

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
UNIVERSITE SAAD DAHLAB-BLIDA



DEPARTEMENT DE CHIMIE INDUSTRIELLE

THESE DE DOCTORAT

En Chimie Industrielle
Spécialité : **Génie des Procédés**

Thème

**FONCTIONNALISATION DES POLYSACCHARIDES EN VUE DE LA
PREPARATION DES DERIVES AMPHIPHILES ASSOCIATIFS
ETUDE COMPARATIVE DES PROPRIETES PHYSICOCHIMIQUES**

Présentée par :

Yamina ZOUAMBIA

Soutenu devant le jury composé de

Président :	Mr R. ISSAADI	Professeur U.Blida
Examineurs:	Mr S. MOULAY	Professeur U.Blida
	Mr A. TOUATI	Professeur ENS.Kouba
	Mr M. BRADA	MCA U. Khemis Miliana
Directeur :	Mr N. MOULAI-MOSTEFA	Professeur U.Médéa
Co-directeur :	Mr M. KREA	MCA U.Médéa

Blida 21 Novembre 2012

ملخص

تم تحضير عائلة جديدة من المشتقات الأمفيفيلية بواسطة أمينية بكتينات مستخلصة من ثلاثة مصادر نباتية (الليمون النارنج والشمندر). تم الاستخلاص الحمضي الأمثل لبكتينات النارنج باستخدام التصميم التجريبي. هذا المنهج سمح لنا أن نفهم تأثيرات مختلف العوامل (درجة الحموضة، درجة الحرارة، ووقت الاستخلاص) على المردود ودرجة الأسترة. تم الحصول على مردود 24.5 % من بكتين عالية الميثيلية (DE = 62.5%) عند 80° م، ودرجة حموضة تقدر بـ 1.2 و وقت استخلاص قدره 90 د. هذه القيم اختيرت كشرط مثالية. وضح الاستخلاص باستعمال التحريض الكهرومغناطيسي أن وقت الاستخلاص انخفض كثيرا. لقد انتقل من 90 دقيقة بالنسبة للطريقة الكلاسيكية الى 30 دقيقة بالنسبة لهذه الطريقة الجديدة مع المحافظة على نفس الخصائص البنيوية. تم تعديل البكتينات كيميائيا بالصاق أمينات الأولية ذات مختلف سلاسل الألكيل (C₈، C₁₂ و C₁₈) في وسط ثنائي الطور. تم الحصول على درجة تثبيت تقدر بـ 16% مع نسبة كتلية بكتين/امين 2/1 و في درجة حرارة الغرفة. وتشير الدراسة الى ان عملية الحصول على المشتقات الأكثر استبدالاً تتطلب مدة زمنية طويلة. كما تمت دراسة الخصائص الفيزيائية والكيميائية لمختلف المشتقات المعدة بواسطة الأشعة المطيافية وبقياسات خصائص السطح النشط والاستحلاب. استخدام المشتقات المتحصل عليها لتثبيت أيونات النحاس (II) بينت قدرة امتصاص حيوي افضل مقارنة بالمتحصل عليها باستعمال البكتينات الاصلية.

كلمات مفاتيح : بكتين، استخلاص، تغيرات، الكيل اميد، التوتر السطحي، استحلاب، الامتصاص الحيوي

RESUME

Une nouvelle famille de dérivés amphiphiles (N-alkylpectinamides) a été préparé par amidation des pectines extraites à partir de trois sources végétales (Citron, Citrange et Betterave rouge). L'optimisation de l'extraction par voie acide des pectines de citrange a été réalisée à l'aide d'un plan d'expériences. Cette approche a permis d'appréhender les effets de différents facteurs (pH, température, temps d'extraction) sur le rendement et le degré d'estérification. Des rendements de 24,5% en pectines hautement méthylées (DE= 62,5%) ont été obtenus à T=80°C, pH=1,2 et t=90min. Ces valeurs ont été considérées comme optimales. L'extraction assistée par induction électromagnétique a montré que le temps d'extraction est significativement réduit. Il est passé de 90 min dans le mode classique à 30 min avec ce nouveau mode tout en préservant les mêmes propriétés structurales. Les pectines ont été modifiées chimiquement par fixation de différentes chaînes alkyles (C₈, C₁₂ et C₁₈) des amines primaires en milieu biphasique. Des degrés d'amidation de l'ordre de 16% ont été obtenus pour un rapport massique pectine/amine de 1/2 à température ambiante. L'étude du processus d'amidation a montré que l'obtention des dérivés plus substitués nécessite des temps de contact très longs. Les propriétés physico-chimiques des

différents dérivés hydrophobisés ont été évaluées par spectroscopie infrarouge et par des mesures des propriétés tensioactives et émulsifiantes. L'utilisation des dérivés N-alkylpectinamides pour la fixation des ions du cuivre Cu(II) a donné des capacités de biosorption meilleures comparées à celles obtenues avec des pectines natives.

Mots clés : Pectine, Extraction, Modification, N-alkylpectinamide, Tension de surface, Emulsification, Biosorption.

Abstract

A new family of amphiphilic derivatives (N-alkylpectinamides) was prepared by amidation of pectins extracted from three vegetable sources (Citrus, Citrange and sugar beet). The optimization of the acid extraction of citrange's pectins, was carried out using an experimental design. This approach enabled to apprehend the effects of different factors (pH, temperature, extraction time) on the yield and the degree of esterification. Yields of 24.5% of highly methylated pectin (DE = 62.5%) were obtained with $T=80^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=1.2$ and $t=90$ min. These values were considered optimal. The extraction assisted by electromagnetic induction showed that the extraction time is significantly reduced. It passed from 90 min in standard mode to 30 min with this new mode with preserving the same structural properties. Pectins were chemically modified by attachment of primary amines of different alkyl chains (C_8 , C_{12} and C_{18}) in a biphasic medium. The degrees of amidation of 16% were obtained for pectin/amine mass ratio of 1/2 at room temperature. The study of the amidation process showed that obtaining more substituted derivatives requires very long contact times. The physicochemical properties of different hydrophobized derivatives were evaluated by infrared spectroscopy and measurements of surface-active and emulsifying properties. The use of N-alkylpectinamides for copper ions Cu (II) fixation gave the best biosorption capacities compared to those obtained with native pectins.

Keywords: Pectin, Extraction, Modification, N-alkylpectinamide, Surface-active, Emulsification, Biosorption.

REMERCIEMENTS

Il m'est impossible et ça serait vraiment prétentieux de ma part de citer l'ensemble des personnes grâce auxquelles j'ai tant appris et qui par leur soutien matériel et moral, par leur bonté et leur générosité ont permis à ce travail de voir enfin le jour. Je tiens à ce que chacune d'elles trouve ici l'expression d'un hommage sincère. Que celles qui ne figurent pas ci-après ne pensent point à un oubli ou à une ingratitude de ma part.

J'adresse ma plus vive reconnaissance à Mr NADJI MOULAI-MOSTEFA, Professeur à l'Université de Médéa et Mr MOHAMED KREA Maître de conférences à l'Université de Médéa, pour m'avoir encadré et avoir rendu ce travail si passionnant. Je les remercie pour leur confiance qu'ils m'ont donné au cours de ces années, leur patience immuable, leur disponibilité de chaque instant, et la qualité scientifique de leurs nombreux conseils qui m'ont permis d'aboutir à la réalisation de ce travail. Néanmoins, ces quelques mots ne sont pas suffisants pour exprimer toute ma gratitude.

Je remercie vivement Mr R. ISAADI, Professeur à l'Université de Blida d'avoir accepté de présider mon jury. Je remercie également Mr S. MOULAY, Professeur à l'Université de Blida, Mr A. TOUATI, Professeur à l'Ecole Normale Supérieure de Kouba et Mr M. BRADA, Maître de Conférences à l'Université de Khemis Miliana, d'avoir pris le temps d'examiner ce modeste travail.

Les travaux de recherche présentés dans cette thèse ont été réalisés au sein du Laboratoire de Matériaux et Environnement sous la direction de Dr M. ANNOUN. Je le remercie pour m'y avoir accueilli et je lui suis particulièrement reconnaissante pour la confiance qu'il m'a accordée au cours de toutes les années de la réalisation de ce travail. Un amical remerciement à tout le personnel du Labo qui m'a accueilli chaleureusement, et avec lesquelles j'ai passé un agréable séjour en particulier Melle. Youcef Ettoumi Khadija, Melle. Mazouni Samiha et Boucherit Fatma Zohra.

Je n'oublie pas le personnel du Hall Technologique de l'Université de Médéa, spécialement : Mr Alouaoui Rédha, Mme Moulai Kheira, Kraouche Meriem, Genaoui Radhia et Bouaissa Nassima. Un grand merci à tous.

J'adresse aussi un grand merci à vous mes chères amies intimes et fidèles.

Mes derniers remerciements, et non les moindres, s'adressent à toute ma famille et plus particulièrement mes parents.

Y. ZOUAMBIA

TABLE DES MATIERES

RESUME	
REMERCIEMENTS	
TABLE DES MATIERES	
LISTE DES TABLEAUX	
LISTE DES FIGURES	
INTRODUCTION GENERALE	6
1. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	9
1.1. INTRODUCTION	9
1.2. ORGANISATION DE LA PAROI VEGETALE	10
1.3. LES PECTINES	11
1.3.1. Localisation	11
1.3.2. Structure chimique des substances pectiques	12
1.3.2.1. La chaîne principale	15
1.3.2.2. Les chaînes latérales	15
1.3.2.3. Substituants non glucidiques	16
1.3.3. Sources des pectines	17
1.3.4. Propriétés physico-chimiques	19
1.3.4.1. Masse moléculaire	19
1.3.4.2. Solubilité et précipitation	20
1.3.4.3. Propriétés gélifiantes et stabilisantes	21
1.3.5. Méthodes d'extractions des pectines	25
1.3.5.1. Matière première courante	26
1.3.5.2. Solubilisation de la pectine	27
1.3.5.3. Purification de la pectine	27
1.3.5.4. Précipitation de la pectine	28
1.3.6. Analyse et caractérisation structurale des pectines	28
1.3.6.1. Analyse des compositions monosaccharidiques	28
1.3.6.2. Analyse structurale des polysaccharides pectiques	29
1.3.7. Applications des pectines	30
1.4. POLYSACCHARIDES MODIFIES EN DERIVES AMPHIPHILES : SYNTHESE ET VALORISATION	30
1.4.1. Structure des polymères amphiphiles	31
1.4.2. Classification des polymères amphiphiles	31
1.4.3. Modes de synthèse des polymères amphiphiles	32
1.4.4. Modification chimique des polymères	32
1.4.5. Propriétés des polymères amphiphiles	33
1.4.6. Généralités sur les tensioactifs	35
1.4.6.1. Définition et classification des tensioactifs	35
1.4.6.2. Paramètres de micellisation	36
1.4.7. Les tensioactifs naturels à base des polysaccharides	37
1.4.7.1. Principales modification chimique des polysaccharides	38

1.4.7.2. Modification chimique de la pectine	42
1.4.8. Avantages des biotensioactifs dérivés des polysaccharides	45
1.4.9. Champ d'applications des polysaccharides modifiés	45
1.5. CONCLUSION	46
2. MATERIELS ET METHODES	47
2.1. INTRODUCTION	47
2.2. MATERIELS	48
2.2.1. Matériels biologique	48
2.2.1.1. Le citron	48
2.2.1.2. Le citrange	50
2.2.1.3. La betterave rouge	52
2.2.2. Matériels non biologique	52
2.2.2.1. Produits chimiques utilisés	52
2.2.2.2. Petit matériel	53
2.2.2.3. Appareillage	54
2.3. EXTRACTION DE LA PECTINE	54
2.3.1. Prétraitements chimiques de la matière végétale	54
2.3.1.1. Traitements des albédos des agrumes	55
2.3.1.2. Traitements des pulpes de betteraves	56
2.3.2. Procédures d'extraction de la pectine par voie acide	58
2.3.2.1. Procédure d'extraction de la pectine de citron (Pc)	58
2.3.2.2. Procédure d'extraction de la pectine de betterave (Pb)	60
2.3.3. Planification des expériences de l'extraction des pectines par voie acide	62
2.3.3.1. Principe du plan d'expérience	62
2.3.3.2. Mise au point du domaine expérimental	62
2.3.3.3. Mise en œuvre du plan d'expériences	63
2.3.3.4. Méthode de calcul des variables de réponses	64
2.3.4. Extraction des pectines par induction électromagnétique	65
2.3.4.1. Extraction de la pectine par deux modes de chauffage	66
2.3.4.2. Etude de la cinétique d'extraction de la pectine par chauffage à induction électromagnétique	67
2.3.4.3. Effet de la puissance d'induction électromagnétique sur le rendement d'extraction	67
2.4. CARACTERISATIONS PHYSICOCHIMIQUES DES PECTINS	68
2.4.1. Analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)	68
2.4.2. Taux d'humidité	68
2.4.3. Taux de cendres	69
2.4.4. Degré d'estérification (DE)	69
2.4.5. Degré d'acétylation (DAc)	69
2.4.6. Détermination de la teneur en méthoxyl (MeO%)	70
2.4.7. Mesures viscosimétriques ; estimation de la masse moléculaire	70
2.4.7.1. Relations empiriques	70
2.4.7.2. Mode opératoire	71
2.4.8. Caractérisation des contenus saccharidiques	72
2.4.8.1. Dosages des sucres par colorimétrie	72
2.4.8.2. Chromatographie sur couche mince (CCM)	74

2.5. MODIFICATION CHIMIQUE DES PECTINES	75
2.5.1. Hydrophobisation de la pectine industrielle par amidation	76
2.5.1.1. Conversion de la pectine en forme acide	76
2.5.1.2. Amidation	76
2.5.1.3. Détermination du degré d'amidation	76
2.5.1.4. Etude de la cinétique d'amidation	77
2.5.1.5. Etude de l'effet du rapport pectine / amine	77
2.5.2. Amidation des pectines extraites et de la pectine de pomme	77
2.5.3. Caractérisations physicochimiques des N-alkylpectinamides	78
2.5.3.1. Caractérisation par spectroscopie FTIR	78
2.5.3.2. Solubilité des N-alkylpectinamides dans l'eau	78
2.5.3.3. Etude du comportement des dérivés N-dodecylpectinamides en solution aqueuse par viscosimétrie capillaire	78
2.5.3.4. Mesure de la tension de surface (γ)	79
2.5.3.5. Mesure de la tension interfaciale	80
2.5.3.6. Pouvoir émulsifiant	80
2.5.3.7. Stabilité de l'émulsion	81
2.6. VALORISATION DES DERIVES N-ALKYLPECTINAMIDES	81
2.6.1. Utilisation de la pectine native comme biosorbant	82
2.6.1.1. Etude de la cinétique de biosorption	82
2.6.1.2. Effet de la teneur en biosorbant	83
2.6.1.3. Effet du pH sur la biosorption	83
2.6.1.4. Effet du degré d'estérification sur la biosorption	83
2.6.2. N-dodecylpectinamide pour la biosorption des ions du cuivre	83
3. RESULTATS ET DISCUSSIONS	84
3.1. INTRODUCTION	84
3.2. CARACTERISATIONS PHYSICOCHIMIQUES DES PECTINES	84
3.2.1. Aspect général	84
3.2.2. Rendement en pectine extraite	85
3.2.3. Analyse par spectroscopie infrarouge (FTIR)	86
3.2.4. Caractérisation des composés non saccharidiques des substances pectiques	89
3.2.5. Caractérisation des contenus saccharidiques	92
3.2.5.1. Dosage des sucres par colorimétrie	92
3.2.5.2. Chromatographie sur couche mince	94
3.2.6. Caractérisation moléculaire des substances pectiques	96
3.3. OPTIMISATION DES PARAMETRES D'EXTRACTION PAR PLAN D'EXPERIENCES	98
3.3.1. Analyse des résultats	101
3.3.1.1. Effets des facteurs sur le rendement	101
3.3.1.2. Effets des facteurs sur le degré d'estérification	102
3.3.1.3. Optimisation des réponses	104
3.4. EXTRACTION DES PECTINES PAR INDUCTION ELECTROMAGNETIQUE	105
3.4.1. Effet du mode du chauffage sur le rendement et le degré d'estérification	105
3.4.2. Effet de la puissance d'induction électromagnétique sur le rendement d'extraction	108

3.4.3. Etude comparative entre la pectine extraite par chauffage conventionnel et la pectine extraite par chauffage à induction électromagnétique	110
3.5. MODIFICATION CHIMIQUE DES PECTINES	111
3.5.1. Caractérisation des N-alkylpectinamides dérivés de la pectine industrielle	112
3.5.1.1. Caractérisation par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier	112
3.5.1.2. Détermination du degré d'amidation (DA%)	114
3.5.1.3. Etude cinétique de la réaction d'amidation	115
3.5.1.4. Effet du rapport massique pectine/amine	117
3.5.1.5. Solubilité des N-alkylpectinamides dans l'eau	117
3.5.2. Caractérisation des N-dodecylpectinamides des pectines extraites et de la pectine de pomme	119
3.5.3. Comportement des dérivés N-dodecylpectinamides en solutions aqueuses	121
3.5.4. Mesures de la tension de surface : Estimation de la concentration micellaire critique (CMC)	123
3.5.5. Mesures de la tension interfaciale	128
3.5.6. Propriétés émulsifiantes	129
3.5.7. Conclusion	131
3.6. BIOSORPTION DU CUIVRE SUR N-DODECYLPECTINAMIDES	131
3.6.1. Effet de la teneur en biosorbant sur la cinétique de la biosorption du cuivre sur la pectine de pomme	132
3.6.2. Effet du pH sur la cinétique de la biosorption du cuivre sur la pectine de pomme	134
3.6.3. Effet du degré d'estérification sur la cinétique de la biosorption	136
3.6.4. Biosorption des ions du cuivre sur N-dodecylpectinamide	137
3.6.5. Conclusion	138
CONCLUSION GENERALE	140
SYMBOLES ET ABREVIATIONS	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1	Vue perspective d'une paroi ligneuse	11
Figure 1.2	Schéma représentatif de la localisation de pectine dans la paroi cellulaire	12
Figure 1.3	Les unités principales de la molécule de pectine	13
Figure 1.4	Schéma de la structure principale de la pectine	13
Figure 1.5	Modèle de structure chimique d'une pectine	14
Figure 1.6	Illustration schématique des zones lisses et hérissées de la pectine	14
Figure 1.7	Mécanisme de gélification des pectines HM	23
Figure 1.8	Mécanisme de gélification des pectines FM	24
Figure 1.9	Modèle de la boîte à œuf	25
Figure 1.10	Différentes structures des polymères amphiphiles : a : à bloc ; b : en peigne ; c : alterné ; d : étoile ; e : dendrimère	31
Figure 1.11	Schéma d'une molécule tensioactive	35
Figure 1.12	Organisation des tensioactifs en solutions	36
Figure 1.13	Détermination de la CMC	37
Figure 2.1	Le citronnier	49
Figure 2.2	Partie de citron utilisée : A : <i>localisation des albédos</i> , B: <i>albédos du citron coupés en petits morceaux</i>	50
Figure 2.3	Arbre du citrange	51
Figure 2.4	Fruits de citrange utilisés dans cette étude	51
Figure 2.5	Partie de betterave utilisée : A : <i>Pulpes de la betterave</i>	52
Figure 2.6	Différentes étapes de traitements chimiques des matières végétales	57
Figure 2.7	Protocole d'extraction de la pectine du citron (Pc) par voie acide	59
Figure 2.8	Protocole d'extraction de la pectine de betterave (Pb)	61
Figure 2.9	Dispositif d'extraction par induction électromagnétique	66
Figure 2.10	Viscosimètre capillaire type Ubbelohde	72
Figure 2.11	Couleurs des complexes formés lors de dosage des sucres	73
Figure 3.1	Effet de l'origine de la matière première sur le rendement en pectine	85
Figure 3.2	Spectres infrarouge enregistrés pour les pectines de citron (Pc), de citrange (Pct), de betterave (Pb) et de pomme (Pp)	87
Figure 3.3	Composition (% massique) en sucres des pectines extraites : Pc, Pct, Pb et Pp	93
Figure 3.4	Schématisation de la plaque CCM contenant la composition osidique des pectines hydrolysées	95
Figure 3.5	Profil de séparation par Chromatographie sur Couche Mince des pectines hydrolysées	95

Figure 3.6	Variation de la viscosité spécifique en fonction de la concentration pour les pectines Pi, Pct, Pp, Pb et Pc	97
Figure 3.7	Diagramme de Pareto des effets pour la réponse R	100
Figure 3.8	Diagramme de Pareto des effets pour la réponse DE	100
Figure 3.9	Spectres représentatifs de l'influence de température sur la qualité de pectine	103
Figure 3.10	Spectres FTIR représentatifs de l'influence du temps sur la qualité de pectine	104
Figure 3.11	Diagramme d'optimisations des réponses	105
Figure 3.12	Evolution du rendement et du degré d'estérification des pectines extraites par chauffage à induction électromagnétique	107
Figure 3.13	Evolution du rendement en pectine du citrange extraite par chauffage à induction électromagnétique en fonction de la puissance	109
Figure 3.14	Composition chimique de la pectine extraite par chauffage conventionnel et la pectine extraite par chauffage à induction électromagnétique	110
Figure 3.15	Spectres FTIR de la Pi et ces dérivés N-alkylpectinamides	112
Figure 3.16	Variation du degré d'amidation en fonction de la longueur de la chaîne hydrocarbonée	114
Figure 3.17	Variation du degré d'amidation en fonction du temps et de la température	116
Figure 3.18	Influence du rapport pectine/amine sur le degré d'amidation	117
Figure 3.19	Test de solubilité des N-alkylpectinamides	118
Figure 3.20	Spectres FTIR des pectines modifiées : N-Pc-C ₁₂ , N-Pb-C ₁₂ et N-Pp-C ₁₂	120
Figure 3.21	Profil de la variation de la viscosité réduite en fonction de la concentration en polymère	121
Figure 3.22	Profil de la tension de surface de Pi et N-Pi-C ₁₂	124
Figure 3.23	Profil de la tension de surface de Pb et N-Pb-C ₁₂	124
Figure 3.24	Profil de la tension de surface de Pc et N-Pc-C ₁₂	125
Figure 3.25	Profil de la tension de surface de Pp et N-Pp-C ₁₂	125
Figure 3.26	Evolution de la tension de surface en fonction de Log C	127
Figure 3.27	Différentes phases obtenues du test pouvoir émulsifiant	129
Figure 3.28	Influence de la teneur en biosorbant sur la cinétique de biosorption. a : évolution de la concentration résiduelle de Cu(II) en fonction du temps. b : Capacité d'élimination du Cu(II) en fonction du temps	133
Figure 3.29	Effet du pH sur la cinétique de biosorption des ions Cu(II) sur la pectine de pomme	135
Figure 3.30	Effet du degré d'estérification sur la cinétique de biosorption de Cu(II) sur la pectine de citrange	137
Figure 3.31	Cinétique de biosorption du cuivre Cu(II) sur la pectine de pomme et son dérivé N-Pp-C ₁₂	138

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1	Teneur en substances pectiques de quelques végétaux	18
Tableau 1.2	Masses molaires moyennes mesurées pour différentes pectines	20
Tableau 1.3	Comparaison entre les polymères amphiphiles et leurs analogues moléculaires	34
Tableau 2.1	Produits chimiques, solvants et réactifs	53
Tableau 2.2	Définition des facteurs et leurs niveaux	63
Tableau 2.3	Définition des différents niveaux des variables de la matrice d'expérience	64
Tableau 2.4	Temps d'extraction nécessaire pour atteindre 80°C correspondant à chaque niveau	67
Tableau 3.1	Caractéristiques spectrales des pectines	88
Tableau 3.2	Composition non saccharidique des pectines	89
Tableau 3.3	Résultats des mesures viscosimétriques	97
Tableau 3.4	Matrice d'expériences	99
Tableau 3.5	Résultats des rendements et des degrés d'estérification des pectines extraites par deux types du chauffage	106
Tableau 3.6	Pouvoir émulsifiant et stabilité d'émulsion des N-dodecylpectinamides	130

INTRODUCTION GENERALE

Renouvelable et non polluante, la biomasse végétale est une source d'énergie, de matériaux et de produits chimiques. Sa valorisation constitue l'une des voies d'avenir pour participer à la maîtrise des consommations de ressources non renouvelables et lutter contre le changement climatique. Hormis les usages alimentaires, les applications de la biomasse comme carburants et matières premières de la chimie, ont connu un regain d'intérêt au 19ème et au début du 20ème siècle. Ils redeviennent, de nouveau, attractifs avec la hausse du prix du pétrole et la tendance chimie verte. Ainsi, la biomasse est utilisée pour produire des tensioactifs, solvants, fluxants de bitumes, encres, peintures, résines, liants, lubrifiants, produits antigel ... sans oublier les nombreux principes actifs et huiles essentielles utilisées en pharmacie et cosmétique.

Les polysaccharides constituent une part importante de la biomasse. Ils ont suscité un vif intérêt chez les scientifiques depuis une trentaine d'années. Ces macromolécules proviennent de sources différentes telles que les végétaux (cellulose, amidon, pectine..), les animaux (chitine, acide hyaluronique...), les microorganismes (pullulane, dextrane...). Ils sont généralement très hydrophiles, dans un certain nombre de cas hydrosolubles, mais aussi biodégradables et biocompatibles. Ainsi, ils peuvent être utilisés, après des modifications chimiques, pour la production de plastiques biodégradables et de nombreux autres polymères.

La modification chimique de ces polymères hydrophiles par fixation de groupements hydrophobes leur apporte un caractère amphiphile qui leur confère des propriétés physicochimiques nouvelles qui sont reliées d'une part à leur capacité d'auto-organisation en solution aqueuse et d'autre part à leurs propriétés d'adsorption aux interfaces séparant une phase liquide aqueuse d'une phase liquide nettement moins polaire. De nombreuses études ont été consacrées aux

polysaccharides amphiphiles mais qui sont restées souvent centrées sur les propriétés associatives (viscosité, rhéologie...). Elles sont par contre que très peu intéressées à leur comportement à l'interface (souvent abordées au travers des mesures de tension superficielle voire interfaciale).

Dans une problématique générale d'utilisation de polymères hydrosolubles pour diverses applications allant de la récupération assistée des hydrocarbures à la délivrance de principes actifs, notre intérêt s'est porté sur la synthèse de dérivés hydrophobiquement modifiés d'un polysaccharide d'origine végétale qui sont les pectines. Ces polymères glucidiques, d'origine végétale peuvent être des candidats de choix pour le développement d'une chimie dite "verte".

Les pectines sont constituées d'enchainements d'unités d'acide galacturonique selon un mode α (1,4) avec quelques ramifications de courtes chaînes des sucres neutres. En effet, les pectines sont une classe de molécules naturelles et bioactives à la structure complexe dont la variabilité est susceptible d'induire de profondes modifications de l'expression de leurs propriétés biologiques.

L'objectif principal de cette thèse est la synthèse de nouveaux systèmes amphiphiles à base de pectines. Pour développer de tels composés, nous avons centré nos efforts premièrement sur l'extraction de ce polysaccharide à partir de trois sources végétales (Citron, Citrange et Betterave) par voie acide à chaud. Une méthodologie expérimentale basée sur les plans d'expériences a été adoptée pour l'optimisation des paramètres d'extraction. Par la suite, et afin de mieux mener notre étude, un ensemble d'analyses a été effectué visant à déterminer qualitativement et quantitativement ces pectines extraites, dans le but d'avoir une meilleure approche de leurs compositions, leurs masses moléculaires et leurs structures.

Un deuxième objectif visé dans ce travail est la clarification des relations qui existent entre les caractéristiques structurales d'une famille des pectines amphiphiles et leurs propriétés émulsifiantes. Ces macro-amphiphiles sont obtenues par substitution des groupements hydrocarbonés aliphatiques le long des chaînes du polysaccharide. Il s'agit d'une amidation, en milieu diphasique (dans laquelle l'amine est en solution aqueuse et la pectine dispersée sous agitation) des pectines avec fixation des groupements très hydrophobes (C_8 , C_{12} ,

C₁₈) des amines primaires. Les résultats obtenus montrent que les propriétés émulsifiantes de ces dérivés peuvent être ajustées en contrôlant le taux de substitution des macromolécules. L'adsorption aux interfaces des pectines modifiées est mise en évidence par des mesures de tension de surface et interfaciale.

Enfin, en plus des propriétés tensioactives et émulsifiantes des pectines modifiées, une attention particulière a été portée sur la possibilité d'utilisation de ces pectines amidées comme des biosorbants pour la fixation d'ions métalliques du cuivre Cu(II). Il faut signaler que l'utilisation des dérivés amphiphiles des pectines dans le domaine de la biosorption n'a pas été étudiée auparavant.

Ce manuscrit s'articule autour de trois parties :

Le premier chapitre rassemble les données disponibles dans la littérature concernant les substances pectiques : définition, structure, propriétés. Nous décrivons ensuite les différentes voies de synthèses développées pour obtenir les dérivés amphiphiles. Enfin, nous dressons le bilan des modifications chimiques réalisées sur les polysaccharides et plus particulièrement sur les substances pectiques.

Le second chapitre est consacré aux descriptions des matériels, protocoles et méthodes utilisés pour réaliser les différentes synthèses, analyses et mesures des propriétés réalisées au cours de ces travaux.

Le troisième chapitre rassemble tous les résultats obtenus lors de ce travail. Les résultats sont regroupés en trois parties : les caractéristiques et les propriétés physicochimiques des substances pectiques extraites à partir des différentes sources végétales par voie acide à chaud et sous divers paramètres opératoires sont données. Ensuite, les résultats relatifs à la synthèse des dérivés des pectines amphiphiles par amidation ainsi que leurs propriétés tensioactives et émulsifiantes sont décrites. Enfin, nous exposerons les principaux résultats relatifs à l'utilisation des pectines et leurs dérivés N-alkylpectinamides comme biosorbants pour la fixation des ions métalliques du cuivre.

Nous terminerons enfin ce travail par une conclusion générale.

CHAPITRE 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. INTRODUCTION

Les pectines sont une classe complexe de phytopolysaccharides qui entrent dans la composition des parois cellulaires végétales. Ces molécules sont très utilisées par les industries agro-alimentaires comme des additifs alimentaires et, à ce titre, elles sont enregistrées sous le n° E440. On estime à environ 5 grammes, la quantité de pectines consommées chaque jour dans un régime alimentaire occidental moyen [1]. La consommation annuelle mondiale de pectines est estimée à 45 millions de kg avec un marché situé aux environs de 400 millions d'euros [2]. Bien plus que de simples additifs alimentaires, les propriétés biologiques des pectines tant dans le domaine thérapeutique en santé humaine que dans celui de l'organisation et de l'évolution des structures pariétales en physiologie végétale, font d'elles une classe de macromolécules remarquables. La relation étroite entre leur structure et leur fonction a motivé de nombreuses études et explique le nombre considérable de références bibliographiques à leur sujet.

Il convient donc dans un premier temps de dresser le bilan des données actuellement disponibles dans la littérature sur les pectines en considérant plusieurs aspects complémentaires : leur localisation, leur structure fine, les méthodologies permettant leur extraction et leur caractérisation chimique, et enfin leur valorisation dans le domaine industriel alimentaire, thérapeutique et cosmétique.

En deuxième point, ce chapitre sera limité aux polysaccharides modifiés et l'accent sera mis plus particulièrement sur les polysaccharides modifiés en dérivés amphiphiles.

1.2. ORGANISATION DE LA PAROI VEGETALE

La paroi végétale est un empilement de plusieurs couches constituées de cellulose, d'hémicelluloses, de pectines et/ou de lignine dont les proportions dépendent de l'organisme producteur du tissu. Cette paroi pecto-cellulosique confère à la cellule des propriétés biomécaniques de rigidité et d'élasticité, qui peuvent apparaître contradictoires. En effet, d'une part la structure est rigide permettant le maintien de l'organisme et d'autre part l'enveloppe est souple et extensible assurant la croissance des cellules [3].

Du point de vue anatomique, certaines caractéristiques permettent de définir un modèle général de la paroi végétale (Figure 1.1), se décomposant en trois zones distinctes, de l'extérieur vers l'intérieur de la cellule :

- ✓ **La lamelle moyenne** : partie commune située entre deux cellules voisines dont le rôle est d'assurer la cohésion entre les cellules. Son épaisseur varie de 0,2 à 1 μm . La lamelle moyenne est riche en pectine et dépourvue de cellulose.
- ✓ **La paroi primaire** : la plus mince (0,1-0,2 μm) constitue la seule enveloppe fibrillaire des cellules en croissance et montre une grande plasticité. Elle présente une structure bi-phasique, où les micro-fibrilles de cellulose sont dispersées dans une matrice amorphe fortement hydratée composée de substances pectiques, d'hémicelluloses et de protéines. La paroi cellulaire primaire est composée de 9-25% de cellulose, de 25-50% d'hémicellulose, 10-35% de pectines et 10% de protéines [4].
- ✓ **La paroi secondaire** : très épaisse (1 à 5 μm) est ajoutée à la paroi primaire lorsque la cellule a cessé de croître. Elle est constituée d'un réseau fibrillaire de cellulose cristalline et d'hémicellulose. En fonction de l'orientation des fibrilles de cellulose, trois régions distinctes sont définies (S1, S2, S3). Ces fibrilles de cellulose ont une orientation déterminée qui change rythmiquement et varie d'une strate à l'autre.

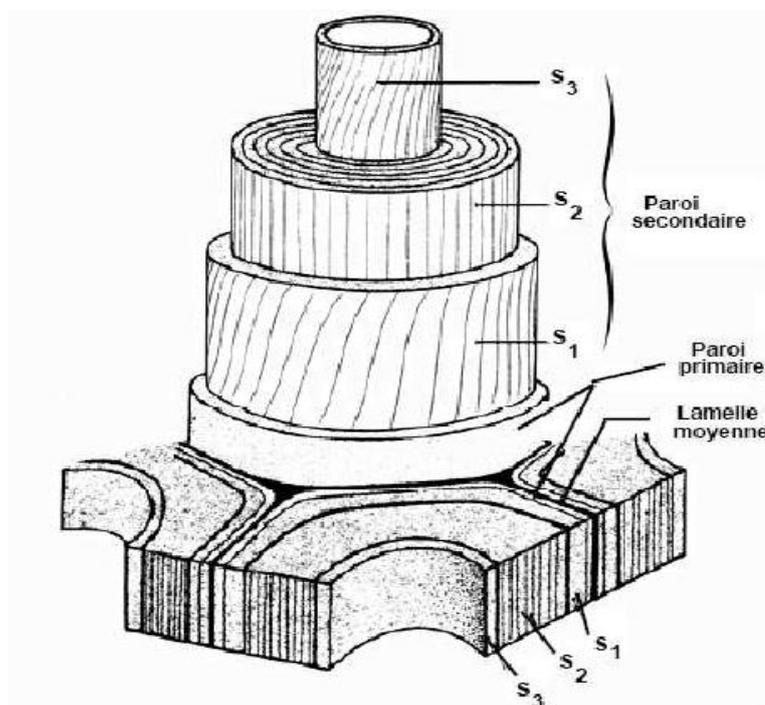


Figure 1.1 : Vue perspective d'une paroi ligneuse [6]

La paroi cellulaire végétale est donc formée majoritairement de polysaccharides dont la structure et les relations intermoléculaires peuvent expliquer cinq grandes fonctions :

- (1) elle assure l'extension du réseau intercellulaire,
- (2) elle contribue à l'adhésion des cellules dans la lamelle moyenne,
- (3) elle limite la porosité de la paroi cellulaire,
- (4) elle contribue au maintien de l'équilibre physico-chimique du symplaste,
- (5) elle assure la transduction de signaux extracellulaires vers le milieu intracellulaire à travers la libération d'oligosaccharides bioactifs [5].

1.3. LES PECTINES

1.3.1. Localisation

Les substances pectiques sont une grande famille des éléments structuraux des parois cellulaires primaires et des régions intercellulaires des plantes supérieures où elles fonctionnent comme agents d'hydratation et matières de cimentage du réseau cellulosique [7]. Elles sont majoritairement présentes dans la lamelle moyenne et la paroi primaire comme le montre la figure 1.2. Elles sont

généralement produites pendant les étapes initiales de la croissance des cellules primaires et constituent d'environ un tiers des substances sèches des parois de la cellule. La concentration la plus élevée des pectines dans la paroi des cellules est trouvée dans la lamelle moyenne, avec une diminution progressive de la paroi primaire des cellules vers la membrane plasmique [7].

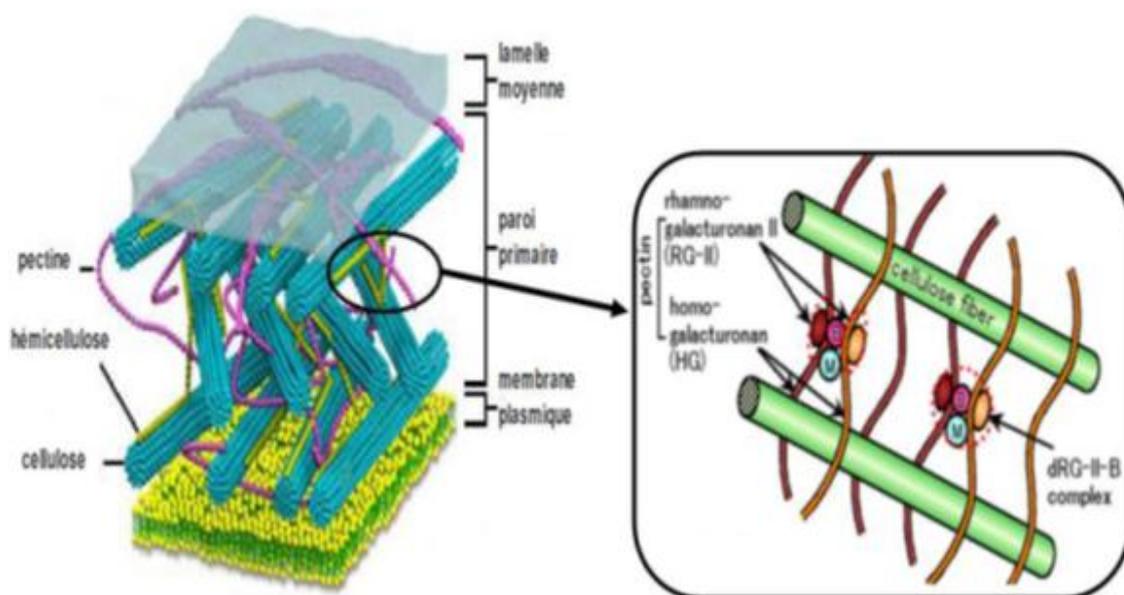


Figure 1.2 : Schéma représentatif de la localisation de pectine dans la paroi cellulaire [8]

1.3.2. Structure chimique des substances pectiques

La pectine est un hétéropolysaccharide complexe avec une composition variable selon l'origine de la matière première et les méthodes d'extraction [9], 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 [10].

Les pectines ont pour structure de base un enchaînement linéaire d'unités acide D-galacturonique (Figure 1.3) (ou Homogalacturonane (**HG**)) reliées entre elles par des liaisons glycosidiques α (1 \rightarrow 4), plus ou moins estérifiées (méthylés) et/ou partiellement acétylés en O-2 ou O-3 (Figure 1.4). La chaîne principale peut être interrompue par des enchaînements alternés de résidus rhamnose et acide

D-galacturonique rhamnogalacturonanes (**RG**) [11, 12]. Ces derniers enchaînements peuvent être ramifiés par des chaînes latérales riches en unités arabinose et galactose (arabinanes, galactanes et arabinogalactanes) [13, 14]. Un schéma récent [15] de la structure de la pectine est présenté dans la figure 1.5 où les différents constituants de la pectine figurent.

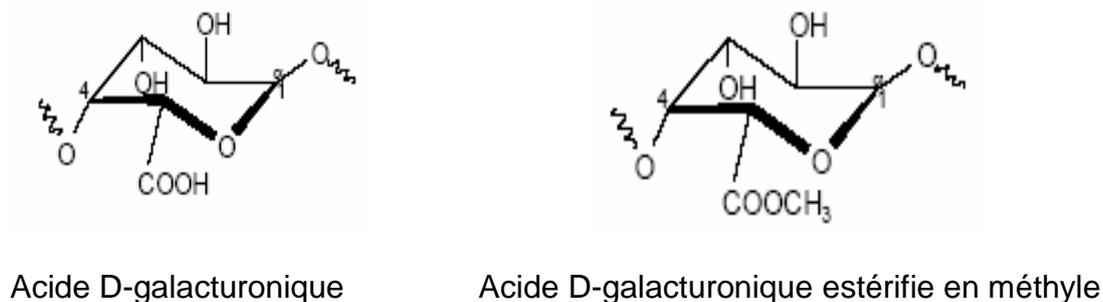


Figure 1.3 : Les unités principales de la molécule de pectine [16]

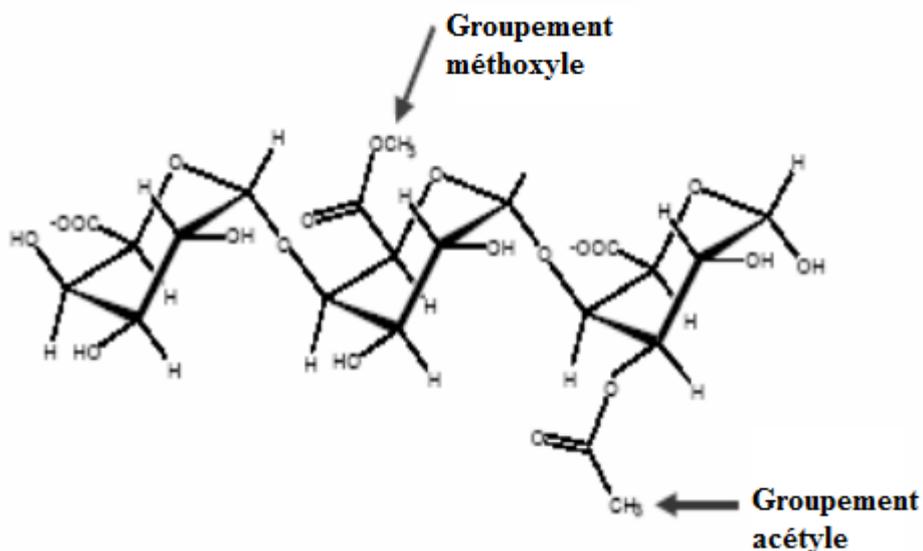


Figure 1.4 : Schéma de la structure principale de la pectine [17]

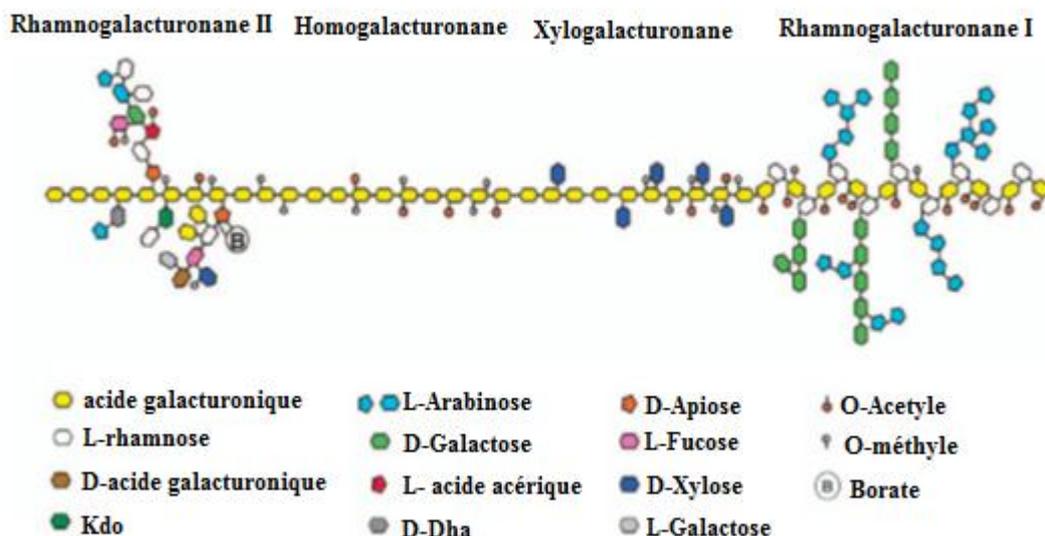


Figure 1.5 : Modèle de structure chimique d'une pectine [15]

Les zones à taux élevé de sucres neutres (L-arabinose, D-galactose, D-xylose, D-glucose, D-mannose et L-fucose) et D-acide glucuronique sont appelées «zones hérissées», alors que les zones constituées uniquement d'unités acide galacturonique sont dites « zones lisses » comme le montre la figure 1.6 [18, 19]. Les unités acides galacturoniques présentes dans les zones homogalacturonique et rhamnogalacturonique peuvent être méthyle-estérifiées à la position 6, et acétylées aux positions 2 et/ou 3 [13]. Les fonctions acides sont souvent estérifiées par des groupements méthyles ou salifiées par des ions monovalents ou divalents tels que K^+ , Na^+ et Ca^{2+} [11, 12].

