

N° d'ordre :

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE & POPULAIRE

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR & DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE DJILLALI LIABES
FACULTE DES SCIENCES EXACTES
SIDI BEL ABBES



THESE

DE DOCTORAT EN SCIENCES

Présentée par

BAKOURI HICHEM

Spécialité : Chimie

Option : Chimie des Polymères Biodégradables et Environnement

Intitulée

Modification et étude de propriétés physico-chimiques de l'amidon en présence du liquide ionique [Bmim]Cl en vue de leurs applications biomédicales

Soutenue le 09/06/2021

Devant le jury composé de :

Président :	MERINE	Houaria	Professeur	UDL/SBA
Examineurs :	BOUSALEM	Smain	Professeur	Université Ain Témouchent
	BENYOUCEF	Abd Alghani	Professeur	Université de Mascara
	HARRANE	Amine	Professeur	Université de Mostaganem
	EL BAHRI	Zineb	Professeur	UDL/SBA
Directeur :	GUEMRA	Kaddour	Professeur	UDL/SBA

Année universitaire 2020-2021

Avant-propos

Ce mémoire rentre dans le cadre de l'obtention du diplôme de Doctorat de Sciences Exactes Sidi Bel-Abbès, en Chimie des Polymères Biodégradables et Environnement. Il étudiera les propriétés physico-chimiques et de la biodégradabilité de l'amidon modifié en présence du liquide ionique Cl[BMIM] en vue de son application biomédicale. L'idée de ce mémoire de recherche est venue du constat que certains polyméristes ont remplacé leurs solvants organiques volatils par des liquides Ioniques (LIs), largement reconnus comme des « solvants verts » pour le traitement des polysaccharides.

En effet, au cours des dernières années, il a été démontré de plus en plus que les LIs servent d'excellents milieux pour la dissolution, la plastification et la dérivatisation de l'amidon. Cela permet la synthèse d'amidons chimiquement modifiés avec un degré élevé de substitution (DS) et le développement de divers matériaux à base d'amidon tels que l'amidon thermoplastique, les films composites, les électrolytes polymères solides, les nanoparticules et les supports de médicaments.

Cette étude met en évidence, les rôles des LIs dans la dissolution et la modification de l'amidon. Ainsi, les produits obtenus sont caractérisés et proposés pour la préparation d'excipients en comprimés à des fins pharmaceutiques, et des films intelligents pour l'emballage alimentaire.

Des difficultés n'ont pas manqué. Elles concernent particulièrement la disponibilité des réactifs et les moyens de caractérisation. Elles concernent également la disponibilité du LI en grande quantité et les analyses par spectroscopie. Cette dernière situation nous a obligé à nous contenter des entretiens informels que nous avons pu avoir avec quelques spécialistes ici en Algérie et dans l'étranger (France, Allemagne et Turquie).

REMERCIEMENTS

L'achèvement de ce travail mené sur plusieurs années (plus de 10 ans) procure une grande satisfaction. Il est l'occasion de se remémorer les différentes embûches qu'il a fallu surmonter mais surtout les personnes qui m'ont permis d'en arriver là.

Je tiens donc, dans un premier temps à exprimer mes plus sincères remerciements à mon directeur de thèse monsieur Kaddour GUEMRA, professeur de chimie à l'université de Sidi Bel Abbès, pour m'avoir confié ce travail de recherches, ainsi que pour son aide et ses précieux conseils au cours de ces sept années de thèse. Son excellent encadrement (Magister-Doctorat) et son dévouement m'ont permis de mener ces travaux de thèse à terme malgré le retard. Je le remercie pour sa patience et son humour toujours présents.

Je souhaiterais ensuite remercier mon jury de thèse, en débutant par Monsieur Smain BOUSALEM, professeur au Centre Universitaire Belhadj Bouchaib - Ain Témouchent, Monsieur Abd Alghani BENYOUCEF, professeur à l'université de Mustapha Stambouli-Mascara, Monsieur Amine HARRANE, professeur à l'université d'Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem et Madame Zineb EL BAHRI, professeur à l'université de Djillali Liabes-Sidi Bel Abbès, qui ont eu l'amabilité d'accepter d'être examinateurs de cette thèse. Je remercie Madame Houaria MERINE, professeur à l'université de Djillali Liabes-Sidi Bel Abbès, qui m'a fait l'honneur de présider le jury, aussi je la remercie de m'avoir fait confiance et accueilli dans son équipe de recherche.

Mes remerciements spéciaux sont adressés à Monsieur Mostefa MEDJAHED, Maître-assistant en Biologie, Université de Mostaganem - Chef du Département de m'avoir accueilli au sein de leurs laboratoires et pour tous les moyens mis à ma disposition pour mener à bien ce travail.

Un grand merci au Dr Mehdi Shahidi, actuellement responsable de laboratoire pharmaceutique chez Boehringer Ingelheim (France, Paris) pour

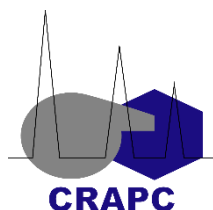
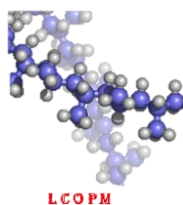
m'avoir accueilli au sein de son laboratoire. Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué au succès de mon stage et qui m'ont aidée lors de la rédaction de ce mémoire.

La partie de synthèse de travail est réalisée au laboratoire LCOPM : Laboratoire de Chimie Organique Physique et Macromolécule UDL-SBA. Je remercie profondément le professeur Abderrezzak MESLI, directeur du site, de m'y avoir accueilli.

Les études physico-chimiques sont effectuées au niveau de laboratoire Boehringer Ingelheim (Paris) et des sites suivants :

✓ Centre de Développement des Technologies Avancées CDTA (Blida), Je tiens à remercier le président Monsieur Saïd AKRETCHE.

✓ Unité de Recherche Appliquée en Sidérurgie Métallurgie URASM. Je remercie Madame Samira TLILI, directrice de division de Propriétés des Matériaux (Annaba).



