]99-108.

[26] :Bonnin E.,Le Goff A .,KöRNER r. , Vigourpux J., Roepstorff P.& Thibault J.F .,(2002).Hydrolysis of pectins with deferent degrees and patterns of methylation by the endopolygalacturonase of Fusarium moniliforme. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Protein Structure and Molécular Enzymology,1596(1) :83-94.

[27] :Levigne S .,Thomas M .,Ralet M.-C.,Quemner B.&Thibault J.F.,(2002).Determination of the degrees of methylation and acetylation of pectins using a C18 column and internal standards.Food Hydrocolloids,16(6) : 547-550.

[28] :Matia-Merino L., Lau K.& Dickinson E., (2004).Effects of low-methoxyl amidated pectin and ionic calcium on rheology and microstructure of acid-induced sodium caseinate gels.Food Hydrocolloids, 18(2) : 271-281.

[29] :Guillotin S.E.,Van Loey A .,Boulenguer P.,Schols H.A.& Voragen A.G.J.,(2007).Rapid HPLC Method to screen pectins for heterogeneity in methyl-esterification and amidation. Food Hydrocolloids,21(1) : 85-91.

[30] :Van Alebeek G.J.W.M.,Schols H.A.& Vorgen A.G.J.,(2001).Amedation of methylesterifed oligogalacturonides : examination of the reaction products using MALDI-TOF MS.Carbohydrate Polymers , 46(4) : 311-321.

[31] : Zouambia.Y, 2012, « fonctionnalisation des polysaccharides en vue de la préparation des dérivés amphiphiles associactifs. Etude comparative des propriétés physico-chimiques », thèse doctorat, Université Saad D'Haleb, Blida, Algérie.

[32] :Akelah, A., and Moet A. « Functionalizes Polymers and Their Application» Chapman ana Hall,London,First edition(1990).

[33] : Zouambia.Y, « Extraction, Caractérisation et modification des propriétés émulsifiantes d'un biopolymères naturel», thèse magister,(2006),CU de Médéa.

[34] :Corporate Groupe Herbstreith & Fox « pectins by H&F fand their usein pharmaceuticals, cosmetic and the Non-plus.com »à division of nature's health supply,Inc.

[35] : John E.Rushing.ph.D.Manufacturing jelly and preserve products departement of Food science FSE.99-21.

[36] : Hasnaoui,H. « formation d'un système de libération des médicaments à base d'un biopolymère végétal »,mémoire de fin d'étude (2008).

[37] :direction de la radio protection de l'homme « évaluation de l'emploi de la pectine chez les enfants vivants sur les territoires contaminés par le césium »IRNS rapport.

[38] :Moussaoui Yassine « modification chimique de PVC et étude des propriétés du mélange PVC modifié polybutadiéne» mémoire de magister 2003,école militaire polytechnique.

[39] :Anders,C.,Gartner R.,V.,B., Zschoche,S.«Surface modification with hydrogels via macroinitiators for enhanced friction properties of biomaterials»,J.Macromol.Sci.Pure Appl.Chem.A36,(1999),1017-1029

[40]:Ernest,M.,«polycondensation,polyaddition et modification des polyméres».Techniques de l'ingénieur,traite de génie des procédés,(2000)

[41] :Lazart,M.,Bleka,T.,Rychly,J.« Chemical Reaction of Natural and Synthetic polymers» ,Wiley New York,(1989).

[42]:Anne-cécile PETTIngénieur ENSCR « Modification d'un exo polysaccharide bio synthétisé par une bactérie issue des écosystémes hydrothermaux profonds»,thése doctorat 16/12/2005,université de RENNES1,Ecole Nationale Supérieure de chimie de rennes (ENSCR).p 137

[43] :yalpani M.,Hall,LD« Some chemical and analytique aspects of polysaccharide ,odifications.I.Nitroxide spin-labelling studies of alginicacid,cellulose,and xanthan gum».CanJ.Che, 59,(1981),3105,-3119.

[44]:Draget ,K-I.,Skjak-Brek.G.,Smidsrod,O., «alginate based new materials »,Int J Biological Macromolecules 21 (1997),47-55.

[45]:http://www.adem.fr «Tensioqctifs et Oléagineux : Etude sur les matiérepremiére oléagineuses disponibles sur le marché Européen pour la production des tensioactifs »,2001.

[46] :Voragen,A.,Thibault,J-F .,Pilnik ,W.,Axelos,M.A.V, Renard,C.M.G.C. «pectins :in food polysaccharides and thier applications »,Ed:Stephen ,A.M.,NewYork,Marcel Dekker (1995),287-339.

[47]: Maude.G« Etude qualitative et quantitative des interactions entre la β-lactoglobuline et la pectine en systéme dilué»thése doctorat,(2003),université laval,Quebec

[48]:Morris ,G.A. ,Hromadkova,Z.,Ebringerova,A., Malkovikova,A., Alfoldi,J.,&Harding,S. «Modification of pectin with UV-absorbing substituents and its effect on the structural and hydrodynamic properties of the water –soluble derivatives» ,Carbohydrate polymers, 48,(2002),351-359.

[49]:Synytsya ,A.,Copikova ,J ,.Marounek ,M.Havlicek,J. «Preparation of N-alkylamides of Highly Methylated (HM) Citrus pectin» ,Czech J.Food Sci.Vom.21,No.5:162-166.

[50] :Zouambia,Y.,Moulai-Moustefa,N.,Krea ,M., « Structural characterization and surface activity of hydrophobicallyfunctionalizedextractedpectins »,Carbohydrate polymers 78 (2009) 841-846.

[51]:Hachelef,A. « synthése et caractérisation physico-chimique des dérivés amphiphilique d'un biopolymérevegetal:Applicationpharmaceutique» ,mémoire de fin d'étude, Médéa 2009.

[52] : Iglesias,M-T,.Lozano,J-E. « Extraction and characterization of sunflower pectin» ,Journal of Food Engineering,62,(2004),215-223.

[53] :prud'homme,J. ,prud'homme,R.«Synthése et caractérisation des macromolécules»,presse de l'université de Montréal(1981).

[54] : Sinitsya,A.,J., Prutyanov,V.,Skoblya,S., &Machovic,V «Amidatio, of highly methoxylated citrus pectin with primary amines» Carbohydrate Polymers,42, (2000) ,359-368

[55] :H.Anger and G.Dongowski

Central insitute of Nutrition,Arthur-Scheunert-Allee 114/116,DDR-1505 Potsdam-Rehbrucke, GBR

[56] : Voragen A.G.F.,PilinikW.Thibault J.F., Axelos ,M.A.V., Renard C.M.G.C (1996).The food polysaccharides.Edition :Stephen,Marcel Dekker ,Chapter 10,287-338.

[57] : **[**Yapo, B.M., Robert, C., Etienne, I. and Wathelet, B., "Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts", Food Chemistry, (2006), 1-9.**]**.