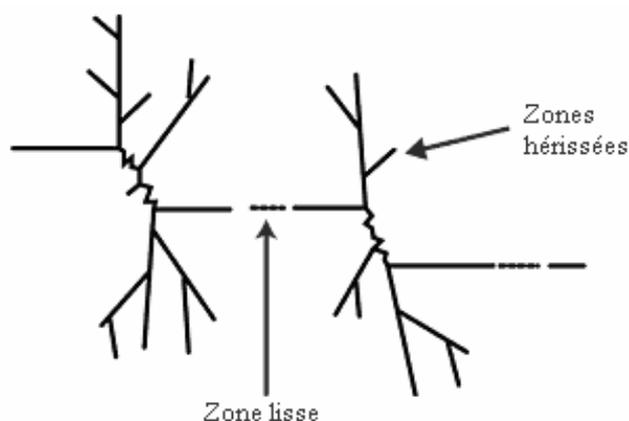


Figure 1.6 : Illustration schématique des zones lisses et hérissées de la pectine [19]

1.3.2.1. La chaîne principale

Le squelette élémentaire de la pectine est composé majoritairement d'unités (200-1000) acide D-galacturonique (D-GalA) (également désigné sous le nom d'acide polygalacturonique ou d'acide pectique) reliées par des liaisons glycosidiques α -(1→4) ; l'homogalacturonane peut également être substitué par des unités de sucres neutres ou des chaînes courtes. Le xylogalacturonane est un galacturonane sur lequel les unités acides galacturoniques sont substituées en position O-2 et/ou O-3 par des unités xylose ou de courtes chaînes latérales des xyloses liées en 2 [13, 20].

Le deuxième dispositif fondamental de la structure de pectine est la présence récurrente de faible proportion de rhamnose (typiquement 1 - 4%) dans la chaîne principale. Des unités acides D-galacturoniques liées en α -(1→4) sont interrompues par l'insertion des résidus rhamnopyranose liées en (1→2) donnant un RG type I. Un autre type de rhamnogalacturonane RG-II, qui montre une structure extrêmement complexe avec au moins 12 monomères différents, est un composant moins fréquent dans les parois cellulaires des plantes [13]. On rencontre généralement les RG-II dans les jus de fruits [21].

1.3.2.2. Les chaînes latérales

Les chaînes de sucres neutres sont généralement associées au RG -I. Les sucres les plus généralement trouvés sont le galactose et l'arabinose, qui forment des chaînes complexes de divers degrés de polymérisation. Les chaînes latérales sont habituellement liées aux unités de rhamnose en position O-4, et parfois en position O-3. La proportion des résidus de rhamnose branchés est variable: de 10-50% dans la carotte, 30% dans les coques de pois, 60% dans la betterave, et 25-100% dans la pomme. Parmi les sucres neutres, les arabinanes et les arabinogalactanes (de type I et II) peuvent également être distingués [13].

Les arabinanes constituent les chaînes latérales les plus répandues des pectines. Elles présentent une composition glucidique homogène et moins complexe. En effet, elles sont constituées uniquement d'unités α -L-arabinofuranose, liées entre elles par des liaisons α -(1→5), et qui peuvent être substituées en position O-3 et/ou O-2 par un autre α -L-arabinofuranose

Si les galactanes pures sont peu répandues dans la nature, les parois végétales contiennent des galactanes plus au moins ramifiées par des résidus arabinose appelées arabinogalactanes. D'un point de vue structural, on en distingue deux classes. D'une part, les arabinogalactanes de type I, naturellement associées au squelette pectique, notamment aux rhamnogalacturonanes. Elles sont constituées de chaînes linéaires d'unités D-galactopyranose liées en β -(1→4), sur lesquelles sont attachées en position O-3 des unités D-galactopyranose et des unités L-arabinofuranose liées en (1→5) [13, 22, 23].

D'autre part, les arabinogalactanes de type II, plus répandues dans la nature, sont constitués d'une chaîne principale β -(1→3)-galactopyranose sur laquelle peuvent se greffer, en position O-6, des chaînes latérales. Ces chaînes sont formées de courtes chaînes d'unités galactopyranose liées en β -(1→6) et arabinofuranose liées en α -(1→5). Ces chaînes latérales, elles aussi, peuvent être substituées soit par des résidus de galactose ou encore des unités arabinose d'où leur complexité structurale [22].

1.3.2.3. Substituants non glucidiques

La distribution des groupements carboxyliques libres le long des molécules de pectine et celle des molécules avec différents degrés d'estérification dans une préparation spécifique de pectine a été étudiée par diverses techniques [10]. La méthyle-estérification des groupements carboxyliques et l'acétyle-estérification des fonctions alcooliques sont deux substitutions principales naturellement présentes dans les substances pectiques. Les pectines commerciales peuvent également être amidées par des modifications chimiques [13, 24].

Les groupements carboxyliques sont partiellement méthyle-estérifiés, et le degré de méthylation (DM; le pourcentage des groupements carboxyliques estérifiés par le méthanol) permet aux pectines d'être classifiées. Si plus de 50% des groupements carboxyliques sont méthylés, les pectines sont dites hautement méthylées (HM); et si moins de 50% sont méthylés, ce sont des pectines faiblement méthylées (FM). Dans la nature, les pectines sont le plus souvent hautement méthylées [13, 25].

Industriellement, les pectines FM sont généralement obtenues par dés-estérification acide contrôlée mais, d'autres moyens, y compris un traitement alcalin ou enzymatique peuvent également être employés. Ces traitements mènent aux pectines avec distribution aléatoire des groupements carboxyliques libres. Le mode de distribution des groupements carboxyliques libres et estérifiés a un effet profond sur les propriétés de gélification. La méthode utilisant l'ammoniaque produit un type différent de pectines FM dans lesquelles quelques groupements carboxyliques ont été amidés. Le degré d'amidation (DA) est défini comme le nombre d'unités acides galacturoniques amidés. Les pectines FM amidées résultantes présentent des propriétés de gélification particulières [13].

Des fonctions alcooliques secondaires des résidus acides galacturoniques peuvent également être acétyle-estérifiées, mais la position précise (sur O-2 et/ou O-3) des groupements acétyle est toujours inconnu [13]. Le degré d'acétylation (DAc) est défini comme le nombre de groupements d'acétyle pour chaque 100 unité d'acides galacturoniques. Le DAc est généralement faible pour les pectines natives, mais des pectines avec un haut DAc tel que les pectines de betterave à sucre, de poire, de carotte, et de pomme de terre, ont été rapportées. La présence des unités d'acide férulique estérifié, d'arabinoses et de galactoses dans les chaînes latérales de pectines a été observée dans la famille de *Chenopodiacea* (betterave à sucre, épinards, et quinoa) [26]. Cet acide phénolique a été montré pour être lié sur les résidus d'arabinose en O-2 et/ou de galactose en O-6 [27].

1.3.3. Sources des pectines

La pectine occupe une place particulière parmi les polysaccharides des membranes cellulaires végétales et se différencie surtout par sa structure et ses propriétés des autres polysaccharides constitutifs des membranes cellulaires. Comme l'amidon et la cellulose, la pectine est un carbohydrate structural présent dans toutes les plantes. Seules les céréales n'en comportent pas [25].

Même si les pectines sont très largement répandues dans les tissus végétaux où elles sont un ciment intercellulaire dans la lamelle moyenne et un liant intermoléculaire dans la paroi primaire, le nombre de sources naturelles qui peuvent être utilisées pour des usages industriels est limité. Les propriétés physico-chimiques des pectines - base de leur utilisation industrielle - dépendent

très largement de leurs caractéristiques structurales qui elles-mêmes sont expliquées par la plante qui est à l'origine de leur synthèse. C'est pourquoi, la détection de grandes quantités de pectines dans une source végétale n'est pas un argument suffisant pour que ces dernières puissent être valorisées à une échelle industrielle. Le cas des pectines de betteraves dont l'acétylation des fonctions alcools secondaires des acides galacturoniques s'oppose à la gélification en est une parfaite illustration. Les marcs de pomme (teneur en pectines 15-20%) et les écorces des agrumes (30-35%) constituent les principales sources des pectines industrielles [10, 25]. Le Tableau 1.1, précise la teneur en substances pectiques de quelques végétaux.

Tableau 1.1 : Teneur en substances pectiques de quelques végétaux [25, 28]

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
Fibre de coton	0,7
Pépins de citron	6,0
Ecorce de citron	32
Pulpe de citron	25

1.3.4. Propriétés physico-chimiques

1.3.4.1. Masse moléculaire

La détermination de la masse moléculaire des pectines est une donnée difficile à mesurer et ceci pour trois raisons [13] :

- Les pectines sont par définition des molécules hétérogènes ;
- Une fois extraites et purifiées, elles deviennent parfois insolubles dans l'eau qui est pourtant le solvant qui a servi à leur extraction ;
- Molécules polyanioniques par définition, les pectines forment -à la suite d'interactions électrostatiques- des agrégats multimoléculaires.

La détermination de la masse moléculaire des pectines doit donc être effectuée par plusieurs méthodes physico-chimiques complémentaires, dont la convergence des résultats permettra d'établir une valeur significative de la masse moyenne des pectines.

Basée sur la viscosimétrie, la masse moléculaire moyenne de la pectine commerciale varie entre 50 000 et 150 000 daltons [10]. Owens et al. [13] ont établi en 1946 la première équation de Mark-Houwink-Sakurada pour des pectines dans une solution de NaCl à 0,155M. Cette équation s'écrit :

$$[\eta] = 1,4 \times 10^{-6} M_v^{1,34} \quad (1.1)$$

Où $[\eta]$ est la viscosité intrinsèque en dLg^{-1} et M_v est la masse moléculaire moyenne en viscosité.

Des développements récents dans la chromatographie connue sous l'appellation anglaise Size-Exclusion Chromatography (SEC) couplée à la diffusion de la lumière laser ou la détection viscosimétrique, mènent à une amélioration sensible des caractérisations du poids moléculaire des pectines, bien que les phénomènes d'agrégation perturbent toujours les résultats.

Les valeurs de masses moléculaires, qui s'étendent de quelques dizaines à plusieurs centaines de kilodaltons (kDa), dépendent non seulement de la méthode employée, mais également de l'origine de la pectine et des moyens de l'extraction (Tableau 1.2).

Tableau 1.2 : Masses molaires moyennes mesurées pour différentes pectines

Origine	M_w (kDa)	Technique analytique	Source
Betterave	10 à 25	SEC	Courtois et al. [29]
Pomme	70	Diffusion de la lumière	Malovikova et al. [30]
Pomme	34,8	SEC	Malovikova et al. [30]
Pomme	5330	SEC – MALLS*	Ralet et al.[13]
Citron	21 à 250	Diffusion de la lumière	Ousalem et al. [31]
Citron	32 à 336	SEC	Ousalem et al. [31]
Citron	178	SEC- viscosimétrie	Ralet et al.[13]
Orange	84,5 à 102,8	Diffusion de la lumière	Kar et Arslan. [32]

* MALLS: Multi-Angle Laser Light Scattering.

1.3.4.2. Solubilité et précipitation

La pectine doit être complètement dissoute pour assurer son utilisation entière. La dissolution complète présume une dispersion sans formation des agrégats. La pectine, comme d'autres agents gélifiants, ne se dissoudra pas dans un système où les conditions de gélification existent [10]. Les pectines sont des hydrocolloïdes c'est-à-dire des polysaccharides qui, par définition, sont solubles ou solubilisables dans et par l'eau. Cette propriété est à la base même de leur valorisation dans le secteur agro-alimentaire. Toutefois, lors de la solubilisation d'un polymère, il y a compétition entre les interactions macromolécule / solvant et les interactions macromolécule / macromolécule [33].

Les pectines se comportent comme des polyélectrolytes 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 groupements carboxyles mais aussi au degré de polymérisation et à leur distribution. En effet, l'ionisation des fonctions carboxyliques permet l'individualisation des chaînes grâce aux répulsions électrostatiques entre les charges et donc la solubilisation du polymère. 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 [33]. Dans un milieu aqueux, il se produit d'abord un gonflement des chaînes, puis celles-ci s'individualisent et la solubilisation proprement dite aura lieu. Ce processus se traduit par une augmentation de la viscosité du milieu [34].

La solubilité des pectines 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 méthylester le long de la chaîne 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 supérieur à 3, les pectines sont sous leur forme ionique [33].

Les substances pectiques sont par ailleurs insolubles dans les solvants organiques tels que le formamide, le diméthylformamide (DMF) et le diméthylsulfoxyde (DMSO). Elles peuvent être aisément précipitées en présence de solvants organiques (acétone, éthanol, isopropanol), de détergents quaternaires, des cations mono- et multivalents (Na^+ , Ca^{2+} , H^+ , Al^{3+}) et de polymères basiques (protéines et polyamides) [25, 35].

1.3.4.3. Propriétés gélifiantes et stabilisantes

Les substances pectiques peuvent former des gels sous certaines conditions, ces propriétés sont très largement utilisées en industrie agroalimentaire où les pectines sont utilisées comme épaississant des solutions et stabilisant des émulsions [25].

Un gel de pectine peut être considéré comme un système dans lequel le polymère est dans un état entre entièrement dissous et précipité. Dans ce cas, les segments des chaînes de molécule sont joints ensemble par cristallisation limitée

pour former un réseau tridimensionnel dans lequel de l'eau, du sucre et d'autres corps dissous sont tenus ensemble.

Une bonne solubilisation des pectines est la première étape du procédé de gélification. Une fois les pectines sont solubilisées, elles peuvent se gélifier par des associations inter-chaînes. Les nombreux groupements hydroxyles libres, et les fonctions carboxyliques méthylées ou amidées, peuvent mener à l'établissement des liaisons d'hydrogènes, des interactions hydrophobes ou des liens ioniques entre les molécules [13, 36].

Outre un nombre non négligeable de facteurs intrinsèques (masse moléculaire, charge...) et extrinsèques (température, pH, force ionique, nature des ions dans le milieu...), les mécanismes de gélification sont principalement gouvernés par l'appartenance des pectines aux familles HM ou FM [36]. Les modes de formation des gels de pectines HM et FM diffèrent, mais le principe reste le même [25].

➤ **Gels des pectines hautement estérifiées en méthyle (pectines HM)**

La fabrication des confitures est la principale utilisation des pectines industriellement extraites, prenant l'avantage des capacités des pectines HM de former des gels avec des taux élevés de sucre (> 55%) et en milieu acide (pH = 2,5 – 3) [10, 13]. En solution aqueuse à faible teneur en sucre, elles sont facilement solubles. Dans ces conditions, les molécules pectiques sont fortement hydratées [25]. De plus, les fonctions carboxyliques étant dissociées, il apparaît des charges négatives le long de la chaîne. Ces charges de même signe ont donc tendance à repousser les molécules entre-elles. Les zones de jonction de ce type de gels sont formées de segments de deux molécules, ou plus, qui sont stabilisés par une combinaison de liaisons hydrogène et hydrophobe. La gélification a lieu en milieu acide (pH < 3,5), permettant le rapprochement des chaînes de pectines par un écrantage des charges et une augmentation des liaisons hydrogène et en présence de co-soluté (généralement du saccharose) destiné à promouvoir les interactions hydrophobe en diminuant l'activité de l'eau [37]. De plus, la gélification se produit au cours du refroidissement dans les conditions appropriées. La vitesse de gélification augmente si la température ou le pH diminue et si le DM ou la teneur en co-solutés augmente. Les gels obtenus ne sont pas thermoréversibles [33, 37, 38]. Ce comportement des pectines HM est

utilisé dans l'industrie des confitures et gelées. La figure 1.7, montre les deux types d'interactions prédominantes dans le mécanisme de gélification des pectines HM [39].

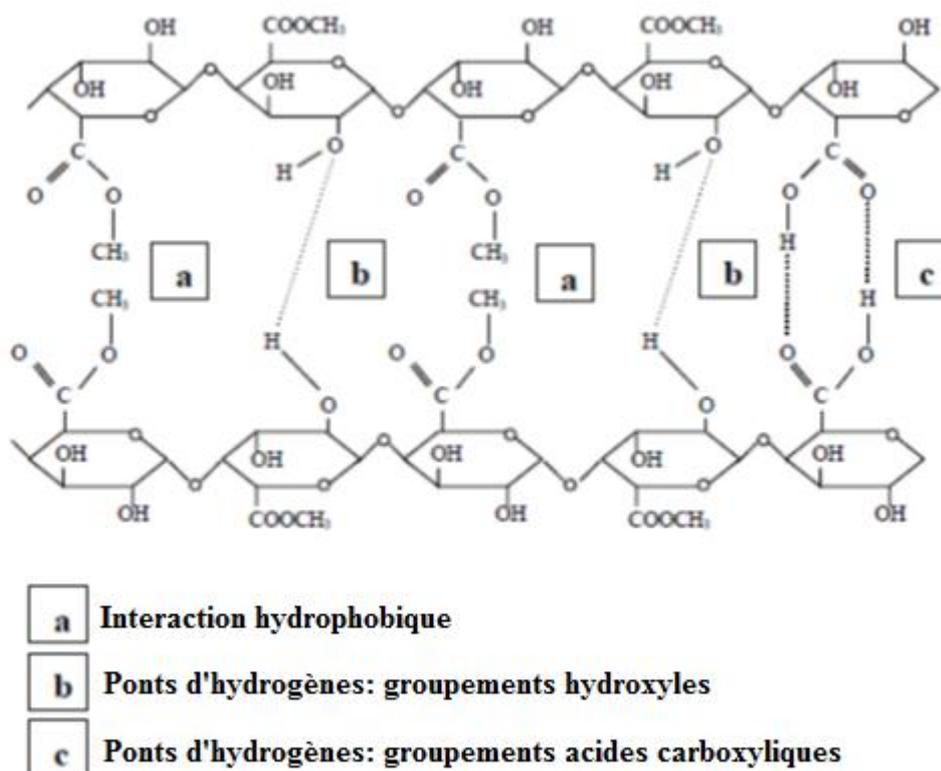


Figure 1.7: Mécanisme de gélification des pectines HM [39]

➤ Gels de pectines faiblement estérifiées en méthyle (pectines FM)

Le mode de gélification des pectines FM est totalement différent de celui des pectines HM. Il requiert la présence d'ions divalents (le calcium pour les gels alimentaires) et conduit à des gels qui peuvent être thermoréversibles. Une augmentation de la température se traduit par un affaiblissement des zones de jonctions et une diminution de la force du gel. La gamme de pH de gélification est large et comprise entre 2 et 6 [13].

Le pouvoir de gélification augmente avec la diminution du DM [24]. Les pH influencent la texture du gel; quand le pH est en dessous de 3,5 (pKa d'acide galacturonique), il y a une prédominance des groupements acides non dissociés,

qui mènent à la prédominance des liaisons d'hydrogène dans le réseau. Ceci donne un réseau plus rigide et mécaniquement irréversible. Quand le pH est au-dessus de 3,5, il y a une prédominance des groupements acides ionisés, qui favorise la fixation des ions de calcium, et ceci mène à la formation d'un gel moins rigide et réversible au cisaillement [13]. Le gel rigide de pectine FM ainsi obtenu est le résultat des interactions entre les groupements carboxyles libres et les ions du calcium comme le montre la figure 1.8. [40] qui forment des ponts entre les molécules formant une structure originale dite en « boîte à œufs » décrite dans la figure 1.9 [41, 42]. Une telle structure ne peut se former que par interaction entre des régions homogalacturoniques suffisamment longues (au minimum 15 à 20 résidus de Gala). La présence de substitutions méthylester et/ou acétyle gênent la formation de cette association et donc limitent la gélification des solutions.

Enfin, pour obtenir un gel plutôt qu'un précipité, la réaction entre le Ca^{2+} et les pectines FM doit être lente [25]. Ce comportement des pectines FM est utilisé dans l'industrie des produits lactés.

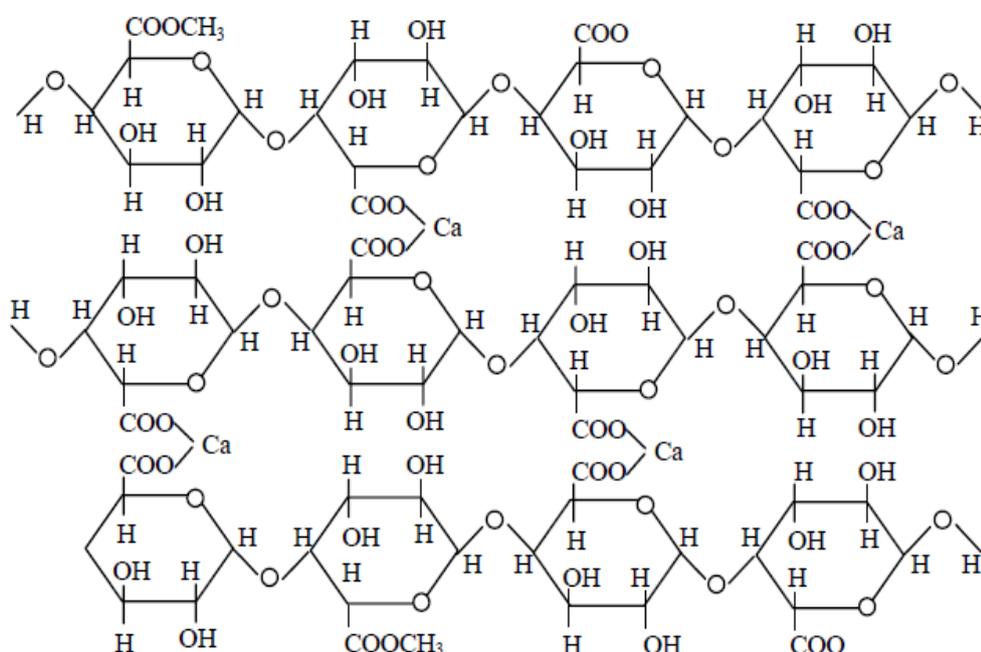


Figure 1.8 : Mécanisme de gélification des pectines FM [39]

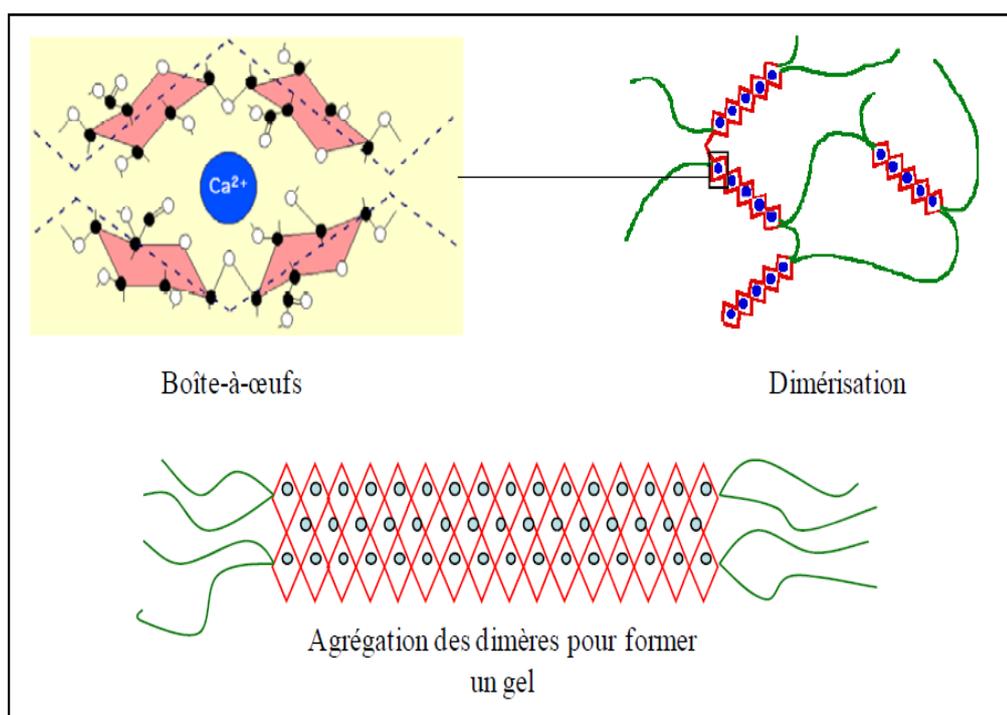


Figure 1.9 : Modèle de la boîte à œuf [41]

1.3.5. Méthodes d'extraction des pectines

Il n'existe pas, à proprement parler, de protocole universel d'extraction des pectines et un grand nombre de pratiques reposent sur un savoir-faire propre à chaque laboratoire. Néanmoins, quelques-unes de ces pratiques sont couramment répertoriées dans la littérature. Les pectines sont des hydrocolloïdes et à ce titre sont fréquemment isolées après extraction en solution aqueuse (à froid ou à chaud) et précipitation à l'alcool [36, 43].

A l'échelle industrielle, les pectines sont extraites à partir des écorces d'agrumes et des marcs de pomme sous des conditions modérément acides, et peuvent être chimiquement deestérifiées. De cette façon, une grande gamme de pectines est produite, ces pectines se différencient essentiellement par le degré de substitution (méthyle ou amide) des groupements carboxyliques [13].

Le schéma classique d'extraction des pectines se compose de plusieurs étapes permettant l'extraction des différents groupements de polysaccharides pectiques [44, 45]. Il se présente comme suit:

- Les pectines fortement méthylées, les acides pectiques ou leurs sels pectates ont une grande affinité pour l'eau, elles sont donc extractibles par l'eau à chaud, généralement à des températures inférieures à 80°C. Des milieux tamponnés sont également utilisés.
- Les pectines faiblement méthylées, acides pectiniques ou pectinates qui sont présentes dans la paroi complexées par des ions calcium, sont extractibles par un agent chélatant du calcium (oxalate d'ammonium, éthylène diamine tétra-acétique (EDTA), 1,2- cyclohexane diamine tétra-acétique (CDTA), hexamétaphosphate...). Ces composés forment avec les pectines des pectates aisément solubles dans l'eau à chaud.
- Les protopectines insolubles dans l'eau et non extraites avec un agent chélatant étant donné leur forte association à la matrice végétale (surtout aux hémicelluloses et protéines), sont extraites par un acide dilué à chaud ou une base diluée à froid. Parmi les acides organiques ou minéraux utilisés, nous pouvons citer l'acide tartrique, l'acide sulfurique, l'acide nitrique, l'acide chlorhydrique. La soude est la base la plus couramment utilisée, mais, elle peut être remplacée par d'autres bases de faible pouvoir extractif telles que KOH, Na₂CO₃...

1.3.5.1. Matière première courante

Actuellement, plusieurs matières premières sont largement utilisées dans les processus industriels de fabrication de pectine, mais, les marcs de pomme restent avec les écorces d'agrumes les matières premières les plus utilisées pour la production commerciale de pectine. Ces deux sources sont suffisamment disponibles comme résidus de production de jus et ont une teneur élevée en pectine avec des propriétés désirables, qui peuvent être libérées par un processus d'extraction relativement simple [11, 28].

Le prétraitement de la matière première pour la production de la pectine inclut le blanchiment et le lavage qui ont comme but l'inhibition de l'activité enzymatique (pectinestérase) et l'élimination des glucosides, des sucres et de l'acide citrique. La matière première doit être rapidement séchée pour éviter le développement des divers mycètes, qui produisent les enzymes pectolytiques ainsi que pour

atteindre une bonne stabilité au cours du stockage et du transport. Les écorces de citron sèches contiennent généralement 20 à 30% de pectine, alors que les marcs de pommes sèches rapportent de 10 à 15% [10].

D'autres sources considérées intéressantes pour la production de pectines sont les pulpes de betterave, capitules de tournesol, fibre de pomme de terre, les écorces d'oignon, le café et le cacao [46]. Ces sources sont non seulement intéressantes en ce qui concerne la qualité et la quantité de pectine qui peut être extraite, mais également à la disponibilité de ce matériel dans des endroits logistiquement favorisés. Pour cette raison, les pulpes de betterave ont toujours attiré l'attention des fabricants de pectine [47].

1.3.5.2. Solubilisation de la pectine

Les pectines sont industriellement extraites à partir des écorces (albédos) de citrons et de marcs de pomme par l'eau chaude et acidifiée (pH habituellement 1,5 à 3,0). Des acides minéraux principalement l'acide nitrique, sont employés (l'acide chlorhydrique, l'acide sulfurique ou l'anhydride sulfureux) [10]. Les conditions d'extraction (pH, température, temps) doivent être optimisées afin d'obtenir de bons rendements de pectine dotée également d'un pouvoir de gélification et d'un DM désirés.

Les conditions d'extraction sont dans la gamme de pH 1,5 à 3,0, 60 à 100°C et 0,5 à 6 h. Le rapport solide/liquide doit être bien défini pour avoir une séparation efficace du mélange liquide/solide. Des rapports de 1/17 pour la pomme et de 1/35 pour le citron sont souvent employés. Les extraits sont rapidement apportés à pH 3 – 4, sur quoi la température est abaissée pour éviter la déméthylation et la dépolymérisation de pectine [13].

1.3.5.3. Purification de la pectine

L'extrait obtenu est un liquide visqueux contenant 0,3 à 1,5% de pectine dissoute et des résidus des écorces ou des pulpes. La séparation de l'extrait visqueux de la matière végétale fortement gonflée peut être réalisée par une combinaison de centrifugation et de filtration, et l'extrait clarifié ainsi obtenu peut

être concentré par évaporation. La séparation du résidu de l'extrait présente un des principaux problèmes dans la fabrication de pectine [10, 13].

1.3.5.4. Précipitation de la pectine

La pectine peut être isolée sous sa forme pure par une précipitation avec de l'alcool ou par une précipitation comme un sel insoluble par l'addition de certains cations appropriés, principalement l'aluminium [10].

La précipitation alcoolique est obtenue en mélangeant l'extrait clarifié à l'éthanol, ou à l'isopropanol. Le précipité gélatineux est séparé par filtration, lavé pour éliminer les impuretés (métaux lourds, acide, sucres, polyphénols, colorants), et finalement séché et broyé en dimension particulière désirée [11, 13, 48].

1.3.6. Analyse et caractérisation structurale des pectines

1.3.6.1. Analyse des compositions monosaccharidiques

Le dosage et l'identification des monosaccharides constitutifs des polysaccharides nécessitent la rupture de toutes les liaisons glycosidiques. L'analyse repose d'une part sur des techniques colorimétriques et d'autre part sur des techniques chromatographiques en phase gazeuse.

Les méthodes colorimétriques sont des techniques de dosage simples à mettre en œuvre et rapides, qui s'appliquent aussi bien à des résidus qu'à des extraits et permettent de doser de manière globale les sucres totaux et de manière spécifique les acides uroniques.

Le principe des dosages colorimétriques repose sur la condensation, par estérification, d'un chromogène avec les produits de déshydratation des pentoses, hexoses et acides uroniques. En milieu acide fort et à chaud, ces oses se déshydratent respectivement en des dérivés du furfural, 5-hydroxyméthylfurfural et de l'acide 5-formylfuroïque. Les chromophores ainsi formés absorbent dans le domaine du visible proportionnellement avec la quantité de sucres présents. Le dosage de la quantité de sucres totaux, mesurée selon la méthode de Dubois [49], utilise le phénol plus sensible à la détermination quantitative des oses que des chromogènes tels que le naphthol ou l'anthrone. Le *méta*-hydroxydiphényle en présence de tétraborate de sodium a été utilisé comme chromophore sélectif lors

du dosage des acides uroniques. Les concentrations relatives en oses neutres et en acides uroniques des solutions polysaccharidiques ont été déterminées par la méthode de correction développée par Montreuil et Spick [50].

Le dosage des oses réducteurs peut être déterminé par la méthode de Nelson-Somogyi ou encore par celle de l'acide parahydroxybenzoïque hydrazide (PAHBAH) de Lever [51]. Les monosaccharides libérés sont ensuite analysés aussi bien par Chromatographie en Phase Liquide à Haute Performance (HPLC) que par Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) en utilisant diverses procédures de dérivation.

1.3.6.2. Analyse structurale des polysaccharides pectiques

La méthodologie d'analyse d'un polysaccharide repose sur l'obtention d'unités oligosaccharidiques plus faciles à caractériser par les techniques spectroscopiques (Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) et spectrométrie de masse (SM)). L'obtention des oligosaccharides est réalisée principalement par une hydrolyse acide ou enzymatique. Néanmoins, il faut préalablement purifier ces mélanges complexes par diverses techniques chromatographiques : l'exclusion stérique en fonction de la masse moléculaire des composés ; la chromatographie d'échange d'ions en fonction de la charge des molécules.

La spectroscopie infra-rouge est une méthode d'analyse physique rapide, simple à mettre en œuvre et ne nécessitant que peu de quantité de matière à analyser. Basée sur les transitions entre les états vibrationnels et rotationnels d'une molécule, elle peut être employée tout aussi facilement sur des échantillons bruts ou purifiés. Certains groupements ou liaisons, considérés comme marqueurs et notamment les fonctions acides carboxyliques des acides galacturoniques, peuvent révéler la présence des pectines [52].

La spectroscopie RMN est une méthode physicochimique non destructive permettant, à partir de quelques micromoles de polysaccharide, de réaliser le dosage et l'identification de chacun des monosaccharides, d'en préciser l'enchaînement, leurs points de branchement et leurs anoméries [53, 54].

1.3.7. Applications des pectines

Les applications plus traditionnelles des pectines ont été dans le domaine alimentaire. En fait les pectines ont été toujours un constituant naturel de l'alimentation humaine. Les pectines sont utilisées dans différents aliments comme gélifiant, épaississant, texturant, émulsifiant et stabilisant. Dans les années récentes, les pectines ont été utilisées comme substitut de la graisse ou du sucre dans les aliments à faible teneur en calories [33, 24, 55].

Les arabinogalactanes ont des applications en minéralurgie (pour le traitement des minerais) ou dans l'industrie pharmaceutique (comme liant dans les comprimés ou émulsifiants). Dans les applications non-alimentaires, la filière principale est l'industrie pharmaceutique. Dans ce domaine, les pectines contribuent aux activités anti-métastatique, immunostimulante, antiulcère, antinéphrétique, antityphoïde, antidiarrhée, anticholestérol et pour la libération contrôlée de médicaments [33, 55].

Ainsi, les substances pectiques ont pris une place importante dans le monde des polymères comme le prouve le nombre croissant des études citées. Outre, l'intérêt connu de ces substances pectiques, leur modification chimique en dérivés amphiphiles s'est développée malgré le peu d'informations disponibles. Ces dérivés, qui ont notamment des potentialités intéressantes en solution et aux interfaces, offrent un large spectre d'applications dans divers domaines pharmaceutiques et/ou agroalimentaires.

1.4. POLYSACCHARIDES MODIFIES EN DERIVES AMPHIPHILES : SYNTHESE ET VALORISATION

Les amphiphiles (en grec « amphi » : double et « philos » : ami) sont définies comme des molécules constituées de groupements ayant des affinités opposées vis-à-vis d'un même solvant, très souvent l'eau. Plus généralement cette propriété est la conséquence de fortes différences de polarité entre ces groupements. En milieu aqueux, les amphiphiles classiques, surfactants ou tensioactifs, sont composés d'une tête d'hydrophile et d'une ou deux chaînes alkyles hydrophobes. La présence de deux parties antagonistes dans une même structure confère à la famille des amphiphiles des propriétés caractéristiques en présence d'eau,

comme l'adsorption aux interfaces, l'auto-organisation dans des micelles ayant des géométries variable, ainsi que l'agrégation dans des mésophases lyotropiques à des concentrations élevées en tensioactifs [56].

1.4.1. Structure des polymères amphiphiles

Les polymères amphiphiles se présentent dans des géométries ou architectures variées. Les plus courantes (Figure 1.10) sont les structures à blocs, en peigne, alternés, en étoiles ou dendrimères [56].

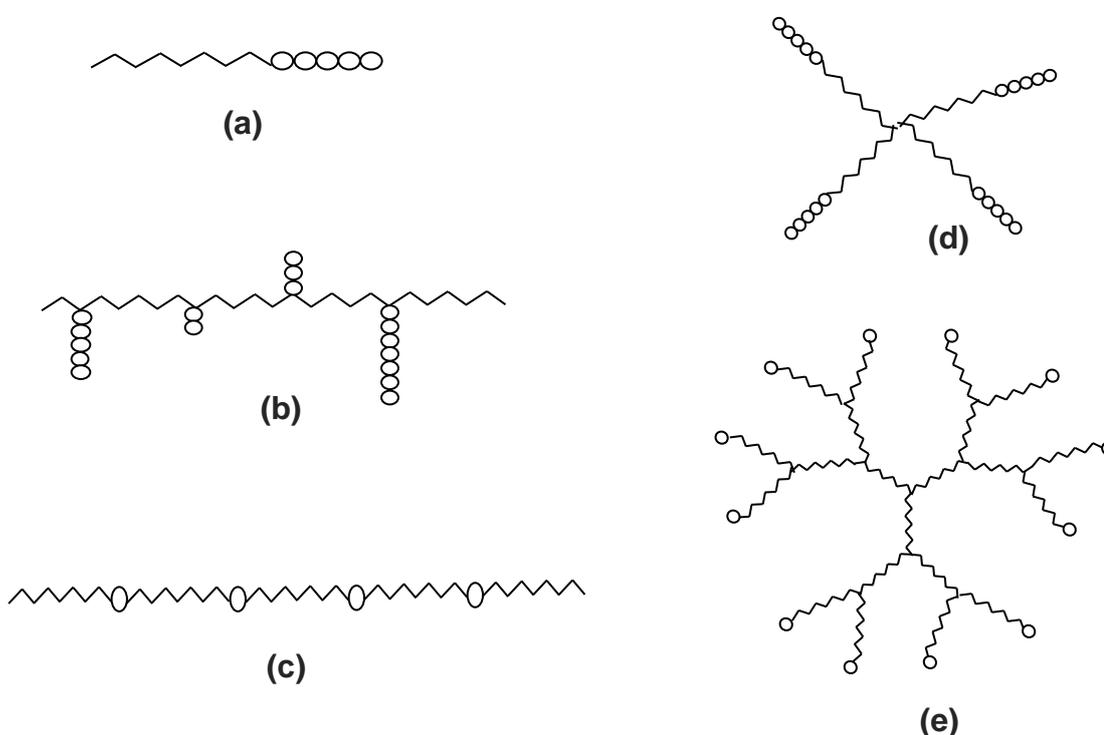


Figure 1.10 : Différentes structures des polymères amphiphiles : **a** : à bloc ; **b** : en peigne ; **c** : alterné ; **d** : étoile ; **e** : dendrimère [56].

1.4.2. Classification des polymères amphiphiles

Comme dans le cas des amphiphiles moléculaires, les polymères amphiphiles peuvent être caractérisés par la nature de leurs parties polaires :

- ✓ Les polymères amphiphiles ioniques (anionique, cationique et zwitterionique).
- ✓ Les polymères amphiphiles non ioniques.

1.4.3. Modes de synthèse des polymères amphiphiles

La synthèse des polymères amphiphiles peut être réalisée selon plusieurs méthodes, les plus couramment utilisées sont [56] :

- ✓ polymérisation de monomères tensioactifs ;
- ✓ copolymérisation de monomères hydrophiles et de monomères hydrophobes ;
- ✓ polycondensation ;
- ✓ modifications chimiques des polymères.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés particulièrement à la modification chimique qui représente la méthode la plus appropriée pour l'obtention des polymères amphiphiles d'origine polysaccharidique.

1.4.4. Modification chimique des polymères

C'est une méthode très largement utilisée pour obtenir des macroamphiphiles de nature variée. La modification chimique peut être réalisée sur un polymère hydrophile comme un polysaccharide afin de lui conférer un caractère hydrophobe. Inversement on peut modifier un polymère hydrophobe pour introduire une composante hydrophile. L'introduction de sites ioniques donc hydrophiles fait souvent appel à cette méthode. Le polymère siège de la modification peut être porteur soit de fonctions nucléophiles soit de sites alkylants. Les sites nucléophiles utilisés sont souvent des hétérocycles basiques, des sulfures, des amines ou phosphines tertiaires. Les sites alkylants sont principalement des groupements monohalogénés.

La modification chimique des polymères permet de fixer, directement ou indirectement, par liaison covalente à la surface d'un support polymérique, une ou plusieurs molécules ou fragment moléculaire apportant des propriétés spécifiques [57]. D'habitude, cette insertion se déroule selon deux voies [58]:

- 1- réactions sur la chaîne principale de polymère qui provoquent des réactions de dégradations accompagnées par une diminution du poids moléculaire ou des réactions intermoléculaires qui donnent des structures tridimensionnelles et la synthèse d'un copolymère.

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

Les principales réactions de modification chimique d'un polymère sont [59, 60]:

- 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; 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 des fonctionnalités nouvelles. Citons à titre d'exemple les réactions de *déshydrochloruration, déshydratation...*
- 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.

Ainsi, la modification chimique de polymères s'avère être une méthode intéressante pour l'obtention de polymères amphiphiles, avec l'avantage d'offrir souvent une variation continue de la composition du polymère. Néanmoins, lors d'une modification partielle, les substituants (hydrophiles ou hydrophobes) sont fixés de façon aléatoire et il est difficile de caractériser la structure moléculaire du polymère résultant.

1.4.5. Propriétés des polymères amphiphiles

Il existe des différences de comportement et de propriétés entre les polymères amphiphiles et les molécules amphiphiles analogues. Les principales différences sont rassemblées dans le Tableau 1.3.

Tableau 1.3 : Comparaison entre les polymères amphiphiles et leurs analogues moléculaires [56]

Molécule amphiphile	Polymère amphiphile
<p align="center">Variabilité moléculaire limitée</p> <ul style="list-style-type: none"> - Partie hydrophobe limitée à des chaînes hydrocarbonées et fluorocarbonées. - Partie hydrophile souvent des groupements ioniques ou non ioniques de taille limitée. - Structure moléculaire très accessible et généralement bien connue. 	<p align="center">Grande variabilité structurale et architecturale</p> <ul style="list-style-type: none"> -Concept très large de partie hydrophile ou hydrophobe chacune d'entre elles pouvant être déjà de nature macromoléculaire. -Possibilité d'ajuster la polarité de chaque partie. -Variabilité de la masse molaire moyenne. -Grande variété d'architectures : en peigne, à blocs, en étoile, etc. -Structures plus complexes ⇒plus difficiles à étudier.
<p align="center">Comportement d'agrégation</p> <ul style="list-style-type: none"> -Concentration micellaire Critique (CMC) à des concentrations relativement élevées $10^{-3} \leq \text{CMC} \leq 1 \text{ M}$ -Concentrations plus élevées ⇒organisations plus complexes 	<p align="center">Comportement d'agrégation</p> <ul style="list-style-type: none"> -Pas de CMC ou CMC à des concentrations très faibles (macrosurfactants) $10^{-9} \leq \text{CMC} \leq 10^{-4} \text{ M}$. -Concentrations plus élevées ⇒non possible ou structures encore mal connues.
<p align="center">Faible influence de la masse molaire</p> <ul style="list-style-type: none"> -Grande mobilité moléculaire. -Dissolution rapide dans l'eau au-dessus de la température de Krafft. -Coefficient de diffusion élevé. -Échanges cinétiques rapides → mouillage efficace. 	<p align="center">Forte influence de la masse molaire</p> <ul style="list-style-type: none"> -Mobilité moléculaire diminuée. -Dissolution lente dans l'eau pour certains polymères amphiphiles ou dissolution directe dans l'eau impossible. -Coefficient de diffusion faible. -Échanges cinétiques lents → L'équilibre micellaire peut prendre quelques jours. → Formation d'agrégats.
<p align="center">Propriétés tensioactives</p> <ul style="list-style-type: none"> -Forte réduction de la tension superficielle. -Tension superficielle constante après la CMC. -Pouvoir moussant souvent élevé. -Stabilisation des colloïdes par des répulsions électrostatiques. - Emulsifiant pour les huiles. - Bon dispersant pour particules solides. - Pouvoir solubilisant moyen. 	<p align="center">Propriétés tensioactives</p> <ul style="list-style-type: none"> -Réduction faible de la tension superficielle. -Diminution de la tension superficielle après la CMC si elle existe. -Pouvoir moussant faible et ajustable. -Stabilisation des colloïdes par effets électrostatiques et stériques. - Capacité émulsifiante faible à moyenne. -Dispersant excellent pour particules solides. - Pouvoir solubilisant élevé modulable.
	<p align="center">Propriétés particulières</p> <ul style="list-style-type: none"> -Agrégation possible dans des solvants organiques et dans un mélange de solvants. -Changement de mode de micellisation et des propriétés tensioactives en fonctions des paramètres extérieurs (pH, température, force ionique). -Adaptation possible des polymères pour des applications spécifiques (ex : solubilisation de substances hydrophobes, encapsulation de médicaments, etc.).

1.4.6. Généralités sur les tensioactifs

1.4.6.1. Définition et classification des tensioactifs

Une molécule possède des propriétés tensioactives lorsqu'elle est constituée de deux parties de polarités différentes : l'une constituée d'une chaîne hydrocarbonée qui présente un caractère hydrophobe ou lipophile ; l'autre présente un caractère hydrophile et contient des hétéroatomes (O, P, S ou N) (Figure 1.11). Les tensioactifs ou « surfactants » en terme anglo-saxon sont des agents de surface capables de réduire la tension interfaciale de mélanges (ex, huile et eau) en s'adsorbant aux interfaces [61, 62].

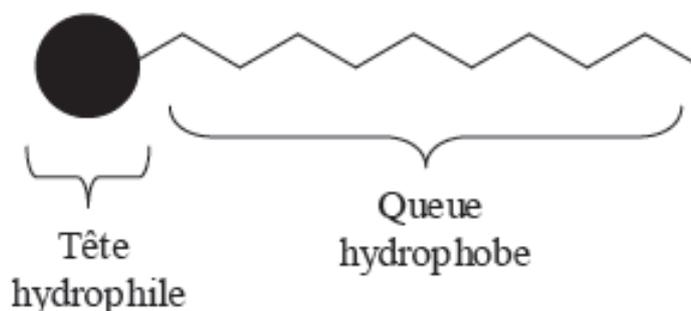


Figure 1.11 : Schéma d'une molécule tensioactive [61]

En milieu aqueux et à faible concentration, les tensioactifs s'adsorbent à l'interface air-eau d'un liquide pour former un film monomoléculaire compact et diminuent l'énergie libre interfaciale. Les molécules s'organisent à la surface de telle sorte que la tête hydrophile soit au contact de l'eau et que la chaîne hydrophobe soit orientée vers l'extérieur dans l'air. Ce phénomène provoque une diminution de la tension superficielle du liquide proportionnellement à la concentration en tensioactifs.