Boehringer
PharmNet
Ingelheim

CDTA

*À mes parents "paix à leurs âmes",
À ma femme,
À Adam,*

Résumé

L'optimisation de la modification simple et double avec l'éthérisation et la réticulation de l'amidon a été réalisée de manière homogène dans un milieu liquide ionique, un excellent solvant pour la modification de l'amidon en utilisant de l'acide monochloroacétique de sodium et du trimétaphosphate de sodium dans différentes séquences. Les caractéristiques analysées indiquent une modification de l'amidon qui a été confirmée par la détermination d'un degré élevé d'éthérisation et la réticulation pourrait être obtenue à court terme, ce qui est apparemment dû à l'excellente capacité de dissolution et à l'effet catalytique du liquide ionique. Des différences visibles dans les propriétés des amidons natifs, à modification unique et à modification double ont été observées. La modification chimique de l'amidon en utilisant une seule méthode pourrait améliorer des propriétés fonctionnelles spécifiques, mais simultanément certaines propriétés utiles manquent également. Par conséquent, de la présente enquête, il peut être déduit que les propriétés spécifiques des amidons modifiés pour convenir à des applications spécifiques, peuvent être acquises en stratifiant deux méthodes différentes de modifications et en sélectionnant avec prudence leurs niveaux et leur séquence de modification. Enfin, les amidons modifiés ont été introduits sous forme de matrices formant des excipients pour les formes posologiques orales à libération prolongée.

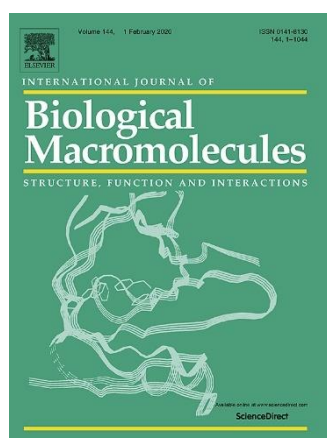
Des films biodégradables intelligents dotés de propriétés antimicrobiennes/antioxydantes et capables de surveiller les changements de pH ont été développés à partir d'un mélange amidon-alcool polyvinylique. Les polymères d'amidon hydrophile et d'alcool polyvinylique hydrophobe dans le film ont été réticulés par action du trimétaphosphate de sodium afin d'améliorer leur résistance à l'eau. Le curcuma et l'huile de cannelle ont été incorporés dans le mélange pour obtenir simultanément une indication colorimétrique, une activité antimicrobienne et antioxydante satisfaisante. Enfin, les effets de l'incorporation de ces substances actives dans le film sur leur processus de biodégradation ont été étudiés.

Mots clés : Amidon ; Modification ; Liquide ionique ; Film intelligent ; Biodégradabilité.

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

Publications internationales :

- Bakouri Hichem, Guemra Kaddour and Boukhouya Imene (2014).
Synthesis and in vitro biodegradation of poly(ethylene adipate-co-D,L-lactic acid) copolymers (PLEA)
Oriental journal of chemistry, 2014, vol. 30, no. (3): pg. 1061-1069
- Hichem Bakouri and Kaddour Guemra (2019).
Etherification and cross-linking effect on physicochemical properties of *zea mays* starch executed at different sequences in 1-butyl-3-méthylimidazolium chloride [BMIM]Cl ionic liquid media
International Journal of Biological Macromolecules, S0141-8130(18)33045-9



Communications:

- Novembre 2014 • Communication International • 4^{ème} CIC Colloque International de Chimie à Batna-Algérie.
- Décembre 2015 • Communication National • 5^{ème} SNP Séminaire National sur les Polymères à Bejaia-Algérie.
- Novembre 2017 • Communication International Séminaire International sur les Polysaccharides à Ouargla-Algérie.



لا ترفض الافكار الجيده بحجة الانجاز
فهناك أفكار تزيد الإنتاجية

Table des matières

1	Listes des abréviations.....	1
2	Listes des tableaux.....	xiii
3	Listes des figures.....	xiii
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....		1
CHAPITRE 01 : RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE.....		5
1	Le grain semi-cristalline.....	6
2	Les liaisons hydrogènes.....	8
3	Transformation hydro-thermique de l'amidon.....	9
4	Les solvants de l'amidon.....	11
5	Modification de l'amidon.....	12
5.1	Introduction.....	12
5.2	Modifications physiques.....	12
5.2.1	Rétrogradation.....	12
5.2.2	Près-Gélatinisation.....	13
5.3	Modifications chimiques.....	13
5.3.1	L'éthérisation et l'estérisation.....	14
5.3.2	La réticulation (cross-linking).....	14
5.4	Mélanges avec des polymères.....	15
6	Les liquides ioniques.....	15
6.1	Introduction.....	15
6.2	Les propriétés des liquides ioniques.....	16
6.3	Liquides ioniques comme solvants de l'amidon.....	17
CHAPITRE 02 : ÉTUDE TURBIDIMÉTRIQUE DE LA SOLUBILITÉ DE L'AMIDON DANS LE Cl[BMIM].....		18
1	Introduction.....	19
2	Description du principe de l'étude turbidimétrique.....	20
3	Solubilité maximale de l'amidon dans Cl[BMIM].....	21
4	Conclusion.....	22
CHAPITRE 03 : SYNTHÈSE, CARACTÉRISATION ET OPTIMISATION DE L'AMIDON MODIFIÉ		23
1	Introduction.....	24
2	Préparation de l'amidon éthérisé (AÉ).....	24
2.1	Le système (Amidon + Cl[BMIM]).....	24
2.2	Les réactions.....	24

2.3	Caractérisation par RMN ¹³ C.....	25
2.4	Influence des paramètres opérationnels sur la réaction (optimisation).....	27
2.4.1	Influence du rapport molaire (nCASnUG)	27
2.4.2	Influence du temps de réaction	28
2.4.3	Influence de la température de réaction.....	28
2.4.4	Effet de la concentration en NaOH.....	28
3	Préparation de l'amidon réticulé (AR)	31
3.1	La réaction	31
3.2	Caractérisation par RMN ³¹ P	32
3.2.1	Phosphore dans l'amidon natif.....	32
3.2.2	Phosphore dans l'amidon réticulé	34
4	Préparation de l'amidon double modifié (AÉR et ARÉ).....	36
4.1	La réaction	36
4.2	Caractérisation FT-IR	38
5	Conclusion.....	39
CHAPITRE 04 : EFFET DE L'ORDRE DE DOUBLE MODIFICATION SUR LES PROPRIÉTÉS DE L'AMIDON.....		40
1	Introduction	41
2	Caractéristiques morphologiques.....	42
3	Indice de solubilité dans l'eau et pouvoir gonflant.....	43
4	Analyse par diffraction des rayons X	45
5	Propriétés thermiques	45
6	Conclusion.....	48
CHAPITRE 05 : ÉVALUATION DE L'AMIDON ÉTHÉRIFIÉ COMME EXCIPIENT PHARMACEUTIQUE.....		49
1	Introduction	50
2	Caractérisation de la poudre d'amidon éthérifié.....	50
2.1	Solubilité dans l'eau froide.....	50
2.2	Analyse des propriétés de la poudre	51
3	Préparation du comprimé.....	51
4	Caractérisation des comprimés.....	52
5	Conclusion.....	56
CHAPITRE 06 : CARACTÉRISATION DES FILMS INTELLIGENTS À BASE D'AMIDON/APV ..		57
1	Introduction	58
2	Préparation du film (AN-APV)R-CUR-CAN.....	60
3	Caractérisation des propriétés des films	61

4	Indication de couleur par pH-réactivité	62
5	Propriétés antimicrobiennes des films	62
6	Application potentielle du film	64
6.1	Test de détérioration du lait pasteurisé	64
6.2	Test de stabilité de l'huile de tournesol	65
7	Comportement de la biodégradation	66
8	Conclusion	69
	CONCLUSION GÉNÉRALE	70
	PARTIE EXPÉRIMENTALE	72
1	Matières premières	73
2	Techniques physicochimiques	73
2.1	Solubilisation de l'amidon dans les LIs	73
2.2	Solubilité dans l'eau froide et pouvoir gonflant	73
2.3	Degré de substitution (DS)	74
2.4	Degré de réticulation (DR)	75
2.5	Étude turbidimétrique	76
2.6	Analyse des propriétés de la poudre	76
2.7	Évaluation des comprimés	77
2.8	Libération in-vitro du médicament	77
2.9	Indication de couleur par pH-réactivité	78
2.10	Activité antimicrobienne des films	78
2.11	Activité antioxydante des films	79
2.12	Application potentielle du film (test d'altération des aliments)	79
2.12.1	Test de détérioration du lait pasteurisé	79
2.12.2	Test de stabilité de l'huile de tournesol	79
2.13	Comportement de la biodégradation	80
3	Techniques de caractérisation	81
3.1	Diffraction rayon X (DRX)	81
3.2	Infrarouge à transformation de Fourier (FT-IR)	81
3.3	Résonance magnétique nucléaire du carbone 13 (RMN ¹³ C)	82
3.4	Spectroscopie par résonance magnétique nucléaire du phosphore 31 (RMN ³¹ P)	82
3.5	Microscopie électronique à balayage (MEB)	83
3.6	Analyse thermique (DSC)	84
	RÉFÉRENCES	86

1 Listes des tableaux

Tableau 1 : comparaison des principes de la chimie verte avec les propriétés des Lis.	19
Tableau 2 : teneur en phosphore de différentes formes moléculaires dans les amidons natifs et modifiés (m/m%) [26].	33
Tableau 3 : propriétés de la poudre d'AÉ.	51
Tableau 4 : paramètres physicochimiques des comprimés.	53
Tableau 5 : Coefficient de corrélation linéaire, R^2 et n valeurs pour la libération d'ibuprofène à partir de comprimés selon le modèle semi-empirique de Korsmeyer-Peppas.	55
Tableau 6 : les propriétés physico-chimiques des réactifs.	73

2 Listes des figures

Figure 1 : structures de l'amylopectine (à gauche) et de l'amylose (à droite) et représentation schématique du motif de ramification.	2
Figure 2 : grains d'amidon de pomme de terre.	6
Figure 3 : granule d'amidon et sa structure hiérarchique.	7
Figure 4 : grains d'amidon en lumière polarisée.	8
Figure 5 : liaisons hydrogène intra et intermoléculaires de l'amidon.	8
Figure 6 : représentation schématique de l'hélice d'amylose.	9
Figure 7 : évolution de la viscosité en fonction de la température.	9
Figure 8 : thermogramme DSC typique d'un système eau-amidon.	11
Figure 9 : classification des solvants de l'amidon.	12
Figure 10 : modifications chimiques possibles pouvant être apportées à l'amidon.	14
Figure 11 : structure du Cl[BMIM].	17
Figure 12 : photo de solution d'amidon dans le Cl[BMIM] et dans l'eau.	20
Figure 13 : principe du turbidimètre.	20
Figure 14 : aspect de la solution en fonction du UTN.	21
Figure 15 : étude turbidimétrique de la solubilité de l'amidon dans le Cl[BMIM] à 90°C.	22
Figure 16 : réaction d'éthérisation (Carboxyméthylation).	25
Figure 17 : spectres RMN ^{13}C et attributions de pics d'amidon éthérisé (AÉ).	26
Figure 18 : effet des paramètres de la réaction sur le DS et l'ER.	30
Figure 19 : réaction de réticulation.	31
Figure 20 : représentation schématique du mono-ester, diester et triester.	31
Figure 21 : spectres RMN ^{31}P du AN, AR et AÉR.	35
Figure 22 : une structure possible de l'amidon à double modification.	37
Figure 23 : spectres FT-IR d'amidon natif et modifiés.	38
Figure 24 : MEB de l'AN (a), AR (b), AÉ (c), ARÉ (d) et AÉR (e).	42
Figure 25 : effet de la température sur l'indice de solubilité dans l'eau des amidons.	44
Figure 26 : effet de la température sur l'indice de gonflement des amidons.	44
Figure 27 : DRX de l'amidon natif et modifié.	45
Figure 28 : courbe DSC obtenue pour les amidons natif.	47
Figure 29 : courbes DSC obtenues pour les amidons modifiés.	47
Figure 30 : propriétés thermiques de l'amidon natif et modifié.	47