En fonction de leur tête polaire, les tensioactifs sont classés en quatre catégories : anioniques, cationiques, non-ioniques et zwitterioniques ou amphotères [63].

1.4.6.2. Paramètres de micellisation

A. Micellisation

En solution à faible concentration, un tensioactif est présent sous forme de monomères. Une augmentation de la concentration du tensioactif provoque une saturation à l'interface ; au-delà de cette saturation, les molécules de monomères s'auto-organisent en solution en formant des agrégats moléculaires sphériques appelées micelles. La concentration à partir de laquelle les monomères commencent à former des agrégats est définie comme la concentration micellaire critique (CMC). Cette valeur est caractéristique d'un tensioactif à une température donnée [64].

Le phénomène de micellisation peut être rencontré dans divers solvants, cependant l'eau reste le solvant privilégié (Figure 1.12).

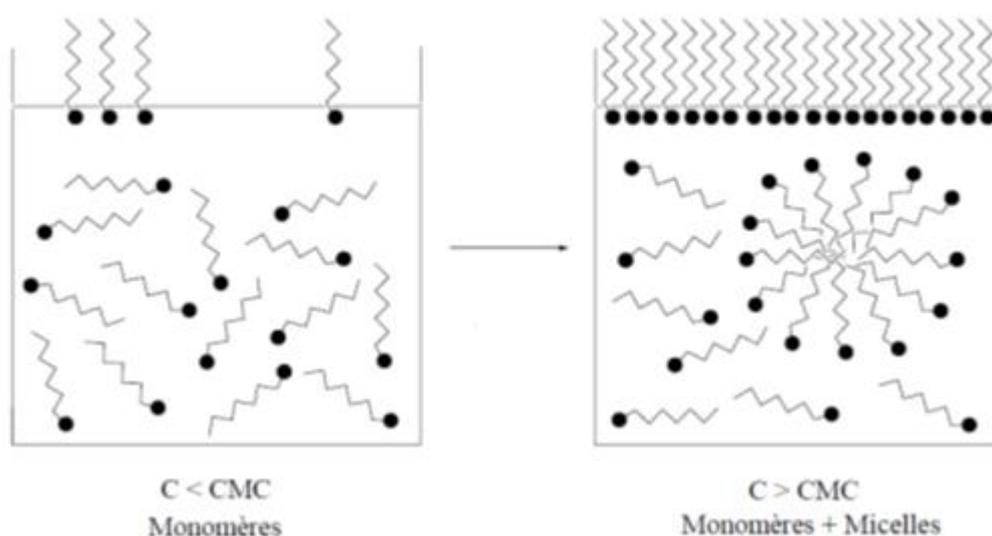


Figure 1.12 : Organisation des tensioactifs en solutions [64]

B. Détermination expérimentale de la CMC

La micellisation correspond à une variation plus ou moins brutale des propriétés physicochimiques de la solution de tensioactif. Cette variation se traduit par un changement d'allure sur les courbes expérimentales de l'évolution d'une propriété physicochimique en fonction de la concentration en tensioactif. Les méthodes expérimentales les plus largement utilisées pour la détermination de la

CMC sont la tensiométrie, la conductimétrie pour les tensioactifs anioniques ou cationiques, la spectrofluorimétrie et la spectrophotométrie d'absorption UV-Visible.

A titre d'exemple, le calcul de la CMC d'une solution amphiphile par tensiométrie se réalise en se basant sur la propriété de la molécule tensioactive à pouvoir abaisser la tension de surface de l'eau depuis des concentrations inférieures à la CMC jusqu'à la CMC. Au-delà, la tension de surface (γ) n'est presque plus affectée par l'augmentation de concentration en tensioactif. Ce phénomène se traduit sur la courbe $\gamma = f(\text{Log } C)$ par une cassure à la CMC telle que représentée dans la figure 1.13 [64].

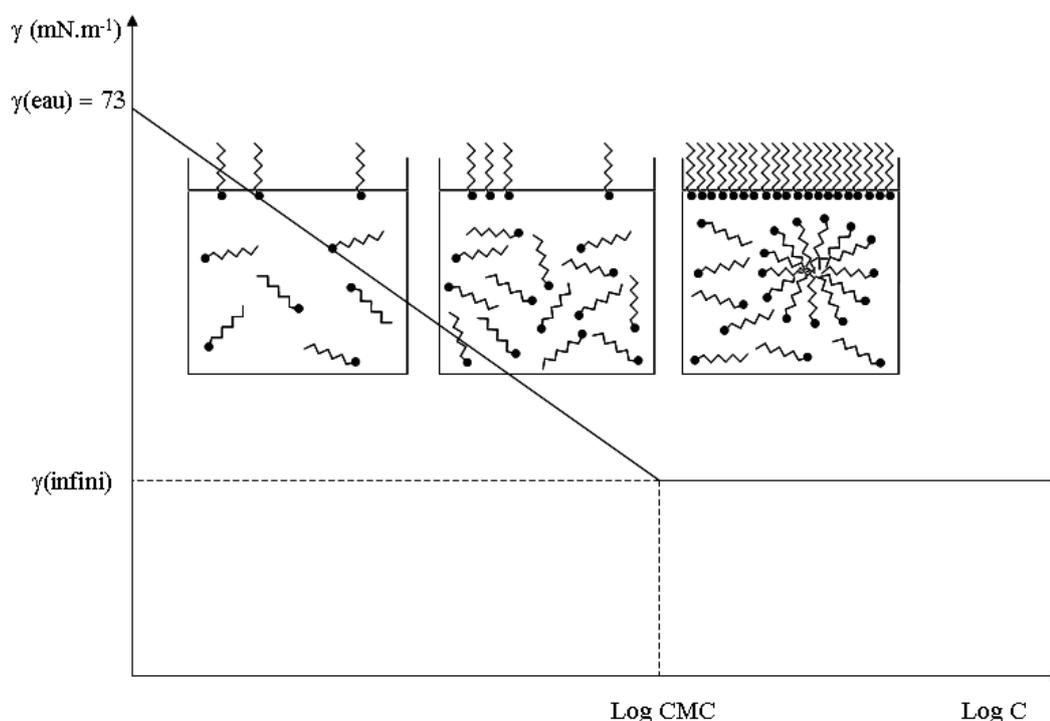


Figure 1.13 : Détermination de la CMC

1.4.7. Les tensioactifs naturels à base des polysaccharides

Le terme de tensioactif naturel est ambigu. Pris au sens strict, un tensioactif naturel est issu de ressources naturelles. Cette source peut être d'origine animale ou végétale. Les tensioactifs naturels doivent être obtenus par des procédés de séparation tels que l'extraction, la précipitation qui n'introduisent pas de pollution. Aucun procédé de synthèse organique ne doit être réalisé. En réalité, il y a très

peu de tensioactifs qui remplissent ces conditions. Les phospholipides, tels que les lécithines, obtenues à partir du soja ou du jaune d'œuf, sont les meilleurs exemples de tensioactif réellement naturel. Le facteur limitant la production de ces tensioactifs naturels est leur coût de production beaucoup plus élevé que celui des tensioactifs synthétiques aux propriétés équivalentes, car ces produits sont généralement présents en faibles quantités et les procédés de séparations sont laborieux.

Les termes de tensioactif naturel et de biotensioactif sont donc souvent utilisés dans un sens plus large. En effet, les tensioactifs synthétisés à partir de matière première naturelle sont généralement qualifiés de naturels. Ainsi un tensioactif dont l'une de ses parties, hydrophobe ou hydrophile, est obtenue à partir d'une source naturelle est appelé tensioactif naturel ou biotensioactif [65].

L'utilisation de ressources végétales dans l'industrie des tensioactifs est motivée d'une part par leur caractère renouvelable et d'autre part, parce qu'ils présentent des originalités de structure que l'industrie pétrochimique est incapable de reproduire, les doubles liaisons en particulier. Les agro-produits recherchés doivent présenter des spécifications en terme de fonctionnalité au moins équivalentes à celles des produits existants et des qualités environnementales supérieures.

1.4.7.1. Principales modifications chimiques des polysaccharides

Les polysaccharides (hydrates de carbone parfois appelés *glycanes*), représentent une famille de biopolymères dont la diversité de structures offre un large spectre de propriétés fonctionnelles. La diversité exceptionnelle de structure et de fonction de ces macromolécules naturelles justifie leur large utilisation dans de nombreuses applications alimentaire, médicale, pharmaceutique et cosmétique. Cependant, en dépit d'un intérêt grandissant pour l'utilisation des polymères d'origine naturelle certains inconvénients demeurent. Ces inconvénients sont liés en particulier au manque de reproductibilité d'un échantillon à un autre, en termes de masse molaire, de structure, voire de composition chimique. De plus les conditions de dégradabilité sont spécifiques à chaque type de polysaccharide [66].

Les polymères naturels d'origine animale, végétale ou encore bactérienne, possèdent de nombreux groupements réactifs (hydroxyle, carboxyle, amine...) qui peuvent servir de base à une fonctionnalisation dont le but est de conférer de nouvelles propriétés aux macromolécules elles-mêmes.

Les nouvelles propriétés des polysaccharides modifiés ont intéressé les chercheurs à deux niveaux. D'une part, les parties hydrophobes ont la possibilité de s'associer entre elles en solution en forment des architectures variables, on parle alors de comportement « associatif », et d'autre part, les polymères amphiphiles peuvent s'adsorber et s'organiser aux interfaces. Par conséquent, ils peuvent modifier les propriétés de surfaces et améliorer la compatibilité de deux phases immiscibles [56].

La nature, la concentration et les propriétés hydrophiliques et hydrophobiques des fragments chimiques de différentes natures ajoutés à la structure polysaccharidique par greffage ou par réaction sur les groupements latéraux fonctionnels (- COOH, NH₂ - OH, etc.) délivrent une grande variété de produits aux propriétés extrêmement variables. Ces propriétés qu'on est souvent appelé à modifier ou conditionner pour des applications particulières concernent principalement la solubilité et la viscosité. Les matériaux dérivés des polysaccharides sont biodégradables et biocompatibles. La fonctionnalisation des polysaccharides c'est l'apport des charges (amination, sulfatation, phosphatation, etc.) ou augmentation de l'hydrophobie ou de l'hydrophilie de ces polysaccharides (greffage de groupements fonctionnels appropriés).

Beaucoup de modifications chimiques sur les polysaccharides sont maintenant contrôlées. Dans ce qui suit, l'accent sera plus particulièrement mis sur les polysaccharides modifiés en dérivés amphiphiles dotés de propriétés tensioactives.

A. Cellulose

La cellulose est le polymère naturel le plus abondant. Les chaînes sont composées d'unités d'anhydroglucopyranoses. Chaque unité a trois groupements hydroxyle qui ont chacun une réactivité différente et qui peuvent être substitués. La cellulose, très cristalline, est insoluble dans l'eau. Néanmoins, on peut préparer plusieurs dérivés hydrosolubles de la cellulose tels que la méthylecellulose (MC),

la carboxyméthylcellulose (CMC), hydroxyéthylcellulose (HEC), hydroxypropylcellulose (HPC), hydroxypropylméthylcellulose (HPMC).

Depuis les premiers travaux de Landoll [67], beaucoup de dérivés cellulosiques ont été modifiés par de longues chaînes hydrocarbonées en employant des réactifs variés (isocyanates, époxydes, chlorure d'acyle, dérivés halogénés). Certains d'entre eux ont été commercialisés et employés notamment en tant que tensioactifs, agents de dispersion, adhésifs... [67, 68]. Les dérivés cellulosiques sont probablement les polysaccharides modifiés les plus étudiés ces vingt dernières années.

Les propriétés tensioactives et émulsifiantes de ces dérivés cellulosiques ont été mises en évidence. Dans le cas de la HPMC, ce dérivé de la cellulose a permis de stabiliser des émulsions de triglycérine dans l'eau [69]. Sun et al. [70] ont préparé des émulsions huile dans eau stabilisées par de la HEC modifiée par des chaînes hydrocarbonées de 16 carbones et de fraction volumique d'huile fixée à 50 %. Ils montrent que ces dérivés hydrophobes d'hydroxyéthylcellulose par leur comportement associatif augmentent la viscosité du milieu ce qui fait d'eux de meilleurs stabilisants d'émulsions que la HEC de départ. L'adsorption des chaînes alkyle à l'interface eau/huile permet de former un film élastique qui empêche la coalescence des gouttelettes.

B. Amidon

Dans la littérature, l'amidon est modifié chimiquement par voie enzymatique [71] ou par voie chimique en solution aqueuse basique [72] ou encore en solution organique basique [73]. La plupart des modifications chimiques effectuées sur l'amidon concernent l'amylose. La solubilité de l'amylose dans l'eau est modifiée par greffage de groupements hydrophobes. Diverses molécules hydrophobes (époxyalcanes aliphatiques de C₄ à C₁₂ anhydride alkényle succinique, halogénures de carboxyméthyle) ont pu être fixées sur la chaîne macromoléculaire de l'amylose [72-75]. Ainsi, des esters, des hydroxyalkyle éthers d'amylose ont été obtenus. Bien souvent, les modifications chimiques de l'amylose sont réalisées en milieu organique dans le diméthylsulfoxyde.

Peu d'études ont été réalisées sur les propriétés émulsifiantes des dérivés d'amidon de différents degrés de substitution (DS). Seul l'amylose modifié par des

groupements alkenyles succinates et des carboxyméthyles montre des activités tensioactives et émulsifiantes [76, 77]. Ces dérivés tensioactifs ont un DS qui varie entre 0,006 et 0,8. Par exemple, Wang et al. [76] ont étudié l'influence du DS sur les propriétés émulsifiantes des esters d'amyloses. Ils montrent que lorsque le DS augmente la tension interfaciale eau/huile diminue et que ces dérivés d'amylose sont d'excellents stabilisants d'émulsions. De plus, ces auteurs montrent également que ces dérivés d'amylose augmentent la viscosité de la phase continue, ce qui rend meilleure la stabilisation des émulsions directes (paraffine/eau) par rapport à un tensioactif moléculaire tel que le dodécylsulfate de sodium (SDS).

C. Pullulane

Les modifications chimiques sur le pullulane sont réalisées dans le DMSO qui permet de dissoudre le polysaccharide et le réactif hydrophobe. Brunel et Schacht [78,79, 80] ont montré que la fonction hydroxyle (fonction alcool primaire libre) en position 6 sur l'unité glucopyranose est la plus réactive pour des réactions d'oxydation [78], de carbonylation [79] ou de succinylation [80]. La plus grande réactivité de cette fonction alcool en position 6 et la répartition des groupements fixés ont été mises en évidence par spectrométrie RMN pour des composés d'isocyanate à base de pullulane. Pour des réactions de carbométhylation du pullulane, la réactivité de la fonction hydroxyle en position 2 est majoritaire par rapport à la réactivité de la fonction hydroxyle en position 6. Les produits dérivés du pullulane sont prometteurs pour le transport de principes actifs vers des organes cibles de l'organisme [81].

Des dérivés du pullulane modifiés par des groupements cholestéryle ont été préparés par Sunamoto [82] et les études réalisées par Demé et al. [83] ont montré que ces composés possèdent de bonnes propriétés tensioactives. Ils ont étudié la capacité des cholestéryl pullulane (CHP) à diminuer la tension interfaciale à l'interface air/eau pour différents DS compris entre 0,6 et 2,5 et pour des masses molaires du polysaccharide comprises entre 40000 et 52000 g/mol. La plus basse tension interfaciale est obtenue avec le polysaccharide de plus forte masse molaire et le plus substitué.

D. Dextrane

Le dextrane possède trois fonctions hydroxyle qui peuvent être modifiées chimiquement par divers groupements. Les premiers dérivés hydrophobes du dextrane ont été préparés par estérification partielle des groupements hydroxyles avec l'acide benzoïque et ont été utilisés pour des extractions par partage de phases impliquant des systèmes diphasiques aqueux [84]. D'autres groupements hydrophobes neutres ont pu être greffés sur le dextrane. Ces groupements hydrophobes sont des chaînes alkyles, des groupements phénoxy, lauryl esters, des groupements cyclique ou alkyle carbonates ou encore des dérivés de l'acide biliaire ou du cholestérol [85]. Les dérivés obtenus révèlent de nombreuses propriétés tensioactives, stabilisantes.

1.4.7.2. Modification chimique de la pectine

La pectine est un hétéropolysaccharide anionique (pKa 3 - 4) des parois cellulaires végétales [36]. Ce caractère anionique de la pectine la rend susceptible aux interactions avec d'autres groupements réactionnels de divers composés. La multifonctionnalité de la pectine est due principalement au degré d'estérification des groupements carboxyliques qui influencent la solubilité, la gélification, la stabilisation, et les propriétés émulsifiantes. Les propriétés fonctionnelles de la pectine peuvent être augmentées ou même changées en introduisant de nouveaux groupements fonctionnels sur la chaîne principale de la pectine [86-88].

En général, l'hydrophobisation des polysaccharides hydrophiles peut être effectué soit : en dérivant des groupements fonctionnels intrinsèques (par exemple COOH, NH₂, OH, etc.), ou en introduisant sélectivement des groupements fonctionnels réactifs en utilisant la méthodologie chimique ou enzymatique [89]. Pour des modifications chimiques, des réactifs chimiques contenant de longs groupements d'alkyl ou d'acyle (C₁₀ – C₁₈) ont été généralement employés [90].

La pectine est un enchainement de plusieurs unités d'acide galacturonique plus ou moins méthylestérifié. Chaque unité a deux groupements hydroxyle, un groupe carboxyle et un groupe carboxyle méthyle estérifié qui ont chacun une réactivité différente et qui peuvent être substitués chimiquement par divers groupements hydrophobes ou hydrophiles selon les propriétés souhaitées.

La modification chimique de la pectine (amidation, trans-estérification) est relativement facile à cause de la présence de groupements naturels d'esters méthyliques dans les macromolécules pectiques et elle modifie de façon significative les propriétés physico-chimiques et biologiques 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 [91, 92]. Crescenzi and Callegaro [93] ont 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 [94].

Un polymère amphiphile contient deux groupements : polaire et apolaire. Le N-alkylpectinamide est un exemple d'un polymère amphiphile avec un groupe polaire ; la chaîne principale (D-galacturonique) et un groupe apolaire, c'est le n-alkylamine. Les polymères légèrement substitués ont des propriétés tensioactives [95]. Les N-Alkylpectinamides ont certains avantages en comparaison avec d'autres dérivés alkylés 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 [96]. 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.

Les travaux de Miralles–Houzelle et al. [97] ont permis de préparer différents dérivés amphiphiles dans lesquels la pectine est associée à des chaînes hydrophobes de dodécylamine. Les synthèses ont été effectuées selon deux voies différentes. Dans la première méthode, les longues chaînes aliphatiques d'alkyle ont été immobilisées de façon covalente sur le squelette de polysaccharide par l'intermédiaire d'une formation de liaison ester. Dans la seconde méthode,

l'immobilisation consiste tout simplement en une formation de liaison ionique entre les groupements amines du dodécylamine et les groupements carboxyliques disponibles sur la pectine, ce qui permet la formation de sels de dodécyl ammonium. Les propriétés physico-chimiques des différents dérivés ainsi obtenus ont été étudiées par des mesures de la tension de surface et par rhéologie en régime dilué et semi-dilué. Ils montrent dans leurs études que les dérivés covalents ne présentent pas de propriétés de tension superficielle importantes, en raison de la formation des agrégats intramoléculaires. En revanche, les dérivés ioniques diminuent fortement la tension superficielle de l'eau, à des valeurs assez proches de celles observées avec des tensioactifs unimoléculaires.

Des réactions d'amidation des pectines hautement méthylées sont réalisables comme le montrent les travaux de Sihelnikova et al. [98] qui ont fait réagir une série des amines primaires porteurs des chaînes hydrocarbonées aliphatiques de différentes longueurs sur des pectines hautement méthylées dans un milieu hétérogène en présence du N,N-diméthylformamide (DMF) ou du méthanol. Les conditions opératoires (temps de réaction, la température et le rapport pectine/amine) ont été modulées de telle manière à avoir des taux de substitution différents, variant entre 12 et 50 %. Ils montrent dans leurs études que, le degré de substitution est fortement conditionné par les conditions opératoires et par la longueur de la chaîne aliphatique de l'amine.

Récemment, Simkovic et al. [99] ont préparé des pectines modifiées par trois amines liquides (n-propylamine, 3-amino-1-propanol, 1,3-diaminopropane) sans ajout du solvant et par une amine solide (1,7-diaminoheptate) dans le DMSO. Ils ont atteint des degrés de substitution élevés variant entre 46,8% et 71,4 % déterminés par une analyse élémentaire et entre 67,3 % et 71,9 % déterminés par infra-rouge. Ces dérivés marquent des solubilités dans l'eau variant entre 3 à 95 g/100g d'eau.

Ces travaux constituent la base sur laquelle nous nous sommes appuyés pour commencer ce travail. Nous avons cherché à obtenir des pectines modifiées par les amines primaires et qui possèderaient des degrés de substitutions variant sur un intervalle significativement moins étendu que précédemment (moins de 20%). Ceci permettrait d'avoir de bonnes solubilités en solution aqueuse et d'obtenir des propriétés tensioactives, émulsifiantes et biosorbantes, non encore étudiées.

1.4.8. Avantages des biotensioactifs dérivés des polysaccharides

Les tensioactifs d'origine naturels possèdent plusieurs avantages comparés à ceux synthétisés chimiquement [100]:

- ✓ biodégradabilité,
- ✓ généralement une faible toxicité,
- ✓ biocompatibilité et digestibilité : ce qui permet leur application dans l'industrie cosmétique, pharmaceutique et en tant qu'additifs fonctionnels.
- ✓ disponibilité des matières premières.
- ✓ faible coût de production : ils peuvent également être produits à partir des rejets et des sous-produits industriels.
- ✓ spécificité : ce sont des molécules organiques complexes avec des groupements fonctionnels spécifiques, sont souvent spécifiques dans leur action. Ceci donne un intérêt particulier pour leur utilisation dans le domaine cosmétique, pharmaceutique et agroalimentaire.

Concernant les inconvénients, un des problèmes les plus rencontrés est la pureté des substances obtenues qui a une importance particulière dans les applications pharmaceutique, cosmétique et agroalimentaire.

1.4.9. Champ d'applications des polysaccharides modifiés

Un des intérêts majeurs des macromolécules amphiphiles est la possibilité de prédéfinir et de réaliser une grande diversité de structures et d'architectures. Cela permet d'élargir les investigations scientifiques et éventuellement de définir des solutions optimales dans divers domaines d'applications. Pour ce dernier point, les exemples suivants illustrent la diversité des problèmes abordés et d'utilisation potentielle relevée dans la littérature scientifique et industrielle [56]:

- ✓ application comme agents conditionneurs de cheveux dans la fabrication de shampooings et de teintures pour les cheveux.
- ✓ formulation de produits cosmétiques et pharmaceutiques pour retarder le vieillissement de la peau.
- ✓ agents de "comptabilisation" lors de mélanges de polymères incompatibles.
- ✓ modification des propriétés de surface de certains matériaux.
- ✓ stabilisation des systèmes colloïdaux et dispersés.

- ✓ modélisation de l'action catalytique des enzymes par polymères amphiphiles portant des fonctions catalytiques.
- ✓ récupération assistée du pétrole.
- ✓ intérêt particulier dans le domaine médical pour la recherche de systèmes transporteurs de médicaments. Le but est de stabiliser des dispersions instables ou à caractère labile en y incorporant des monomères tensioactifs et en les polymérisant.
- ✓ agents biomimétiques, émulsifiants et agents dispersants.
- ✓ agents biocompatibles entrant dans le traitement des maladies inflammatoires et génétiques.
- ✓ traitement des eaux polluées par concentration des substances organiques hydrophobes.

1.5. CONCLUSION

Actuellement, il y a une demande croissante pour les polymères biodégradables et biocompatibles pour de nombreuses applications notamment, pharmaceutique, cosmétique et agroalimentaire. Les recherches sur les polymères tensioactifs issus de polysaccharides sont donc de plus en plus développées.

Nous avons présenté dans ce chapitre le polysaccharide qui fait l'objet de cette étude qui est la pectine. Nous avons exploré les différentes voies de synthèses des polysaccharides amphiphiles et plus particulièrement celle par modification chimique qui est la méthode envisagée pour la fonctionnalisation de notre polysaccharide. Les différentes propriétés des polysaccharides amphiphiles notamment en tant que polymères tensioactifs ont été également présentées dans cette analyse bibliographique.

CHAPITRE 2

MATERIELS ET METHODES

2.1. INTRODUCTION

Etant donné que l'objectif principal de notre étude repose sur la fonctionnalisation chimique d'un polysaccharide issu de sources végétales, nous avons consacré une partie de ce travail à leur extraction à partir des végétaux. Nous avons choisi l'extraction par voie acide à chaud des substances pectiques hautement et faiblement méthylées par l'utilisation de deux types de chauffage : le chauffage conventionnel et le chauffage par induction électromagnétique. Trois sources végétales ont été sélectionnées pour l'extraction de ces substances pectiques : le citron, le citrange et la betterave. Une méthodologie à base de plans d'expériences a été également envisagée dans cette partie d'extraction afin de déterminer les conditions opératoires optimales permettant d'obtenir le meilleur compromis entre un bon rendement et une meilleure qualité en extraits. Pour la caractérisation des extraits, nous avons utilisé des méthodes d'analyses chimiques, chromatographiques et spectroscopiques que nous décrirons dans ce chapitre.

Par ailleurs, d'autres méthodes expérimentales pour la synthèse et la caractérisation physicochimique de ces polysaccharides modifiés en dérivés amphiphiles par substitution avec des groupements hydrophobes de différentes longueurs des chaînes alkyles (trois alkylamines) sont décrites dans la deuxième partie de cette étude.

De la littérature disponible, il ressort que la plupart des travaux réalisés sur les dérivés amphiphiles des pectines sont essentiellement centrés sur l'évaluation de leurs propriétés tensioactives et viscosifiantes. Cependant peu de travaux sur l'utilisation de ces biopolymères modifiés dans le domaine environnemental ont

été publiés. C'est pour cette raison que nous nous sommes intéressés à la mise en évidence de nouvelles propriétés de ces dérivés amphiphiles en tant que biosorbants pour la fixation d'ions métalliques.

Pour ce faire, et afin de valoriser cette étude expérimentale, une troisième partie a été consacrée à l'application des N-dodecylpectinamides comme biosorbants pour la fixation des ions métalliques du cuivre Cu(II).

2.2. MATERIELS

2.2.1. Matériels biologiques

Notre travail a été réalisé sur trois matières végétales pour l'extraction de la pectine; deux de la famille des agrumes qui sont le citron, le citrange et la troisième matière végétale c'est la betterave rouge.

2.2.1.1. Le citron

Le citron est un agrume, fruit du citronnier (Figure 2.1). Le citronnier (*Citrus limon*) est un arbuste de 5 à 10 m de haut, à feuilles persistantes. Le fruit a une écorce lisse jaune éclatante. Sa chair est juteuse, très acide et riche en vitamine C. De l'écorce jaune, on extrait une huile essentielle qui contient entre autres substances du limonène et du citral. Il est principalement cultivé en Italie, aux États-Unis et en Argentine [101].



Figure 2.1 : Le citronnier

Dans cette étude, nous avons utilisé les écorces des citrons. Ces citrons, issus de la région de Mitidja située à la wilaya de Blida (40 km au sud de la capitale Alger), ont été soigneusement sélectionnés de façon à choisir que les bons citrons qui possèdent de grosses écorces. Les citrons, dont les poids oscillent entre 80 et 120 g ont été lavés à l'eau de robinet et épluchés à la main afin de récupérer les albédos. Ces derniers correspondent à la partie blanche comme le montre la figure 2.2. Les albédos ainsi récupérés ont été coupés en petits morceaux à la main avant d'être séchés dans l'étuve à 50°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

Les albédos du citron séchés ont été broyés dans un moulin à café type domestique, puis tamisés dont le diamètre des particules retenues varie entre 0,63 et 1,25 mm. Enfin les albédos du citron broyés ont été conservés dans des flacons en verre jusqu'à leur utilisation.

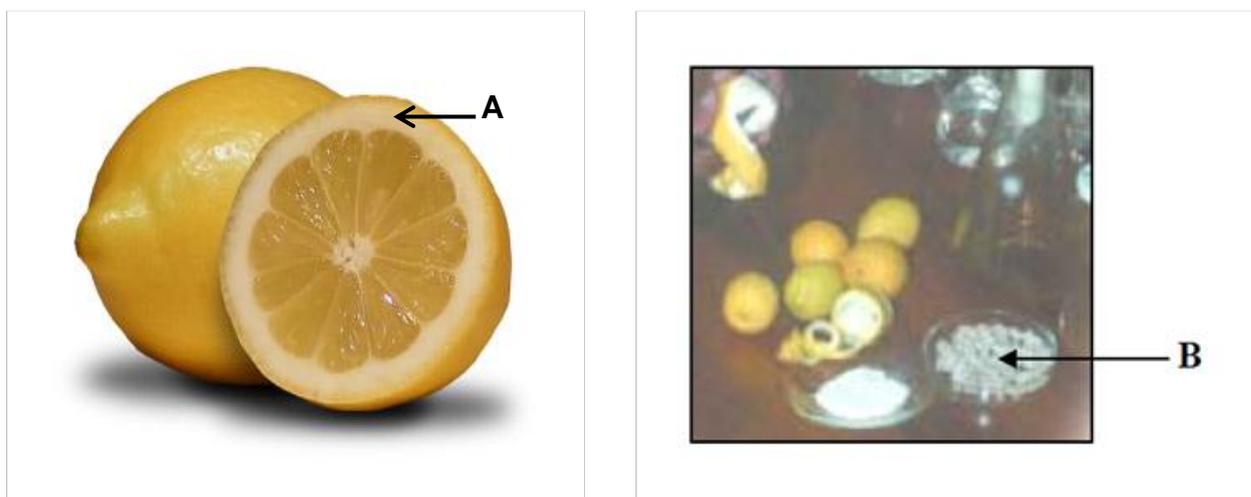


Figure 2.2 : Partie de citron utilisée : **A** : *localisation des albédos*,
B: *albédos du citron coupés en petits morceaux*

2.2.1.2. Le citrange

Le citrange est un des hybrides les plus connus de Poncirus, et qui donne souvent d'ailleurs son nom à l'ensemble de ces hybrides de Poncirus. C'est un croisement entre citrus sinensis et Poncirus-trifoliata c'est-à-dire un croisement d'orange douce avec un Poncirus-trifoliata, ce croisement était une tentative pour créer un citrus vigoureux et résistant au froid donnant des fruits délicieux. Cependant, la plupart des citranges sont amers [102]. Les citranges possèdent d'abord une rusticité intermédiaire, ils ont tous de même une résistance au froid très intéressante, de l'ordre de -10°C à -12°C, sont également très utilisés en tant que porte-greffe, donnant notamment une vigueur plus importante à l'arbre que Poncirus-trifoliata. Les citranges sont des arbustes très intéressants et décoratifs, encore rares à la vente [103].

Dans cette étude, nous avons utilisé les fruits de citrange. Ces derniers ont été récoltés à partir des arbres du citrange (Figure 2.3) cultivés dans la région de Ain D'Heb située dans la wilaya de Médéa (80 km au sud de la capitale Alger). Ces fruits ont été récoltés en fin de maturité et ils ont été sélectionnés de façon à ne retenir que les fruits sains. Le citrange, dont le poids oscille entre 100 et 150 g ont été épluchés à la main afin de récupérer que les albédos (Figure 2.4). Les albédos ainsi récupérés ont subis les mêmes étapes suivies pour le citron jusqu'à

l'obtention des poudres de citrange qui ont été également stockées dans des flacons en verre dans un endroit sec.



Figure 2.3 : Arbre du citrange

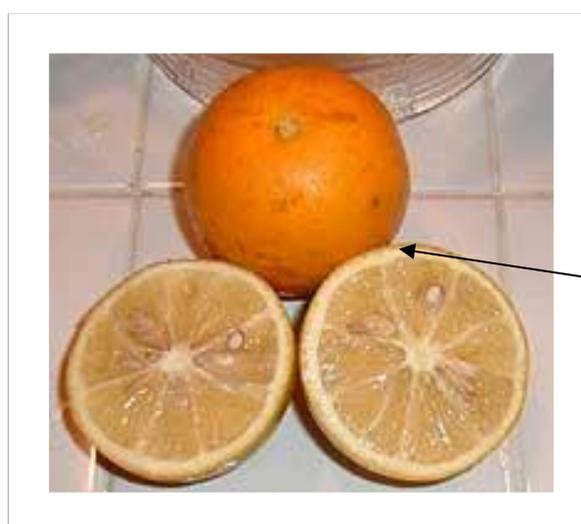


Figure 2.4 : Fruits de citrange utilisés dans cette étude

2.2.1.3. La betterave rouge

La betterave est une plante cultivée pour sa racine charnue utilisée comme légume dans l'alimentation humaine et comme plante fourragère et pour la production du sucre. Elle a pour nom scientifique *Beta vulgaris* L., de la famille des Chénopodiacées, tribu des *Cyclolobae* [104].

Les betteraves utilisées dans cette étude ont été aussi récoltées de la région de Mitidja. Ces dernières ont été bien lavées à l'eau de robinet puis épluchées afin de récupérer la pulpe seulement comme le montre la figure 2.5. Les pulpes de betterave ont été découpées en tranches minces, puis en bandelettes à la main et enfin passées dans un hachoir de viande à travers un disque perforé dont le diamètre des pores est de l'ordre de 6mm. Les pulpes hachées ont été séchées dans l'étuve à 50 °C à poids constant.



Figure 2. 5: Partie de betterave utilisée : **A** : Pulpes de la betterave

2.2.2. Matériels non biologique

2.2.2.1. Produits chimiques utilisés

L'ensemble des produits chimiques, solvants et réactifs utilisés dans le cadre de ces travaux sont stockés à l'abri de la lumière et à la température ambiante. Il convient de préciser qu'ils sont utilisés sans purification supplémentaire. L'origine et la pureté de ces réactifs et solvants sont décrites dans le Tableau 2.1.

Tableau 2.1 : Produits chimiques, solvants et réactifs

Réactifs et solvants	Pureté (%)	M (g/mol)	Fournisseur
Acide chloridrique	95-98%	98,08	Sigma-Aldrich
Acide sulfurique	37%	34,46	Reidel-deHaën
Acide acétique	99%	60,05	Reidel-deHaën
Ethanol	98%	46,07	Reidel-deHaën
Méthanol	99,7	34,04	Sigma-Aldrich
Isopropanol	99%	----	Fluka
héxadécane	98%	----	Fluka
Hydroxyde de sodium	99,99%	40	Reidel-deHaën
Hexametaphosphate de Na	----	661,77	Fluka
Chlorure de sodium	99%	58,44	Fluka
Phénol	99%	94,11	Reidel-deHaën
Tétraborate de Na hydraté	-----	381,22	Fluka
Thiosulfate de sodium	----	284,18	Panreac
n-dodecylamine,	98%	----	Sigma-Aldrich
n-octylamine	99%	----	Sigma-Aldrich
n-octadecylamine	99%	----	Fluka
Acide acétique	99%	60,05	Reidel-deHaën
Sulfate de cuivre	99%	-----	Reidel-deHaën
Thiosulfate de sodium	99%	-----	Reidel-deHaën

2.2.2.2. Petit matériel

- ✓ Tamis d'un diamètre de 0,63 à 1,25 mm fabriqué par : Laboratory test sieve, Endocotts LTD, London England.
- ✓ Thermomètre type : Assistent N° 3200/250°C.
- ✓ Dessiccateur en verre.
- ✓ Mortier et son pilon en verre.
- ✓ Micropipette type microtransferte (2- 10 µl).

2.2.2.3. Appareillage

- ✓ Etuve type : MEMMERT 40050-IP20.
- ✓ Balance électronique : Sartorius BP 121S, précision 10^{-4} g.
- ✓ Spectrophotomètre type : SHIMADZU UV mini 1240.
- ✓ pH mètre type : INOLAB, muni d'une cellule WTW SenTix 41.
- ✓ Broyeur électrique domestique type Moulinex.
- ✓ Hachoir de viande manuelle.
- ✓ Four à moufle type LM 312,06, DB 005001, NertZ : 230V / 50HZ / 2,8 KW.
- ✓ Agitateur à plaque chauffante type Janke et Kunkel IKA-WERK.
- ✓ Bain-marie électrique sous agitation continue avec une température maximale de 100°C.
- ✓ Centrifugeuse d'un mouvement rotatif avec une vitesse maximale de 6000 trs/min.
- ✓ Homogénéiseur type IKA T25 basic avec une vitesse maximale de 24000 trs/min.
- ✓ Spectrophotomètre FTIR -8400 type SHIMADZU-8100-Japon.
- ✓ Secoueur : type Vortex – Germany (VTX 400) avec une vitesse maximale de 40 Hertz.
- ✓ Tensiomètre type CSC Du Nouy 70545 à anneau en platine.
- ✓ Viscosimètre capillaire type Ubbelohde (SCHOTT Gerate) 525 20/ II. App. Nr. 910 516.
- ✓ Pompe à vide.
- ✓ Plaque à induction électromagnétique à 09 niveaux type Samsung.

2.3. EXTRACTION DE LA PECTINE

2.3.1. Prétraitement chimiques de la matière végétale

Plusieurs travaux antérieurs ont choisi l'utilisation des matières végétales traitées avec l'eau chaude ou avec l'alcool éthylique pour l'extraction des pectines en vue d'augmenter le rendement [32,105-107]. Pour cela et avant de passer à la solubilisation, les matières végétales utilisées dans cette étude (les albédos du citron et citrange et la pulpe de betterave) ont subi des traitements chimiques appropriés. Il faut préciser que ces traitements ont pour but l'inhibition des

enzymes pectinolytiques qui peuvent dégrader le matériau végétal ainsi que pour la dénaturation des protéines.

2.3.1.1. Traitements des albédos des agrumes

Les albédos des deux types d'agrumes (citron et citrange) préalablement isolés ont subi les traitements préliminaires afin d'obtenir des résidus insolubles dans l'alcool. Cette étape renferme principalement un traitement par l'eau distillée et un autre traitement par l'alcool éthylique.

A) Traitement par l'eau distillée : il contient successivement :

- ✓ **Blanchiment** : Ce blanchiment consiste en un chauffage de la matière végétale dans l'eau distillée à une température de 90°C pendant 10min, avec un rapport résidu/eau de 1/25.
- ✓ **Lavage** : Plusieurs lavages à l'eau distillée ont été effectués juste après le blanchiment afin de permettre un refroidissement rapide du matériau végétal, ainsi que pour l'élimination de composés solubles (les sucres par exemple).
- ✓ **Filtration et pressage** : Cette étape consiste en une filtration à travers la gaze suivie d'un pressage qui aide à l'élimination du maximum d'eau.
- ✓ **Séchage** : Le matériau végétal est séché dans l'étuve à 50°C.

B) Traitement par l'alcool éthylique : Cette étape consiste en un chauffage de la matière végétale obtenue précédemment dans l'éthanol (85%) à 70°C pendant 20min dans un bain-marie sous agitation continue, avec un rapport massique résidu/éthanol de 1/5, suivi d'un refroidissement rapide et filtration par la gaze. Cette opération est répétée trois fois, finalement une filtration sous vide est effectuée pour assurer l'élimination maximale de l'alcool éthylique. Les résidus obtenus sont séchés dans l'étuve à 50°C. De ce fait la matière première est prête à la solubilisation.

2.3.1.2. Traitements des pulpes de betteraves

Les pulpes de betteraves séchées obtenues ont subi successivement les traitements suivants:

- ✓ **Blanchiment** : La même procédure a été suivie que pour les albédos des agrumes, mais avec une température de 85°C et un temps de 10min.
- ✓ **Lavage** : plusieurs lavages ont été effectués à l'aide de l'eau distillée.
- ✓ **Élimination des sucres** : Le sucre a été éliminé par la suspension de la matière végétale dans l'eau distillée à 60°C pendant 2h.
- ✓ **Filtration et pressage** : La pulpe est ensuite filtrée à travers la gaze et pressée pour éliminer le maximum d'eau.
- ✓ **Séchage** : Le gâteau ainsi obtenu est séché dans l'étuve à 60°C pendant 5h.
- ✓ **Traitement par l'alcool éthylique** : les résidus séchés ainsi obtenus ont été traités avec l'alcool éthylique (85%) à une température de 70°C pendant 20min dans un bain-marie et sous agitation continue. Un rapport solide / liquide de 1/5 est utilisé. A la sortie du bain-marie un refroidissement rapide est réalisé dans une eau froide, le mélange est filtré à la gaze, cette opération est répétée trois fois. Enfin les résidus sont séchés dans l'étuve à 50°C. De cette étape la pulpe de betterave est prête à la solubilisation.

Les différentes étapes des traitements chimiques réalisées pour toutes les matières végétales utilisées pour l'extraction de la pectine sont résumées sur la figure 2.6.

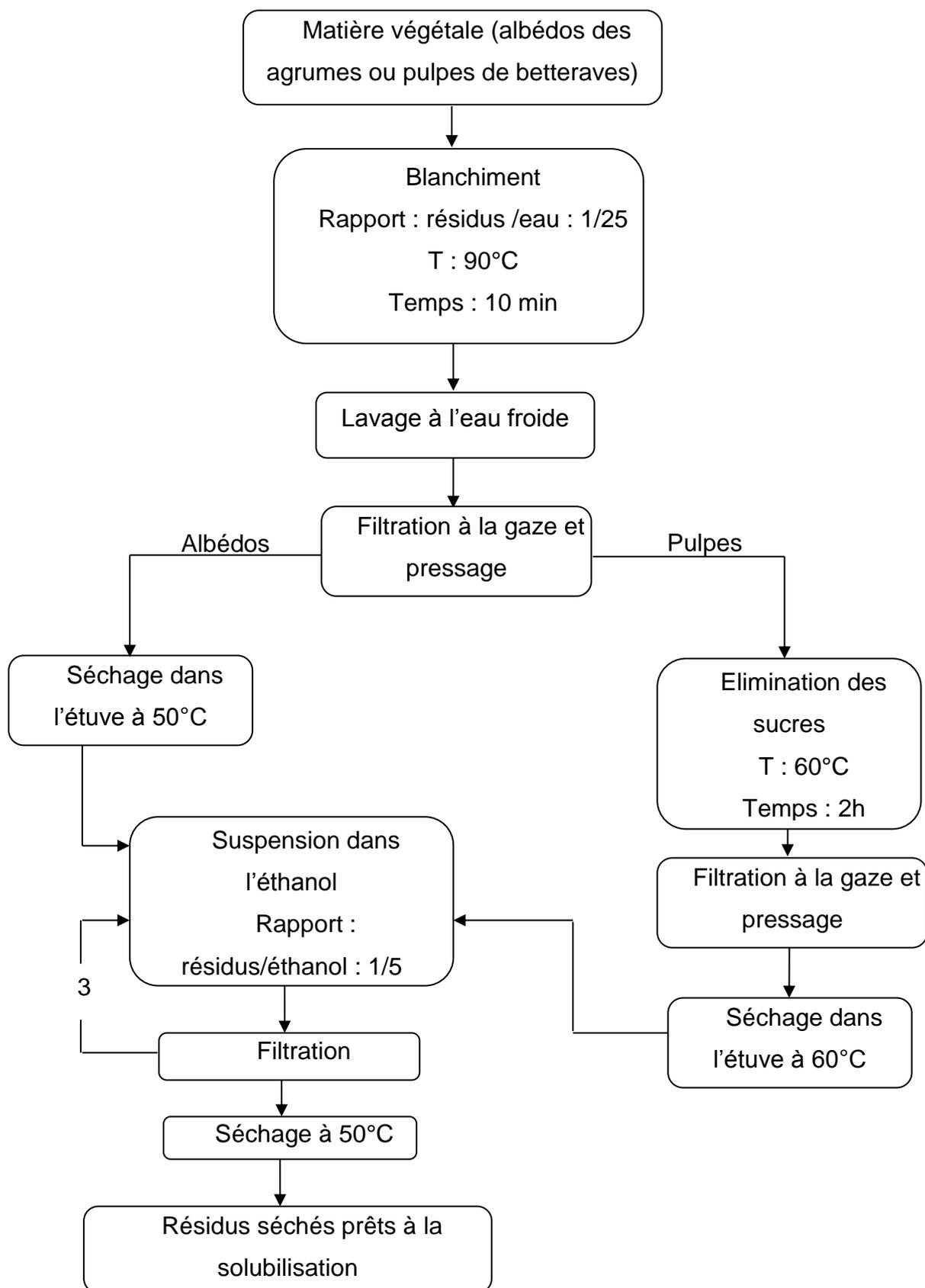


Figure 2.6: Différentes étapes de traitements chimiques des matières végétales
[32,105-107]

2.3.2. Procédures d'extraction de la pectine par voie acide

Le problème principal auquel est confronté l'expérimentateur est celui de la richesse chimique de la paroi cellulaire végétale qui se traduit par la grande diversité structurale des macromolécules, essentiellement polysaccharidiques, qui y sont représentées. Les protocoles à utiliser doivent donc être suffisamment sélectifs pour permettre l'extraction privilégiée des pectines. Ils doivent également avoir le souci de protéger l'intégrité des structures moléculaires en limitant la dégradation de ces dernières. La question à laquelle doit répondre l'expérimentateur est de savoir quel type de pectine extraire, à partir de quel matériel végétal, pour quelles propriétés, en vue de quelles applications et en utilisant quels protocoles.

A la lumière de toutes ces questions, nous avons jugé intéressant en premier temps d'extraire les deux types des pectines existantes à savoir les pectines hautement méthylées et les pectines faiblement méthylées.

2.3.2.1. Procédure d'extraction de la pectine de citron (Pc)

Il faut signaler que l'extraction avec un acide dilué à chaud représente la méthode la plus couramment utilisée pour l'extraction des pectines. Pour cette raison, nous avons choisi cette dernière pour l'extraction de la pectine à partir des albédos du citron selon la méthode décrite par Mesbahi et al. [108] avec quelques modifications. Les différentes étapes suivies dans cette procédure d'extraction sont résumées dans la figure 2.7.

Typiquement, 10 g de la matière végétale (MV) est suspendue dans l'eau distillée avec un rapport MV/Eau : 1/50, le pH est ajusté à 1,2 avec l'ajout de l'acide chlorhydrique concentré (37°) ; puis les échantillons sont placés dans un bain-marie avec agitation continue à une température de 80°C pendant 3h. A la sortie du bain-marie, une filtration à chaud est effectuée à travers la gaze puis à l'aide d'un papier filtre. Le jus pectique ainsi obtenu est clarifié par centrifugation (3000 trs/min pendant 15min). La pectine est précipitée en ajoutant 3 volumes d'éthanol de 96% à 1 volume de jus pectique, après 30min d'agitation et un repos de 20 min, le précipité est filtré à travers un papier filtre. Un lavage par l'acétone est réalisé, suivi d'une filtration, puis d'un pressage à la main. Et enfin, le produit

est séché dans l'étuve à 50°C pendant 5h. La pectine obtenue est broyée à l'aide d'un mortier en verre, pesée et conservée dans des flacons bien fermés dans un endroit sec.

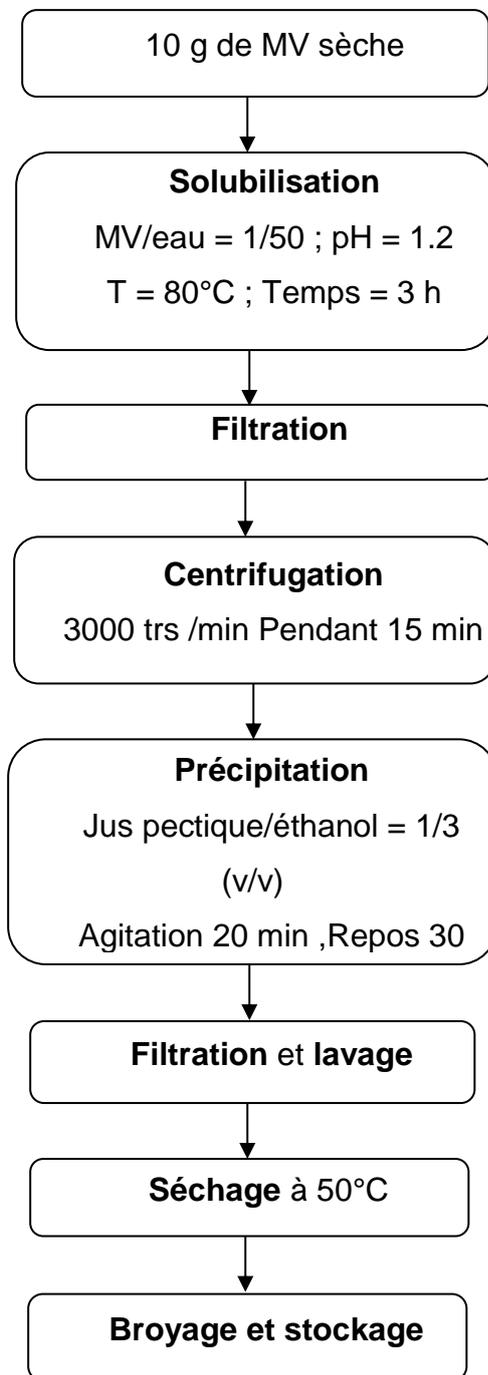


Figure 2.7 : Protocole d'extraction de la pectine du citron (Pc) par voie acide

2.3.2.2. Procédure d'extraction de la pectine de betterave (Pb)

L'extraction de la pectine de betterave a été réalisée en faisant une combinaison entre la méthode décrite par Mesbahi et al. [108] et celle citée par Buchholt et al. [109]. Dans cette méthode (Figure 2.8), chaque 10 g de pulpe séchée est mélangé avec 500 ml d'eau distillée dont le pH est ajusté à 1,2 avec l'ajout de l'acide chlorhydrique concentré (37°), et les échantillons sont placés dans un bain-marie à une température de 80°C et sous agitation continue pour une période de 3h. A la sortie du bain-marie, une filtration à la gaze suivie d'un pressage sont effectués afin de séparer le liquide visqueux, puis une filtration est effectuée à travers un papier filtre (filtrat 1). Les résidus obtenus sont resolubilisés dans l'eau distillée (80°C pendant 2h), puis séparés par filtration (filtrat 2). Les deux filtrats 1 et 2 sont additionnés et le pH est ajusté à 3-3,2 en utilisant une solution de NaOH (20%), et le mélange obtenu est clarifié par centrifugation (2500 trs/min) pendant 15 min. La pectine est isolée par précipitation en mélangeant le jus pectique avec l'isopropanol (99%) (1 :2 V/V) sous agitation (1h). Une séparation par filtration est effectuée, suivie d'un lavage avec de l'isopropanol, et le produit obtenu est séché dans l'étuve à 60°C pendant 5h. Enfin, la pectine extraite est broyée et stockée dans un endroit sec jusqu'à l'utilisation.

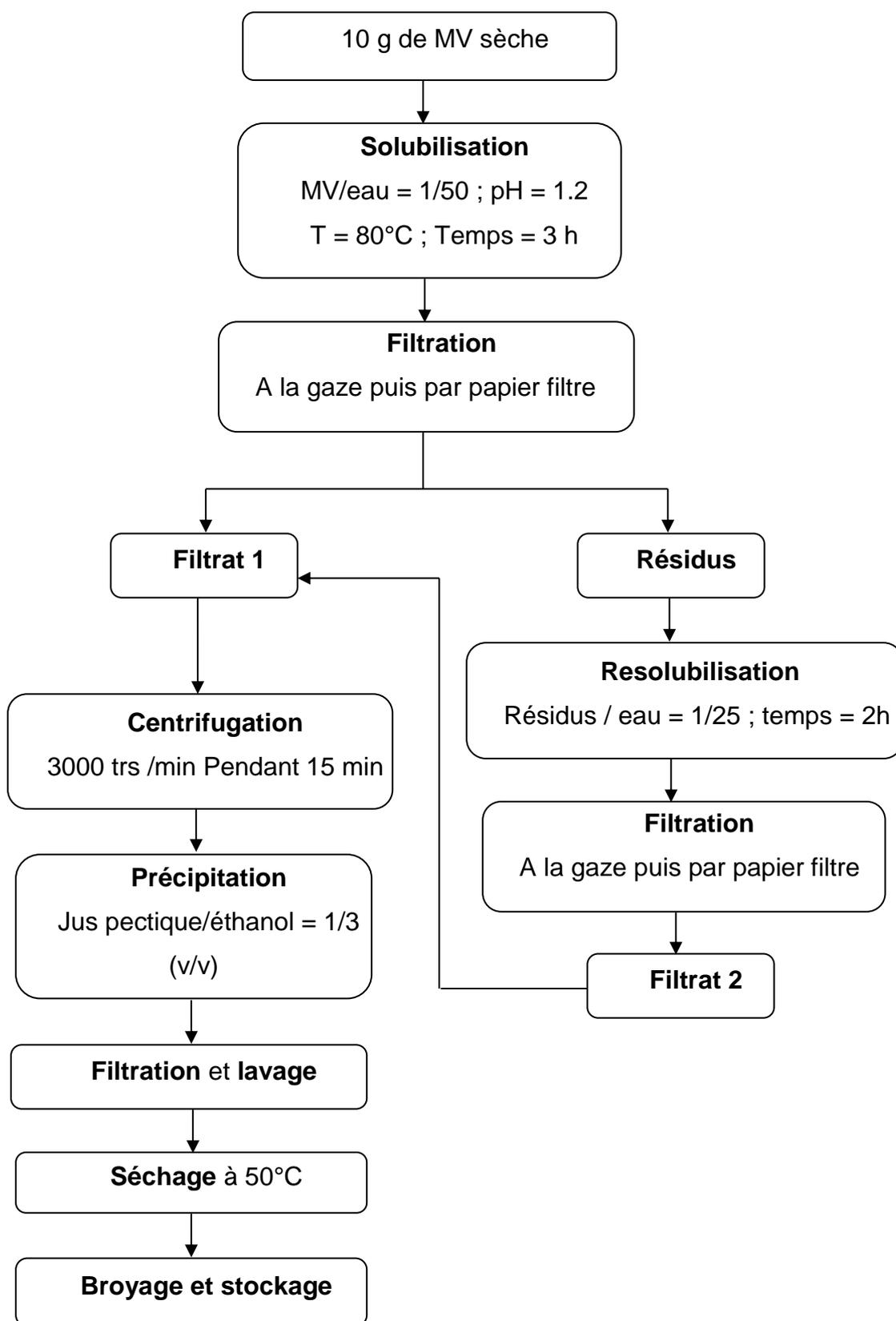


Figure 2.8 : Protocole d'extraction de la pectine de betterave (Pb) [108,109]

2.3.3. Planification des expériences de l'extraction des pectines par voie acide

Selon des recherches très récentes, l'extraction des pectines à partir de différentes sources végétales peut être réalisée à des temps réduits par rapport à la durée d'extraction que nous avons choisi pour l'extraction des pectines du citron et de betterave. Des durées d'extraction de l'ordre 60 et 120 min ont été choisies pour l'extraction des pectines à partir des chickpea husk et des albédos des oranges par Urias-Orona et al. [110] et Prabasari et al. [111]. Partant de cette idée, nous avons pensé à l'optimisation des principaux paramètres d'extraction des pectines qui sont : le pH, la température et le temps d'extraction en adoptant la méthodologie des plans d'expérience, dont le but, est d'obtenir de meilleures pectines en termes de rendement et de degrés d'estérifications.

2.3.3.1. Principe du plan d'expérience

Appliquée depuis déjà plusieurs dizaines d'années, dans des domaines aussi variés que l'agronomie, la mécanique et la chimie, la méthodologie des plans d'expériences est devenue maintenant un facteur de progrès et d'innovation. Parmi les nombreuses approches proposées, le plan **Minitab**, présenté pour la première fois en 1972 par Ryan B.F et al. [112], apparaît relativement simple dans sa mise en œuvre.

La méthode des plans d'expériences permet de montrer comment une variable ou réponse Y (rendement, composition, ...) est affectée par un certain nombre de variables d'entrée X (pH, température, ...) en minimisant le nombre d'expériences à réaliser. Cette approche statistique permet en outre de quantifier les effets des différentes variables d'entrée sur les différentes variables de sortie ou réponses.

2.3.3.2. Mise au point du domaine expérimental

La première partie consiste à définir les réponses à prendre en compte, les facteurs présentant des effets significatifs (variables d'entrée) et définir au mieux les bornes du domaine de chaque facteur. Dans cette étude, les deux réponses prises en compte et qui ont été choisies en se basant sur les critères industriels

d'efficacité du procédé sont : le rendement d'extraction et la qualité de la pectine obtenue, plus précisément son degré d'estérification. Alors que les facteurs d'entrée étudiés sont : le pH, la température et la durée d'extraction. Il est à noter que les bornes du domaine de chaque facteur étudié ont été définies suite à des recherches antérieures effectuées en termes de rendement [108]. Le Tableau 2.9 définit les trois variables d'études considérées et leurs niveaux.

Tableau 2.2 : Définition des facteurs et leurs niveaux

Facteur	Symbole	Niveau	
		Codé	
		-1	+1
Température (°C)	X_1	80	90
pH	X_2	1	2
Temps d'extraction (h)	X_3	1	3

2.3.3.3. Mise en œuvre du plan d'expériences

Un plan d'expériences factoriel complet à deux niveaux 2^k (k : est le nombre des facteurs) a été réalisé. Cela correspond à 08 expériences au total. L'ensemble de ces expériences va nous permettre de connaître l'impact de chaque variable d'étude sur le rendement d'extraction et la qualité de la pectine extraite ainsi que leurs éventuelles interactions.

A partir des variables d'étude, on peut donc déduire la matrice d'expériences suivante (Tableau 2.3).

Tableau 2.3 : Définition des différents niveaux des variables de la matrice d'expériences

N° d'expérience	Valeurs codées			Valeurs réelles		
	X ₁	X ₂	X ₃	Température	pH	Temps
1	-1	-1	-1	80	1	1
2	+1	-1	-1	90	1	1
3	-1	+1	-1	80	2	1
4	+1	+1	-1	90	2	1
5	-1	-1	+1	80	1	3
6	+1	-1	+1	90	1	3
7	-1	+1	+1	80	2	3
8	+1	+1	+1	90	2	3

Notons que, l'extraction de la pectine au moyen d'un plan d'expérience a été réalisée seulement à partir des albédos du citrange en suivant la même procédure d'extraction de la pectine décrite dans la section 2.3.2.1 de ce chapitre. La notation Pct désigne la pectine extraite à partir des albédos du citrange.

2.3.3.4. Méthode de calcul des variables de réponses

Les deux variables de réponses choisies dans cette étude sont le rendement et le degré d'estérification des pectines.

A. Calcul du rendement d'extraction de pectine

Les rendements des pectines sont exprimés en pourcentage et ils ont été calculés par rapport à la masse initiale traitée (masse des résidus séchés) selon l'équation suivante :

$$R (\%) = \frac{m}{m_0} \times 100 \quad (2.1)$$

Où : m est la masse de la pectine obtenue (g), et m_0 est la masse de l'échantillon traité (g).

B. Détermination de degré d'estérification (DE)

Le degré d'estérification des pectines est déterminé par la méthode titrimétrique donnée par USP 26 NF 21 [113]. Un échantillon de pectine (500 mg) a été transféré dans un erlenmeyer de 250 ml, humidifié avec 2 ml d'éthanol et dissous dans 100 ml d'eau distillée. Après la dissolution complète, 3 gouttes de phénolphthaléine ont été ajoutées, et la solution a été titrée avec NaOH (0,5M) et le résultat est enregistré comme **titre initial**. Puis, 10 ml de NaOH (0,5M) a été ajouté, et le mélange a été agité rigoureusement, et laissé reposer 15 min, en suite 10 ml d'HCl (0,5M) a été ajoutée et le mélange a été agité jusqu'à disparition de la couleur rose. Trois gouttes de phénolphthaléine ont été ajoutées et la solution est titrée avec NaOH (0,5M) à une couleur rose clair. Ce volume de titrage est enregistré comme le **titre final**. Le DE est calculé par la formule suivante:

$$DE (\%) = \frac{\text{titre final}}{\text{titre initial} + \text{titre final}} \times 100 \quad (2.2)$$

2.3.4. Extraction des pectines par induction électromagnétique

Dans cette partie d'étude, nous avons opté pour l'extraction de la pectine par une méthode alternative, c'est le chauffage par induction électromagnétique (IEM). Pour cela nous nous sommes intéressés à l'extraction de la pectine par chauffage à IEM en étudiant :

- 1- L'effet du mode du chauffage sur les propriétés de la pectine extraite.
- 2- L'effet du temps d'extraction sur les propriétés de la pectine extraite.
- 3- L'effet de la puissance d'induction électromagnétique sur le rendement d'extraction.

2.3.4.1. Extraction de la pectine par deux modes de chauffage

Le mode de chauffage est un paramètre essentiel à prendre en compte dans les processus d'extraction des polysaccharides. Pour cela et afin d'étudier l'influence de ce paramètre sur le rendement et les propriétés structurales de la pectine extraite, nous avons procédé à l'extraction de la pectine à partir des albédos du citrange en utilisant une méthode alternative, c'est le chauffage par induction électromagnétique.

En traitant les résultats obtenus après extraction en utilisant un plan d'expériences, nous avons jugé qu'une meilleure comparaison entre le chauffage conventionnel (chauffage dans un bain-marie) et le chauffage par induction électromagnétique (sur une plaque d'induction) doit se faire dans les conditions optimales obtenues précédemment. Donc la pectine a été extraite à partir des albédos du citrange par voie acide dans les conditions suivantes : $T = 80^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} = 1,2$ et $t = 90\text{min}$ par les deux modes de chauffage.

En ce qui concerne l'induction électromagnétique, il faut signaler ici que la plaque à induction est caractérisée par 09 niveaux de différentes puissances. Chaque niveau correspond à une température maximale spécifique. Pour cela, nous avons choisi le niveau #1 qui correspond à la température de 80°C . Le dispositif expérimental utilisé pour l'extraction de la pectine par induction électromagnétique est décrit sur la figure 2.9.

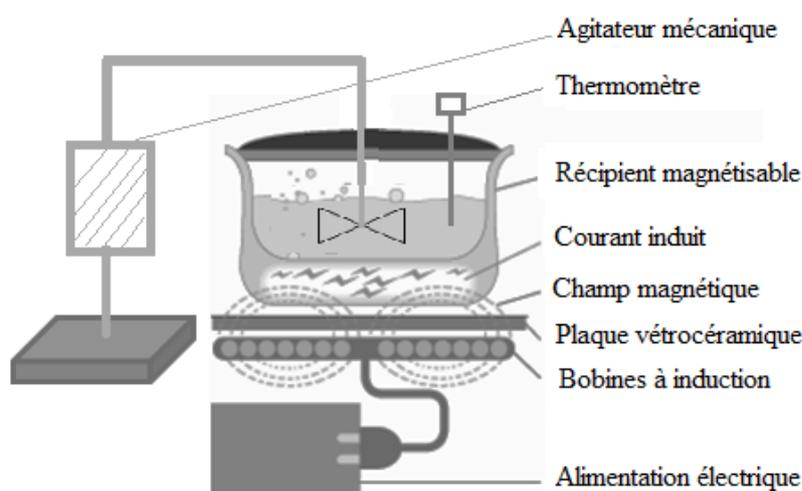


Figure 2.9 : Dispositif d'extraction par induction électromagnétique

2.3.4.2. Etude de la cinétique d'extraction de la pectine par chauffage à induction électromagnétique

En se référant aux résultats obtenus précédemment pour l'effet du mode de chauffage sur le rendement et le DE des pectines et afin de mieux étudier l'effet de ce dernier sur les propriétés des pectines extraites, nous avons jugé intéressant de réaliser une étude cinétique d'extraction de la pectine dans les mêmes conditions opératoires en termes de température et de pH que précédemment à des intervalles de temps réguliers de 10 min pendant 90 min.

2.3.4.3. Effet de la puissance d'induction électromagnétique sur le rendement d'extraction

Dans ce cas, nous avons procédé à l'extraction de la pectine par IEM à différentes puissances. Il faut rappeler que l'extraction a été effectuée aux différents niveaux de puissance 4, 5, 6, 7, 8 et 9 en respectant toujours les mêmes conditions optimales trouvées préalablement (pH=1,2, T=80°C). Les temps d'extraction nécessaire pour atteindre la température de 80°C correspondant à chaque niveau de puissance sont regroupés dans le Tableau 2.4. Il faut préciser qu'au-delà de ce temps, la température dépasse 80°C et peut atteindre des valeurs extrêmes de l'ordre de 120°C pour le niveau 9 par exemple à un temps très court (5min).

Tableau 2.4 : Temps d'extraction nécessaire pour atteindre 80°C correspondant à chaque niveau

Niveau #	4	5	6	7	8	9
Temps (min)	10,36	6,49	5,43	4,15	3,5	2,09

2.4. CARACTERISATIONS PHYSICOCHIMIQUES DES PECTINES

Toutes les caractérisations physicochimiques qui viennent par la suite ont été effectuées pour toutes les pectines extraites à partir des trois sources végétales (Citron : **Pc**, Citrange : **Pct** et betterave : **Pb**) ainsi que pour deux pectines commerciales une pectine de pommes notée **Pp** et l'autre pectine de citron commerciale notée **Pi**.

2.4.1. Analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

La spectroscopie infra-rouge est une méthode d'analyse physique rapide, simple à mettre en œuvre et ne nécessitant que peu de quantité de matière à analyser. Basée sur les transitions entre les états vibrationnels et rotationnels d'une molécule, elle peut être employée tout aussi facilement sur des échantillons bruts ou purifiés. Certains groupements ou liaisons, considérés comme marqueurs et notamment les fonctions acides carboxyliques des acides galacturoniques, peuvent révéler la présence des pectines [52].

➤ **Préparation des échantillons**

Les pectines extraites et commerciales sous forme de poudres fines sont mélangées à du bromure de potassium KBr (à raison de 1%) qui a la particularité d'être transparent à l'infrarouge dans le domaine exploré. Ce mélange solide (1 mg de produit pour 100 mg de KBr) sert à la réalisation d'une pastille translucide par compression qui sera placée délicatement sur un support spécifique et analysée par transmission.

Les spectres d'absorption infrarouge sont 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.

2.4.2. Taux d'humidité

Le taux d'humidité a été calculé par la méthode de Karl Fisher, c'est une méthode volumétrique du dosage qui repose sur la facilité de l'iode à réagir avec l'eau en présence de SO_2 .

Le taux en humidité est déterminé par la formule suivante [114] :

$$H(\%) = \frac{F(V_2 - V_1)}{m} \times 100 \quad (2.3)$$

Avec :

V_1 : volume initial de la solution de neutralisation (solution de Karl Fischer)

V_2 : volume final de la solution de neutralisation.

m: masse de l'échantillon en mg.

F : constante du poids.

H: taux d'humidité exprimé en %.

2.4.3. Taux de cendres

Un échantillon de pectine (1 g) a été incinéré dans un four à moufle à 600°C pendant 4h, puis refroidi et stocké dans un dessiccateur [115]. Le taux de cendre (C) est exprimé en pourcentage, et il est donné par la formule suivante :

$$C(\%) = \frac{P_2}{P_1} \times 100 \quad (2.4)$$

Où : P_1 est le poids initial de pectine (g) et P_2 le poids de pectine après incinération (g).

2.4.4. Degré d'estérification (DE)

Le degré d'estérification de toutes les pectines extraites et commerciales est déterminé selon la méthode décrite dans la section 2.3.3.4 (B).

2.4.5. Degré d'acétylation (DAc)

Le degré d'acétylation des pectines est déterminé par la méthode titrimétrique suivante [116]: 0,5 g de pectine est mélangée avec 25 ml de NaOH (0,1M) jusqu'à la dissolution complète de la pectine, la solution obtenue est laissée reposer 16h à la température ambiante. Puis, la solution est diluée à 250 ml avec l'ajout d'eau distillée, et un échantillon de 20 ml est placé dans l'appareil de distillation. Un volume égal (20 ml) d'acide sulfurique et de sulfate de magnésium (100 g de sulfate de magnésium + 1,5 g d'acide sulfurique dilués à 180 ml) est transféré

aussi dans l'appareil de distillation. Le mélange est distillé jusqu'à obtention de 100 ml du distillat. Le distillat est titré avec NaOH (0,05M) en utilisant le rouge de phénol comme indicateur. Le DAc est donné par la formule suivante :

$$DAc (\%) = \frac{V_{NaOH}(ml) \times N_{NaOH} \times 4,3}{\text{poinds d'échantillon dans 20 ml}} \quad (2.5)$$

Où :

DAc: degré d'acétylation (%).

V_{NaOH} : volume de NaOH du titrage (ml).

N_{NaOH} : normalité de NaOH (mol/l).

2.4.6. Détermination de la teneur en méthoxyl (MeO%)

La teneur en methoxyl a été déterminée en adoptant la procédure proposée par Kar et Arslan [117]. Puisque la quantité de méthoxyle dans des pectines 100% estérifiée est de 16,32%, le pourcentage de méthoxyle a été calculé à partir de l'équation suivante:

$$MeO (\%) = \frac{16,32}{100} \times DE \quad (II.6)$$

Où :

MeO : teneur en méthoxyle (%)

DE : degré d'estérification (%)

2.4.7. Mesures viscosimétriques ; estimation de la masse moléculaire

2.4.7.1. Relations empiriques

Depuis les premières recherches de Staudinger [118], l'étude de la viscosité des solutions macromoléculaires s'est avérée une méthode empirique très utile pour l'estimation des masses moléculaires des polymères. La méthode viscosimétrique est une technique simple et rapide à mettre en œuvre. Elle s'appuie sur le fait que la viscosité intrinsèque d'un polymère est liée par des lois empiriques à la masse moléculaire du polymère.

Dans la pratique, la viscosité intrinsèque des solutions macromoléculaires est définie comme étant la limite de la viscosité réduite lorsque la concentration tend vers zéro selon la formule suivante [118].

$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}}{C} \quad (2.7)$$

$$\eta_{sp} = \frac{t - t_0}{t_0} \quad (2.8)$$

Où :

$[\eta]$: viscosité intrinsèque (dl/g).

η_{sp} : viscosité spécifique.

t et t_0 : temps d'écoulement de la solution et du solvant respectivement (s).

C : concentration du soluté (g/l).

La viscosité intrinsèque est liée à la masse moléculaire selon la relation de Mark-Houwink suivante :

$$[\eta] = k M_v^a \quad (2.9)$$

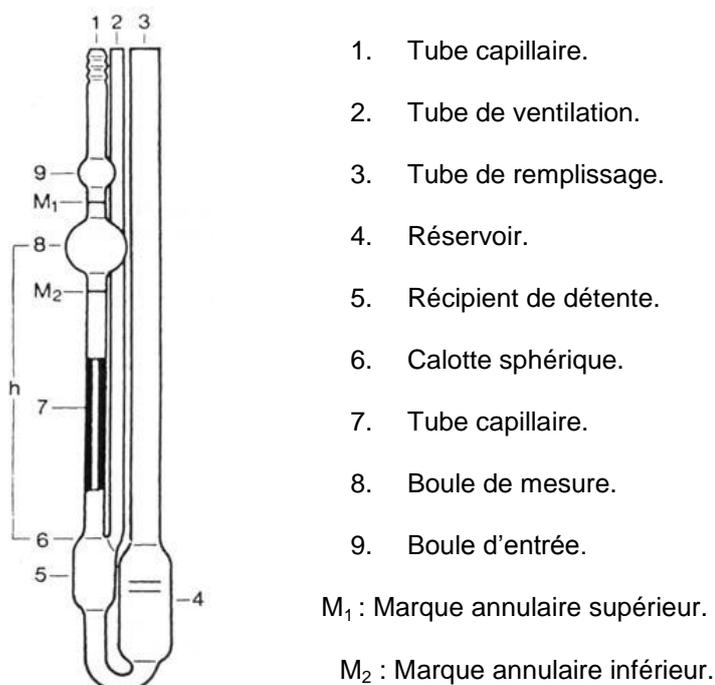
Les deux constantes K et a sont des paramètres caractéristiques qui dépendent du système polymère-solvant à une température donnée. Dans le cas de la pectine, le solvant choisi est l'hexamétaphosphate de sodium (1%) [119]. Pour ce système particulier, les constantes k et a ont été établies par Anger et Berth [120], et l'équation II.9 devient :

$$[\eta] = 9,55 \times 10^{-2} M_v^{0.73} \text{ (ml/g)} \quad (2.10)$$

2.4.7.2. Mode opératoire

Les solutions de pectines (2, 1,5, 1, 0,75, 0,5 et 0,25 g/l) ont été préparées dans une solution de l'hexamétaphosphate de sodium (1%). Les mesures de viscosité ont été effectuées à l'aide d'un viscosimètre capillaire de type Ubbelohde (figure 2.10). Le mouvement de cisaillement est engendré en imposant une différence de pression entre les 2 extrémités d'un tube cylindrique de faible section, dans lequel s'écoule la solution. Cet appareil placé dans un thermostat

maintenu à température constante ($20 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$), mesure le temps d'écoulement d'un volume défini (13 ml de solution de pectine) par deux traits de repère. La seule force de pesanteur est responsable de l'écoulement. Le temps d'écoulement du solvant pur a été également mesuré dans les mêmes conditions.



1. Tube capillaire.
2. Tube de ventilation.
3. Tube de remplissage.
4. Réservoir.
5. Récipient de détente.
6. Calotte sphérique.
7. Tube capillaire.
8. Boule de mesure.
9. Boule d'entrée.

M₁ : Marque annulaire supérieur.

M₂ : Marque annulaire inférieur.

Figure 2.10 : Viscosimètre capillaire type Ubbelohde.

2.4.8. Caractérisation des contenus saccharidiques

2.4.8.1. Dosages des sucres par colorimétrie

La quantification des sucres est réalisée par la méthode au phénol sulfurique pour les oses neutres [49] et la méthode au méta-hydroxydiphényl (*m*-HDP) pour les acides uroniques [121].

A. Dosage de Dubois

A 200 μl de solution à doser, on ajoute 200 μl d'une solution aqueuse de phénol à 5%. Le mélange est homogénéisé au vortex, puis 1ml d'acide sulfurique concentré est rapidement introduit dans le milieu réactionnel. Après

homogénéisation, le mélange est porté au bain-marie à 100°C durant 5 minutes. Les tubes sont refroidis et placés à l'obscurité pendant 30 minutes. Une coloration orange apparaît (voir figure 2.11.a). La lecture des densités optiques est réalisée à 492 nm. Les quantités de sucres en solution peuvent être établies en comparaison avec une gamme étalon de glucose de concentration de 25, 50, 100, 200, 300 et 400 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$.

B. Dosage de Blumenkrantz-Asboe

A 200 μl de la solution pectique à doser, on ajoute 1,2 ml d'une solution de tétraborate de sodium à 0,125 M dans l'acide sulfurique concentré. Le mélange est homogénéisé au vortex, et réfrigéré dans la glace. Les tubes sont ensuite portés à 100°C au bain-marie durant 5 minutes. Après refroidissement dans un bain de glace, on ajoute 20 μl d'une solution de m-HDP (métahydroxydiphényle) à 0,15% dans une solution de soude à 0,5%. Les tubes sont agités. Une coloration rose se développe pendant 5 minutes (voir figure 2.11.b). La lecture des densités optiques est réalisée à 520 nm. Les quantités de sucres en solution peuvent être établies en comparaison avec une gamme étalon d'acide galacturonique de concentration 25, 50, 100, 200 et 400 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$.

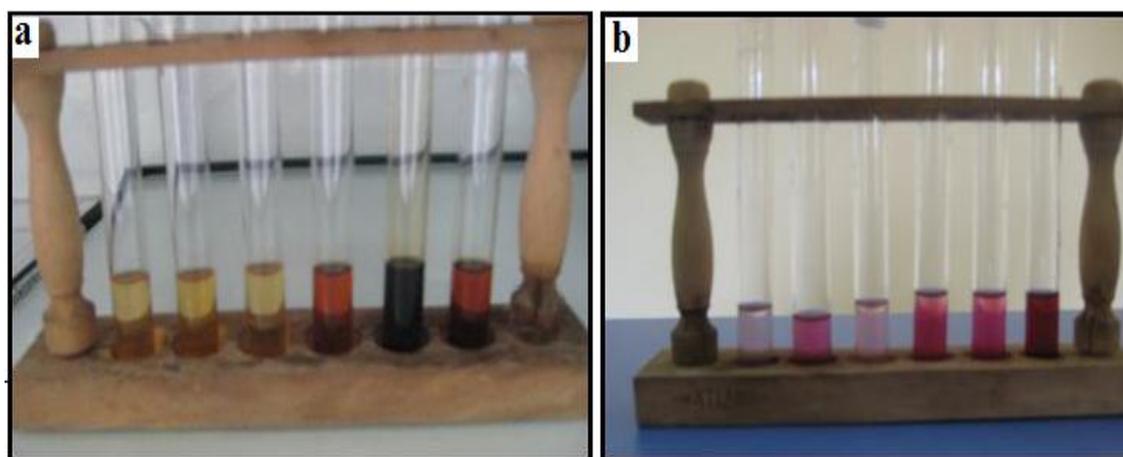


Figure 2.11 : Couleurs des complexes formés lors de dosage des sucres

2.4.8.2. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La première partie de ce test consiste à une d'hydrolyse acide des pectines. La méthode utilisée est celle décrite par Harche et al. [122]. Pour la réalisation ; dans des tubes à vis contenant 100 mg de fraction pectique, on ajoute 2 ml d'H₂SO₄ à 1N. Ces tubes sont bien fermés et placés pendant 4 heures au bain marie à une température de 100°C. Les hydrolysats sont filtrés 3 fois sous vide. Les filtrats sont stockés dans un réfrigérateur à une température de 0°C jusqu'à l'analyse.

En suite une préparation des solutions des sucres témoins à une concentration de 0,025 mg dans de l'eau distillée est effectuée, il s'agit du Glucose, Xylose, Rhamnose et Mannose.

Des plaques silice Kieselgel G-25de 0,25 mm d'épaisseur (Art-Nr. 809013 bei 20x20 cm) ont été employées pour la chromatographie sur couche mince en phase normale. Une migration est effectuée dans le solvant de migration constitué de : acétate d'éthyle/acide acétique/eau 2/1/1 (V/V/V). La migration est arrêtée au bout de 3 heures lorsque le front du solvant atteint une hauteur de 18 cm. Après séchage à l'air libre, la révélation des plaques est réalisée par pulvérisation d'une solution de réactif de Molich (α -naphtol/acide sulfurique en solution éthanoïque) sous hotte suivie d'un séchage pendant 15 minutes à l'étuve à une température de 100°C.

Chaque sucre est caractérisé par son rapport frontal (R_f) qui est donné par la relation suivante :

$$R_f = \frac{d}{D} \quad (2.11)$$

Où :

R_f : rapport frontal.

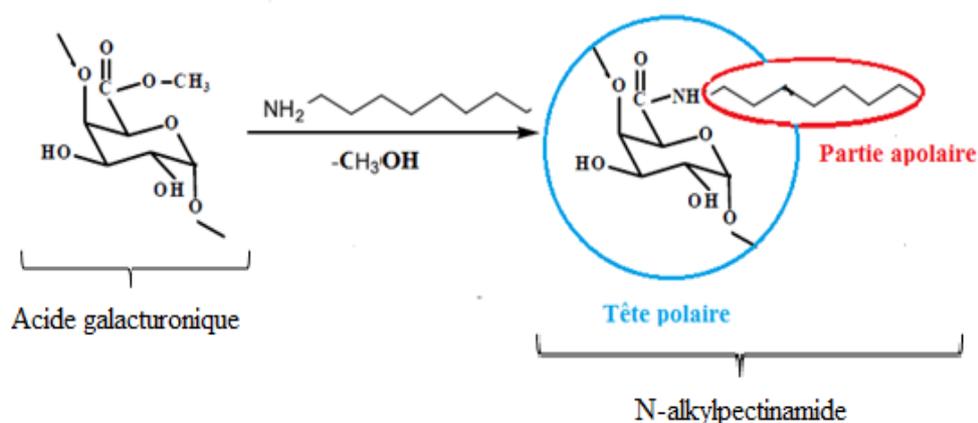
d : distance parcourue par le sucre (cm).

D : distance parcourue par le solvant (cm).

2.5. MODIFICATION CHIMIQUE DES PECTINES

Dans cette partie du travail, nous nous intéressons à l'hydrophobisation des substances pectiques par greffage des chaînes hydrocarbonées aliphatiques et plus essentiellement par greffage des amines primaires de différentes longueurs des chaînes 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 et à optimiser les conditions de réaction. De façon générale, nous avons exploré une voie de synthèse permettant d'obtenir des dérivés amphiphiles en milieu essentiellement aqueux et diphasique. L'influence de divers paramètres de synthèse (rapport pectine/amine, température et temps) sur le taux de substitution sera ainsi étudiée.

L'hydrophobisation de la pectine par amidation a été effectuée dans un milieu hétérogène avec le méthanol selon la méthode décrite par Synytsya et al. [88]. La structure générale des molécules ciblées (N-alkylpectinamides) est décrite comme suit.



L'obtention des N-alkylpectinamides se déroule en deux étapes complémentaires: la première étape consiste à la conversion des pectines en forme acide. La seconde étape consiste au greffage de l'amine sur le squelette précurseur.

2.5.1. Hydrophobisation de la pectine industrielle par amidation

La pectine industrielle (Pi) a été utilisée pour la préparation des dérivés N-alkylpectinamides avec l'introduction de trois amines primaires: n-octylamine, n-dodecylamine et n-octadecylamine.

2.5.1.1. Conversion de la pectine en forme acide

La pectine a été convertie sous forme acide par un lavage avec une solution d'HCl (0,1mol/l) préparée dans le mélange éthanol-eau (1:1 v/v), puis lavée plusieurs fois avec le mélange éthanol-eau et en fin avec l'éthanol à 96%, puis filtrée à travers un papier filtre et séchée dans l'étuve à 60°C pendant 6h.

2.5.1.2. Amidation

La pectine (2g) a été suspendue dans 50ml de méthanol (solution 1) et 4g de chaque n-alkylamine a été dissous dans 120 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 erlenmeyers fermés et couverts en papier aluminium sous agitation continue à une température de 20°C pendant 7 jours. A la fin de chaque réaction, le mélange a été décanté afin de séparer le produit sous forme solide, puis lavé avec le méthanol à la température appropriée pour éliminer l'amine libre, puis avec l'HCl (0,1 mol/l) pour convertir les groupements carboxyliques ionisés à la forme de proton. Cette étape est nécessaire pour l'hydrolyse du sel d'alkylammonium 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 [123].

2.5.1.3. Détermination du degré d'amidation

Le degré d'amidation (DA) a été obtenu par déconvolution des spectres FTIR (1800-1500 cm⁻¹) des N-alkylpectinamides. Cette analyse a été effectuée à l'aide d'un logiciel **OPUS** software. Le degré DA est calculé par la formule suivante [88]:

$$DA = \frac{A_{amide}}{A_{tot}} \quad (2.12)$$

Où :

A_{amide} : la surface de la bande d'amide.

A_{tot} : la somme des surfaces de toutes les bandes des groupements carboxyliques, ester et amides.

2.5.1.4. Etude de la cinétique d'amidation

Au cours d'un procédé d'hydrophobisation par amidation, plusieurs paramètres peuvent influencer sur l'efficacité de ce dernier en termes de degré de substitution. Pour cette raison, nous avons jugé intéressant de réaliser l'amidation de la pectine industrielle en étudiant principalement l'effet de la température et le temps de contact sur le processus d'amidation des pectines.

Initialement, nous avons choisi de réaliser l'amidation de la pectine Pi à trois différentes températures (20, 35 et 50°C) et pendant trois durées (3, 5 et 7 jours). Il faut préciser ici que l'amidation a été effectuée avec une seule amine qui est le n-octadecylamine.

2.5.1.5. Etude de l'effet du rapport pectine / amine

Afin d'étudier l'influence du rapport massique : pectine/amine sur le degré de substitution, nous avons réalisé une amidation de la pectine industrielle dans les mêmes conditions opératoires choisis précédemment (20°C, 7jours) avec les rapports massiques suivants : 1/2 et 1/5.

2.5.2. Amidation des pectines extraites et de la pectine de pomme

L'étude de la cinétique du processus d'amidation de la pectine industrielle à différents paramètres, ainsi que les propriétés de surfaces des N-alkylpectinamides synthétisés nous a permis de choisir les conditions opératoires optimales pour l'hydrophobisations des pectines extraites.

La modification chimique des pectines : Pc, Pct, Pb et Pp a été réalisée dans les conditions suivantes : le rapport pectine /amine : 1/2, à 20°C, pendant 7jours et avec le C₁₂H₂₇N.

2.5.3. Caractérisations physicochimiques des N-alkylpectinamides

Les échantillons des N-alkylpectinamides synthétisés à partir des différentes pectines étudiées dans cette étude ont été soumis à divers tests physicochimiques appropriés.

2.5.3.1. Caractérisation par spectroscopie FTIR

La spectroscopie FTIR est une excellente méthode pour les analyses structurales et quantitatives des pectines. Elle est utilisée pour détecter les changements chimiques dans les substances pectiques et, plus spécifiquement, les changements au niveau des groupements ester. Les spectres FTIR des pectines et ces dérivés (N-alkylpectinamides) ont été enregistrés dans la gamme de 400 à 4000 cm^{-1} avec une résolution de 4 cm^{-1} et un nombre de scans 128. Les pastilles ont été réalisées avec le KBr.

2.5.3.2. Solubilité des N-alkylpectinamides dans l'eau

Une quantité (20 mg) de N-alkylpectinamides a été humidifiée avec quelques gouttes d'éthanol. Puis 10 ml d'eau distillée a été ajouté. Le mélange a été chauffé à 50°C sous agitation pendant 10-15 min, puis refroidi à 25 °C et en fin filtré à travers un papier filtre. Le papier filtre avec le résidu solide ont été séchés puis pesés pour l'estimation du solide non-soluble.

2.5.3.3. Etude du comportement des dérivés N-dodecylpectinamides en solution aqueuse par viscosimétrie capillaire

La viscosimétrie capillaire est une technique permettant de déterminer les caractéristiques géométriques des pelotes macromoléculaires dans un solvant donné et à une température donnée. L'écoulement laminaire d'une solution diluée en polymère est perturbé par la présence des chaînes macromoléculaires qui provoquent l'accroissement de la viscosité de la solution par rapport à celle du solvant pur. Par conséquent, le temps d'écoulement dans un capillaire augmente avec la viscosité de la solution de macromolécules qui est directement liée à sa concentration et aux caractéristiques géométriques des espèces dissoutes.

En régime dilué, la viscosité réduite (η_{red}), définie par la relation 2.13, évolue de façon linéaire avec la concentration selon la relation de Huggins (équation 2.14).

$$\eta_{red} = \frac{t - t_0}{t_0 C} \quad (2.13)$$

$$\eta_{red} = [\eta] + k_H[\eta]^2 C \quad (2.14)$$

Où k_H est le coefficient de Huggins, C la concentration du soluté (g/l) et $[\eta]$ la viscosité intrinsèque (dl/g).

➤ **Protocole expérimental**

Les mesures de viscosité des solutions de pectines (dans un régime dilué) ont été effectuées selon la méthode décrite dans la section 2.4.6. Il faut noter que l'étude viscosimétrique réalisée sur la pectine de pomme Pp et son dérivé amphiphile N-Pp-C₁₂ concerne essentiellement leur comportement en solution dans l'eau pure et dans l'eau en présence de l'hexamétaphosphate de sodium (Na₆O₁₈ P₆) à 1%.

2.5.3.4. Mesure de la tension de surface (γ)

La tension de surface est un paramètre physicochimique important qui caractérise les composés tensioactifs. Dans le but de voir dans quel sens agit l'hydrophobisation des pectines sur les propriétés superficielles de ces dernières, nous avons mesuré la tension superficielle des solutions des pectines et leurs dérivés.

Les mesures de tensions de surfaces ont été réalisées grâce à un tensiomètre CSC de type Du Nouy (Du Nouy 70545) en utilisant la technique d'arrachement de l'anneau et en opérant à la température ambiante (23°C). La technique d'arrachement de l'anneau est l'une des plus simples et des plus utilisées. Ce système consiste en un anneau en platine mince, suspendu horizontalement au bras d'une balance tarée. Il s'agit d'immerger l'anneau dans la solution à étudier, puis de le remonter jusqu'à la position limite où l'anneau est uniquement retenu par les molécules présentes à la surface de la solution. La lecture de la valeur de

la tension superficielle se fait au moment de l'arrachement de l'anneau de la surface de solution. Les valeurs sont affichées sur un disque gradué en dynes/cm ce qui correspond à des mN/m. Trois essais ont été effectués pour chaque échantillon afin de vérifier la reproductibilité des valeurs obtenues.

Toutes les solutions sont préparées 24h à l'avance, soumises à une agitation douce afin d'éviter la formation de mousse tout en permettant une homogénéisation complète. Les solutions ainsi obtenues sont stockées dans un réfrigérateur à 4°C pendant 18h avant d'être passées à l'analyse.

Pour chaque pectine ou son dérivé étudié, une solution « mère » de 5 g/l est préparée dans l'eau distillée après humidification de l'échantillon avec quelques gouttes d'éthanol. Puis les solutions de concentrations plus faibles sont préparées par dilution d'un volume défini de la solution mère dans l'eau distillée. La tension de surface a été mesurée pour une gamme de concentrations variant entre 10^{-4} et 5 g/l.

2.5.3.5. Mesure de la tension interfaciale

Les mesures de la tension interfaciale ont été effectuées à l'interface Huile /Eau en utilisant des solutions de pectines ou leurs dérivés à 0,5% préparées dans l'eau distillée en présence de 0,02% d'azoture de sodium comme bactéricide. Une couche d'hexadecane (98%) a été ajoutée goutte à goutte à la surface des solutions de pectines. Les mesures de la tension interfaciale ont été exécutées à l'aide du même tensiomètre. Trois essais ont été effectués pour chaque échantillon.

2.5.3.6. Pouvoir émulsifiant

Afin d'étudier le pouvoir émulsifiant des N-alkylpectinamides, des émulsions de type huile dans l'eau (H/E) ont été préparées en ajoutant 3ml d'hexadecane à 3 ml de solution pectique à 0,5% dans des tubes de centrifugation gradués de 15 ml. Les solutions ont été homogénéisées vigoureusement à l'aide d'un secoueur type vortex en mode continu à la vitesse maximale et pendant 2min. Les émulsions obtenues ont été finalement centrifugées à 500 trs/min, pour 5 min. Le volume total (V_t) et le volume de la couche d'émulsion (V_e) ont été mesurés.