Figure 31 : solubilité (%) d'AN et AÉ avec différentes valeurs de DS dans l'eau et HCl.	50
Figure 32 : le mélangeur à cube.....	52
Figure 33 : l'appareil manuel à comprimé à poinçon unique.	52
Figure 34 : profils de dissolution des formulations en comprimés.....	55
Figure 35 : illustration schématique du processus de préparation des films.....	60
Figure 36 : photographies montrant les propriétés de résistance à l'eau des films AN-APV après 10 min (a) et (b) (AN-APV)R après 3 mois (b).....	61
Figure 37 : photographies représentant les films (AN-APV)R-CUR (a) et (AN-APV)R-CUR-CAN (b).	61
Figure 38 : réponse colorimétrique du film (AN-APV)R-CUR-CAN.....	62
Figure 39 : photographies de bactéries cultivées en culture.	63
Figure 40 : photographies de lait pasteurisé après 48 h avec différents films.	64
Figure 41 : IP de l'huile de tournesol stockée dans des conditions d'oxydation accélérée.	65
Figure 42 : aspect macroscopique et les résultats gravimétriques de la biodégradation dans le sol des différents films.	67
Figure 43 : montage de titration en retour.	74
Figure 44 : photo du turbidimètre.....	76
Figure 45 : système de test de dureté et de friabilité.	77
Figure 46 : appareil de dissolution.....	78
Figure 47 : films en forme de sacs d'emballage d'huile de tournesol.	79
Figure 48 : essai de dégradation de l'enfouissement au sol.	80
Figure 49 : photo du diffractomètre.....	81
Figure 50 : photo du spectrophotomètre.....	82
Figure 51 : photo du spectromètre RMN ¹³ C.....	82
Figure 52 : photo du spectromètre RMN ³¹ P.....	83
Figure 53 : photo de microscopie électronique à balayage (MEB).	83
Figure 54 : photo de calorimètre à balayage différentiel.	84

3 Listes des abréviations

AÉ	Amidon Éthérifié
AÉR	Amidon Éthérifié Réticulé
AN	Amidon Natif
APG	Amidon pré-gélatinisé
APV	Alcool Polyvinylique
ARÉ	Amidon Réticulé Éthérifié
CAN	Huile de Cannèlè
CAS	Chloroacétate de Sodium
Cl[BMIM]	Chlorure de 1-butyl-3-méthylimidazolium
CRS	Carmellose Réticulé Sodique
CUR	Curcuma
DR	Degré de Réticulation
DS	Degré de Substitution
ER	Efficacité de la Réaction
GAS	Glycolate d'Amidon Sodique
HR	Humidité Relative
IC	Indice de Compressibilité
IP	Indice de Peroxyde
IPG	Indice de Pouvoir Gonflant
ISE	Indice de Solubilité dans l'Eau
LI	Liquide Ionique
MPDA	Monophosphate Di-Amidon
MPMA	Monophosphate Mono-Amidon
PE	Polyéthylène
RH	Ratio de Hausner
TMPS	Trimétaphosphate de Sodium
UG	Unités de Glucose

INTRODUCTION GÉNÉRALE

L'amidon est une molécule de polysaccharide naturelle, biodégradable, peu coûteuse et disponible en abondance. Il est largement distribué sous forme de minuscules granules comme principal hydrate de carbone de réserve dans les tiges, les racines, les grains et les fruits de toutes les formes de plantes à feuilles vertes. Les grains de céréales, comme le maïs, le blé, et les racines, comme la pomme de terre, le tapioca, etc., sont quelques-unes des sources commerciales d'amidon pour l'exploitation industrielle. Il se compose d'unités de glucose ($C_6H_{10}O_5$)_n avec n allant de 300 à 1000. L'amidon est composé d'un mélange de deux polymères appelés amylose et amylopectine (Figure 1). L'amylose est un polymère linéaire dont le poids moléculaire est inférieur à 0,5 million de daltons (degré de polymérisation de $15 \times 10^2 - 6 \times 10^3$) selon sa source botanique. Les macromolécules d'amylose sont constituées d'unités α -D-glucofuranose reliées par des liaisons α -1,4 acétal. Les molécules d'amylopectine sont beaucoup plus grandes et très ramifiées avec un poids moléculaire de 50 à 100 millions de daltons et un degré de polymérisation d'environ $3 \times 10^5 - 3 \times 10^6$. Les molécules contiennent des liaisons linéaires α -1,4 et sont ramifiées par des liaisons α -1,6 [1].

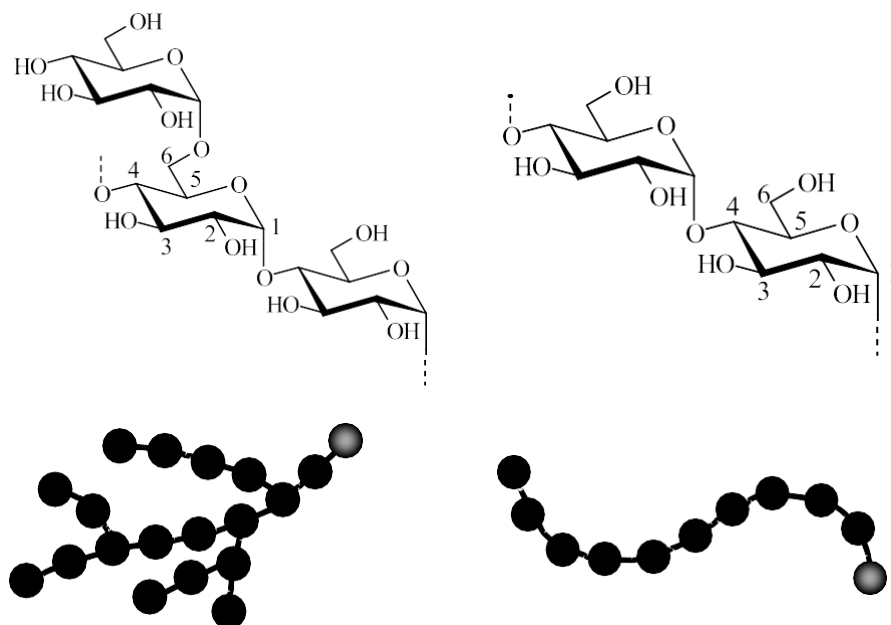


Figure 1 : structures de l'amylopectine (à gauche) et de l'amylose (à droite) et représentation schématique du motif de ramification.

En plus d'être un produit alimentaire majeur, il est actuellement utilisé industriellement comme revêtements et encollage dans le papier, les textiles, comme liant et adhésif, comme absorbant et comme encapsulant, système d'administration de médicaments et

ingénierie tissulaire. Cependant, à l'état natif, il présente des applications limitées en raison de la faible résistance aux contraintes de cisaillement et de la décomposition thermique, de la rétrogradation élevée et de la synérèse, en plus de la faible solubilité dans les solvants organiques courants [2].

Par conséquent, pour répondre aux besoins technologiques exigeants d'aujourd'hui, les propriétés de l'amidon sont modifiées par une variété de méthodes de modification. La modification de l'amidon vise à corriger une ou certaines des lacunes mentionnées ci-dessus, ce qui améliorera sa polyvalence et satisfera la demande des consommateurs.