L'activité émulsifiante (EA : Emulsifying Activity) a été calculée en utilisant la relation suivante [124]:

$$EA (\%) = \frac{V_e}{V_t} \times 100 \quad (2.15)$$

2.5.3.7. Stabilité de l'émulsion

Pour étudier la stabilité des émulsions (ES : Emulsion Stability) préparées à base des N-alkylpectinamides, une série d'émulsions a été préparée de la même méthode décrite dans la section précédente (4 échantillons pour chaque type de pectines). Deux tubes ont été refroidis à 4°C, centrifugés à 500 trs /min pendant 5min, puis les volumes de la couche d'émulsion ont été mesurés (V_i) et les échantillons sont stockés à 4°C. Les deux autres tubes ont été traités de la même façon, mais à la température ambiante (23°C). Après 1 et 30 jours, les volumes de la couche d'émulsions (V_f) ont été mesurés après centrifugation. La stabilité d'émulsion a été calculée comme suit [124]:

$$ES (\%) = \frac{V_i}{V_f} \times 100 \quad (2.16)$$

2.6. VALORISATION DES DERIVES N-ALKYLPECTINAMIDES

Afin d'apprécier plus amplement les nouvelles propriétés des dérivés N-dodecylpectinamides synthétisés, nous avons opté, dans cette partie, pour l'utilisation de ces derniers comme des biosorbants pour l'adsorption des ions métalliques du cuivre.

Sous forme d'une étude comparative entre les pectines natives et leurs dérivés amphiphiles, le phénomène de la biosorption des ions métalliques du cuivre Cu(II) a été étudié en utilisant les pectines natives et leurs dérivés N-dodecylpectinamides comme biosorbants.

2.6.1. Utilisation de la pectine native comme biosorbant

Le phénomène de la biosorption comme autre processus chimique est influencé par divers paramètres opératoires (température, pH, agitation...). Ainsi, il s'avère utile de déterminer en premier lieu les paramètres optimaux de la biosorption des ions métalliques de Cu (II) par la pectine non modifiée. Les paramètres testés sont la teneur en biosorbant, le pH et le degré de méthylation de la pectine.

2.6.1.1. Etude de la cinétique de biosorption

Toutes les expériences de biosorption en mode batch ont consisté de mettre en contact dans un erlenmeyer, sous agitation continue, à température ambiante (23°C) et pH indiqué, une quantité précise de biosorbant (pectine modifiée ou non) avec une solution synthétique de cuivre (CuSO₄, 5H₂O) de volume et de concentration connus.

La détermination de la cinétique de biosorption se fait par l'évaluation de la concentration résiduelle de l'ion métallique Cu(II) à différents intervalles de temps. La capacité de fixation, exprimée en mg d'ion métallique par gramme de biosorbant, est calculée par la formule suivante [125]:

$$q = \frac{[(C_0 - C_e)V]}{m} \quad (2.17)$$

Où :

C₀ : concentration du métal dans la solution à t = 0 (mg/l),

C_e : concentration du métal dans la solution à l'équilibre (mg/l),

V : volume de la solution du biosorbant (l),

M : masse du biosorbant introduite (g).

Note : Il faut noter qu'une concentration de 636 mg/l en CuSO₄ a été utilisée pour toutes les cinétiques de biosorption étudiées.

2.6.1.2. Effet de la teneur en biosorbant

Afin d'optimiser la quantité de biomasse requise pour une fixation maximale d'ions métalliques, nous avons étudié la cinétique de la biosorption à différentes concentrations en pectine (Pp) : 1, 2, 5, 7 et 10 g/l.

2.6.1.3. Effet du pH sur la biosorption

Le pH est un paramètre essentiel à prendre en compte dans les processus de biosorption des ions métalliques puisqu'il agit à la fois sur la solubilité du métal, son état d'ionisation ainsi que sur l'état d'ionisation des groupements du biosorbant.

Pour étudier l'influence de ce paramètre, nous avons suivi l'évolution de la biosorption des ions Cu(II) en fonction du temps à deux pH : un pH initial de 3,1 et un pH maintenu de 5,0. L'ajustement du pH est obtenu par l'ajout de la solution de NaOH (0,5M).

2.6.1.4. Effet du degré d'estérification sur la biosorption

Le degré d'estérification détermine la teneur des macromolécules pectiques en groupements COOCH_3 . Ce dernier a une influence majeure sur la capacité de biosorption du cuivre. L'effet de degré d'estérification sur la capacité de biosorption a été réalisée par l'utilisation de deux types de pectines une hautement méthylée (DE=69 %) et l'autre faiblement méthylée (DE= 41%). Il faut noter que pour ce test nous avons utilisé Pct.

2.6.2. N-dodecylpectinamide pour la biosorption des ions du cuivre

Afin de mieux comparer la capacité de biosorption entre les pectines et leurs N-alkylpectinamides, nous avons jugé intéressant d'évaluer la cinétique de la biosorption des ions de cuivre dans les conditions optimales obtenues précédemment. Pour ce faire nous avons choisi pour ce test la pectine de pomme et son dérivé N-dodecylpectinamide.

CHAPITRE 3

RESULTATS ET DISCUSSIONS

3.1. INTRODUCTION

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

Les résultats obtenus sont regroupés en trois parties:

- ✓ Caractéristiques et propriétés physicochimiques des substances pectiques extraites à partir de différentes sources végétales par voie acide à chaud et en faisant varier plusieurs paramètres opératoires.
- ✓ Résultats des expériences de modification chimique des substances pectiques en dérivés amphiphiles par amidation ainsi que leurs caractérisations physicochimiques sont reportés.
- ✓ Résultats relatifs à l'application des dérivés N-alkylpectinamides comme des biosorbants pour la fixation des ions métalliques du cuivre.

3.2. CARACTERISATIONS PHYSICOCHIMIQUES DES PECTINES

3.2.1. Aspect général

Les pectines issues de différentes sources végétales présentent généralement des caractéristiques différentes. En général, toutes les pectines extraites ainsi que les pectines commerciales présentent un certain degré de coloration en tant que produit final. La coloration s'étale de jaune pâle brun pour les pectines extraites à partir des agrumes (citron et citrange) à tanin foncé pour la pectine de pomme et la pectine extraite à partir des pulpes de betterave. La coloration des pectines est provoquée par la combinaison de deux facteurs : couleur naturelle (pigmentation) des matériaux bruts et leur composition chimique (teneur en acide galacturonique, groupements acétyles, groupements d'acide féruliques, teneur en polyphénols...).

3.2.2. Rendement en pectine extraite

Les calculs des rendements en pectines pour les trois sources végétales étudiés révèlent que la teneur en pectines varie selon la nature de la matière végétale. Les résultats obtenus sont représentés sur la figure 3.1. Pour la même espèce d'agrumes, les rendements en pectine du citrange (R=25%) et celle du citron (R=22,5%) sont relativement identiques, une différence de 2,5% peut-être justifiée par la différence de la variété d'agrumes utilisée. Alors que le rendement en pectine de betterave (R= 12,5%) est nettement inférieur par rapport à ceux obtenus pour le citron et le citrange. Cette différence justifiée clairement l'effet de la matière première sur les rendements en pectines.

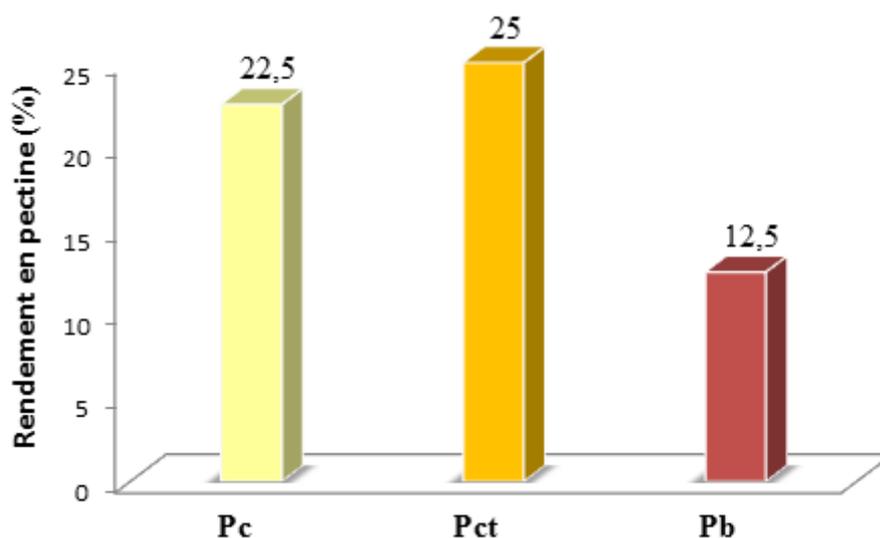


Figure 3.1 : Effet de l'origine de la matière première sur le rendement en pectine

Les résultats obtenus sont en accord avec les valeurs données dans la littérature pour une teneur de l'ordre 32% en pectine extraite à partir des écorces d'agrumes et une teneur variant entre 15-20% en pectine de marc de betterave [25, 28]. Toutefois il faut signaler que nos résultats sont d'un côté inférieurs à ceux trouvés par Mesbahi et al. [108] avec un rendement de 20% en pectine extraite à partir des pulpes de betterave dans les mêmes conditions opératoires. Et d'un

autre côté, ces résultats sont meilleurs que ceux rapportés par Kurita et al. [126] avec des rendements de l'ordre de 7,5-8,5% en pectines extraites à partir des écorces du citron. Cette différence est justifiée d'un côté par la méthode d'extraction utilisée qui est par voie acide pour notre étude et par voie alcaline pour les travaux de Kurita et al. et d'un autre côté, par l'origine géographique du citron utilisé donc les conditions de culture. En effet, les polysaccharides extraits de végétaux ont des caractéristiques variables, car, à part les conditions d'extraction, les espèces sources sont soumises à des aléas climatiques et écologiques qui influent de manière significative sur la quantité des molécules qu'elles produisent. Il en résulte un manque de reproductibilité des formulations qui s'oppose parfois à leur mise sur le marché.

3.2.3. Analyse par spectroscopie infrarouge (FTIR)

Les groupements carboxyles de l'acide galacturonique, qui est le constituant principal des pectines, constituent un bon marqueur caractéristique de la présence des polysaccharides pectiques. Ces groupements donnent, en infrarouge, des bandes très différenciées de celles des autres groupements présents dans la cellulose ou les hémicelluloses.

L'analyse spectroscopique infrarouge nous a permis de mettre en évidence les différents groupements fonctionnels, principalement organiques, constituants des substances pectiques. Ces derniers sont en parfaite conformité avec la composition chimique donnée par la littérature [127, 128]. Les principaux groupements sont : hydroxyles, méthyles esters et carboxyles. La figure III.2 regroupe les spectres FTIR de toutes les pectines extraites ainsi que celui de la pectine commerciale Pp.

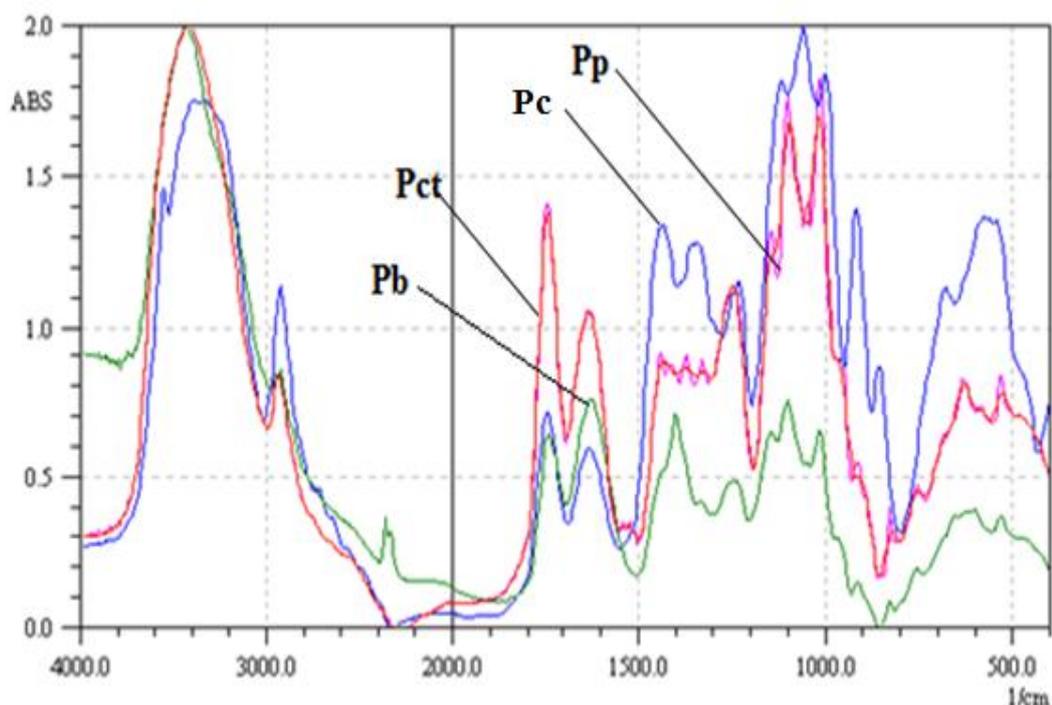


Figure 3.2 : Spectres infrarouge enregistrés pour les pectines de citron (Pc) de citrange (Pct), de betterave (Pb) et de pomme (Pp).

L'analyse de la figure 3.2 montre que les spectres FTIR des trois pectines extraites (Pc, Pct et Pb) montrent une certaine similitude des bandes d'absorption aux spectres FTIR des pectines commerciales (Pp). Ces résultats confirment que les substances extraites à partir des albédos d'agrumes et des pulpes de betterave sont des substances pectiques.

Les groupements fonctionnels des pectines, leurs fréquences correspondantes ainsi que la nature des bandes sont représentés dans le Tableau 3.1.

Tableau 3.1 : Caractéristiques spectrales des pectines

Nombre d'onde (cm^{-1})	Groupe ment fonctionnels	Intensité
3600-2500	O – H	Forte
3000-2800	C – H (symétrique et asymétrique)	Aigue
1760-1730	C = O (estérifié)	Forte
1630-1600	COO (Elongation asymétrique)	Forte
1400	COO (Elongation symétrique)	Faible
1380	C – H	Faible
1300-1000	C = O	Faible

Les spectres FTIR des pectines donnent des pics très typiques pour un certain nombre de groupements spéciaux : les larges pics d'absorption entre 3600 et 2500 cm^{-1} sont provoqués par l'absorption O–H due aux liaisons d'hydrogène inter et intra moléculaires de la chaîne d'acide polygalacturonique. Les bandes autour de 2900 cm^{-1} (entre 3000 – 2800 cm^{-1}) correspondent à l'absorption C–H, ceci inclut les vibrations CH et CH₂. Dans le cas des pectines estérifiées, une élongation O-CH₃ devrait être prévenue entre le 2950 et 2750 dus aux groupements méthyls esters de l'acide galacturonique. Cependant, en raison de la grande vibration de liaison OH qui se produit dans une large région (3600 –2500 cm^{-1}), la bande correspondante au groupement O- CH₃ est masquée et ne doit pas être considérée comme un indicateur fiable de méthylation. Des bandes plus fortes se produisant entre 1730-1760 et 1600-1635 cm^{-1} correspondent aux groupements carbonyles esters (COOCH₃) et aux ions carboxyles (COO⁻) respectivement.

De plus, nous remarquons que l'intensité des pics d'absorption des groupements carbonyles esters augmente avec l'augmentation du degré d'estérification, par contre l'intensité d'absorbance des groupements carboxyles libres augmente avec la diminution du degré d'estérification. Ces bandes ont un intérêt particulier pour l'évaluation de degré d'estérification.

Finalement, dans la région en dessous de 1500 cm^{-1} les absorptions ne peuvent pas être assignées à n'importe quelle vibration particulière parce qu'elles correspondent aux systèmes complexes [127]. La région spectrale entre 1450 et 750 cm^{-1} montre plusieurs pics: autour de 1440 cm^{-1} (C- H), 1340 cm^{-1} (Elongation asymétrique C – C – O), 1200 cm^{-1} (C – O), et une gamme entre 1080 et 840 cm^{-1} (les liaisons β^- glucidiques) caractéristiques des substances pectiques.

La différence observée entre les trois spectres FTIR, en termes de l'intensité des pics, justifie clairement les différentes sources des trois pectines, donc l'origine de la matière végétale est un paramètre caractéristique de la structure des substances pectiques.

3.2.4. Caractérisation des composés non saccharidiques des substances pectiques

Les différents résultats relatifs à la détermination du taux d'humidité, taux de cendres, degré d'estérification, teneur en méthoxyle et degré d'acétylation des différentes pectines étudiées (Pc, Pct, Pb, Pi et Pp) sont récapitulés dans le Tableau 3.2.

Tableau 3.2 : Composition non saccharidique des pectines

Composition (%)	Origine de la pectine				
	Pc	Pct	Pb	Pi	Pp
Humidité	8,09	10,01	10,2	6,5	7,79
Cendres	2,5	4,4	5,4	2,6	4,25
DE	69,0	62,5	44,4	68,4	72,0
MeO	11,26	10,2	7,24	11,16	12,24
DAC	02,5	03,1	21,6	04,5	04,1

- ✓ **Taux d'humidité** : Les résultats obtenus montrent que les pectines possèdent des taux d'humidité variant entre 6,5 et 10,2%. Ces résultats sont en accord avec les résultats rapportés par plusieurs travaux comme ceux de Yapo et al. [124] (6,8 – 9,8%), Kurita et al. [126] (8,3 – 9,6%). Alors que les travaux menés par Mesbahi et al. [108] donnent des valeurs (2,01 – 3,21%) nettement inférieures à nos résultats. Cette différence peut être justifiée d'un côté par le type de séchage utilisé et d'un autre côté par le type de broyage, c'est-à-dire la taille des particules des pectines. Le mode de stockage a aussi une influence sur la teneur en humidité. De ce fait, il faut stocker les pectines dans des flacons hermétiquement fermés et dans des endroits secs. Toutefois, il faut noter que les résultats du taux d'humidité montrent également que les substances pectiques sont faiblement hygroscopiques et ce niveau de perméabilité permet une bonne conservation des pectines.

- ✓ **Taux de cendres** : Le Tableau 3.2, montre que le taux de cendres diffère d'une pectine à une autre. Ceci, dans une certaine mesure, refléterait les différences dans la composition de la matière première utilisée. Les cendres sont souvent les oxydes des métaux restés après calcination de toute matière organique. Le taux de cendre de la pectine de betterave est de l'ordre de 5 % qui est presque deux fois plus que celui de la pectine du citron extraite (Pc) et commerciale (Pi), ceci nous permet de dire que la betterave est riche en matière minérale. Ce résultat est aussi mentionné dans la littérature avec une valeur en matière minérale de l'ordre de 496,59 mg/100g, qui est presque le double par rapport à la valeur rapportée pour le citron qui est de l'ordre de 228,74 mg/100g [101, 104]. De plus, il faut signaler que ces valeurs sont susceptibles de varier selon les variétés, la saison, le degré de maturité et les conditions de culture. Donc le taux des cendres varie en fonction de l'origine de la matière première utilisée. Selon Miyamoto et Chang [129], la teneur en cendres affecte la capacité de gélification des pectines. Plus la teneur en cendres est élevée, plus la solubilité et les propriétés de gonflement de la pectine diminuent.

- ✓ **Degré d'estérification** : Le degré d'estérification des pectines dépend des sources d'extraction. La pectine commerciale de pomme possède le degré d'estérification le plus élevé (72%), suivi des pectines extraites à partir des agrumes (Pi, Pc et Pct) avec des degrés d'estérification de 68,4, 69 et 62,5% respectivement, et enfin la pectine de betterave avec un DE de 44,4%. La détermination du degré d'estérification a un grand intérêt pour la classification des pectines. Donc les résultats trouvés montrent que les pectines d'agrumes et celle de pomme sont hautement méthylées (HM) avec des degrés d'estérification supérieurs à 50%. Alors que la pectine extraite à partir des pulpes de betterave fait partie de la classe des pectines faiblement méthylées (FM) avec un degré d'estérification inférieur à 50%. Il faut noter que le DE est un paramètre d'intérêt qui affecte fortement la solubilité des pectines et leur tendance de former un gel. Aussi il est intéressant d'obtenir des pectines HM plutôt que des pectines FM malgré le plus large spectre d'utilisation industrielle de ces dernières. En effet, si les pectines HM peuvent donner par une simple déméthylation des pectines FM, l'inverse est difficile à réaliser.

- ✓ **Degré d'acétylation** : La détermination du degré d'acétylation montre que la pectine extraite à partir de betterave diffère des autres pectines. En plus de l'acide galacturonique, les sucres neutres et les substituants méthoxyles, la pectine de betterave contient aussi des quantités considérables des groupements acétyles (de l'ordre de 21 %). Ces résultats sont similaires aux valeurs trouvées par Yapo et al. [124] (16,6 – 29,2%) pour des pectines extraites à partir des pulpes de betterave sous différentes conditions. Par ailleurs la présence des groupements acétyles peut augmenter l'hydrophobicité de la pectine qui caractérise ses propriétés émulsifiantes [130]. Le DAc affecte aussi les propriétés de gélification des pectines hautement et faiblement méthylées par l'encombrement stérique d'associations de chaînes. Cette suggestion a été évoquée par Rombouts et Thibault [131].

3.2.5. Caractérisation des contenus saccharidiques

L'hydrolyse acide d'un polysaccharide permet d'avoir une idée sur les différents oses qui sont impliqués dans la structure. Les sucres neutres et acides ont été identifiés et dosés pour toutes les substances pectiques par chromatographie sur couche mince (CCM) et par colorimétrie, selon les méthodes décrites dans le deuxième chapitre.

3.2.5.1. Dosage des sucres par colorimétrie

Les chaînes latérales des sucres neutres constituent une partie importante de la structure des substances pectiques. En raison de la présence de ces chaînes des sucres, la structure des pectines est très complexe, aucune des molécules ne se ressemble substantiellement en termes de structure, raison pour laquelle la pectine est souvent décrite en utilisant le terme « substances pectiques ».

De nombreux auteurs, dont Zhang et al. [133], Prabasari et al. [111], Kurita et al. [126], s'accordent sur le fait que la composition osidique des pectines varie en fonction de l'origine de la matière végétale, de la méthode et les conditions d'extraction de ces substances pectiques. Néanmoins, tous confirment que le rhamnose, galactose, arabinose et xylose constituent les sucres les plus abondants, contrairement au glucose, mannose et fucose qui sont les moins courants.

Les résultats du dosage des sucres totaux par colorimétrie réalisée pour les quatre pectines (Pc, Pct, Pb et Pp) sont représentés sur la figure 3.3.

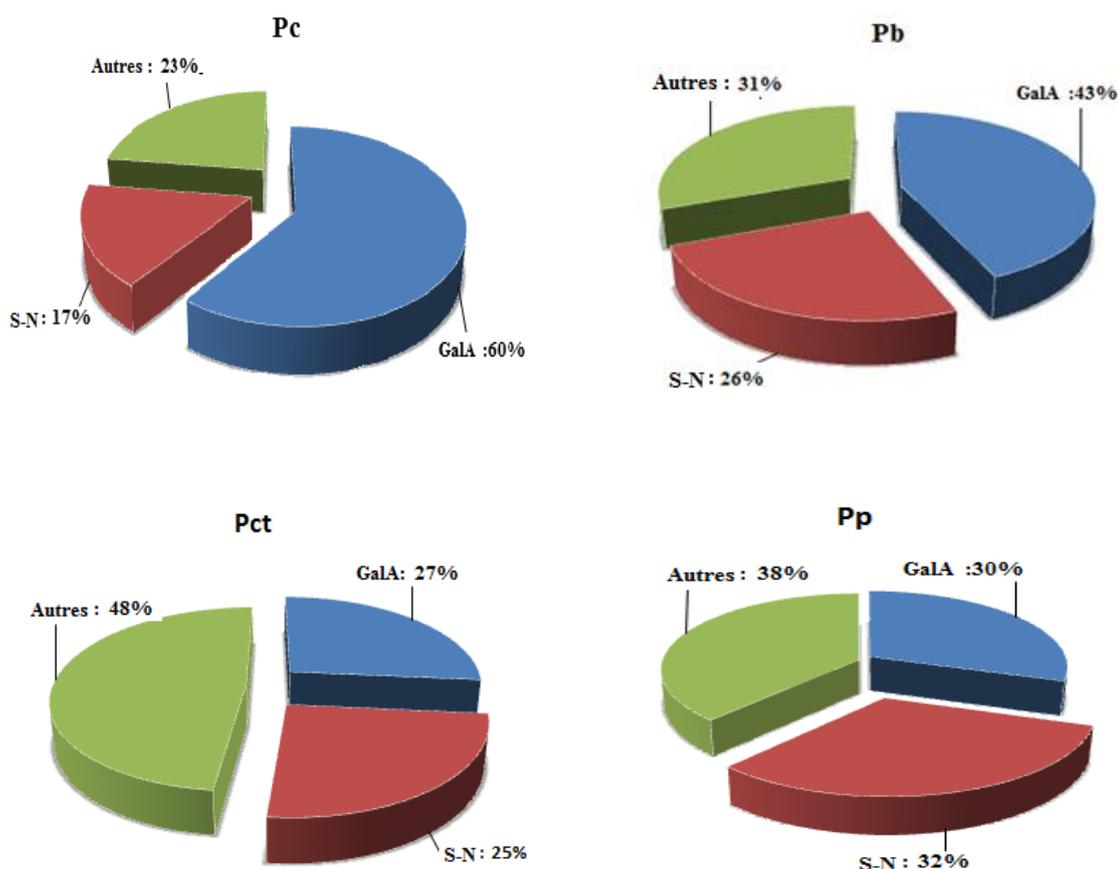


Figure 3.3 : Composition (% massique) en sucres des pectines extraites :
Pc, Pct, Pb et Pp

D'après les résultats donnés sur la figure 3.3, nous remarquons que les teneurs en sucres varient d'une pectine à une autre. Ces résultats confirment que la composition osidique des pectines est liée principalement à l'origine de la matière végétale. Par ailleurs, l'acide galacturonique constitue le sucre le plus abondant pour les quatre pectines étudiées (Pc, Pct, Pb et Pp), suggérant fortement que le polysaccharide extrait soit la pectine. De plus le contenu d'acide galacturonique dans la pectine du citron est le plus élevé (60%) suivi par la pectine de pomme avec une teneur de 43%, puis la pectine de betterave avec 30% et enfin la pectine du citrange avec une teneur de 27%. Ces résultats sont similaires aux travaux

déjà publiés cités dans la bibliographie notamment ceux rapportés par Ralet et al. [13].

Pour les sucres neutres (S-N), toutes les pectines sont riches en sucres neutres. Ceci signifie que la chaîne d'acide homogalacturonique est considérablement ramifiée par des chaînes courtes des sucres neutres.

Selon la littérature, la teneur en sucres neutres nous renseigne sur le degré de ramification des substances pectiques. Par conséquent, nous pouvons classer les pectines selon leurs degrés de ramification par ordre décroissant comme suit : Pp < Pb < Pct < Pc.

3.2.5.2. Chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince est utilisée pour déterminer la composition qualitative en sucres des substances pectiques. En plus de l'acide galacturonique, le rhamnose, galactose, arabinose et xylose sont les composants de sucres les plus courants des pectines. Les moins courants sont le glucose, le mannose et le fucose.

La figure 3.4 représente une schématisation de la plaque CCM contenant la composition osidique des pectines comme le montre le chromatogramme de la figure 3.5.

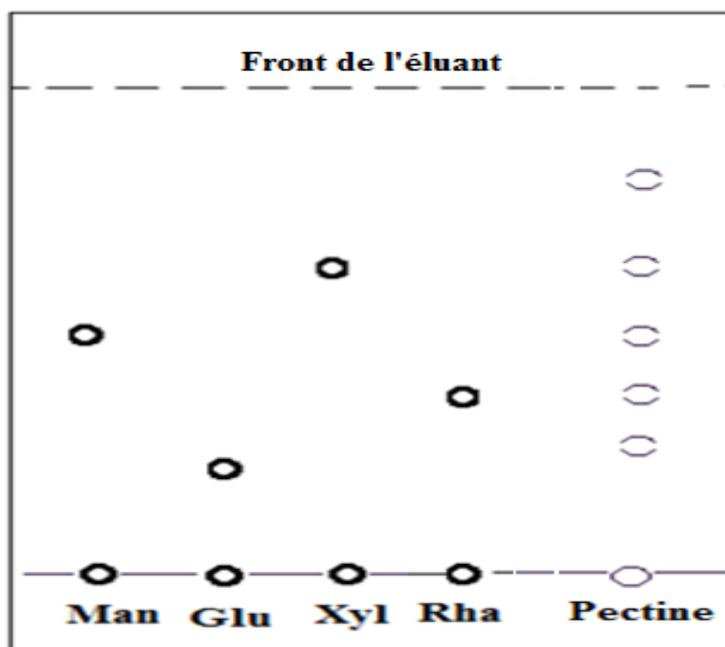


Figure 3.4 : Schématisation de la plaque de CCM contenant la composition osidique des pectines hydrolysées

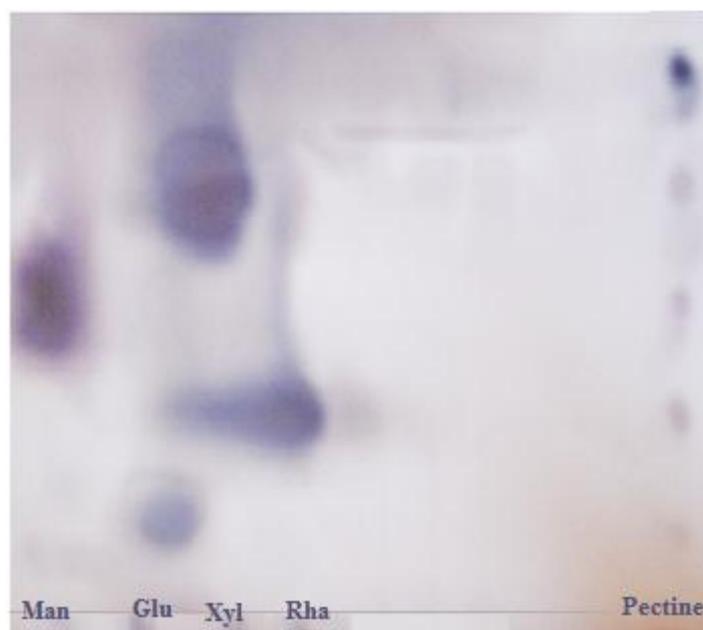


Figure 3.5 : Profil de séparation par Chromatographie sur Couche Mince des pectines hydrolysées

L'étude de la composition osidique des pectines par chromatographie sur couches minces révèle la présence de plusieurs sucres acide et neutre. L'analyse des chromatogrammes obtenus montre que toutes les pectines révèlent la présence du même nombre des spots, ce qui reflète la même composition qualitative en sucres.

Le calcul des rapports frontaux correspondant à chaque spot, révélé après réaction colorée des sucres avec le réactif de Molisch, nous a permis de distinguer les sucres existants. Donc, toutes les pectines étudiées présentent les monosaccharides marqueurs de dérivés pectiques de la famille des rhamnogalacturonanes qui sont le rhamnose, le glucose, le xylose et la mannose. Les résultats obtenus sont en grande ressemblance avec la composition osidique des substances pectiques citée dans la littérature [110, 126, 132]. De plus, nous remarquons que les chromatogrammes montrent l'existence d'un spot qui ne correspond à aucun des sucres témoins. Ceci indique que les pectines sont riches en d'autres sucres non testés dans notre étude. Selon la littérature, le spot correspond vraisemblablement soit à l'arabinose, fucose, galactose ou l'acide glucuronique.

3.2.6. Caractérisation moléculaire des substances pectiques

Les représentations graphiques regroupant les résultats typiques obtenus après les mesures viscosimétriques réalisées pour toutes les pectines sont décrites sur la figure 3.6.

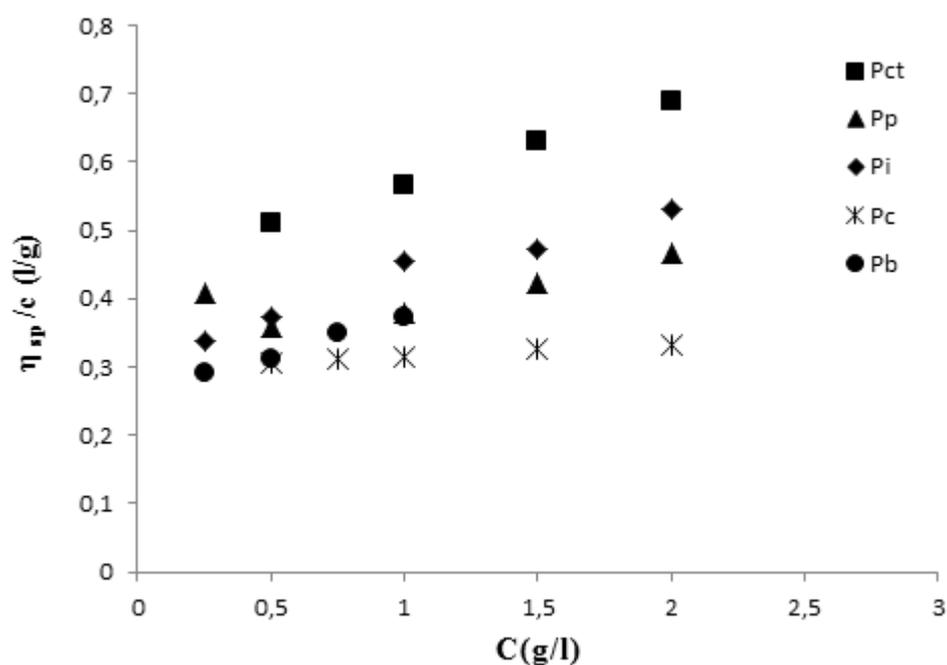


Figure 3.6 : Variation de la viscosité spécifique en fonction de la concentration pour les pectines Pi, Pct, Pp, Pb et Pc

Le Tableau 3.3 regroupe les valeurs de la viscosité intrinsèque, la masse moléculaire ainsi que le coefficient de corrélation (R^2) pour chaque type de pectine.

Tableau 3.3 : Résultats des mesures viscosimétriques

Type de pectine	$[\eta]$ (ml/g)	$M_v (\times 10^{-4})$ g/mol	R^2
Pc	290,94	5,92	0,96
Pct	447,00	10,66	0,99
Pb	259,35	5,06	0,98
Pi	300,32	6,18	0,99
Pp	315,00	6,6	0,97

L'examen des résultats présentés dans le Tableau 3.3, nous permet de déduire que toutes les pectines étudiées sont des macromolécules à poids moléculaire élevé. De plus, d'après les résultats de la viscosité intrinsèque, il s'avère qu'il y a des différences de taille (conformation) entre les pectines avec différents degrés d'estérification. Les différences en masses moléculaires observées entre les différentes pectines justifient clairement la différence en matière première utilisée pour l'extraction de ces pectines. Par ailleurs, il faut noter que les valeurs des masses moléculaires obtenues pour les deux pectines extraites à partir des albédos du citron et des pulpes de betterave sont faibles par rapport à celles citées par Mesbahi et al. [108] pour les mêmes types de pectines. Ceci est probablement lié aux différentes méthodes utilisées pour l'estimation de la masse moléculaire (viscosimétrie, HPSEC et SEC/MALLS) et par les conditions d'extraction utilisée. Nous constatons également que la masse moléculaire de la pectine de betterave est similaire à celle rapportée par les travaux de Buchholt et al. [109] (5×10^4) pour le même type de pectine en adoptant la même méthode viscosimétrique.

3.3. OPTIMISATION DES PARAMETRES D'EXTRACTION PAR PLAN D'EXPERIENCES

Contrairement à la méthodologie classique consistant à faire varier une à une les modalités des facteurs, la mise en place d'un plan d'expérience permet une répartition homogène des essais dans le domaine expérimental choisi.

Donc, dans cette partie d'étude, nous avons opté pour l'optimisation des paramètres d'extraction des pectines à partir des albédos du citrange en utilisant un plan d'expériences. Nous rappelons qu'un plan d'expériences (Minitab 13) de type factoriel 2^3 complet à deux niveaux, correspondant à 08 expériences, a été réalisé. Ainsi, nous avons étudié l'influence de trois variables indépendantes qui sont la température, le pH et le temps d'extraction sur deux variables dépendantes qui sont le rendement (R) et le degré d'estérification (DE). Le calcul du rendement indique l'efficacité du procédé d'extraction alors que le degré d'estérification qui est un paramètre d'intérêt pour la classification des substances pectiques, influence fortement leurs propriétés de gélification.

La matrice d'expériences ainsi que les valeurs des réponses sont représentées dans le Tableau 3.4.

Tableau 3.4 : Matrice d'expériences

N° d'expérience	Valeurs codées			Variables de réponses	
	X ₁	X ₂	X ₃	R (%)	DE (%)
1	-1	-1	-1	19	60
2	+1	-1	-1	28	58,5
3	-1	+1	-1	5	58
4	+1	+1	-1	6	41
5	-1	-1	+1	22,5	46,6
6	+1	-1	+1	26,5	41,2
7	-1	+1	+1	9,6	69
8	+1	+1	+1	11	66

Les trois paramètres indépendants cités plus haut ont été modifiés simultanément selon un plan d'expériences factoriel à deux niveaux (Tableau 3.4). Celui-ci permet d'évaluer non seulement les effets linéaires, mais aussi d'éventuels effets quadratiques ainsi que les effets d'interaction entre les différentes variables opératoires.

L'analyse globale des résultats permet d'identifier que les modifications des trois facteurs ont un effet sur la variation de la réponse, notamment le rendement massique. De plus l'analyse des données pour les deux réponses observées permet de construire le tracé des diagrammes de Pareto des effets. Les diagrammes obtenus pour le degré d'estérification et le rendement sont représentés sur les figures 3.7 et 3.8 respectivement.

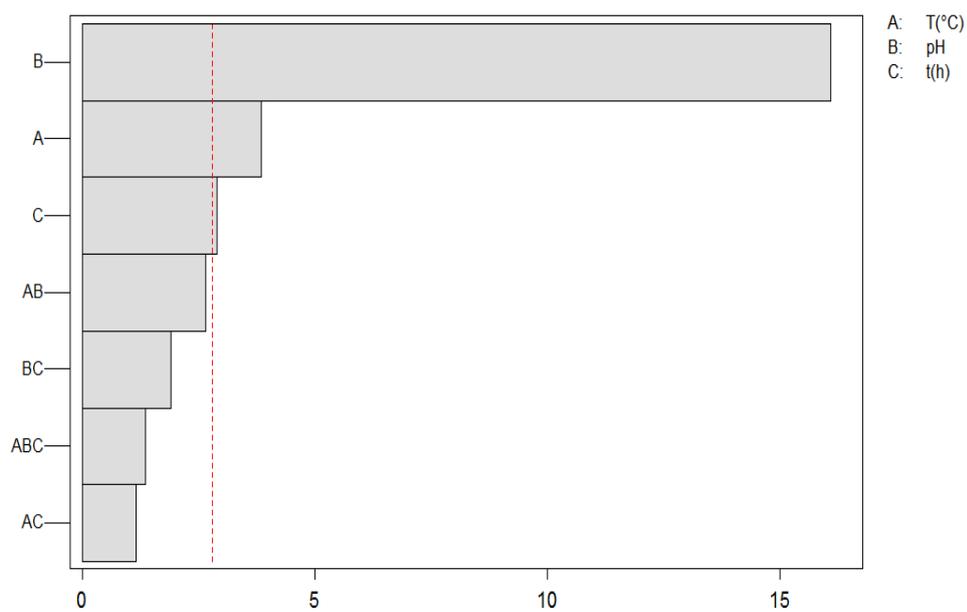


Figure 3.7 : Diagramme de Pareto des effets pour la réponse R

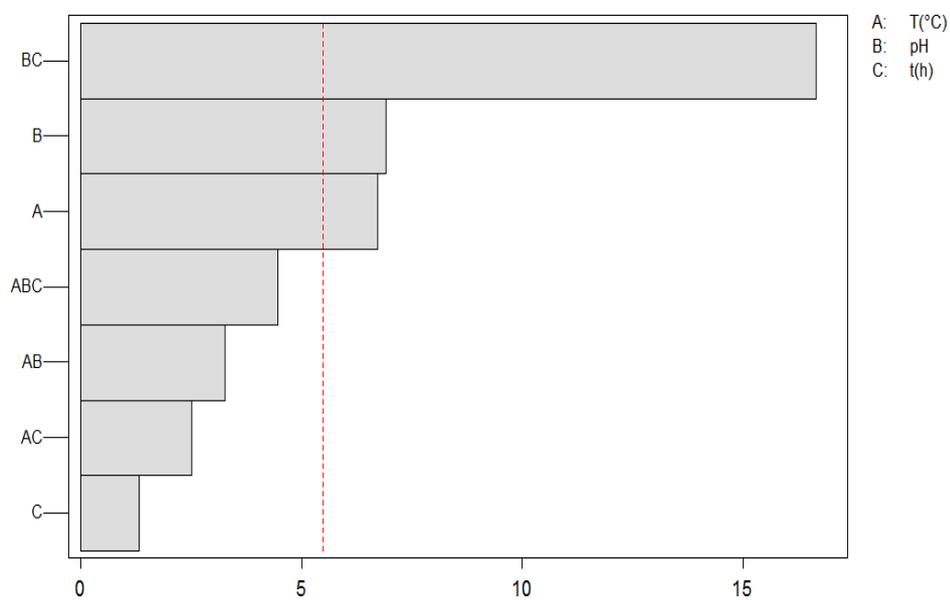


Figure 3.8 : Diagramme de Pareto des effets pour la réponse DE

3.3.1. Analyse des résultats

L'analyse des résultats représentés dans le Tableau III.4 montre que les trois facteurs qui gouvernent la réaction d'extraction ont, dans le domaine choisi, une influence significative sur les réponses.

3.3.1.1. Effets des facteurs sur le rendement

Le diagramme de Pareto (Figure 3.7) montre clairement que le pH, le temps et la température sont des paramètres significatifs influençant le rendement qui varie entre 5 et 28% de la matière végétale sèche. Ainsi, nous remarquons que le meilleur rendement qui est de l'ordre de 28% est obtenu quand la matière végétale est traitée à pH de 1,5, une température de 90°C et pour un temps d'extraction de 1h. En effet, à pH et température constants, les rendements de pectine obtenus pour 1 h d'extraction sont inférieurs à ceux obtenus pour 3h d'extraction. D'autre part, les rendements de pectine de diverses extractions réalisées à pH= 1 sont plus élevés que ceux à pH= 2. De plus et pour les mêmes conditions en termes de pH et de temps d'extraction, nous avons obtenu des rendements de pectine allant de 19% à 28% pour une élévation de température de 10°C. Levigne et al. [134] ainsi que Yapo et al. [124] ont observé les mêmes tendances sur des pectines extraites à partir des pulpes de betteraves par voie acide en utilisant un plan d'expérience.

Donc, l'analyse des résultats présentés dans le Tableau 3.4, nous permet de conclure que l'augmentation de la température et du temps d'extraction engendrent une augmentation du rendement d'extraction, contrairement au pH où nous remarquons qu'une diminution de l'acidité du milieu d'extraction mène à des rendements plus élevés. D'après toutes ces constatations, nous pouvons prédire les conditions optimales pour obtenir un meilleur rendement en pectine et qui sont : pH = 1 ; T = 90°C et t = 3h. Cependant pour nos résultats, le meilleur rendement est enregistré dans les mêmes conditions en termes de pH et température, mais pour 1h d'extraction et non pas 3h d'extraction. Toutefois, il faut signaler qu'un écart de l'ordre de 1,5% en rendement est enregistré entre 1h et 3h d'extraction. Par conséquent, nous pouvons conclure que le pH et la température sont les paramètres les plus significatifs sur le rendement en pectine.

En général, le rendement d'extraction total reflète le rendement de pectine en fonction des conditions expérimentales. Néanmoins, certaines impuretés ou dégradations des pectines pourraient avoir lieu lors du processus d'extraction.

3.3.1.2. Effets des facteurs sur le degré d'estérification

Selon les résultats mentionnés dans le Tableau 3.4, nous remarquons que les degrés d'estérification obtenus varient entre 41 et 69%. Ceci indique d'un côté que nous avons pu extraire les deux types de pectines hautement (DE >50%) et faiblement (DE < 50%) méthylées par cette procédure d'extraction acide. D'un autre côté, la variation des valeurs de degré d'estérification montre clairement que ce dernier est fortement influencé par les paramètres d'extractions choisis (pH, T et t).

Contrairement au rendement, le degré d'estérification est influencé beaucoup plus par le pH et la température d'extraction comme le montre la figure 3.8. Le degré d'estérification le plus élevé est de l'ordre de 69% obtenu à la température de 80°C, alors que le degré d'estérification le plus faible (41%) est obtenu à la température la plus élevée de 90°C. Cette diminution du degré d'estérification peut être expliquée par la rupture des liaisons O – CH₃ sous l'effet de la température. Ce phénomène de déméthylation par augmentation de température d'extraction a été évoqué par Ralet et al [13]. Ces résultats confirment également les résultats déjà publiés par Yapo et al. [124].

L'analyse du spectre FTIR d'une pectine extraite à 80°C (Figure 3.9) montre que l'absorbance est plus grande à 1750 cm⁻¹ qu'à 1650 cm⁻¹, ce qui signifie que cette pectine est hautement méthylée. Alors que le spectre d'une pectine extraite à 90°C (Figure 3.9) montre l'inverse, c'est-à-dire que l'absorbance à 1750 cm⁻¹ est faible par rapport à celle à 1650 cm⁻¹ qui est une caractéristique des pectines faiblement méthylées. Ces résultats confirment bien que l'augmentation de la température engendre la diminution du degré d'estérification. Toutefois il faut noter que la diminution du degré d'estérification n'indique pas forcément l'obtention des pectines faiblement méthylées.