Les techniques de modification de l'amidon sont largement classées en quatre catégories ; modifications physiques, chimiques, enzymatiques et génétiques, qui visent à produire divers nouveaux dérivés avec des propriétés physicochimiques improvisées ainsi que des attributs structurels utiles. Il existe un énorme marché pour les nombreuses nouvelles propriétés fonctionnelles et à valeur ajoutée résultant de ces modifications. Un certain nombre d'articles de synthèse sur le thème de la modification de l'amidon sont disponibles. Cependant, au cours des dernières années, divers professionnels pharmaceutiques ont fait des recherches intenses pour rechercher une méthode de modification appropriée qui puisse donner un candidat approprié à utiliser comme excipient pharmaceutique dans des systèmes d'administration de médicaments improvisés [3].

L'association des liquides ionique (LIs) constitue actuellement dans de nombreuses thématiques, une alternative viable à l'utilisation de solvants organiques qui sont dans la plupart du temps non environnementalement compatibles. Les LIs qui sont des sels fondus, constitués d'une combinaison d'un cation et d'un anion, présentent des propriétés intéressantes comme une pression de vapeur saturante négligeable, une non-inflammabilité, une bonne conductivité ionique ainsi qu'une stabilité thermique et électrochimique. Il est montré que certains d'entre eux ont la capacité de solubiliser les biopolymères comme l'amidon, la cellulose ou d'autres carbohydrates. Cela est liée à leurs aptitudes de destruction du réseau inter et intramoléculaire en formant des liaisons hydrogènes avec les groupements hydroxyles des polysaccharides [4].

L'objectif de ce travail consiste dans un premier temps à réaliser la solubilisation de l'amidon de maïs d'une part et de leur modification chimique d'autre part, en présence d'un Liquide Ionique (chlorure de 1-butyl-3-méthylimidazolium ou Cl[BMIM]). On s'est plus particulièrement attaché à étudier les interactions développées et l'effet du Cl[BMIM] sur

les différentes propriétés des matériaux préparés. Aussi, nous avons fait le choix d'une thèse en trois parties :

Dans un premier chapitre, une étude bibliographique portant sur la structure et les propriétés de l'amidon, notamment en présence du LI. Ce chapitre fait aussi l'état de l'art de la littérature concernant la modification chimique de l'amidon, puis les résultats expérimentaux seront présentés dans les autres chapitres.

Une partie sera portée sur des études originales, faiblement référencées dans la bibliographie, et qui est celle de modifier chimiquement l'amidon par éthérisation et réticulation dans le Cl[BMIM]. Elle sera divisée en cinq chapitres :

1. Le deuxième chapitre dédié à l'étude turbidimétrique de la solubilité de l'amidon dans le Cl[BMIM].
2. Dans les chapitres 3, 4 et 5. Le savoir-faire des chapitres précédents sera utilisé. L'étude des interactions du Cl[BMIM] sur l'amidon et leur influence sur les propriétés des matériaux préparés seront abordées. En outre, les amidons modifiés sont caractérisés et utilisés pour la préparation d'excipients en comprimés à des fins pharmaceutiques. Les travaux ont fait l'objet d'une publication dans le journal « International Journal of Biological Macromolecules » [5].
3. Dans le dernier chapitre (chapitre 6), le but est de caractériser des films intelligents en incorporant à la fois du curcuma (CUR) et de l'huile essentielle de cannelle (CAN) dans l'emballage des aliments et de tester leur capacité multifonctionnelle d'indication de couleur, d'activité antimicrobienne et/ou antioxydante. Les effets de l'incorporation de ces substances actives dans les films sur leur biodégradation sont étudiés.

CHAPITRE 01 : RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

1 Le grain semi-cristalline

À l'état natif, l'amylose et l'amylopectine sont associés au niveau d'entités granulaires semi cristallines appelées grains (ou granules) d'amidon (Figure 2), dont la taille (15 à 100 μm dans la pomme de terre ; 5 à 25 μm dans le maïs), la morphologie, la composition, la position du hile (point de départ de la croissance du grain) sont dépendantes de l'origine botanique [6].

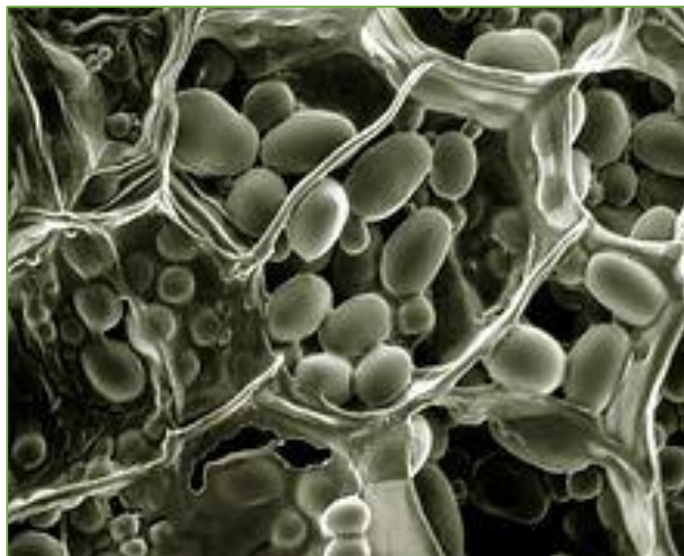


Figure 2 : grains d'amidon de pomme de terre.

À mesure que la plante synthétise son amidon, ce dernier est déposé en couches successives autour d'un hile central pour former un grain compact (Figure 3).

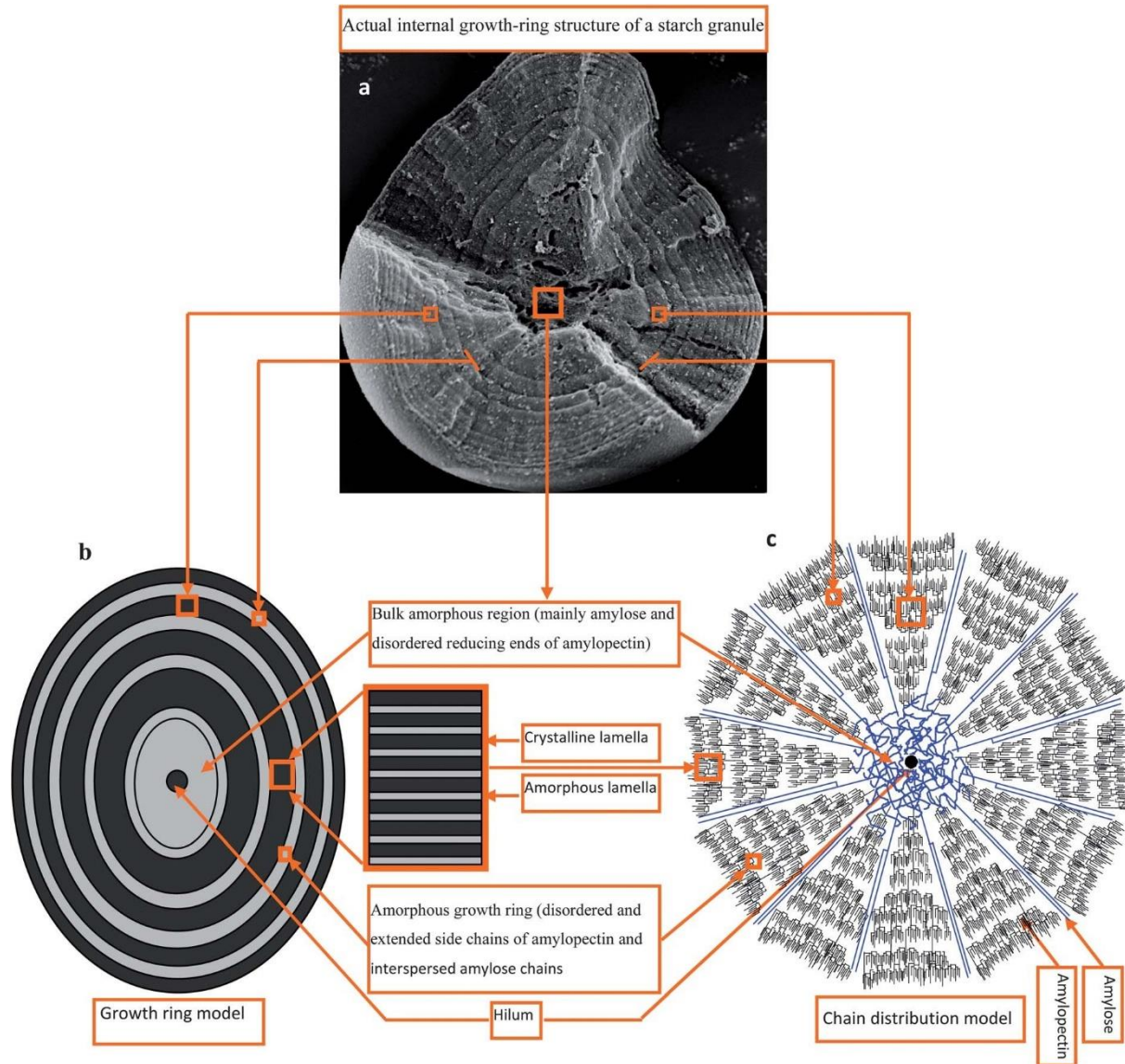


Figure 3 : granule d'amidon et sa structure hiérarchique.

Les molécules d'amylopectine possèdent une symétrie radiale dans le grain (croissance à partir du hile). Cette croissance permet de caractériser des zones concentriques amorphes et semi-cristallines. Cette architecture confère au grain d'amidon la propriété de biréfringence positive (Figure 4) caractérisée en lumière polarisée par le phénomène de croix noire (croix de Malte) [7].

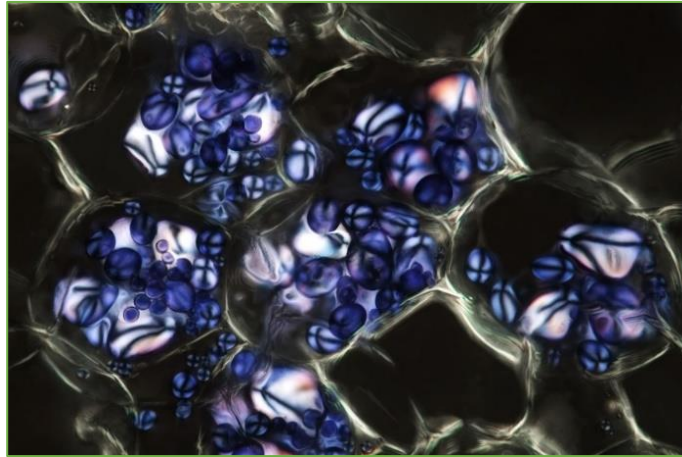


Figure 4 : grains d'amidon en lumière polarisée.

2 Les liaisons hydrogènes

Du fait de ces branchements faibles, l'amylose a tendance à former des agrégats semi-cristallins insolubles¹.

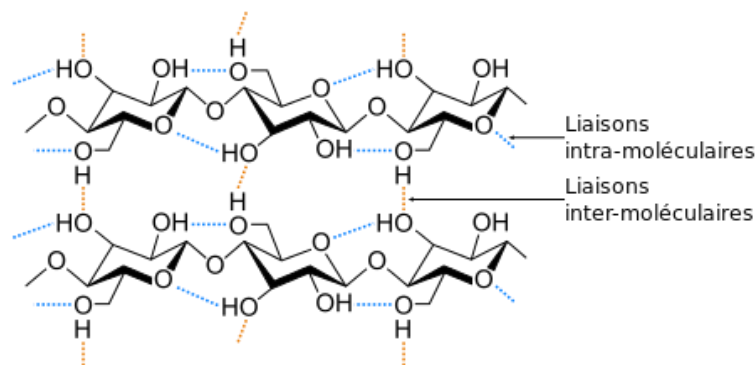


Figure 5 : liaisons hydrogène intra et intermoléculaires de l'amidon.

Les chaînes d'amyloses s'organisent suivant une conformation en hélice simple ou double autour de la liaison α -(1-4). L'hélice formée est composée de six motifs

¹ On dit d'un polymère qu'il est amorphe lorsque ses chaînes sont emmêlées n'importe comment, alors qu'un polymère dont les chaînes sont alignées en cristaux ordonnés est dit cristallin.

glycosidiques stabilisés par les liaisons hydrogènes (Figure 5 et 6) entre les groupes hydroxyles et conduisant à la formation d'une cavité hydrophobe [8].

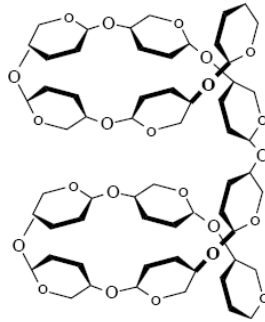


Figure 6 : représentation schématique de l'hélice d'amylose.