En outre, la pectine extraite à 80°C pendant 1h est plus méthylée que celle obtenue à 90°C et 3h, reflétant ainsi que la teneur en acide galacturonique estérifié décroît avec l'accroissement de la température et du temps d'extraction. Ce résultat est aussi confirmé par l'analyse spectroscopique FTIR des pectines obtenues après 1h et 3h d'extraction comme l'illustre la figure 3.10. Ces résultats sont en parfaite conformité avec les constatations enregistrées par Emaga et al. [135]. De plus, l'augmentation du pH engendre une augmentation du degré d'estérification et ceci pour 3h d'extraction, alors que pour une durée d'extraction de 1h la variation d'acidité du milieu d'extraction n'a pas une influence significative sur le degré d'estérification.

D'une manière générale, nous pouvons conclure que le degré d'estérification est fortement influencé par la température et le pH.

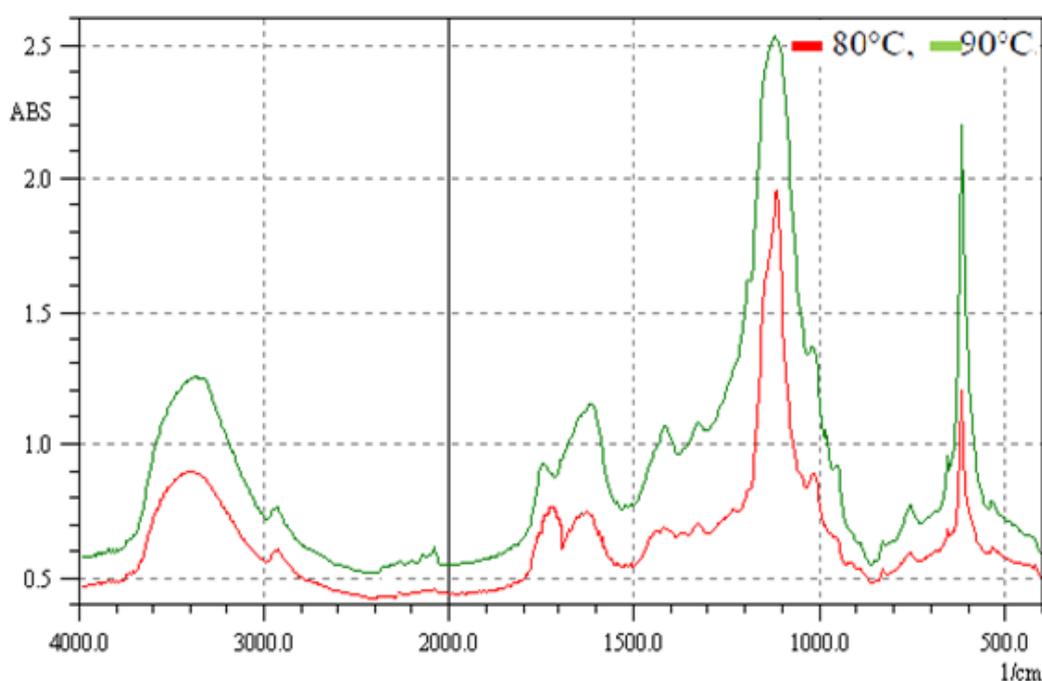


Figure 3.9 : Spectres représentatifs de l'influence de la température sur la qualité de la pectine

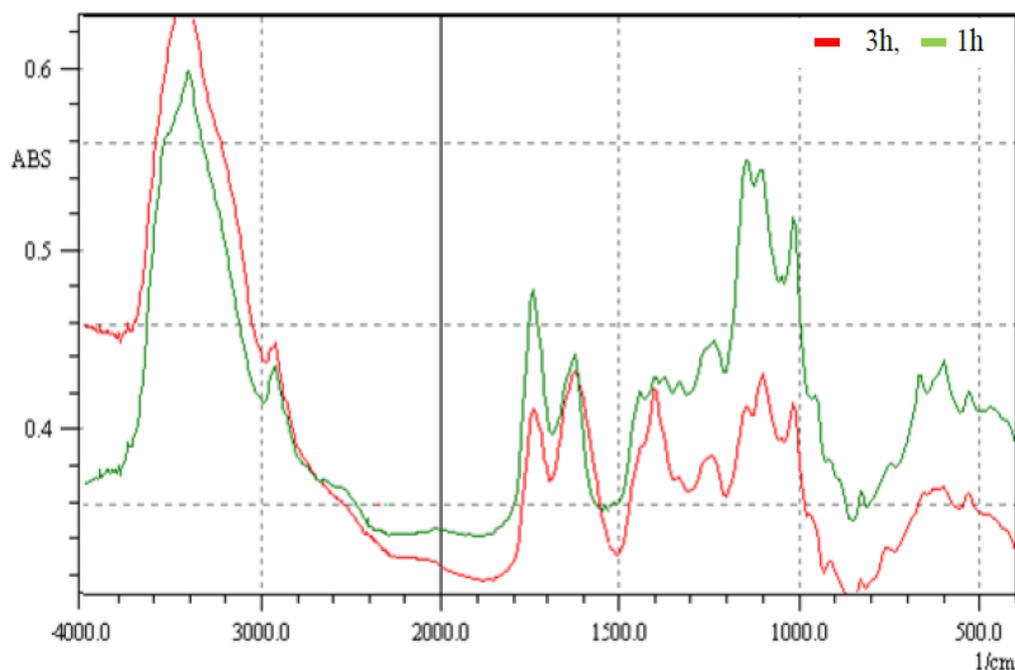


Figure 3.10 : Spectres FTIR représentatifs de l'influence du temps d'extraction sur la qualité de pectine

3.3.1.3. Optimisation des réponses

D'après les résultats obtenus précédemment, le meilleur rendement (28%) est obtenu à une température de 90°C et un pH égal à 1, néanmoins ces mêmes conditions entraînent une déméthylation. De même, les conditions conduisant à un meilleur degré d'estérification provoquent une réduction des rendements.

En général, l'efficacité d'un procédé d'extraction est justifiée, d'un côté, par l'obtention d'un rendement maximal, et d'un autre côté par la meilleure qualité de l'extrait. Pour le cas des pectines, il est intéressant d'obtenir des pectines hautement méthylées avec de meilleurs rendements. Donc afin d'arriver à l'optimisation des facteurs qui nous permettent d'obtenir des pectines hautement méthylées avec un rendement maximal, nous avons utilisé une option du logiciel de calcul (stat-optimisation des réponses).

Pour ce faire, nous avons défini les réponses désirées qui sont : $R = 24,5\%$, et $DE=62,5\%$. Il faut noter ici, que ces deux réponses ont été choisies dans les domaines trouvés auparavant. Donc, en introduisant les réponses désirées nous avons pu déterminer les paramètres opératoires correspondants. Pour un

DE=62,5% et R = 24,5%, le logiciel définit un pH de 1,2 et une température de 80°C et un temps d'extraction de 1h30 comme c'est donné sur la figure 3.11. Ces conditions ont été définies comme conditions optimales pour la suite de ce travail.

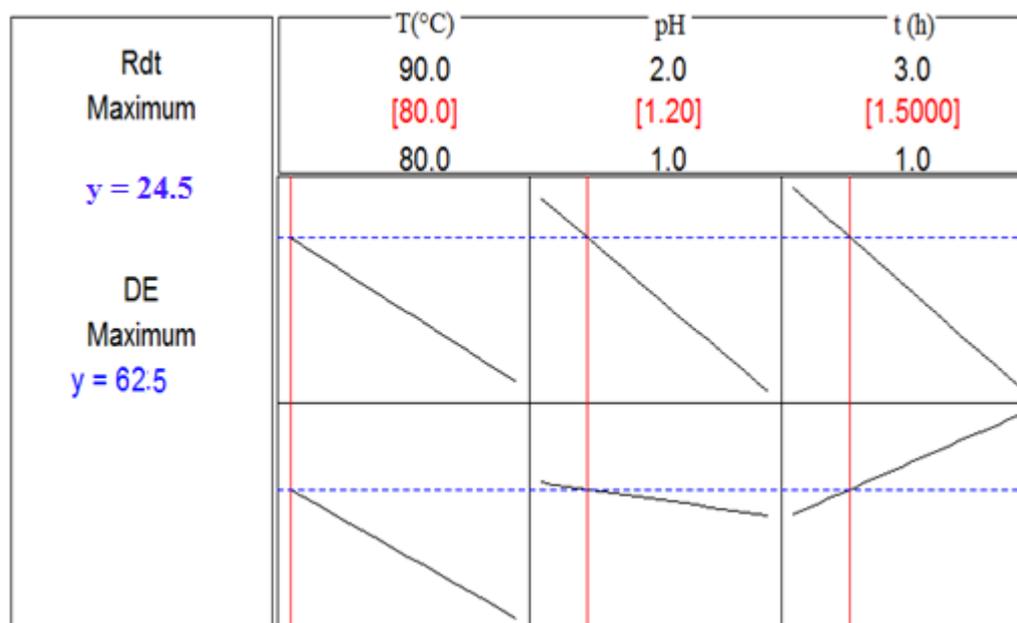


Figure 3.11 : Diagramme d'optimisations des réponses

3.4. EXTRACTION DES PECTINES PAR INDUCTION ELECTROMAGNETIQUE

3.4.1. Effet du mode du chauffage sur le rendement et le degré d'estérification

Dans cette partie de ce travail, nous nous sommes intéressés à l'utilisation, en plus du chauffage conventionnel (un bain-marie), un autre type du chauffage pour l'extraction des pectines à partir des albédos du citrange. Il s'agit d'une méthode alternative ; c'est le chauffage à induction électromagnétique. Nous rappelons que les pectines ont été extraites par voie acide à chaud dans les conditions opératoires préalablement optimisées : pH= 1,2 ; T = 80°C ; t = 90min.

Les résultats relatifs aux calculs des deux paramètres caractéristiques (Rendement et degré d'estérification) réalisés pour les deux types de pectines

extraites par chauffage conventionnel (P-CV), et par chauffage à induction électromagnétique (P-IEM) sont récapitulés dans le Tableau 3.5.

Tableau 3.5 : Résultats des rendements et des degrés d'estérification des pectines extraites par deux types du chauffage

Paramètre chimique	P-CV	P-IEM						
	90 mn	10	20	30	40	50	60	90 mn
R (%)	24,00	16,00	17,33	24,00	25,33	27,33	28,33	29,00
DE (%)	62,50	59,90	60,00	61,00	61,50	62,50	61,33	61,00

Premièrement, il faut signaler que dans la littérature les méthodes les plus généralement utilisées pour l'extraction des substances pectiques à chaud, procèdent soit par chauffage classique dans un bain-marie [32, 106-108], soit par chauffage par microondes [136-138], et aucun travail n'a indiqué l'utilisation du chauffage par induction électromagnétique. Pour cette raison, l'efficacité du procédé d'extraction assistée par induction électromagnétique n'a pas été explorée par une étude comparative.

Les rendements en pectines extraites à partir des albédos du citrange sous les mêmes conditions opératoires par le chauffage conventionnel et le chauffage à induction électromagnétique sont de l'ordre de 24 et 29% respectivement. Les résultats obtenus montrent qu'en utilisant le chauffage par induction électromagnétique, il est possible d'extraire jusqu'à 5% plus de pectine que celle obtenue par chauffage conventionnel. Ceci peut être expliqué par l'homogénéité et la rapidité du chauffage à IEM grâce à son principe de produire la chaleur au sein même du matériau à chauffer.

Le principe du processus de chauffage par induction assistée par champ magnétique consiste à utiliser la propriété de conductivité électrique des solutions acides ou basiques [139]. L'explication la plus probable alors, est que pour les liquides conducteurs (acide sulfurique dilué dans notre cas), la mise en route du champ électromagnétique provoque l'agitation des ions présents ($2H^+$, SO_4^{2-}), par

conséquent, l'augmentation de la température de la solution aqueuse. Au bout de quelques minutes, la solution aqueuse déclenche un mouvement avec les parties solides et ensuite commence l'ébullition. Durant l'extraction, l'ébullition est homogène dans tout le volume du réacteur. Cette spécificité d'homogénéité favorise ainsi une plus grande vitesse d'extraction. Ceci peut être traduit par la destruction rapide de la paroi végétale ce qui conduit à la libération facile des pectines de la matrice cellulaire.

En ce qui concerne le degré d'estérification, nous constatons, que le type du chauffage n'a pas une influence significative sur les propriétés structurales de ces substances. Il faut signaler que les deux pectines P-CV et P-IEM sont hautement méthylées avec des $DE > 50\%$.

Néanmoins, il faut noter qu'un écart de 5% en rendement ne justifie pas vraiment l'efficacité d'une telle technique de chauffage. Cependant, les résultats de l'étude cinétique d'extraction assistée par IEM justifient clairement l'efficacité du chauffage à IEM. La figure 3.12 montre l'évolution du rendement et du degré d'estérification en fonction du temps d'extraction pour les P-EIM.

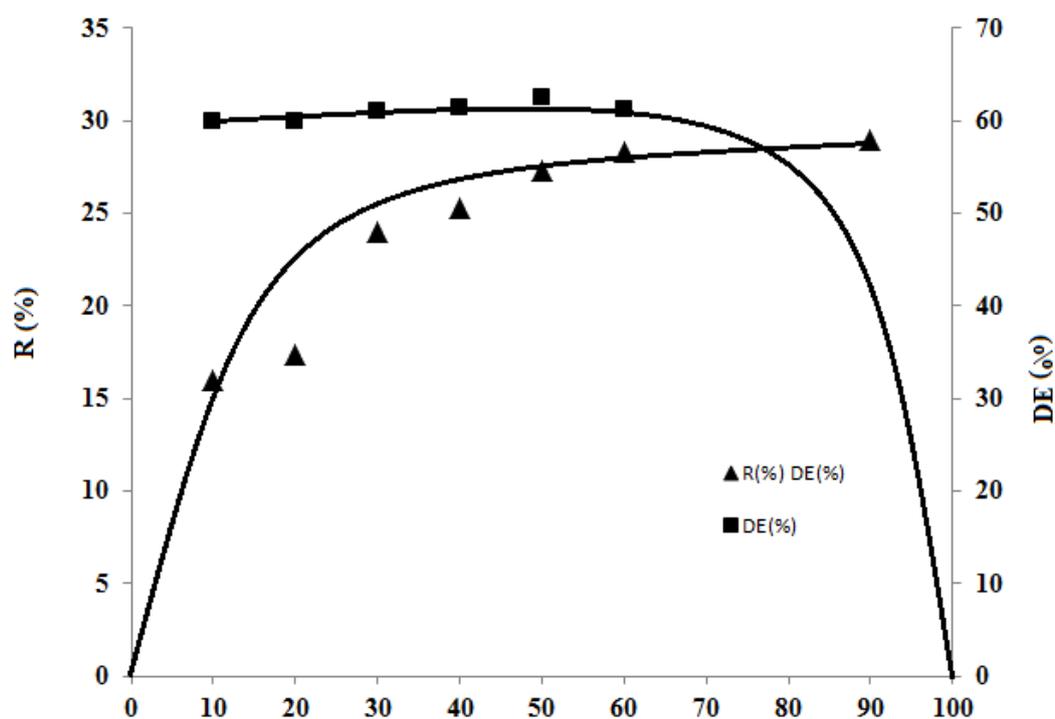


Figure 3.12 : Evolution du rendement et du degré d'estérification des pectines extraites par chauffage à induction électromagnétique

D'après la figure 3.12, nous remarquons que le rendement en pectine augmente en fonction du temps jusqu'à atteindre un palier après 60min d'extraction signifiant ainsi qu'une augmentation supplémentaire du temps d'extraction n'induit pas une élévation du rendement. Dans les 10 premières minutes, nous observons, que le rendement en pectine augmente remarquablement et atteint une valeur considérable de l'ordre 16%. Par la suite le rendement augmente progressivement jusqu'à atteindre 25,33% au bout de 40 min. Au-delà de ce temps, nous remarquons une faible variation du rendement en fonction du temps caractérisée par un écart minime de 1 à 0,67%. Par conséquent, l'augmentation du temps d'extraction jusqu'à 90min dans ce cas est inutile. Ceci nous permet de déduire que le temps optimum pour obtenir un rendement maximal est de 60min.

De plus, les résultats mentionnés dans le Tableau 3.5 montrent que le même rendement en P-CV (24%) obtenu en 90 min peut être obtenu en un temps trois fois moins en utilisant le chauffage à IEM. Ceci confirme bien la rapidité du chauffage produite par IEM.

Contrairement au rendement, la figure 3.12, montre que l'allure représentant la variation du degré d'estérification en fonction du temps évolue d'une façon monotone. Ceci signifie qu'au contraire de l'extraction par chauffage conventionnel, le temps d'extraction, au cours d'une extraction assistée par IEM, n'a pas une influence sur le degré d'estérification. Des degrés d'estérifications proches (60~62,5%) ont été enregistrés pour des durées allant de 10 à 90 min.

Il ressort de tous ces résultats que le chauffage rapide par IEM a le potentiel d'augmenter considérablement le rendement en pectine sans aucune influence sur ses propriétés structurales.

3.4.2. Effet de la puissance d'induction électromagnétique sur le rendement d'extraction

Etant donné que l'extraction assistée par induction électromagnétique n'a pas un effet sur le degré d'estérification des pectines extraites, nous nous sommes intéressés dans ce cas qu'à l'étude de l'effet de la puissance d'IEM sur le

rendement d'extraction comme le montre la figure 3.13 où l'on visualise l'effet de la puissance d'IEM sur le rendement.

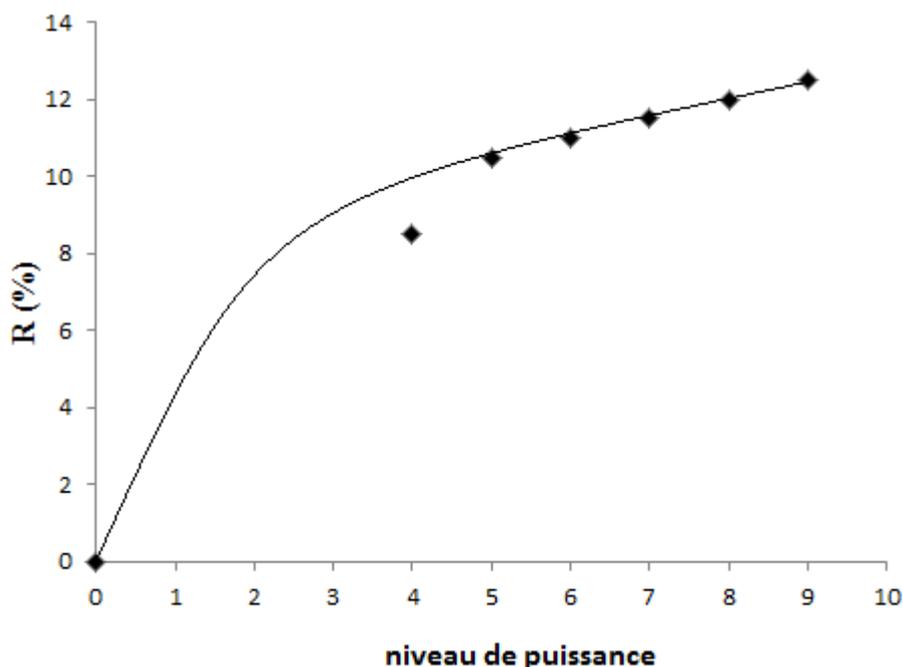


Figure 3.13 : Evolution du rendement en pectine du citrange extraite par chauffage à induction électromagnétique en fonction de la puissance

L'examen de la figure 3.13 montre une évolution croissante du rendement en fonction de la puissance. Ceci peut être traduit par le fait que lorsque la puissance est grande, l'agitation des ions ($2H^+$, SO_4^{2-}) augmente et, par conséquent la température du milieu augmente rapidement. Ce phénomène justifie également la diminution du temps d'extraction nécessaire pour atteindre la température de $80^{\circ}C$ et ceci pour chaque puissance (voir Tableau 2.3 du chapitre 2).

D'après la figure 3.13, nous constatons également que les rendements augmentent progressivement avec un faible écart de $1\% \sim 1,5\%$. Néanmoins, il faut noter que pour un écart de 4% en rendement, calculé entre le quatrième et le neuvième niveau (#4/ #9), nous enregistrons une diminution en temps d'extraction considérable de l'ordre de 8,27 min.

Ainsi, nous pouvons conclure que l'extraction assistée par IEM, dans ce cas précis, ne modifie pas considérablement les résultats quantitatifs d'extraction des pectines, mais accélère la cinétique d'extraction.

3.4.3. Etude comparative entre la pectine extraite par chauffage conventionnel et la pectine extraite par chauffage à induction électromagnétique

Dans le but de voir plus amplement dans quel sens agit le chauffage à IEM sur les autres propriétés structurales des pectines, nous avons réalisé une étude comparative entre P-CV et P-IEM. Les principaux résultats relatifs aux différents tests caractéristiques des deux pectines sont regroupés sur la figure 3.14.

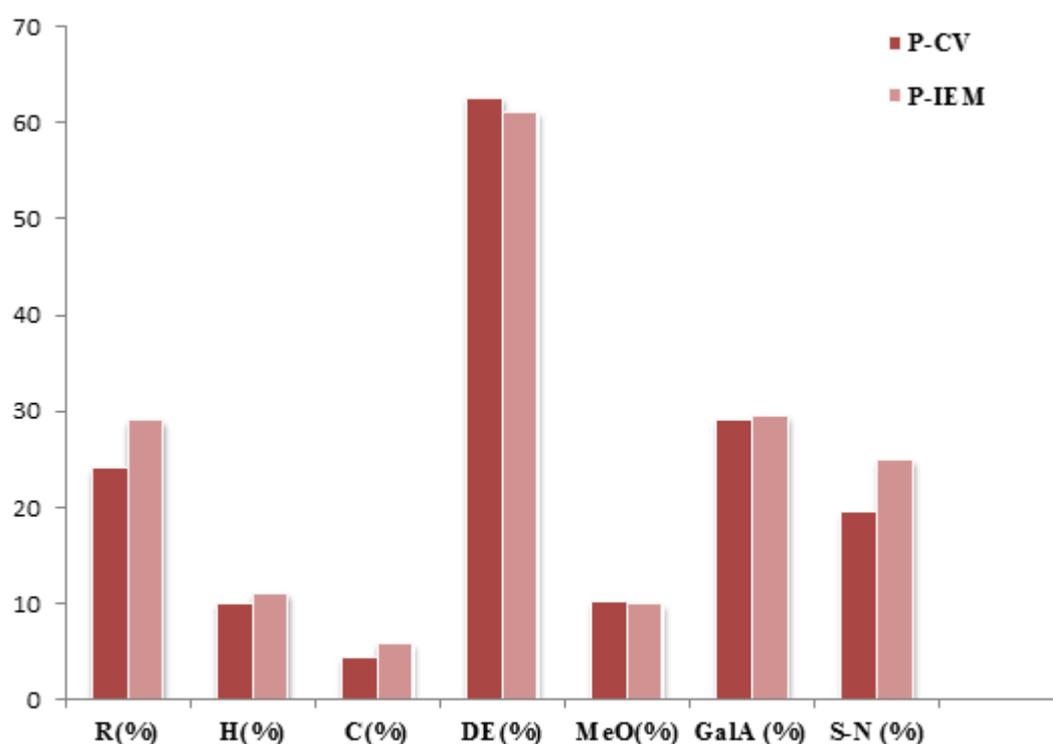


Figure 3.14 : Composition chimique de la pectine extraite par chauffage conventionnel et la pectine extraite par chauffage à induction électromagnétique

L'analyse de la figure 3.14, nous permet de tirer les conclusions suivantes :

- ✓ L'extraction assistée par induction électromagnétique mène à une amélioration du rendement d'extraction.
- ✓ Le chauffage à IEM n'a pas une influence significative sur la chaîne principale d'acide galacturonique.
- ✓ Le type du chauffage n'a pas d'effet sur la qualité des substances pectiques.
- ✓ L'extraction assistée par induction électromagnétique peut aboutir à l'obtention des pectines plus ramifiées que celles obtenues par le chauffage conventionnel.

3.5. MODIFICATION CHIMIQUE DES PECTINES

Nous rappelons que dans cette partie, nous avons procédé à l'hydrophobisation des cinq pectines étudiées par amidation au moyen des amines primaires. De plus les réactions d'amidation ont été toutes réalisées dans un milieu hétérogène en présence du méthanol et sous différentes conditions opératoires (T, t et rapport massique pectine/amine). Nous décrivons, dans ce qui suit, l'effet de chacun des paramètres sur le processus d'amidation et plus particulièrement sur le degré d'amidation. Par ailleurs, les dérivés synthétisés, nommés N-alkylpectinamides ont été soumis à des caractérisations physicochimiques appropriées notamment l'étude de leurs propriétés de surfaces et les propriétés émulsifiantes.

Remarque :

Les abréviations suivantes sont utilisées dans toute la partie modification

- N-Pi-C₈ : Pi modifiée par le n-octylamine : N-octylpectinamide;
- N-Pi-C₁₂, N-Pc-C₁₂, N-Pb-C₁₂ et N-Pp-C₁₂ : les pectines modifiées par le n-dodecylamine : N-dodecylpectinamide;
- N-Pi-C₁₈ : Pi modifiée par le n-octadecylamine : N-octadecylpectinamide;

3.5.1. Caractérisation des N-alkylpectinamides dérivés de la pectine industrielle

La première partie consiste en une amidation de la pectine industrielle (Pi) par l'introduction de trois amines primaires qui sont le n-octylamine, n-dodecylamine et n-octadecylamine.

3.5.1.1. Caractérisation par spectroscopie infra-rouge à transformée de Fourier

Les résultats de l'analyse par spectroscopie infrarouge (FTIR) des dérivés N-alkylpectinamides sont représentés sur la figure 3.15. L'amidation de la pectine avec des n-alkylamines, résulte dans l'apparition des nouvelles bandes d'absorption correspondantes aux nouveaux groupements N-substituant dans les spectres FTIR.

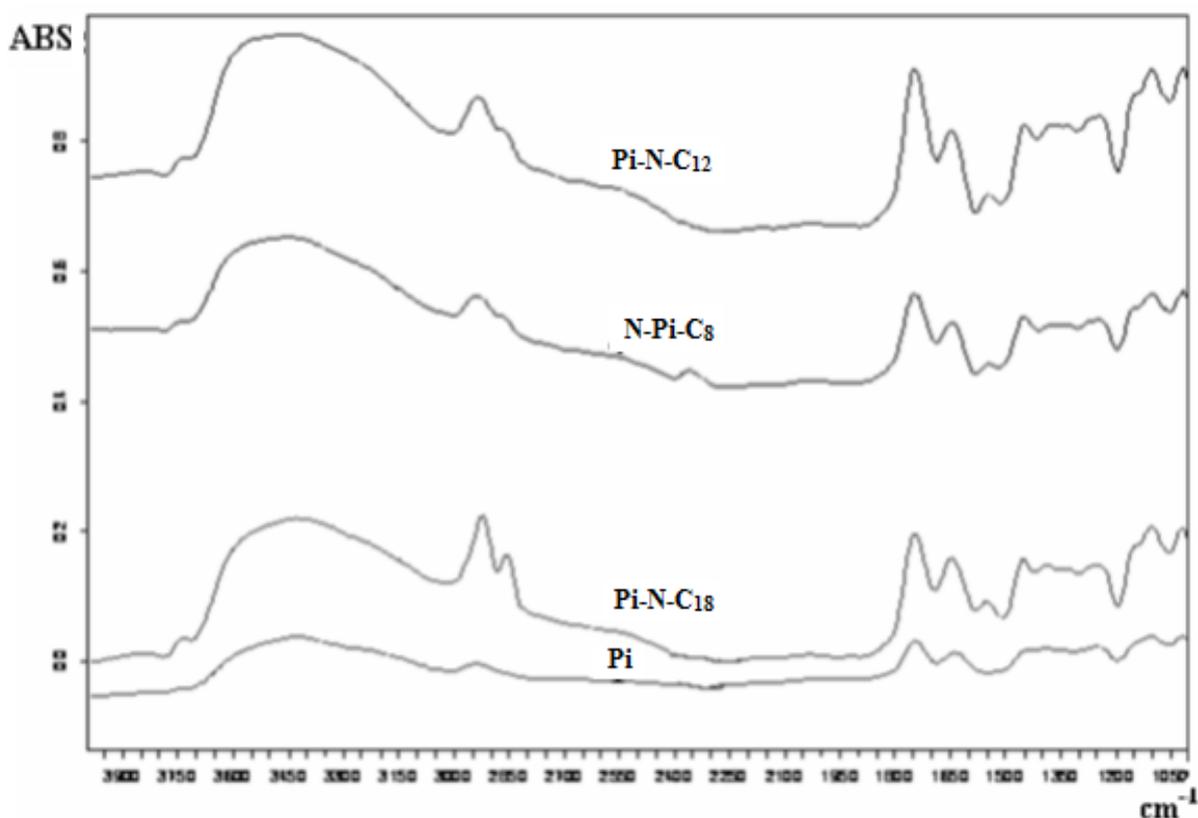


Figure 3.15 : Spectres FTIR de la Pi et ces dérivés N-alkylpectinamides

La région de vibration carboxyle entre 1900-1500 cm^{-1} est la plus importante pour l'analyse des pectines. La pectine Pi présente deux bandes à 1747 et 1635 cm^{-1} qui correspondent à la vibration C=O des groupements méthylester et les groupements carboxyles libres respectivement. Les trois spectres FTIR des N-alkylpectinamides, montrent une bande d'absorption C-H plus intense, dans la région située entre 2970-2920 cm^{-1} , que celle de la pectine Pi. Ceci est sans doute expliqué par l'augmentation du contenu en liaisons C-H après l'amidation correspondant aux groupements CH_2 et CH_3 de la chaîne carbonée des amines substitués.

Les spectres des dérivés N-alkylpectinamides présentent deux pics intenses à 2930 \pm 5 cm^{-1} et 2855 \pm 5 cm^{-1} qui ont été assignés aux elongations C-H symétriques et asymétriques des groupements méthylènes. Les bandes à 1458 \pm 5 cm^{-1} et 720 \pm 5 cm^{-1} sont aussi indicatives des groupements méthylènes des n-alkyls. La région entre 1850 –1500 cm^{-1} montre l'existence de plusieurs pics assignés à la vibration C=O de différents groupements fonctionnels des pectines amidées. Nous signalons l'apparition d'une bande mixte des vibrations C=O des groupements carbonyles esters (COOCH_3) et les ions carboxyles (COO^-). De plus les différentes bandes à 1600- 1635 cm^{-1} sont indicatives des vibrations C=O des groupements amides. Par ailleurs, Les deux pics à 1540 et 1560 cm^{-1} , sont assignés aux groupements CONHR. De plus, les spectres FTIR des N-alkylpectinamides montrent aussi que l'intensité des pics dans la région entre 2930 et 2855 cm^{-1} est proportionnelle à la longueur de la chaîne hydrocarbonée des n-alkylamines.

A la fin de cette analyse, nous pouvons conclure que l'introduction des amines aliphatiques primaires à des pectines HM mène à des pectines partiellement amidées avec de nouveaux groupements amides. Cette modification engendre des changements des propriétés physiques et chimiques de la pectine qui dépendent certainement du nombre de groupements amide substitués. Pour cette raison, la détermination du degré de substitution, comme un degré d'amidation (DA), est donc, très importante pour la caractérisation des pectines amidées.

3.5.1.2. Détermination du degré d'amidation (DA%)

Le degré d'amidation des différents dérivés N-alkylpectinamides obtenus a été déterminé par déconvolution des spectres FTIR ($1800-1500\text{ cm}^{-1}$) des N-alkylpectinamides en utilisant la relation 2.11.

Les résultats relatifs aux calculs des degrés d'amidation des N-alkylpectinamides : N-Pi-C₈, N-Pi-C₁₂ et N-Pi-C₁₈ sont illustrés sur la figure 3.16.

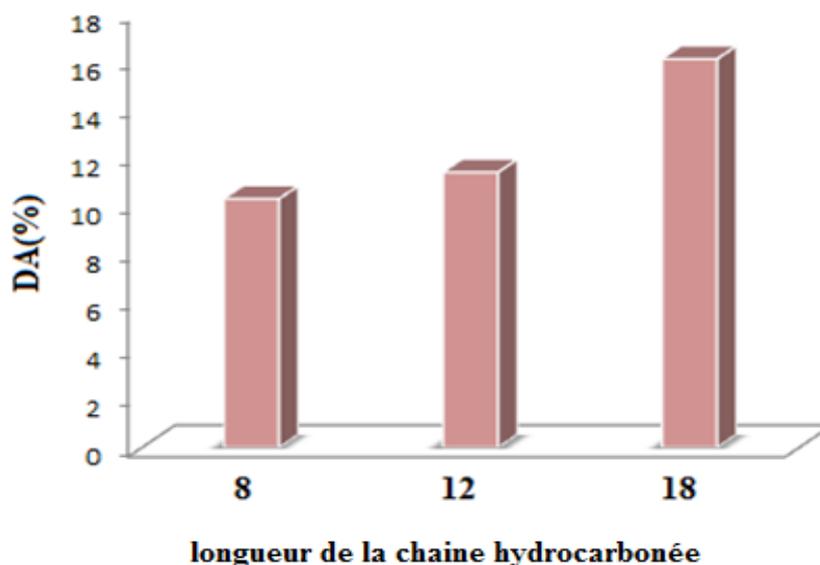


Figure 3.16 : Variation du degré d'amidation en fonction de la longueur de la chaîne hydrocarbonée

D'après la figure 3.16, nous déduisons que le degré d'amidation des dérivés N-alkylpectinamides varie en fonction de la longueur de la chaîne hydrocarbonée (Cn) des n-alkylamines. Par ailleurs, le degré d'amidation le plus élevé est enregistré pour la pectine N-Pi-C₁₈ avec une valeur de 16,09%, suivi par la pectine N-Pi-C₁₂ avec DA de 11,4% et en fin la pectine N-Pi-C₈ avec un DA de 10,3%. Des résultats similaires ont été obtenus par Sihelnikova et al. [98] pour des pectines HM fonctionnalisées par le n-octylamine dans les mêmes conditions opératoires. Les résultats ainsi obtenus, nous permettent de déduire que, l'amine avec la plus longue chaîne semble être un agent d'amidation le plus efficace. Ce

phénomène peut être expliqué par les interactions hydrophobiques entre les alkyles des molécules amines et les groupements n-alkylamide déjà attachés aux polysaccharides. Cette suggestion a été évoquée par Sihelnikova et al. [98].

De plus il faut noter que la valeur élevée du DA d'octadecylpectinamide est probablement due aussi aux résidus d'octadecylamine restés après l'opération du lavage par le méthanol, car ce dernier est difficilement soluble dans le méthanol par rapport aux autres n-alkylamines.

3.5.1.3. Etude cinétique de la réaction d'amidation

Il faut rappeler que pour cette étape, nous avons aussi réalisé l'amidation de la pectine industrielle en testant trois températures (20, 35 et 50°C), trois durées (3, 5 et 7 jours) et avec une seule amine qui est n-octadecylamine.

Selon les histogrammes de la figure 3.17, nous remarquons que la température influe sur le processus d'amidation. En effet, plus la température augmente, plus le degré d'amidation est élevé. Cette influence apparaît clairement lorsque nous passons de 20 à 35°C et de 35 à 50°C. Après un temps de contact de 3 jours, les degrés d'amidation enregistrés sont proches pour les deux températures 20 et 35°C, à la différence de celui trouvé pour la température de 50°C qui est presque trois fois plus grand. Contrairement à la durée de 3 jours de contact, nous signalons l'existence d'un écart de 3% en DA enregistré entre 20 et 35°C après 5 jours de contact, qui atteint une valeur de l'ordre de 7% pour 7 jours de contact. Ceci n'étant pas le cas entre 35 et 50°C, donc nous pouvons conclure que l'influence de la température n'apparaît que pour de longues durées de contact si l'élévation de la température n'atteint pas des valeurs plus élevées. De plus, en comparant les résultats obtenus entre 20 et 50°C, nous remarquons une amélioration considérable en DA des N-octadecylpectinamides. Des observations similaires ont été décrites par Sihelnikova et al. [98], qui signalent une augmentation plus marquée entre les DA des N-octylpectinamides synthétisés à 20°C et ceux préparés à 50°C. Alors que, dans une étude menée sur l'hydrophobisation d'une pectine HM par le n-octadecylamine, Synytsya et al. [123] enregistrent des DA meilleurs que nos résultats pour des N-octadecylpectinamides préparés à une température de 45°C. Ceci est

probablement lié à la nature du solvant utilisé qui est le N, N-diméthylformamide (DMF). Selon les travaux de Sihelnikova et al. [98], le DMF donne de meilleurs résultats comparés au méthanol (solvant utilisé dans notre étude).

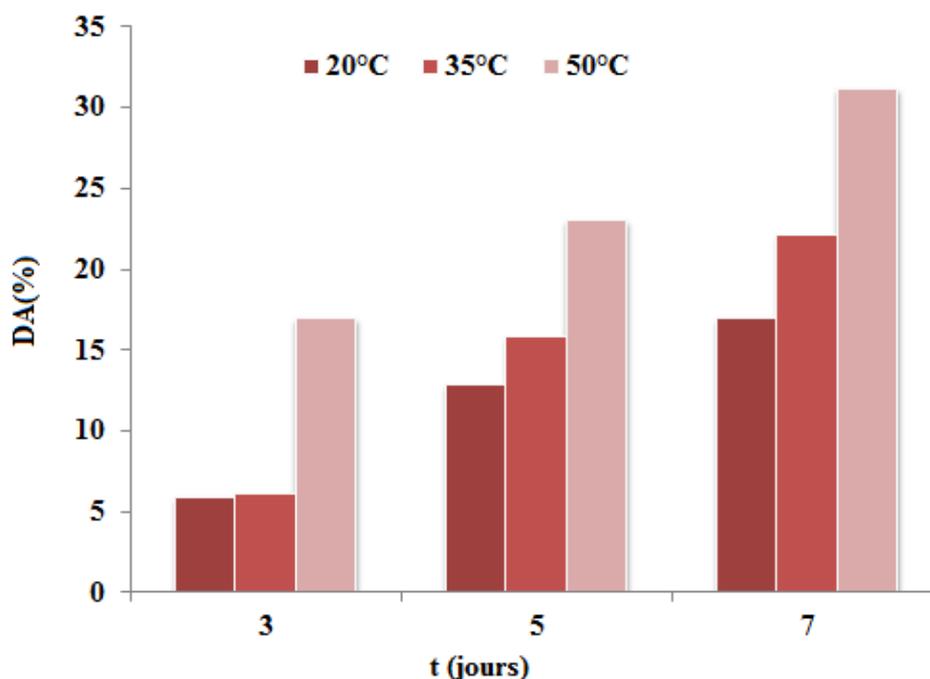


Figure 3.17 : Variation du degré d'amidation en fonction du temps et de la température

De ce qui précède, nous pouvons déduire que la température élevée est recommandée pour la préparation des dérivés N-alkylpectinamides plus substitués. Toutefois, il faut signaler que pour des températures plus élevées (> 60°C), la dégradation du polysaccharide pourra avoir lieu comme le suggère Sihelnikova et al. [98].

D'autre part, le temps de contact, à son tour, marque aussi son effet sur l'évolution du degré d'amidation des dérivés des pectines synthétisés. Le degré d'amidation est d'autant plus élevé que le temps de contact est plus long. Ces constatations sont enregistrées pour les trois températures testées. Les degrés d'amidations obtenus après 7 jours de contact sont 3 fois plus grands que ceux enregistrés après 3 et 5 jours de contact. Synytsya et al. [123] ont signalé les mêmes tendances pour les dérivés N-otadecylpectinamides.

3.5.1.4. Effet du rapport massique pectine / amine

L'évolution du degré d'amidation pour les différents rapports massiques pectine/amine montre une substitution dépendante de ce dernier. Autrement dit, le degré d'amidation augmente avec l'utilisation des teneurs élevées en amines. D'après les résultats représentés sur la figure 3.18, nous remarquons que pour un passage de 1/2 à 1/5, nous avons enregistré un écart en DA de 7%. Des résultats similaires sont obtenus par Sihelnikova et al. [98], néanmoins, il faut noter que ces auteurs enregistrent des DA 7 fois plus grands pour un passage de 1/2 à 1/10 en rapport massique pectine/amine. De ce fait, nous pouvons conclure qu'il est nécessaire d'utiliser les amines en excès afin d'obtenir des dérivés N-dodecylpectinamides plus substitués.

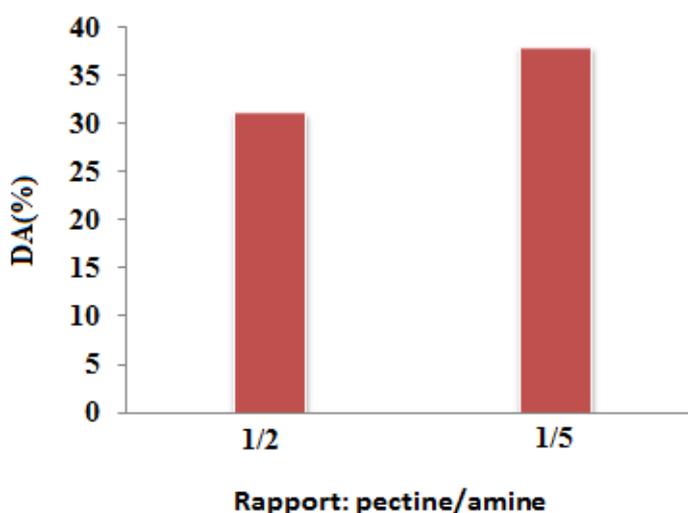


Figure 3.18 : Influence du rapport pectine/amine sur le degré d'amidation

3.5.1.5. Solubilité des N-alkylpectinamides dans l'eau

Une autre étude a été réalisée sur les dérivés N-alkylpectinamides afin de déterminer leur comportement en phase aqueuse (domaines de solubilité) à chaud. Les composés N-alkylpectinamides montrent des comportements différents en phase aqueuse en fonction de leur structure chimique, et plus particulièrement de la nature de la chaîne amidique substituée.

L'introduction des groupements non polaire (N-alkylamines) à la pectine provoque un changement de ces propriétés hydrophiles (Figure 3.19). Par ailleurs, le dérivé le plus substitué est trouvé le moins soluble dans l'eau avec un taux d'insolubilité de 60%. Selon la littérature [95], plus le nombre de carbones d'une chaîne hydrocarbonée est élevé, plus la solubilité de ce composé est moindre. Donc l'insolubilité du N-octadecylpectinamide est vraisemblablement due à la longueur de la chaîne hydrocarbonée de n-octadecylamine substitué.

De plus, l'examen de la figure 3.19 montre que les dérivés N-Pi-C₈ et N-Pi-C₁₂ qui ont presque le même DA, marquent presque le même taux de solubilité (96% et 98% pour le N-Pi-C₁₂ et le N-Pi-C₈ respectivement). Néanmoins, il faut signaler que selon Synytsya et al. [95], si plus de 95% de la masse est soluble, les dérivés N-alkylpectinamides sont considérés comme solubles dans l'eau et pour plus de 5% d'insolubilité, les dérivées sont considérés comme insolubles. De ce fait, nous pouvons dire que le N-octylpectinamide enregistre la meilleure solubilité dans l'eau et par voie de conséquence le n-octylamine est défini comme l'amine appropriée pour l'obtention des dérivés amphiphiles hydrosolubles.

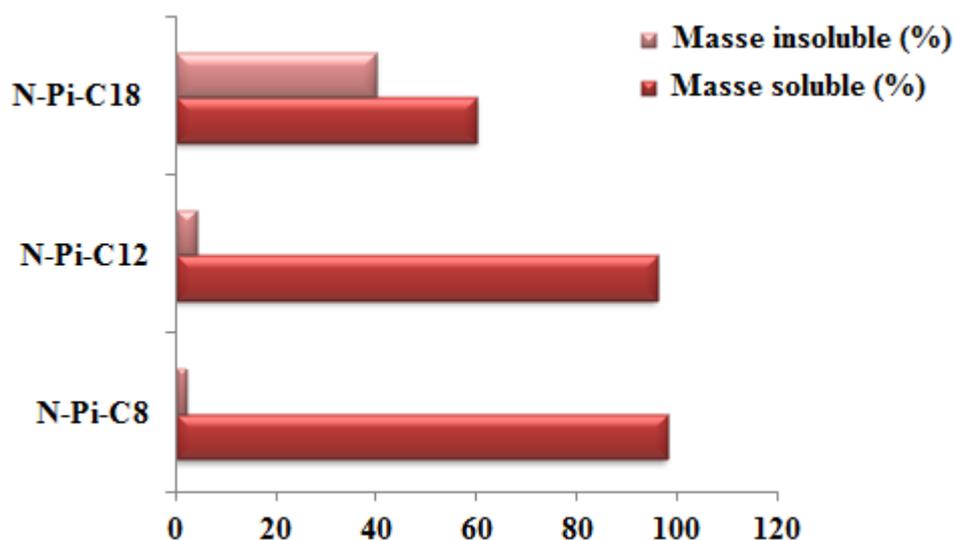


Figure 3.19 : Test de solubilité des N-alkylpectinamides

De ce qui précède, nous pouvons conclure les points suivants :

- ✓ L'hydrophobisation d'une pectine hautement méthylée, par amidation, nous a permis d'obtenir des dérivés N-alkylpectinamides avec des degrés de substitution (ou DA) considérables.
- ✓ Le degré d'amidation est fortement influencé par les paramètres opératoires étudiés : température, temps de contact, rapport pectine/amine, longueur de la chaîne hydrocarbonée des n-alkylamines.
- ✓ Pour obtenir des dérivés N-alkylpectinamides plus substitués, il est nécessaire de réaliser l'amidation à des températures élevées, pour des temps de contact longs et en excès d'amine qui possède la plus longue chaîne alkyle.