3 Transformation hydro-thermique de l'amidon

En présence d'eau et d'un chauffage optimal, un granule d'amidon gonfle (sorption), se gélatinise (fusion des lamelles cristallines) et enfin se solubilise. Ces différentes transitions de phases sont décrites ci-après.

Comme décrit ci-dessus, l'amidon natif peut être considéré comme un mélange de polymères linéaires et hautement ramifiés qui s'assemblent de manière à former une architecture granulaire ordonnée. Lorsqu'ils sont chauffés avec un excès d'eau, les granules d'amidon subissent une transition de phase irréversible, appelée gélatinisation.

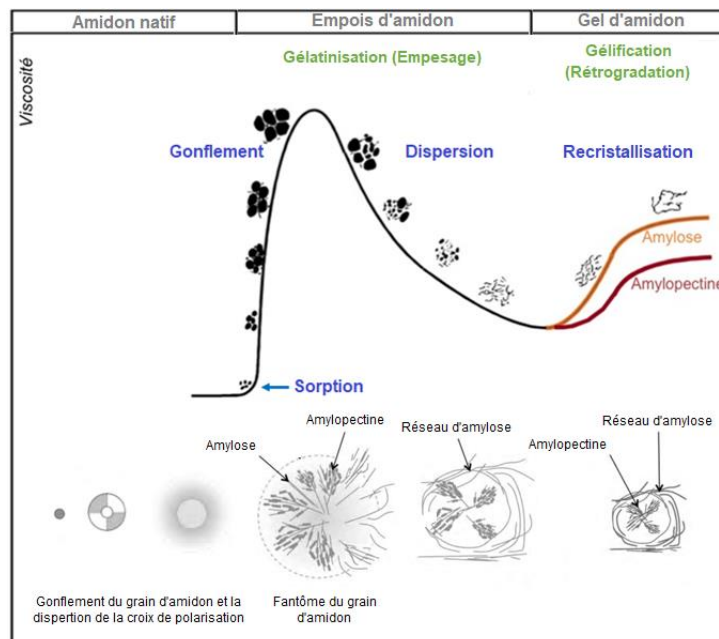


Figure 7 : évolution de la viscosité en fonction de la température.

D'après la Figure 7, on distingue cinq phases [9]:

- 1) Tout d'abord, lorsque l'amidon est agité dans de l'eau à froid ($< 20^{\circ}\text{C}$), il forme une suspension, c'est-à-dire qu'il est insoluble et, dès que l'on arrête l'agitation, il se dépose.
- 2) Par contre, lorsqu'on chauffe cette suspension d'amidon et que l'on atteint une température dite de gélatinisation (60°C), l'eau va pénétrer dans les grains d'amidon et ceux-ci vont se gonfler, ce qui se traduit par une augmentation de la viscosité. On appelle ce phénomène la sorption ou le gonflement.
- 3) En continuant à chauffer l'emploi d'amidon (de 60 à 100°C), on va atteindre un pic de viscosité puis celle-ci va diminuer. Cette diminution s'explique par la perte de la structure granulaire : les macromolécules de l'amylose sortent du grain pour se solubiliser à l'extérieur de ce dernier. Si l'on continue le chauffage, on va aboutir à une dispersion complète de toutes les macromolécules du grain.
- 4) Par la suite, lorsque l'on refroidit la solution, on observe une reprise de la viscosité. Ceci est due à une réassociation des macromolécules (essentiellement d'amylose) s'effectue en chassant les molécules d'eau autour d'elles (processus de synérèse) et créant par conséquent les propriétés visqueuses bien connu des suspensions d'amidon (gel). On appelle ce phénomène la rétrogradation ou gélification.

La gélatinisation de l'amidon est étudiée de manière approfondie au cours des cinquante dernières années, ou plus, en utilisant diverses approches, notamment l'analyse viscométrique, microscopique, la diffraction des rayons X. Par la suite, un microscope à lumière polarisée est largement utilisé pour mesurer la gélatinisation de l'amidon, sur la base de la perte de biréfringence des granules. La température à laquelle les granules d'amidon commencent à perdre de la biréfringence est définie comme la température de début de gélatinisation. De même, la température finale de la biréfringence, lorsque 98% des granules d'amidon ont perdu leur biréfringence, est appelée température de conclusion de gélatinisation.

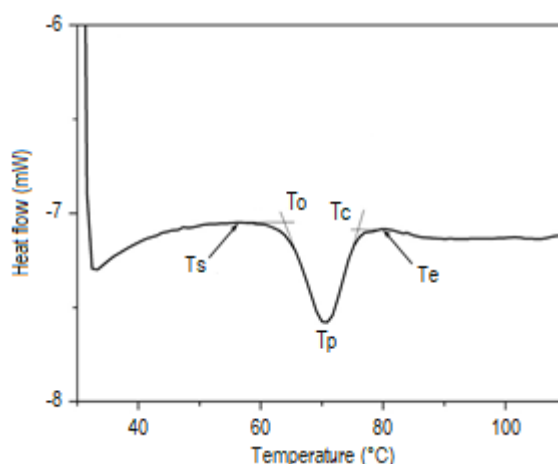


Figure 8 : thermogramme DSC typique d'un système eau-amidon.

Pour les mesures quantitatives, la DSC, qui mesure la chaleur dégagée ou absorbée par un matériau lors de transitions ou de réactions de phase, est considérée comme la technique de choix pour la détermination précise de la température de gélatinisation et de l'énergie absorbée par les systèmes amidon-eau lors de la gélatinisation. La DSC peut produire une courbe bien définie (thermogramme) qui retrace les changements d'énergie endothermique lors du traitement hydrothermal de l'amidon (Figure 8).

Les températures de transition sont [10]:

- 1) La température de démarrage (T_s), définie comme le point d'inflexion auquel le flux de chaleur endothermique commence à s'écarter d'une ligne de base plate ;
- 2) La température de début (T_o), le point d'intersection des tangentes au thermogramme en T_s et la pente descendante du flux de chaleur ;
- 3) La température de pointe (T_p), la température du flux de chaleur maximal ;
- 4) La température de conclusion (T_c), qui est le point d'intersection des tangentes à la trace sur la pente montante après T_p et une estimation de la ligne de base ;
- 5) Et la température finale (T_e), le point d'inflexion auquel le flux de chaleur endothermique cesse de s'écarter d'une ligne de base plate.