3.5.2. Caractérisation des N-dodecylpectinamides dérivés des pectines extraites et de la pectine de pomme

En se basant sur les résultats obtenus lors du processus d'amidation de la pectine industrielle, nous avons procédé à l'étude de l'évolution des propriétés des pectines extraites après amidation. Pour ce faire, nous nous sommes intéressés également à l'hydrophobisation des pectines extraites Pc, et Pb ainsi que la deuxième pectine obtenue commercialement (Pp) par la substitution des groupements hydrophobes du n-dodecylamine.

A/Spectroscopie FTIR

Les spectres FTIR obtenus (Figure 3.20) montrent que tous les dérivés N-dodecylpectinamides marquent les principales bandes d'absorption relatives à la substitution des groupements amides.

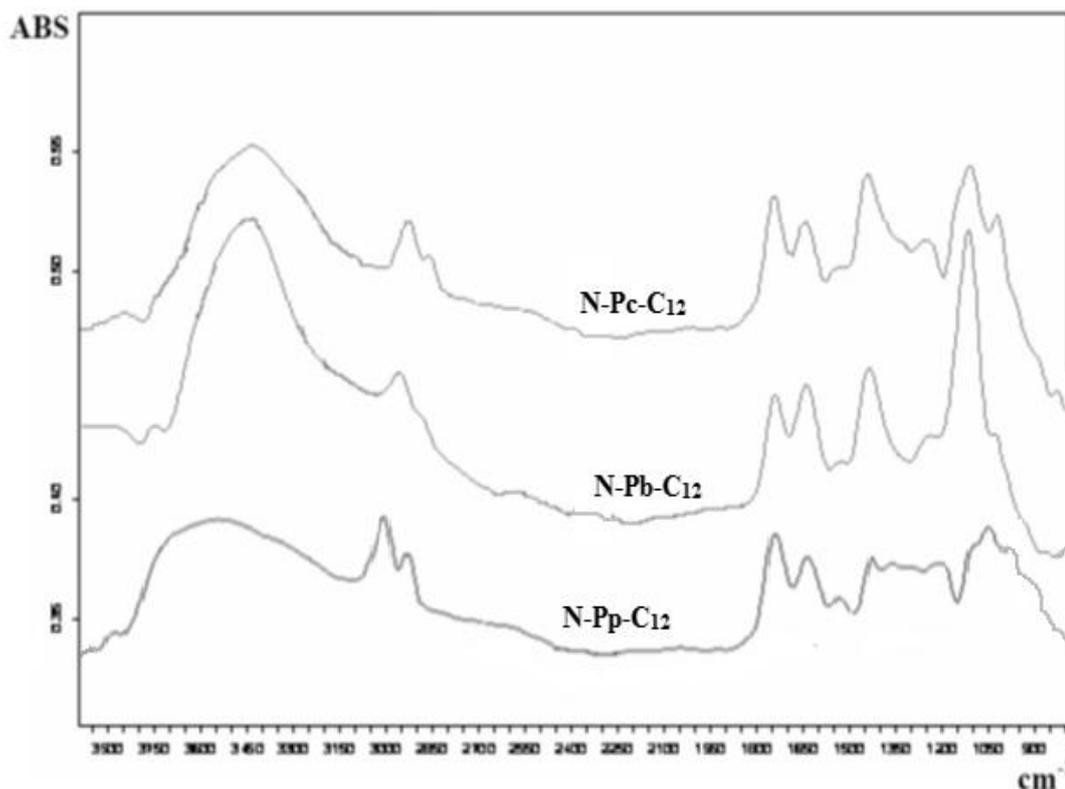


Figure 3.20 : Spectres FTIR des pectines modifiées :

N-Pc-C₁₂, N-Pb-C₁₂ et N-Pp-C₁₂

B/ Degré d'amidation

Les degrés d'amidation obtenus pour les différents N-dodecylpectinamides : N-Pp-C₁₂, N-Pc-C₁₂ et N-Pb-C₁₂ sont de l'ordre de 15,68, 14,6 et 9,5% respectivement. Pour les N-Pp-C₁₂, N-Pc-C₁₂, nous remarquons qu'ils possèdent presque le même degré de substitution, cela est probablement justifié par le fait que les deux pectines sont HM et leurs DE sont eux-mêmes proches ; 69 et 72% pour Pc et Pp respectivement. La différence constatée entre les degrés d'amidation des N-Pp-C₁₂ et N-Pb-C₁₂, peut être expliquée par le fait que Pp est hautement méthylée alors que Pb est faiblement méthylée. Ainsi, nous déduisons que le DE est aussi un paramètre majeur influençant l'évolution du DA, raison pour laquelle, tous les travaux déjà publiés dans ce contexte d'amidation des pectines utilisent les pectines HM [95, 98, 99, 123].

3.5.3. Comportement des dérivés N-dodecylpectinamides en solutions aqueuses

Les résultats de l'étude du comportement des dérivés amphiphiles des pectines en solution aqueuses sont illustrés sur la figure 3.21. Ces résultats concernent principalement l'étude de l'évolution de la viscosité réduite en fonction de la concentration en polymère.

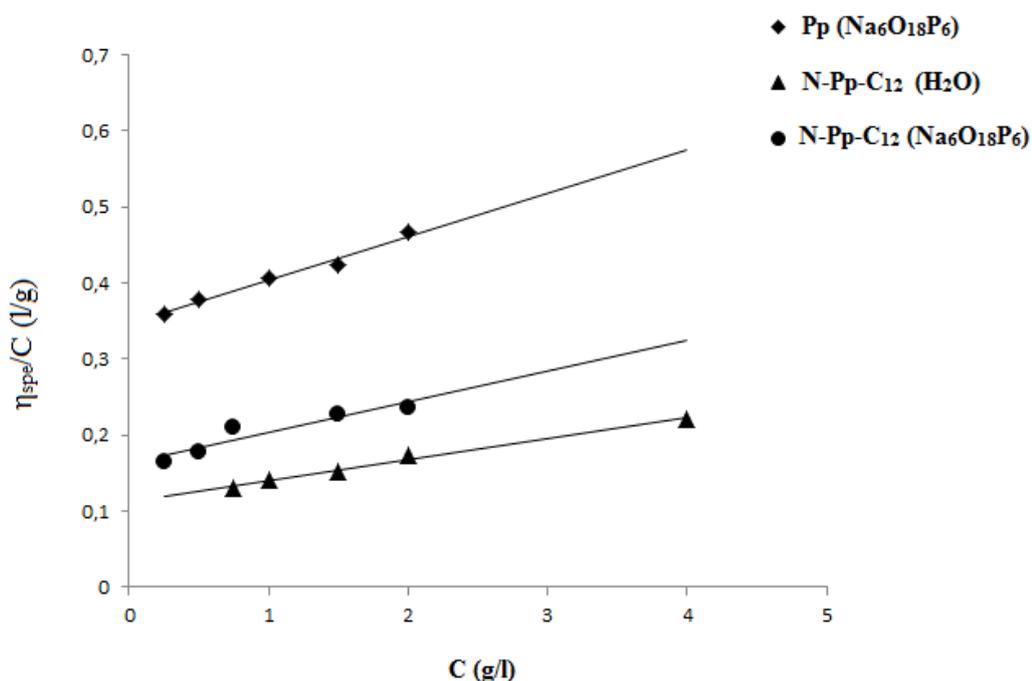


Figure 3.21 : Profil de variation de la viscosité réduite en fonction de la concentration en polymère

Par mesure des temps d'écoulement, on accède à la viscosité intrinsèque $[\eta]$ du polymère et au coefficient de Huggins k_H décrivant le comportement du polymère dans un solvant donné. Ce coefficient de Huggins, k_H est d'autant plus faible que les interactions entre le solvant et la macromolécule sont favorables. Lorsque $0,3 \leq k_H \leq 0,8$, le polymère est dans un bon solvant. Au contraire, k_H est d'autant plus élevé quand les interactions entre les chaînes macromoléculaires sont favorisées. Pour le cas des polymères amphiphiles en solution dans l'eau, k_H peut être supérieur à 1 [140]. Le polymère se trouve alors dans un solvant médiocre où les interactions polymère-polymère sont prédominantes.

Les résultats de l'évolution de la viscosité réduite en fonction de la concentration en pectine de pomme non modifiée (Pp) dans une solution d'hexamétaphosphate de sodium (1%) montre que la viscosité réduite varie de façon linéaire avec la concentration (Figure 3.21). Ceci, nous a permis d'obtenir un coefficient de Huggins de 0,46 qui indique bien qu'une solution d'hexamétaphosphate de sodium à 1%, représente un bon solvant pour les pectines non modifiées. Des coefficients de Huggins variant entre 0,51 et 0,68 ont été également trouvés pour différents types de pectines pour le même solvant par Hiorth et al. [120]. De plus, il faut signaler que selon la littérature [32, 109, 120], l'étude des caractéristiques viscosimétriques des substances pectiques est largement réalisée en présence d'hexamétaphosphate de sodium afin de diminuer les interactions inter-macromoléculaires.

En ce qui concerne la pectine modifiée (N-Pp-C₁₂) et d'après les résultats représentés dans la figure 3.21, nous remarquons que la viscosité intrinsèque $[\eta]$ de la pectine modifiée est plus faible que celle de la pectine non modifiée et cela dans l'eau pure et dans l'eau en présence d'hexamétaphosphate de sodium. Ces résultats indiquent que l'amidation des pectines conduit à un changement de leurs conformations en solution aqueuse. Ainsi, la faible viscosité intrinsèque obtenue avec des pectines modifiées traduit la formation d'objets compacts en solution aqueuse, ces objets peuvent être des macromolécules isolées (les interactions hydrophobes intramolécules sont favorisées) et parfois des agrégats compacts d'une dizaine de macromolécules où les interactions intermolécules sont prédominantes. Ceci indique que la fixation de groupements hydrocarbonés apolaires sur les chaînes de pectine diminue notablement ses interactions avec un solvant polaire comme l'eau. De plus, la chaîne principale de pectine n'étant pas solvatée ni par l'eau pure, ni par l'eau en présence d'hexamétaphosphate de sodium, celle-ci adopte une nouvelle conformation qui est à l'origine des faibles viscosités intrinsèques obtenues.

Dans cet ordre d'idée, Rotureau et al. [140] rapportent que la viscosité intrinsèque $[\eta]$ des dérivés amphiphiles du dextrane est plus faible que celle du dextrane natif et cela d'autant plus que le taux de substitution du dextrane modifié est élevé, ce qui est justifié par la prédominance des interactions hydrophobes

inter et intra-macromoléculaires. Ils ont observé également que le k_H augmente avec le taux de substitution, ce qui implique que le polymère est de moins en moins dans un bon solvant. Ces constatations ont été aussi signalées par Rouzes et al. [141] pour le dextrane hydrophobiquement modifié par greffage des groupements aromatiques très hydrophobes.

Les valeurs de la viscosité intrinsèque obtenues pour N-Pp-C₁₂ indiquent que l'hexamétaphosphate de sodium ne modifie pas de façon significative le comportement en milieu aqueux dans la mesure où les viscosités intrinsèques sont quasi-identiques dans les deux cas. Néanmoins, la disparité est importante pour le coefficient de Huggins. La valeur élevée du coefficient de Huggins ($k_H = 2,18$) est obtenue pour N-Pp-C₁₂ dans l'eau pure. Alors qu'un coefficient de 1,5 est enregistré dans l'eau en présence d'hexamétaphosphate de sodium. Ceci montre que la force ionique conduit à une faible tendance des macromolécules à interagir entre elles.

3.5.4. Mesures de la tension de surface : Estimation de la concentration micellaire critique (CMC)

Les figures 3,22, 3,23, 3,24 et 3,25 représentent l'évolution de la tension de surface des solutions des pectines Pi, Pc, Pb et Pp et leurs dérivés N-dodecylpectinamides synthétisés. Dans chaque figure, la courbe de la tension superficielle de N-dodecylpectinamide spécifique pour chaque pectine est placée au-dessous de celle de sa pectine correspondante.

En examinant chacune de ces figures, nous constatons que toutes les courbes de la tension de surface exhibent la même allure qui est une caractéristique des composés possédant des propriétés tensioactives. Lorsque la concentration en soluté augmente, la tension de surface diminue puis elle tend vers une valeur constante spécifique pour chaque composé.

Il faut noter que, la tension de surface de l'eau distillée utilisée pour la préparation des solutions des pectines et leurs dérivés, mesurée dans les mêmes conditions est de l'ordre de 70,2 mN/m.

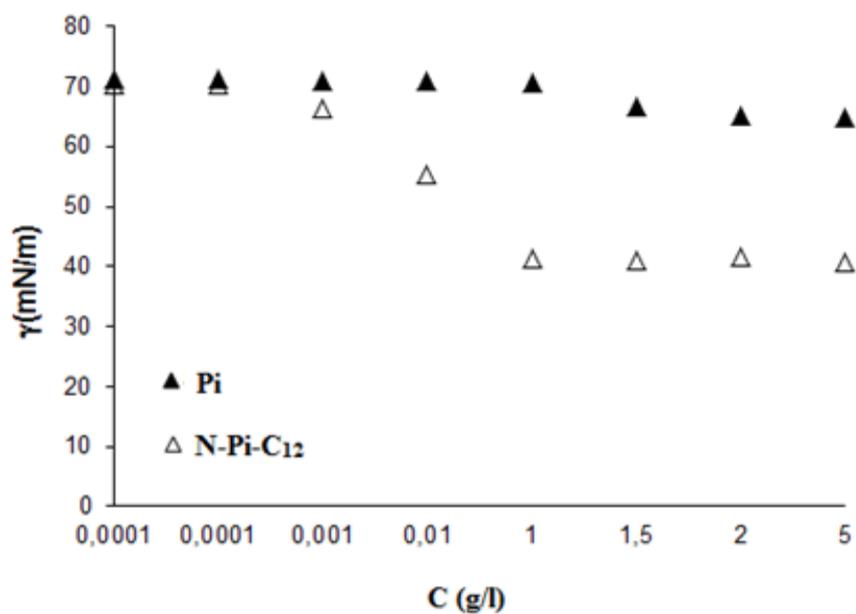


Figure 3.22 : Profil de la tension de surface de Pi et N-Pi-C₁₂

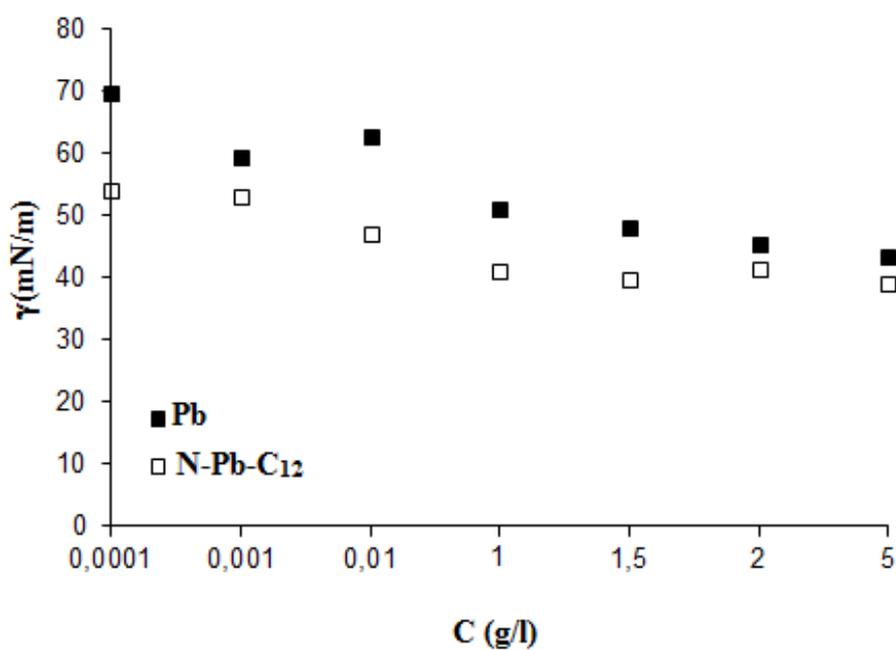


Figure 3.23 : Profil de la tension de surface de Pb et N-Pb-C₁₂

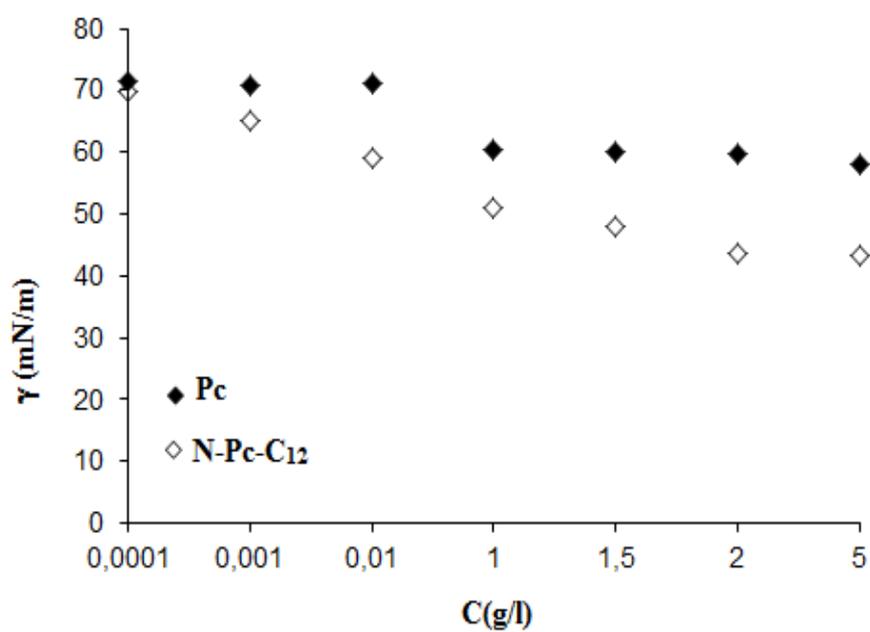


Figure 3.24 : Profil de la tension de surface de Pc et N-Pc

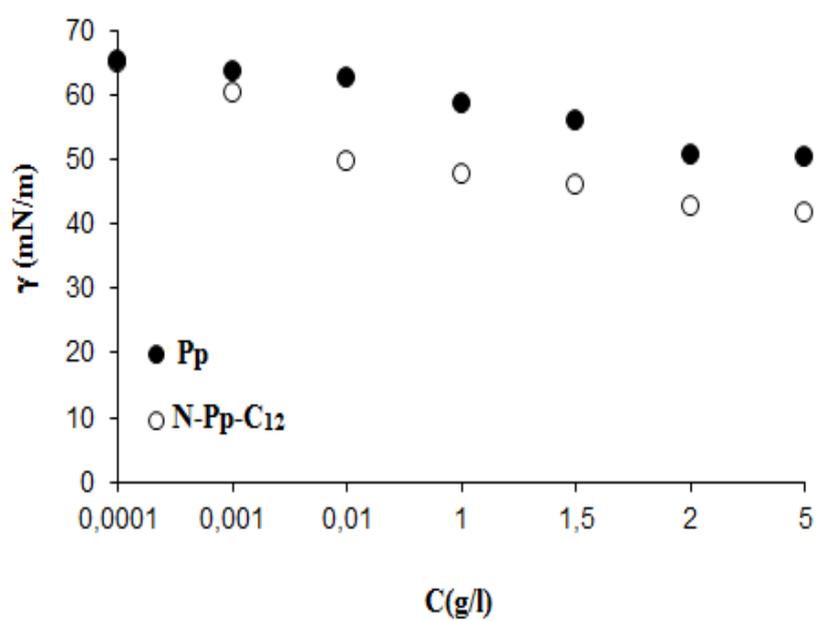


Figure 3.25 : Profil de la tension de surface de Pp et N-Pp-C12

Nous nous intéressons tout d'abord aux courbes des pectines non modifiées (Figures 3.22 à 25). Nous remarquons que pour toutes les pectines, la tension de surface diminue progressivement en fonction de l'augmentation de la concentration en pectine puis elle devient presque constante à des concentrations supérieures à 1,5 g/l. Aussi nous constatons que toutes les pectines, à de faibles concentrations (10^{-4} à 1 g/l), ne marquent pas une diminution remarquable de la tension de surface. Cependant lorsque la concentration en pectine est supérieure à 1g/l, nous enregistrons une diminution de la tension de surface variant de 64 à 48 mN/m.

Ces résultats confirment les propriétés tensioactives des pectines natives comme rapportées dans la littérature [124]. Toutefois, il faut signaler qu'il existe peu d'études détaillées sur les propriétés tensioactives des substances pectiques. Certains travaux comme ceux de Yapo et al. [124] ont montré que la pectine extraite à partir des pulpes de betterave par voie acide à chaud peut contribuer à une diminution de la tension de surface jusqu'à un minimum de 48,3 mN/m et ceci pour une concentration de 1g/l, ce qui concorde bien avec nos résultats trouvés pour le même type de pectine.

L'évolution de la tension de surface en fonction de la concentration des molécules amphiphiles (N-dodecylpectinamide) est identique à celle d'un tensioactif synthétique: diminution de γ par augmentation de la concentration jusqu'à atteindre un palier indiquant la formation de micelles. Cette concentration correspond à la concentration micellaire critique (CMC). Pour des concentrations inférieures à 1g/l, nous remarquons que la tension de surface diminue d'une manière exponentielle, et au-delà de cette concentration, la tension de surface diminue progressivement pour se stabiliser aux alentours de 1,5 ou 2g/l selon le type de pectine.

La variation de la tension de surface minimale, entre 39 et 41 mN/m, montre la présence d'une bonne activité de surface pour tous les dérivés N-dodecylpectinamides étudiés. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus pour d'autres dérivés des pectines ayant une chaîne alkyle [97]. Par ailleurs, l'abaissement de la tension de surface se traduit par le fait que dans le domaine de concentrations inférieures à la CMC les molécules du tensioactif sont

dispersées au sein de la solution et migrent en partie (chaines alkyles hydrophobes) vers l'interface pour s'adsorber de plus en plus lorsque la concentration augmente. Au-delà de la CMC, l'interface eau/air est saturée, la tension de surface se stabilise et l'augmentation de la concentration en agent amphiphile est suivie de l'organisation des molécules en micelles au cœur de la solution.

Le calcul de la CMC d'une solution amphiphile par tensiométrie se réalise en se basant sur la propriété de la molécule tensioactive à pouvoir abaisser la tension de surface de l'eau depuis des concentrations inférieures à la CMC jusqu'à la CMC. Au-delà, la tension de surface n'est presque plus affectée par l'augmentation de la concentration en tensioactif. La CMC est déduite à partir du point d'inflexion de la courbe $\gamma = f(\text{Log } C)$ telle que représentée dans la figure III.26.

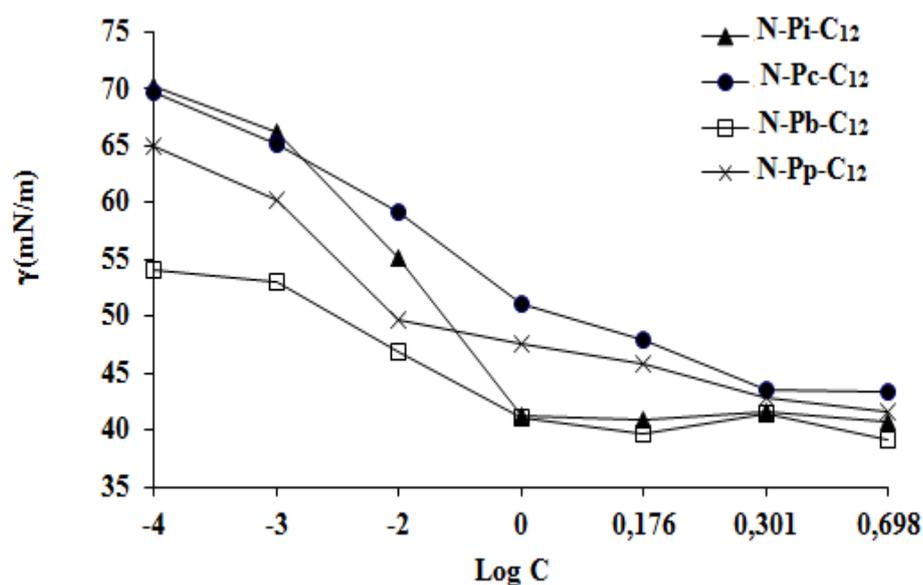


Figure 3.26 : Evolution de la tension de surface en fonction de Log C

D'après la figure 3.26, nous remarquons que la faible tension de surface (39mN/m) est observée pour le N-Pb-C₁₂ aux alentours d'une concentration de l'ordre de 1,5 g/l suivi par le N-Pi-C₁₂ avec une tension de surface de 40,7mN/m

pour une concentration de 1g/l. Cependant pour les deux autres dérivés N-Pp-C₁₂ et N-Pc-C₁₂, la tension de surface poursuit sa diminution pour se stabiliser à des concentrations de 2 g/l. La différence observée entre le N-Pb-C₁₂ et les autres dérivées amphiphiles peut être justifiée par le fait que la pectine de betterave contient une teneur élevée en groupements acétyles qui participent à l'augmentation de l'hydrophobie de cette dernière et par conséquent augmentent son caractère tensioactif.

En se basant sur leurs degrés de substitution, nous constatons que moins le degré d'amidation est élevé, plus le dérivé amphiphile présente un bon caractère tensioactif. Ceci apparait clairement entre le N-Pb-C₁₂ avec le plus faible degré d'amidation (9,5%) et le N-Pp-C₁₂ avec le degré d'amidation le plus élevé (16,56%). Ce phénomène peut être traduit par l'existence d'interactions suffisamment intenses au sein du polymère amphiphile (le plus substitué) en solution pour empêcher la migration des groupements hydrophobes à l'interface. Dans cet ordre d'idée, Jorgensen et al. [142] signalent que pour les polymères amphiphiles, la quasi-inexistence du caractère tensioactif s'explique par des phénomènes d'association intramoléculaires fortes lorsque la teneur en chaînes latérales est importante, ou par l'adoption d'une conformation telle que la partie hydrophobe soit protégée par la partie hydrophile.

Les valeurs de la CMC s'étagent de 1 à 1,5 g/l pour les deux dérivées amphiphiles N-Pb-C₁₂ et N-Pi-C₁₂ respectivement et 2g/l pour les deux dérivés N-Pp-C₁₂ et N-Pc-C₁₂. Ces résultats sont en conformité avec les données de la littérature [97].

3.5.5. Mesures de la tension interfaciale

Les mesures de la tension interfaciale, réalisées à l'interface hexadécane / N-dodecylpectinamide, montrent que l'introduction des dérivés amphiphiles (N-dodecylpectinamides) conduisent à la diminution de la tension interfaciale de 51,9 mN/m pour l'interface hexadécane /eau jusqu'à un minimum de 14,5 mN/m, 15,6 mN/m et 16,1 mN/m pour le N-Pb-C₁₂, N-Pi-C₁₂ et N-Pc-C₁₂ respectivement.

Ces résultats montrent que les dérivés N-dodecylpectinamides possèdent une tendance à s'adsorber à l'interface eau/hexadécane en provoquant une diminution

de la tension interfaciale. D'autre part nous pouvons noter que l'effet tensioactif du N-Pb-C₁₂ semble plus important que celui rapporté dans le cas des deux autres dérivés N-Pc-C₁₂ et N-Pi-C₁₂ confirmant ainsi les résultats trouvés pour les mesures de la tension de surface. Ceci peut être expliqué par la différence en composition chimique que ce soit le degré de substitution (DA) ou le contenu en groupements acétyles. Toutefois il faut noter que, selon Desbrieres et al. [143], dans la théorie de l'adsorption des polyélectrolytes amphiphiles, le rôle joué par le degré de substitution et la longueur des groupements alkyle greffés sur l'activité interfaciale reste mal connu.

3.5.6. Propriétés émulsifiantes

L'étude des propriétés émulsifiantes des dérivés amphiphiles N-dodecylpectinamides a été réalisée par la mesure du pouvoir émulsifiant et la stabilité de l'émulsion de ces dérivés.

Après la centrifugation des émulsions préparées, trois phases ont été observées, une petite phase d'huile en haut, une phase aqueuse des dérivés des pectines et une couche d'émulsion comme le montre la figure 3.27.

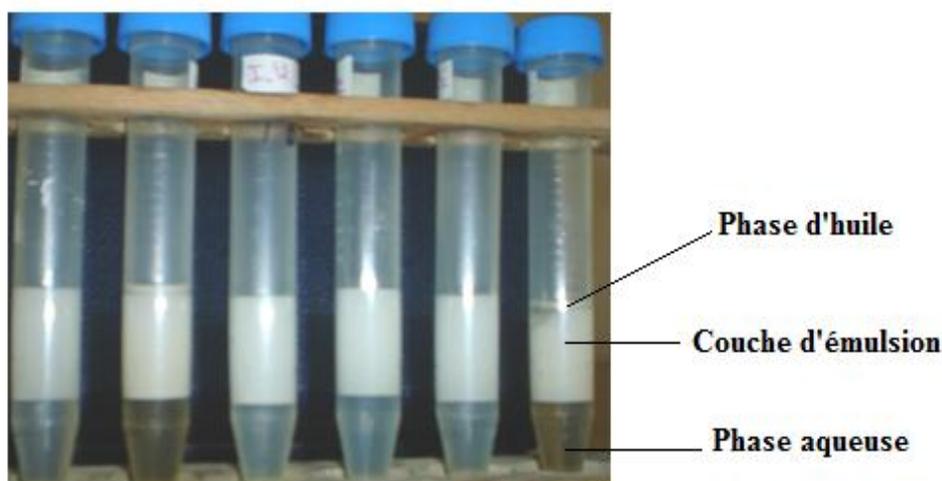


Figure 3.27 : Différentes phases obtenues du test pouvoir émulsifiant

Les différents résultats relatifs aux calculs du pouvoir émulsifiant et de stabilité de l'émulsion sont récapitulés dans le Tableau 3.6.

Tableau 3.6 : Pouvoir émulsifiant et stabilité d'émulsion des
N-dodecylpectinamides

Temps de stockage	EA(%)	ES(%)			
		1 jour		30 jours	
	Température	25°C	4°C	25°C	4°C
N-Pi-C ₁₂	64,5	89,6	78,8	89,4	78,1
N-Pc-C ₁₂	66	86,2	76,9	85,8	75,9
N-Pb-C ₁₂	66,6	91,1	88,5	89,7	88,2

L'analyse des résultats présentés dans le Tableau 3.6 montre que le pouvoir émulsifiant des trois dérivés N-dodecylpectinamides est supérieure à 50%, et il est de l'ordre de 64,5, 66 et 66,6% pour les N-Pi-C₁₂, N-Pc-C₁₂ et N-Pb-C₁₂ respectivement. Ces résultats sont meilleurs par rapport à ceux rapportés par Yapo et al. [124] pour des pectines de betterave natives avec des valeurs de 47,1%. Ceci nous permet de conclure que l'hydrophobisation des pectines mène aux dérivés amphiphiles dotés de propriétés d'émulsification considérables. De plus la différence observée entre les trois dérivés justifie bien la différence en composition chimique des trois types de pectines.

En ce qui concerne la stabilité d'émulsion, les résultats obtenus montrent que les émulsions des N-dodecylpectinamides sont à 86,2 ~ 91,1% stables à 4°C et 76,9 ~ 88,5 % à 23°C après 1 jour de stockage. Alors qu'après 30 jours de stockage, la stabilité des émulsions préparées est de l'ordre de 86 ~ 90 % à 4°C et de 75,9~ 88 % à 23°C.

D'après ces résultats, nous constatons que tous les dérivés N-dodecylpectinamides montrent un bon niveau de stabilité des émulsions sous différentes températures de stockage. Cependant, nous enregistrons les

meilleures stabilités pour les échantillons stockés à 4°C. Ainsi, l'augmentation du temps de stockage engendre une diminution de la stabilité. Néanmoins, nous notons que les diminutions enregistrées ne sont pas significatives (moins de 2%).

3.5.7. Conclusion

A la fin de cette partie de modification des pectines, nous pouvons tirer les points suivants :

- L'amidation de la pectine est un processus hétérogène complexe.
- Le degré de substitution est conditionné par plusieurs facteurs (température, temps de réaction et structure de l'amine).
- Le N-dodecylpectinamide est un exemple des dérivés amphiphiles des pectines avec une partie polaire qui est la chaîne de l'acide polygalacturonique alors que la chaîne latérale n-dodecyle constitue la partie non polaire.
- L'introduction du groupe n-dodecyl à la pectine conduit aux changements de ces propriétés physiques et chimiques, et en particulier l'augmentation de son caractère hydrophobe.
- Les dérivés amphiphiles N-dodecylpectinamides possèdent de très bonnes propriétés de surface et d'émulsification.

3.6. BIOSORPTION DU CUIVRE SUR N-DODECYLPECTINAMIDES

Dans cette partie et avant de passer à l'étude de la biosorption du cuivre sur les N-dodecylpectinamides, nous nous sommes intéressés au préalable à une étude d'optimisation complète du phénomène de biosorption du cuivre sur des pectines natives. Une comparaison a été réalisée entre cette dernière et celle modifiée dans les conditions optimisées.

3.6.1. Effet de la teneur en biosorbant sur la cinétique de la biosorption du cuivre sur la pectine de pomme

L'évolution du taux d'élimination (obtenu après 120 min de contact) pour les différentes teneurs en biosorbant montre une fixation dépendante de la quantité de ce dernier, soit une augmentation de l'accumulation des cations Cu(II) avec la masse de biosorbant introduite (Figure 3.28 a, b). Une plus grande teneur en biosorbant offre une surface de contact plus grande.

La quantité de cuivre fixée par gramme de biosorbant en fonction du temps diminue pour des teneurs croissantes en biomasse. L'augmentation de la teneur en biomasse dans la suspension diminue le rapport de la quantité de métal fixé par gramme de biomasse (Figure 3.28 b).

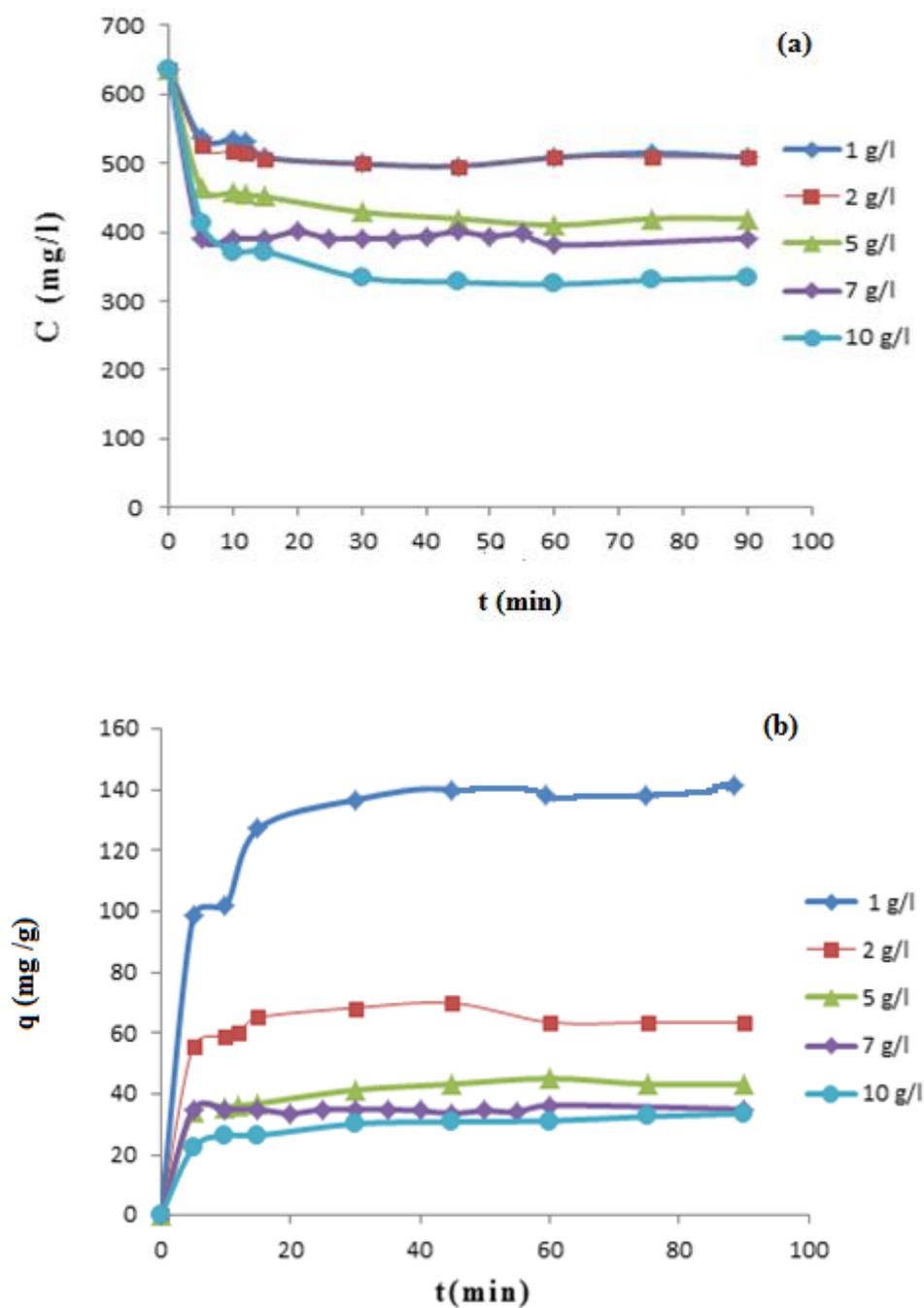


Figure 3.28 : Influence de la teneur en biosorbant sur la cinétique de biosorption

(a) évolution de la concentration résiduelle de Cu(II) en fonction du temps

(b) Capacité d'élimination du Cu(II) en fonction du temps

Bien que la réduction de la concentration en biosorbant dans la suspension augmente le rapport de la quantité de métal fixé par gramme de biosorbant, les grandes teneurs restent en pratique les plus intéressantes du fait qu'elles aboutissent à une baisse significative de la concentration résiduelle des cations et de la biodisponibilité croissante des sites réactionnels facilitant le phénomène de biosorption. Selon Kogej et Pavko [144], la teneur optimale en biosorbant est un compromis entre le taux d'adsorption et la qualité de l'agitation dans le réacteur ; les teneurs élevées mènent à une agitation difficile et donc à une diminution de la surface de contact.

Dans notre cas, il est inutile d'augmenter la teneur de la pectine au-delà d'une marge située entre 7g/l et 10g/l où les cinétiques d'élimination des cations Cu(II) sont presque identiques aboutissant à des capacités semblables (Figure 3.28 a, b).

3.6.2. Effet du pH sur la cinétique de la biosorption du cuivre sur la pectine de pomme

Un des facteurs les plus importants dans l'étude de biosorption est l'effet de l'acidité du milieu. Cette dernière affecte la capacité de fixation des ions métalliques car les ions d'hydrogène peuvent entrer en concurrence avec les ions métalliques pour se fixer sur les sites actifs de la surface disponible à la biosorption.

Dans cette partie, nous étudions l'effet de deux pH (5 et 3,1) sur la cinétique de biosorption des cations Cu(II) sur la pectine Pp (avec une teneur de 7 g/l). Les résultats obtenus sont illustrés sur la figure 3.29.

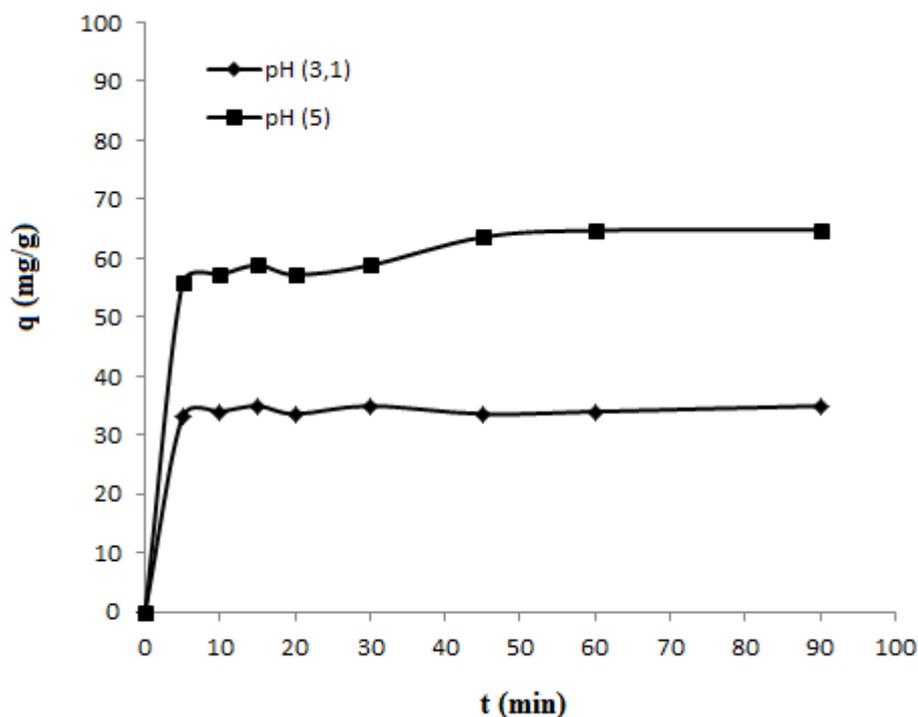


Figure 3.29 : Effet du pH sur la cinétique de biosorption des ions Cu(II) sur la pectine de pomme

L'examen de la figure 3.29 montre que pour les deux pH étudiés, la cinétique de biosorption est rapide. Les capacités d'adsorption maximales à l'équilibre sont enregistrées dès les 10 premières minutes. Néanmoins, il faut signaler que la capacité obtenue pour un pH =5 (≈ 64 mg/g) est meilleure par rapport à celle obtenue à pH=3.1 (≈ 34 mg/g).

Ces résultats peuvent être expliqués par la compétition entre les protons H^+ et les cations Cu (II). A fortes concentrations (pH=3,1), les protons transforment une partie non négligeable des sites actifs sous une forme protonée (COOH), ce qui empêche la fixation des ions Cu(II). La surface disponible à la biosorption est donc pas totalement occupée et donne une faible capacité d'adsorption. En milieu moins acide (pH=5), les groupements carboxyliques sont sous la forme déprotonée (COO^-) et sont donc disponible à capter les cations Cu(II). Le nombre des sites anioniques est donc plus important et la capacité de biosorption est améliorée.

Des résultats similaires sont obtenus par Rosângela et al. [145]. La capacité d'adsorption des ions Pb(II) sur les coquilles jaunes des fruits de passiflore est multipliée par 2 entre pH= 2 et pH=5. De plus un écart de 30mg/g est enregistré entre pH=3 et pH=5. Ainsi ils suggèrent que l'explication la plus plausible de ce phénomène de biosorption c'est qu'à de faibles valeurs de pH, la dissociation des acides carboxyliques menant à la formation des groupements COO^- sera exclue, puisque le pK_a des acides carboxyliques s'étend de 3,8 à 5,0. Donc, l'augmentation du pH de 2 à 5 engendre une amélioration de la capacité de fixation des ions Pb(II).

Pour cela, nous considérons qu'un pH=5 est adéquat à la fixation des cations Cu(II) sur la pectine, il permet l'exploitation maximale de la surface biosorbante toute en ayant le métal sous sa forme soluble.

3.6.3. Effet du degré d'estérification sur la cinétique de biosorption

L'étude de la cinétique de biosorption des ions Cu(II) sur deux types de pectine HM et FM montre que le degré d'estérification n'a pas une influence significative sur la cinétique d'adsorption. La figure 3.30 montre clairement qu'un temps de contact de 10min est trouvé suffisant pour atteindre l'équilibre et ceci pour les deux types des pectines. Toutefois, il faut noter que la capacité d'adsorption est nettement améliorée entre la pectine de DE=41% et celle de DE=75%.

Cette différence peut être expliquée par le fait, que dans la pectine HM (DE=75%) le pourcentage des groupements carboxyliques COOH (25%) est inférieur à celui de la pectine FM (59%) ce qui minimise la capacité de fixation des ions Cu(II) pour la pectine HM. De plus, les groupements méthylestérifiés (COOCH_3) d'acide galacturonique ne sont pas actifs, alors que les groupements carboxyliques libres chargés négativement (COO^-) forment des liaisons covalentes avec les ions Cu(II) comme le suggère Wai et al. [146]. Des résultats similaires ont été également enregistrés par Khotimchenko et al. [147].

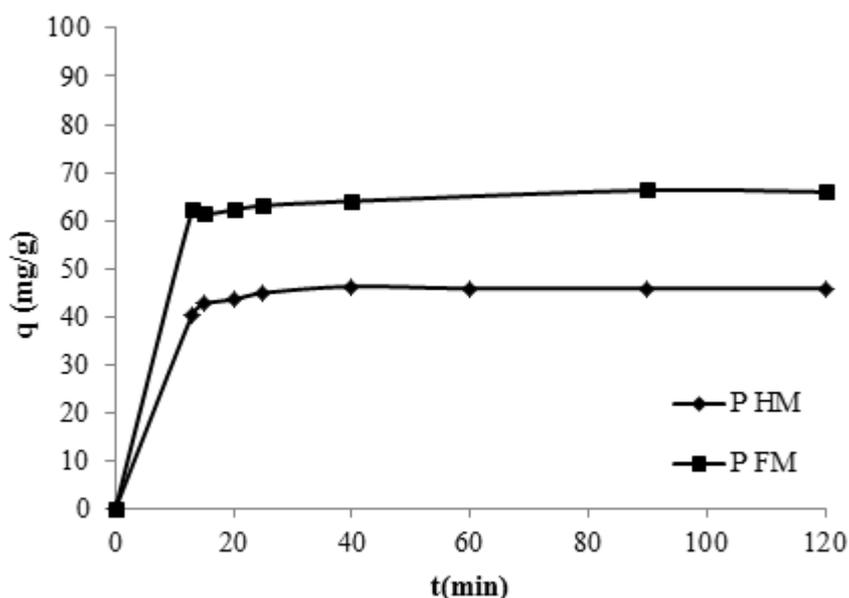


Figure 3.30 : Effet du degré d'estérification des pectines sur la cinétique de biosorption de Cu(II) sur la pectine du citrange

3.6.4. Biosorption des ions du cuivre sur N-dodecylpectinamide

Dans cette partie nous avons testé la possibilité d'utiliser la pectine modifiée pour la fixation des ions Cu(II) aux conditions optimisées pour la pectine commerciale (teneur en biosorbant, pH). Nous rappelons que N-Pp-C₁₂ est utilisé pour ce test. Contrairement aux effets du pH et teneur en biosorbant, l'amidation de la pectine influe positivement sur la cinétique de la biosorption des cations Cu(II). En effet le temps nécessaire pour atteindre l'équilibre est réduit pour le N-dodecylpectinamide comparé à celui obtenu pour la pectine non modifiée (Figure 3.31). De plus, la capacité de fixation des ions Cu(II) est améliorée en utilisant le N-dodecylpectinamide. Ce phénomène peut être justifié par le fait que la teneur en groupement méthylestérifiés inactifs est faible pour le N-dodecylpectinamide par rapport à celle d'une pectine native. De plus lors de la modification chimique, la première étape relative au lavage par l'acide chlorhydrique peut également provoquer une déméthylation de la pectine donc augmentation du pourcentage des groupements carboxyliques libres. Toutefois, il faut signaler que dans la limite de nos conditions expérimentales (teneur en biosorbant, pH, Concentration initiale

en Cu(II)), le N-dodecylpectinamide mène à une faible amélioration de la capacité de fixation avec un écart moyen de l'ordre de 5 mg/g. Cet écart pourrait être nettement remarquable en testant des concentrations initiales plus importantes (dans les conditions saturantes du deux biosorbants).

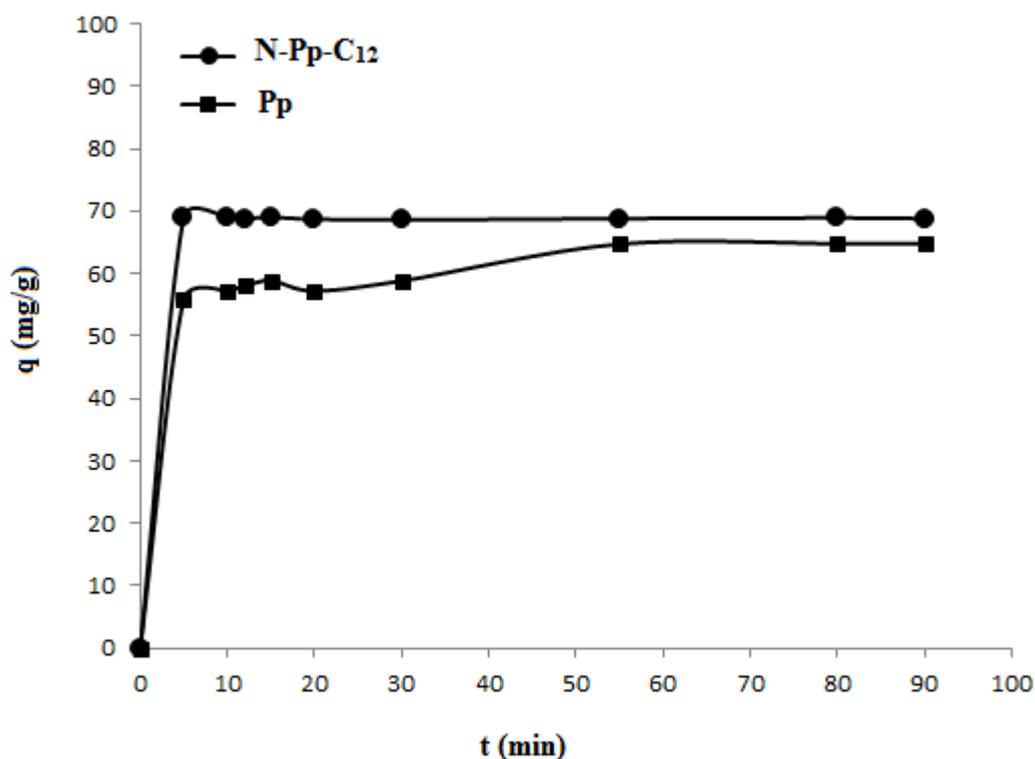


Figure 3.31 : Cinétique de biosorption du cuivre Cu(II) sur la pectine de pomme et son dérivé N-Pp-C₁₂

3.6.5. Conclusion

A la fin de cette partie, nous tirons les points suivants :

- La pectine représente une biomasse d'intérêt majeur dans le domaine de la biosorption des ions métalliques;
- Le processus de biosorption des ions métalliques du cuivre sur les pectines natives est largement conditionné par plusieurs facteurs comme le pH, la teneur en biosorbant et le degré d'estérification des pectines.

- Les dérivés amphiphiles des pectines mènent à une amélioration appréciable de la cinétique de biosorption du Cu(II) ;
- La capacité d'adsorption du Cu(II) sur les pectines modifiées est également améliorée comparée à celle obtenue avec les pectines natives (plus de 5 mg/g).

CONCLUSION GENERALE

Le travail présenté dans ce manuscrit avait pour objectif la synthèse puis l'étude des propriétés d'auto-organisation aux interfaces liquide/air et liquide/liquide des dérivés amphiphiles associant la pectine et des groupements hydrophobes. Il s'agissait plus particulièrement de réaliser des dérivés N-alkylpectinamides dotés de nouvelles propriétés.

Pour ce faire, nous avons procédé, lors du premier volet de ce travail, à l'extraction de ce polysaccharide (la pectine) à partir de trois sources végétales : les albédos du citron, les albédos du citrange et les pulpes de betterave. Les substances pectiques ont été extraites par voie acide à chaud en adoptant une méthodologie basée sur les plans d'expériences dont le but d'évaluer l'effet des différents paramètres opératoires sur le rendement en pectines ainsi que sur leurs propriétés structurales. Les extraits obtenus ont été soumis à des analyses physicochimiques appropriées (analyse par FTIR, CCM, détermination de DE, teneur en méthoxyles, étude viscosimétrique...).

Les résultats obtenus, montrent qu'un rendement de 24,5% en pectine hautement méthylée avec un degré d'estérification de 62,5% peut être obtenu dans les conditions suivantes : un pH de 1,2, une température de 80°C et un temps d'extraction de 90 min. Ces conditions ont été considérées comme optimales pour la suite du travail. Les différents tests réalisés, montrent également que, la nature de la matière végétale constitue un paramètre structural caractéristique des substances pectiques. Ainsi, les pectines extraites à partir des pulpes de betterave possèdent une bonne teneur en groupements acétyles (21%) conduisant à une augmentation de son hydrophobicité ce qui gouverne ses propriétés de surface et émulsifiantes.

Par ailleurs, l'extraction par chauffage à induction électromagnétique représente une méthode alternative pour l'extraction des pectines. L'intérêt est la possibilité de préserver la qualité des produits à extraire en faisant appel à une technologie

qui permet une homogénéisation rapide de la température du milieu d'extraction. Les essais réalisés montrent que le même rendement en pectine extraite par chauffage conventionnel (24%) obtenu en 90 min peut être obtenu en un temps trois fois moins (30 min) en utilisant le chauffage à induction électromagnétique. Alors que, la caractérisation structurale des pectines extraites ne représente pas une différence significative par rapport aux deux modes de chauffage. Ainsi, il s'avère que l'extraction des substances pectiques par induction électromagnétique est une méthodologie prometteuse sur le plan technologique. Le temps d'extraction est significativement réduit avec conservation des propriétés structurales en comparaison avec la méthode classique.

Dans le deuxième volet, l'accent a été mis sur la modification chimique de la pectine. Cette modification est réalisée par l'amidation de la pectine avec des amines primaires de différentes longueurs de chaîne alkyle en milieu hétérogène (biphasique). La réaction en milieu organique hétérogène a permis l'obtention de taux de substitution variant de 8% à 18%. Comme résultat, une famille de dérivés de pectine (N-alkylpectinamides) a été obtenue, allant de polymères hydrosolubles jusqu'à des polymères peu solubles en eau. Par ailleurs, le suivi du processus d'amidation des pectines sous différentes conditions réactionnelles montre qu'il est possible de moduler à souhait les taux de substitution. Les résultats obtenus montrent, qu'afin d'obtenir des dérivés N-alkylpectinamides plus substitués, il est nécessaire de réaliser l'amidation à des températures élevées pour des temps de contact longs et avec un excès d'amine possédant la plus longue chaîne alkyle.

La tensiométrie a démontré un certain potentiel tensioactif des dérivés N-alkylpectinamides à l'interface eau/air avec une tension de surface minimale enregistrée autour de 39 mN/m. En revanche, les pectines natives correspondantes ne sont que très faiblement actives à l'interface eau/air, ce qui confirme que, l'effet hydrophobe prédomine largement et conduit à la diffusion des macromolécules de la solution vers l'interface puis leur adsorption. De plus, l'étude des propriétés émulsifiantes des dérivés amphiphiles N-dodecylpectinamides, réalisée par la mesure du pouvoir émulsifiant et la stabilité de l'émulsion, a permis d'enregistrer un bon pouvoir émulsifiant (> 60%) et une bonne stabilité des émulsions (> 75%) en comparaison avec les pectines natives.

De plus, la viscosimétrie capillaire a montré que la fixation des groupements hydrocarbonés apolaires sur la chaîne de la pectine conduit à un changement de sa conformation en solution aqueuse. Cette nouvelle conformation qui est à l'origine des faibles viscosités intrinsèques obtenues pour les dérivés N-dodecylpectinamides comparées à celles obtenues pour les pectines natives, se traduit par la prédominance des interactions hydrophobes inter et intra macromoléculaires.

Enfin, nous avons testé la possibilité d'utiliser les dérivés N-dodecylpectinamides comme des biosorbants pour la fixation des ions Cu(II). L'étude du processus de biosorption des ions Cu(II) sur les pectines modifiées, révèle une capacité d'adsorption ultime légèrement supérieure à celle obtenue pour les pectines natives (un écart de 5mg/g). Néanmoins, l'amidation des pectines influe positivement sur la cinétique de la biosorption des cations Cu(II). Le temps nécessaire pour atteindre l'équilibre est considérablement amélioré, de 20 min pour les pectines natives à 5 min pour les dérivés N-dodecylpectinamides.

Plusieurs perspectives peuvent être proposées pour la conduite de ce travail de recherche :

- ✓ Pour l'extraction des substances pectiques, l'introduction de l'induction électromagnétique s'est avérée une technologie prometteuse. Cependant nous sommes malgré tout dans la phase exploratrice de cette technologie, beaucoup de travaux restent à réaliser tant sur le plan du fonctionnement, que sur le plan du « design » évolutif des réacteurs à induction électromagnétique directe.
- ✓ En ce qui concerne la synthèse de pectines amphiphiles, il serait souhaitable d'étudier la modification en milieu organique homogène pour l'obtention des dérivés possédant des degrés de substitution élevés. Ce point mériterait une étude plus détaillée qui n'a pas pu être menée dans le cadre de ce travail de thèse.
- ✓ Enfin sur l'étude de la biosorption réalisée à la fin de ce travail, plusieurs essais sont nécessaires sur ce point, afin de décrypter les relations degrés de substitution-capacité de fixation.

SYMBOLES ET ABREVIATIONS

A	: surface
C	: concentration (g/l)
C	: taux de cendre (%)
°C	: degré Celsius
C_n	: longueur de la chaîne hydrocarbonée
CDTA	: cyclohexane diamine tétra-acétique
Cu	: cuivre
CPG	: Chromatographie en Phase Gazeuse
CMC	: Concentration Micellaire Critique
CMC	: Carboxyméthyle cellulose
CHP	: cholestéryl pullulane
D	: distance parcourue par le solvant (cm)
DE	: degré d'estérification (%)
D_{Ac}	: degré d'acétylation (%)
D-galA	: D-galacturonique
DM	: degré de méthylation (%)
DA	: degré d'amidation (%)
DMSO	: dimethylsulfoxyde
DMF	: diméthylformamide
DS	: degré de substitution
DMF	: N,N-diméthyl formamide
ES	: stabilité des émulsions (%)
EA	: activité émulsifiante (%)
EDTA	: éthylène diamine tétra-acétique
FTIR	: Infra Rouge à Transformée de Fourier
FM	: faiblement méthylée
F	: constante du poids
Glu	: Glucose

HPLC	: Chromatographie en Phase Liquide à Haute Performance
H/E	: huile dans l'eau
HM	: hautement méthylée
HG	: Homogalacturonane
HEC	: Hydroxyéthylcellulose
HPC	: hydroxypropylcellulose
HPMC	: hydroxypropylméthylcellulose
H	: taux d'humidité (%)
IEM	: Induction Electromagnétique
KBr	: bromure de potassium
Man	: Mannose
MALLS	: Multi-angle Laser light Scattering
MeO	: teneur en methoxyl (%)
MC	: méthyle cellulose
M_n	: masse moléculaire moyenne (kDa)
MV	: matière végétale
M	: masse molaire (g/mol)
M	: molarité (mol/l)
N	: normalité
PAHBAH	: acide parahydroxybenzoïque hydrazide
Pc	: pectine de citron
Pb	: pectine de betterave
Pct	: pectine du citrange
Pp	: pectine de pomme
Pi	: pectine commerciale
P-CV	: pectine extraite par chauffage conventionnel
P-IEM	: pectine extraite par chauffage à induction électromagnétique
P	: poids de pectine (g)
R_f	: rapport frontal
RG	: rhamnogalacturonanes
RMN	: Résonance Magnétique Nucléaire
Rha	: Rhamnose
R	: rendement (%)

R²	: coefficient de corrélation
SEC	: Size-Exclusion Chromatography
SM	: spectrométrie de masse
S-N	: sucre neutre
T	: température (°C)
V	: volume (ml)
Xyl	: xylose
d	: distance parcourue par le sucre (cm)
g	: gramme
h	: heure
k_H	: coefficient de Huggins
kDa	: kilodaltons
km	: kilomètre
k	: nombre des facteurs
mg	: milligramme
mm	: millimètre
m	: masse de l'échantillon (mg)
min	: minute
<i>m</i>-HDP	: méta-hydroxydiphényl
m	: mètre
ml	: millilitre
nm	: nanomètre
q	: capacité d'adsorption (mg/g)
t	: temps (s)
trs	: tours
γ	: tension de surface (mN/m)
η_{red}	: viscosité réduite
η_{sp}	: viscosité spécifique
[η]	: viscosité intrinsèque en dLg ⁻¹
μl	: microlitre

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Pilnik, W., "Pectin, a many spendoured thing. In: Gums and stabilizers for the food industry", Philips, G.O., Williams, P.A., Wedlock, D.J., Eds, Oxford University Press, (1990), 313-262.
2. Savary, B.J., Hotchkiss, A.T., Fishman, M.L., Cameron, R.G. and Shatters, R.G., "Development of a Valencia orange pectin methyl esterase for generating novel pectin products. In: Advances in pectin and pectinase research", Voragen, F., Schols, H. and Visser, R., Eds, Kluwer Academic Publishers, (2003), 345-361.
3. McNeil, M., Darviu, A.G., Fry, S.C. and Albersheim, P., "Structure and function of the primary cell walls of plants", *Annual Review of Biochemistry*, V.53, (1984), 625-663.
4. Bidlack, J., Malone, M., Benson, R.N., "Molecular structure and component integration of secondary cell walls in plants", *Proceedings of the Oklahoma Academy of Science*, V.72, (1992), 51-56.
5. Pérez, S., Rodriguez-Carjaval, M.A. and Doco, T., "A complex plant cell wall polysaccharide: rhamnogalacturonan II. A structure in quest of a function", *Biochimie*, V.85, (2003), 109-121.
6. Roland, J.C., "Visualisation des polysaccharides au niveau ultrastructural. Dans : Les Polymères Végétaux. Polymères Pariétaux et Alimentaires non azotés". Gauthier-Villars., Ed, Paris, (1980), 30-45.
7. Goycoolea, F.M. and Cárdenas, A., "Pectins from *Opuntia* spp: A Short Review", *J. PACD*, (February 2003), 17-29.
8. McCann, M.C. and Roberts, K., "Architecture of the primary cell wall. In: The Cytoskeletal Basis of Plant Growth and Form", Lloyd, C.W., Ed, Academic Press, London, (1991), 109-129.
9. Kjørniksen, A.L., Hiorth, M. and Nyström, Bo., "Temperature induced association and gelation of aqueous solutions of pectin. A dynamic light scattering study", *European Polymer Journal*, V.40, (2004), 2427–2435.
10. Hojgaard Christensen, S., "Pectins in Food Hydrocolloids Vol.III", Ed, Martin Glicksman, (1986), 205-229.
11. May, C.D., "Pectins. In Handbook of Hydrocolloids", Phillips, G.O. and Williams, P.A., Ed, CRC Press, Boca Raton, (2000), 169-188.
12. Kertesz, Z.I., "The Pectic Substances", Wiley Interscience, New York, (1951), 640.
13. Ralet, M.C., Bonnin, E. and Thibault, J.F., "Pectins. In: Biopolymers vol.8. Polysaccharides II", Steinbüchel, A., Ed, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, (2002), 345-380.
14. Habibi, Y., "Contribution à l'étude morphologique, ultrastructurale et chimique de la figue de barbarie, Les polysaccharides pariétaux : caractérisation et modification chimique", Thèse Doctorat, Univ. Joseph Fourier (France) et Univ. Cadi Ayyad (Maroc), (2004).

15. Scheller, H.V., Jensen, J.K., Sørensen, S.O., Harholt, J. and Geshi, N., "Biosynthesis of pectin", *Physiologia Plantarum*, V.129, 2007, 283–295.
16. Endreû, H.U. and Christensen, S.H., "Pectins. In: Handbook of hydrocolloids", Phillips, G.O. and Williams, P.A., Ed, CRC Press, Boca Raton Boston, New York, (2009), 274-297.
17. Mohnen, D., "Biosynthesis of pectins, Pectins and their Manipulation". Seymour, GB. And Knox, JP., Ed, Oxford, Blackwell Publishing and CRC Press, (2002), 52-98.
18. O'Neill, M.A., "The pectic polysaccharides of primary cell walls. In: Methods in Plant Biochemistry", Harborne, D., Ed, (1990), 415-444.
19. Choi, J.K., Lee, B.H., Chae, C.H. and Shin, W., "Computer Modeling of the Rhamnogalacturonase –Hairy- Pectin Complex", *Proteins*, 55, (April 2004), 22-33.
20. Maude, G., "Etude qualitative et quantitative des interactions entre la β -Lactoglobuline et la pectine en système dilué", Thèse Doctorat, Univ Laval, Quebec, (2003).
21. Doco, T., Williams, P., Vidal, S. and Pellerin., "Rhamnogalacturonan II, a dominant polysaccharide in juices produced by enzymic liquefaction of fruits and vegetables", *Carbohydrate Research*, V.297, n° 2, (January 1997), 181-186.
22. Stephen, A.M., "Other plant polysaccharides, in the polysaccharides", Aspinall, G.O., Ed, (1983), 98-193.
23. Waldron, K.W., Parker, M.L. and Smith, A.C., "Plant Cell Walls and Food Quality", *Comprehensive reviews in food Science and Food Safety*, V.2, (October 2003), 101-119.
24. May, C., "Industrial pectins: sources, production and applications", *Carbohydrate polymers*, V.12, (1990), 79-99.
25. Thibault, J.F., "Les polymères végétaux : polymères pariétaux et alimentaires non azotés", Gauthier-Villars, Ed, Bordas, Paris, (1980), 232-251.
26. Rombouts, F.M., Thibault, J.F., "Feruloylated pectic substances from sugar-beet pulp", *Carbohydrate Research*, V.154, (1986), 177-188.
27. Ishi, T., Tobita, T., "Structural characterization of feruloyl oligosaccharides from spinach-leaf cell walls", *Carbohydrate Research*, V.248, (1993), 179-190.
28. Endreû, H.U. and Rentschler, C., "Chances and limits for the use of pectin as emulsifier-Part I", *European Food and Drink Review*, (1998).
29. Courtois, J., et Sasia, G., "Caractérisation des macromolécules dans les produits sucriers issus de la betterave". 9ème Symposium Association AVH, Reims, (2002).
30. Malovikova, A., Rinaudo, M. and Milas, M., "On the characterization of polygalacturonate salts in dilute solution", *Carbohydrate Polymers*, V.22, (1993), 87-92.
31. Ousalem, M., Busnel, J.P., Nicolai, T., "A static and dynamic light scattering study of sharp pectin fractions in aqueous solution", *International Journal of Biological Macromolecules*, V. 15, n° 4, (1993), 209-213.
32. Kar, F., Arslan, N., "Effect of temperature and concentration on viscosity of orange peel pectin solutions and intrinsic viscosity – molecular weight relationship", *Carbohydrate Polymers*, V.40, (1999), 277-284.

33. Thakur, B.R., Singh, R.K. and Handa, A.K., "Chemistry and uses of pectin—a review", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, V.37, n°1, (February 1997), 47-73.
34. Donato, L., "Gélification et séparation de phase dans les mélanges protéines globulaires/pectines faiblement méthylées selon les conditions ioniques", Thèse doctorat, Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires, France, (2004).
35. Brillouet, J.M., Bosso, C. and Moutonet, M., "Isolation, purification and characterization of an arabinogalactan from a red wine", *American Journal of Enology and Viticulture*, V.41, (1990), 29-36.
36. Voragen, A., Thibault, J.F., Pilnik, W., Axelos, M.A.V., Renard, C.M.G.C., "Pectins: in Food polysaccharides and their applications", Stephen, A.M., Ed, New York, Marcel Dekker, (1995), 287-339.
37. Bulone, D., Martorana, V., Xiao, C. and San Biagio, PL., "Role of sucrose in pectin gelation: Static and dynamic light scattering experiments", *Macromolecules*, V.35, n°21, (2002), 8147-51.
38. Oakenfull, D.G., "The chemistry of high-methoxyl pectins", Walter, R.H., Ed, *The Chemistry and Technology of Pectin*, Academic Press, New York, (1991), 87-108.
39. Hoefler, A.C., "Effect of calcium concentration, degree of amidation, soluble solids, and carbohydrate type on the gel strength of low ester citrus pectin", University of Delaware, (2003).
40. Clark, A.H., Ross-Murphy, S.B., "Structural and mechanical properties of biopolymer gels", *Advances in Polymer Science*, V.83, (1987) 57-192.
41. Axelos, M.A. and Thibault, J.F., "The chemistry of low methoxyl pectin gelation. In: The chemistry and technology of pectin", Walter, R.H., Ed, Academic Press, New York, (1991), 109.
42. Morris, E.R., Rees, D.A., Thom, D. and Boyd, J., "Chiroptical and stoichiometric evidence of a specific primary dimerisation process in alginate gelation", *Carbohydrate Research*, V.66, (1978), 145-154.
43. Thibault, J.F., Renard, C. and Guillon, F., "Physical and chemical analysis of dietary fibres in sugar beet and vegetables. In: Modern methods of plant analysis vegetables and vegetable products", Jackson, J.F., Linsken, H.F., Ed, Springer Verlag Berlin, V.16, (1994), 23-55.
44. Selvendran, R.R., Stevens, B.J.H. and O'Neil, M.A., "Developements in the isolation and analysis of cell walls from edible plants. In: Biochemistry of plant cell walls", Cambridge University Press, (1985), 39-78.
45. Selvendran, R.R.; O'Neill, M.A., "Isolation and analysis of cell walls from plant material", *Methods of Biochemical Analysis*, V.32, n° 25, (1987), 153-155.
46. Zandleven, J., Beldman, G., Bosveld, M., Benen, J. and Voragen, A., "Mode of action of Xylogalacturonan hydrolase towards xylogalacturonan and xylogalacturonan oligosaccharides", *Biochemical Journal Immediate Publication*, (November 2004), 1583.
47. Thibault, J.F., Renard, C.M.G.C. and Guillon, F., "Sugar beet fiber: production, composition, physicochemical properties, physiological effects, safety, and food applications. In: Handbook of Dietary Fiber in Functional Foods development", Cho, S.S., Dreher, M., Eds, New-York: Marcel Dekker, (2001), 553-582.

48. Joye, D.D. and Luzio, G.A., "Process for selective extraction of pectins from plant material by different pH", *Carbohydrate Polymers*, V.43, (2000), 337-342.
49. Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, F., "Colorimetric method for determination of sugars and related substances", *Analytical Chemistry*, V.28, (1956), 350-356.
50. Montreuil, J., Spik, G., Chosson, A., Segard, E. and Scheppler, N., "Methods of study of the structure of glycoproteins", *Journal de Pharmacie de Belgique*, V.18, (1963), 529-546.
51. Lever, M., "New reaction for colorimetric determination of carbohydrates", *Analytical Chemistry*, V.47, n° 1, (1972), 273-279.
52. Kacurakova, M., Capek, P., Sasinkova, V., Wellner, N. and Ebringerova, A., "FT-IR study of plant cell wall model compounds: pectic polysaccharides and hemicelluloses", *Carbohydrates Polymers*, V.43, (2000), 195-203.
53. Strecker, G., "Analyse structurale des chaînes glycaniques", *Biofutur*, V.125, (1993), 46-52.
54. Strecker, G., "NMR, In: Methods on glycoconjugates", Verbert, A., Ed, Harwood Academic Publishers, (1995), 137-145.
55. Yamada, H., "Contribution of pectins on health care. In: Pectins and Pectinases", Visser, J. and Voragen, A. G. J., Eds, Elsevier Science B.V, (1996), 173.
56. Bezzaoucha, F., "Nouveaux polyamphiphiles cationiques: synthèse et étude de leurs organisation en milieu aqueux et aux interfaces en relation avec leur structure", Thèse doctorat, Univ. Nancy, INPL, (2008).
57. Anders, C., Gärtner, R., Steinert, V., Voit, B. and Zschoche, S., "Surface modification with hydrogels via macroinitiators for enhanced friction properties of biomaterials", *Journal of Macromolecular Science: Pure and Applied Chemistry*, V.36, (1999), 1017-1029.
58. Akelah, A. and Moet, A., "Functionalized Polymers and Their Application", Chapman and Hall, First edition, London, (1990).
59. Mercier, J.P. and Ernest, M., "Chimie des polymères, synthèse, réaction, dégradation", Presse Polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, Première édition, (1993), 357- 65.
60. Lazard, M., Bleka, T., Rychly, J., "Chemical Reaction of Naturel and Synthetic Polymers", Ellis. Horwood Series in Polymer Science and technology, Wiley New York, (1989).
61. Larpant. C., "Tensioactifs", *Traité constantes physico-chimiques, Techniques de l'Ingénieur*, Ed, V. K342, (Juin 1995).
62. Rosen, M., "Surfactants and Interfacial Phenomena", Hoboken: John Wiley & Sons, Inc., 3rd Ed., (2004).
63. Allam, A., "Nouveaux ligands uronamides dérivés de l'acide D-galacturonique : synthèse, propriétés physicochimiques et étude de complexation avec les ions cuivre (II)", Thèse doctorat, Univ. Reims Champagne-Ardenne, (1992).
64. Orecchioni, A., Puisieux, F. and Seiller, M., "Galenica 5 ; agents de surface et émulsion. Les systèmes dispersés", *Technique et Documentation Lavoisier*, (1983), 153.
65. Holmberg, K., "Natural surfactants", *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, V.6, n° 2, (2001), 148-159.

66. Delaunay, S., Muniglia, L., Brosse, N. and Brochot, C., "Fonctionnalisation des molécules pour des applications biologiques", INPL. Univ. Henri Poincaré – Nancy, CNRS, FR 2863.
67. Zhang, L.M., "New water-soluble cellulosic: a review", *Macromolar Materials and Engineering*, V.286, (2001), 267-275.
68. Partain, E.M., Brode, G.L. and Hoy, R.C., "Preparation and uses of polysaccharides having alkyl aryl hydrophobic substitution", European Patent Application, (1990).
69. Wollenweber, C., Makievski, A.V., Miller, R. and Daniels, R., "Adsorption of hydroxypropylmethylcellulose at the liquid/liquid interface and the effect on emulsion stability", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, V.172, (2000), 91-101.
70. Sun, W., Sun, D., Wei, Y., Liu, S. and Zhang, S., "Oil-in-water emulsions stabilised by hydrophobically modified hydroxyethylcellulose : Adsorption and thickening effect", *Journal of Colloid and Interface Science*, V.311, (2007), 228-236.
71. Qiao, L., Gu, Q.M. and Cheng, H.N., "Enzyme-catalyzed synthesis of hydrophobically modified starch", *Carbohydrate Polymers*, V.66, (April 2006), 135-140.
72. Bien, F., Wiege, B. and Warwel, S., "Hydrophobic modification of starch by alkali-catalyzed addition of 1,2-epoxyalkanes", *Starch/Stärke*, V.53, n° 11, (November 2001), 555-559.
73. Narayan, R., Bloembergen, S.T. and Lathia, A., "Biodegradable modified starch moldable products and films and their manufacture", (1995), WO 9504083.
74. Wesslen, K.B. and Wesslen, B., "Synthesis of amphiphilic amylose and starch derivatives", *Carbohydrate Polymers*, V.47, (2002), 303-311.
75. Jeon, Y.S., Viswanathan, A., Lowell, M. and Gross, R.A., "Studies of Starch esterification: Reaction with alkenylsuccinates in aqueous slurry systems", *Starch/Stärke*, V.51, (1999), 90-93.
76. Wang, J., Su, L. and Wang, S., "Physicochemical properties of octenylsuccinic anhydride modified potato starch with different degrees of substitution", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, V.90, (2010), 424-429.
77. Shogren, R. and Biresawb, G., "Surface properties of water soluble maltodextrin, starch acetates and starch acetates/alkenylsuccinates", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, V.298, (2007), 170-176.
78. Bruneel, D. and Schacht, E., "Chemical modification of pullulan 1: Periodate oxidation", *Polymer*, V.34, n° 12, (1993), 2628-2632.
79. Bruneel, D. and Schacht, E., "Chemical modification of pullulan 2: Chloroformate activation", *Polymer*, V.34, n° 12, (1993), 2633-2638.
80. Bruneel, D. and Schacht, E., "Chemical modification of Pullulan 3: Succinylation", *Polymer*, V.35, n° 12, (1994), 2656-2661.
81. Nogusa, H.T., Yano, T., Kashima, N., Yamamoto, K., Okuno, S. and Haman, H., "Structure activity relationships of carbomethylpullulan-peptide-doxorubicin conjugates-systematic modification of peptide spacers", *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, V.10, n° 3, (2000), 227-230.

82. Sunamoto, J., Sato, T., Taguchi, T. and Hamazakit, H., "Naturally Occurring Polysaccharide Derivatives Which Behave as an Artificial Cell Wall on an Artificial Cell Liposome", *Macromolecules*, V.25, (1993), 5665-5670.
83. Demé, B., Rosilio, V. and Baszkin, A., "Polysaccharides at interfaces 2. Surface potential of adsorbed cholesteryl-pullulan monolayers at the solution-air interface", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, V.4, (1995), 367-373.
84. Lu, M., Johansson, G., Albertsson, P. and Tjernel, F., "Partitioning of proteins in dextran /hydrophobically modified dextran aqueous two-phase systems", *Bioseparation*, V.5, (1995), 351-358.
85. Hidetoshi, T., Kimitoshi, Y., Kenji, M. and Kazuhisa, E., "Bile acid - adsorbable polymer sterol derivatives", *Japan Kokai Tokkyo Koho Patent*, (1998), 1-6.
86. Pappas, C.S., Malovikova, A., Hromadkova, Z., Tarantilis, P.A., Ebringerova. A. and Polissiou, M.G., "Determination of the degree of esterification of pectinates with decyl and benzyl ester groups by diffuse reflectance infrared Fourier transform spectroscopy (DRIFTS) and curve-fitting deconvolution method", *Carbohydrate Polymers*, V.56, (2004), 465-469.
87. Morris, G. A., Hromadkova, Z., Ebringerova, A., Malovikova, A., Alfoldi, J., and 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*, V.48, (2002), 351–359.
88. Sinitsya, A., Copikova, J., Prutyaynov, V., Skoblya, S. and Machovic, V., "Amidation of highly methoxylated citrus pectin with primary amines", *Carbohydrate Polymers*, V.42, (2000), 359–368.
89. Yalpani, M. and Hall, L.D., "Some chemical and analytical aspects of polysaccharide modifications. I. Nitroxide spin-labelling studies of alginic acid, cellulose, and xanthan gum", *Canadian Journal of Chemistry*, V.59, (1981), 3105-3119.
90. Draget, K.I., Skjak-Brek. G. and Smidsrod, O., "Alginate based new materials", *International Journal of Biological Macromolecules*, V.21, (1997), 47-55.
91. Klavons, J.A and Bennett, R.D., "Preparation of alkyl esters of pectin and pectic acid". *Journal of Food Science*, V.60, (1995), 513-515.
92. Mullner, S., Wiesner, M. and AHLERS, M., "Pectin derivatives as adsorbents for removal of bile acids". DE patent No. 41 36 322 A1, (May 1993).
93. Crescenzi, V. and Callegaro, L., "Esters of pectic and pectinic acids, their manufacture and uses". WO 9314129. *Chemical Abstracts*, V.120, (1993), 301518.
94. Damian, F., Van den Mooter, G., Samyn, C. and Kinget, R., "In vitro biodegradation study of acetyl and methyl inulins by bifidobacteria and inulinase", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, V.47, (1999), 275–282.
95. Snytytsya, A., Copikova, J., Marounek, M., Mlcochova, P., Sihelnikova, L., Skoblya, S., Havlatova, H., Matejka, P., Maryska, M., and Machovic, V. "N-octadecylpectinamide, a hydrophobic sorbent based on modification of highly methoxylated citrus pectin", *Carbohydrate Polymers*, V.56, (2004), 169-179.

96. Sinitsya, A., Copikova, J., Prutyaynov, V., Skoblya, S., and Machovic, V., "Amidation of highly methoxylated citrus pectin with primary amines", *Carbohydrate Polymers*, V.42, (2000), 359-368.
97. Miralles-Houzelle, M.C., Hubert, P. and Dellacherie, E., "Hydrophobic alkyl chains-pectin conjugates. Comparative study of some physicochemical properties in relation to covalent coupling vs ionic association", *Langmuir*, V.17, (2001), 1384-1391.
98. Sihelnikova, L., Synytsya, A., "Amino-Dealkoxylation of HM Citruc Pectin with *n*-Alkylamines: A Kinetic Study", *Czech Journal of Food Sciences*, V. 22, (2004), 235-237.
99. Šimkovic, I., Synytsya, A., Uhliarikova, I., Copikova, J., "Amidated pectin derivatives with *n*-propyl-, 3-aminopropyl-, 3-propanolol, 7-aminoheptyl-substituents", *Carbohydrate Polymers*, V.76, (2009), 602–606.
100. Kosaric, N., "Biosurfactants in industry", *Pure and Applied Chemistry*, V.64, n° 11, (1992), 1731-1737.
101. <http://www.aprifel.com/fiches,produits,Citron> (Octobre 2011).
102. <http://fr.wikipedia.org/wiki/Citrange>, « citrange » article de wikipedia, l'encyclopedie libre (2008).
103. <http://www.isolotto-pepiniere-agrumes-citrus-corse>, (2001).
104. [http://www.aprifel.com/fiches,produits,Betterave rouge](http://www.aprifel.com/fiches,produits,Betterave%20rouge) (Octobre 2001).
105. Koubala, B.B., Kansci, G., Mbome, L.I., Crepeau, M.J., Thibault, J.F. and Ralet, M.C., "Effect of extraction conditions on some physicochemical characteristics of pectins from "Améliorée" and "Mango" mango peels", *Food Hydrocolloids*, V.22, (2008), 1345-1351.
106. Taboada, E., Fisher, P., Jara, R., Zuniga, E., Gidekel, M., Cabrera, J.C., Pereira, E., Gutierrez - Moraga, A., Villalonga, R. and Cabrera, G., "Isolation and characterisation of pectic substances from murta (*Ugni Molinae Turcz*) fruits", *Food Chemistry*, V.123, (2010) 669-678.
107. Seggiani, M., "Effect of different extraction and precipitation methods on yields and quality of pectine", *International Journal of Food and Technology*, V.44, (2009), 574-580.
108. Mesbahi, G., Jamalian, J. and Farahnaky, A., "A comparative study on functional properties of beet and citrus pectins in food systems", *Journal of Food Hydrocolloids*, V.19, (2005), 731-738.
109. Buchholt, H.C., Christensen, T.M.I.E., Fallesen, B., Ralet, M.C. and Thibault, J.F., "Preparation and properties of enzymatically and chemically modified sugar beet pectins", *Carbohydrate Polymers*, V.58, (2004), 149-161.
110. Vania, U.O., Rascón-Chu, A., Lizardi-Mendoza, J., Carvajal-Millán, E., Gardea, A.A. and Ramírez-Wong, B., "A Novel Pectin Material: Extraction, Characterization and Gelling Properties", *International Journal of Molecular Sciences*, V.11, (2010), 3686-3695.
111. Prabasari, I., Filomena, P., Liao, M.L. and Bacic, A., "Pectic polysaccharides from mature orange (*Citrus sinensis*) fruit albedo cell walls: Sequential extraction and chemical characterization", *Carbohydrate Polymers*, V.84, (2011), 484–494.
112. <http://fr.wikipedia.org/wiki/Minitab>: Juin 2011.

113. USP 26 NF 21. "The United States Pharmacopoeia – The National Formulary", Rockville, MD: United States Pharmacopoeial Convention, (2003), 1401-1402.
114. Pharmacopée européenne, Elaborée par la Direction Européenne de la Qualité du Médicament & des Soins de Santé, 3ième édition, (1997).
115. AOAC, "Official methods analysis, Association of Official Analytical Chemists", 14th ed., Washington DC, (1984).
116. Kim, D.H., Kim, D.G., Lee, D.Y., Kim, K.E. and Kim, C.W., "Physicochemical Characterization of Pectin Extracted From Cheju Mandarin (*Citrus unshiu*) Peels with Citric Acid ", *Journal of Food Science Biotechnology*, V. 9, n° 2, (2000), 95-98.
117. Kar, F. and Arslan, N., "Characterization of orange peel and effect of sugars, L- ascorbic acid, ammonium persulfate, salts on viscosity of orange peel pectin solutions", *Carbohydrate Polymers*, V.40, (1999), 285-291.
118. Prud'homme, J. and Prid'homme, R., "Synthèse et caractérisation des macromolécules", Editeur presse de l'université de Montréal, (1981).
119. Kjoniksen, A.L., Hiorth, M. and Nystrom, B., "temperature-induced association and gelation of aqueous solutions of pectin. A dynamic light scattering study", *European polymer journal*, (2004), 2427-2435.
120. Hiorth, M., Tho, I. and Sande, S.A., "The formation and permeability of drugs across free pectin and chitosan films prepared by a spraying method", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, V.56, (2003), 175-182.
121. Blumenkrantz N. and Asboe-Hansen G., "New method for quantitative determination of uronic acids", *Analytical Biochemistry*, V.54, (1973), 484-489.
122. Harche, M., Tollier, M.T., Monties, B. and Catesson, A.M., "Caractérisation comparée des constituants (polyosides, lignines et acides phénoliques) des parois cellulaires de trois Graminées subdésertiques pérennes : *Stipa tenacissima* L., *Lygeum spartum* L. et *Aristida pungens* L. Cellulose", *Chemistry and Technology*, V.25, (1991), 11-17.
123. Synytsya, A., Copikova, J., Marounek, M. and Havlicek, J., "Preparation of *N*-alkylamides of Highly Methylated (HM) Citrus Pectin", *Czech Journal of Food Sciences*, V.21, n°5, 162–166.
124. 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.
125. Mata, Y.N., Blázquez, M.L., Ballester, A., González, F. and Muñoz, J.A., "Studies on sorption, desorption, regeneration and reuse of sugar-beet pectin gels for heavy metal removal", *Journal of Hazardous Materials*, V. 178, (2010), 243-248.
126. Kurita, O., Fujiwara, T., Yamazaki, E., "Characterization of the pectin extracted from citrus peel in the presence of citric acid, *Carbohydrate Polymers*", V.74, (2008), 725-730.
127. Pappas, C.S., Tarantilis, P.A. and Polissiou, M.G. "Isolation and spectroscopic study of Pectic Substances from Kenaf (*HIBISCUS CANNABINUS* L.)", *Natural Product Research*, V.17, n° 3, (2004), 171-176.

128. Singthong, J., Cuib, S.W., Ningsanonda, S. and Goff, H.D., "Structural characterization, degree of esterification and some gelling properties of Krueo Ma Noy (*Cissampelos pareira*) pectin", *Carbohydrate Polymers*, V.58, (2004), 391-400.
129. Miyamoto, A. and Chang, K.C., "Extraction and physicochemical characterization of pectin sunflower head residues", *Journal of Food Science*, V.57, n°6, (November 1992), 1439-1443.
130. Leroux, J., Langendorff, V., Schick, G., Vaishnav, V. and Mazoyer, J., "Emulsion stabilizing properties of pectin", *Food Hydrocolloids*, V.17, (2003), 455-462.
131. Thibault, J.F. and Rombouts, F.M., "Effects of some oxidising agents, especially ammonium peroxydisulfate, on sugar-beet pectins", *Carbohydrate Research*, V.154, (1986), 205-215.
132. Nipaporn, S., Sagis, L.M.C., Vries, R., Schols, H.A., Sajjaanantakul, T. and Voragen, A.G.J., "Physicochemical properties of pectins from okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench)", *Food Hydrocolloids*, V.24, (2010), 35-41.
133. Juan, Z., Wang, Z.W., Yuc, W.J. and Wu, J.H., "Pectins from *Canna edulis* Ker residue and their physicochemical characterization", *Carbohydrate Polymers*, V.83, (2011), 210-216.
134. Levinge, S., Ralet, M.C., Thibault, J.F., "Characterization of pectins extracted from fresh sugar beet under different conditions using an experimental design", *Carbohydrate Polymer*, V.150, (2002), 145-153.
135. Emaga, T.H., Ronkart, S.N., Rabert, C., Wathelet, B. and Paquot, M., "Caractérisation of pectins extracted from banana peels (*Musa AAA*) under different conditions using an experimental design", *Food Chemistry*, V.108, (2008), 643-671.
136. Zhongdong, L., Guohua, W., Yunchang, G. and Kennedy, J.F., "Image study of pectin extraction from orange skin assisted by microwave", *Carbohydrate Polymer*, V.64, (January 2006), 548-552.
137. Zhiwei, L., Nan, W., and Mengyu, Z., "The application of microwave assisted extraction technique in food chemistry", *Journal of Wuhan Polytechnic University*, V.2, (2002), 18-21.
138. Fishman, M.L., Chau, H.K., Hoagland, P. and Ayyad, K., "Characterisation of pectin, flash-extracted from orange albedo by microwave heating, under pressure", *Carbohydrate Research*, V.323, (2000), 126-138.
139. Lagunez, R., "Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffée par induction thermomagnétique directe", Thèse Doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse, (2006).
140. Rotureau, E., Chassenieux, C., and "Neutral polymeric surfactants derived from dextrans: a study of their aqueous solution behaviour", *Macromolecular Chemistry and Physics*, V.206, n° 20, (2005), 2038-2046.
141. Rouzes, C., Durand, A., Leonard, M. and Dellacherie, E., "Surface activity and emulsification properties of hydrophobically modified dextrans", *Journal of Colloid and Interface Science*, V.253, (2002), 217-223.
142. Jorgensen, H. E. and Strauss, U.P., "The surface activity of polyshoaps", *Journal of physical chemistry*, V.65, (1961), 1873-7.

143. Desbrieres, J., Bousquet, C., and Babak, V.G., "Propriétés interfaciales de systèmes amphiphiles ioniques à base de polysaccharides", *Revue Roumaine de Chimie*, V.52, n° 4, (2007), 423-430.
144. Kogej, A. and Pavko, A., "Laboratory experiments of lead biosorption by self-immobilized *Rhizopus nigricans* pellets in the batch stirred tank reactor and the packed bed column", *Lead Biosorption, Chemical and Biochemical Engineering*, V.15, n° 2, (2001), 75-79.
145. Jacques, R.A, Lima, E.C., Dias, S.L.P., Mazzocato, A.C. and Pavan, F.A., "Yellow passion-fruit shell as biosorbent to remove Cr(III) and Pb(II) from aqueous solution", *Separation and Purification Technology*, V.57, (2007), 193-198.
146. Wai, W.W., AlKarkhi, A.F.M. and Easa, A.M., "Comparing biosorbent ability of modified citrus and durian rind pectin", *Carbohydrate Polymers*, V.79, (2010), 584-589.
147. Khotimchenko, M., Kovalev, V. and Khotimchenko, Y., "Equilibrium studies of sorption of lead (II) ions by different pectin compounds", *Journal of Hazardous Materials*, V.149, n° 3, (2007), 693-699.