L'apport de chaleur/changement d'enthalpie (ΔH) est défini comme la surface située sous la ligne allant de la température initiale à température finale.

4 Les solvants de l'amidon

De par sa structure compacte liée à l'existence de liaisons intra et intermoléculaires, il existe peu de systèmes de solvants susceptibles de dissoudre l'amidon et ainsi pouvoir

réaliser une fonctionnalisation homogène ou hétérogène. Ces solvants sont classés en deux catégories : soit la dissolution de l'amidon se fait dans des solvants classiques conventionnels (milieu hétérogène), soit la dissolution est réalisée grâce à des solvants non conventionnels (milieu homogène). Ces différents solvants sont regroupés dans la [Figure 9](#) [11].

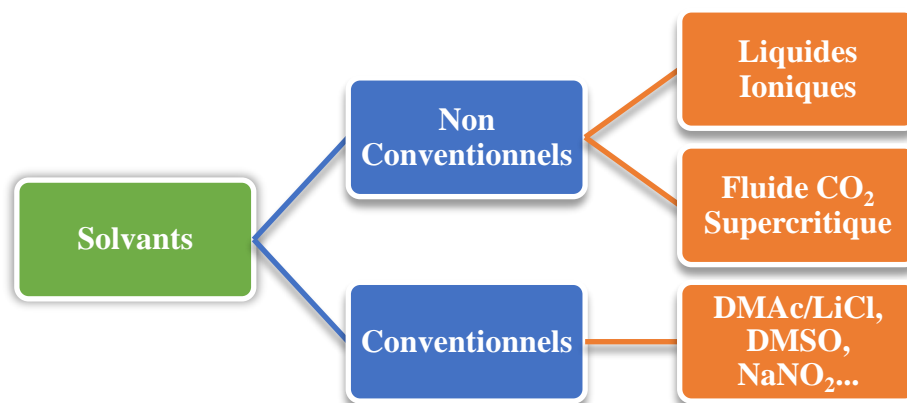


Figure 9 : classification des solvants de l'amidon.

5 Modification de l'amidon

5.1 Introduction

À l'état natif, l'amidon est insoluble dans l'eau froide et se compose de granulés dont la taille, la composition, les propriétés physicochimiques et fonctionnelles dépendent de l'origine botanique et des conditions de culture. Ces propriétés peuvent cependant changer en fonction du traitement auquel sont soumis les granulés.

5.2 Modifications physiques

La modification physique de l'amidon est principalement appliquée pour changer la structure granulaire et convertir l'amidon natif en amidon soluble dans l'eau froide ou en amidon à petite cristallite. Ces techniques sont généralement privilégiées car elles n'impliquent aucun traitement chimique pouvant être nocif pour l'homme. Un grand nombre de méthodes physiques sont disponibles aujourd'hui, notamment [12]:

5.2.1 Rétrogradation

Le processus de rétrogradation est défini comme le raccordement des chaînes d'amidon en structures cristallines ordonnées. La rétrogradation est intensifiée par l'application de congélations et décongélations répétées de la pâte d'amidon. L'amidon résultant ainsi produit est connu sous le nom d'amidon résistant qui démontre une résistance à la

digestibilité par les enzymes amylases et peut donc être une aide nutritionnelle alternative pour les patients diabétiques et une couche de polymère contrôlant la vitesse dans les systèmes d'administration de médicaments contrôlés.

5.2.2 Près-Gélatinisation

L'amidon pré-gélatinisé (APG) est obtenu par gélatinisation et séchage de la suspension d'amidon. La gélatinisation est un processus impliquant la transformation d'une suspension aqueuse d'amidon en une pâte d'amidon. L'APG se caractérise par un gonflement marqué au contact de l'eau froide ; il présente une excellente mouillabilité et une dispersion aisée dans l'eau froide. Parmi les dérivés de l'amidon, l'APG est plus couramment utilisé dans l'industrie pharmaceutique. Il est utilisé comme excipient hydrophile pour la formulation à libération prolongée sous formes posologiques solides.

5.3 Modifications chimiques

Les amidons modifiés sont étudiés comme ingrédients fonctionnels dans les applications à libération prolongée en raison de leur fonctionnalité améliorée par rapport à leurs homologues natifs. Les amidons chimiquement modifiés conservent leur nature macromoléculaire quelle que soit la modification chimique, tout en présentant un large éventail de propriétés physicochimiques. La modification chimique de l'amidon comprend une série de réactions provoquant un changement dans la structure chimique de certaines des macromolécules d'amidon des unités glycosyliques. Ils concernent les fonctions alcool primaire et secondaire des unités glycosyl (oxydation, estérification et éthérification), la liaison glycosidique et la fonction pseudo aldéhyde (hydrogénation). Dans le cas particulier des fonctions hydroxyles, les produits de la modification chimique sont caractérisés par leur degré de substitution, qui représente le nombre moyen de fonctions substituées ($0 < DS < 3$) par unité glucosidique (UG). Chaque UG contient trois groupes hydroxyle (C-2, C-3 et C-6) et la substitution est dans l'ordre C-2 > C-6 > C-3 [13].

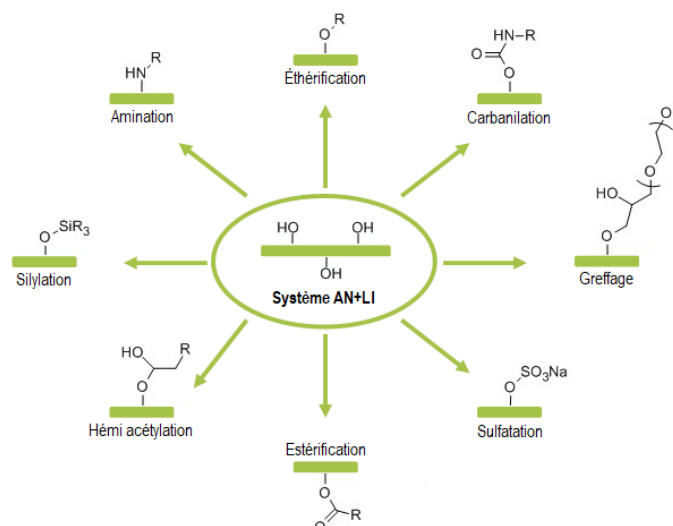


Figure 10 : modifications chimiques possibles pouvant être apportées à l'amidon.

Les propriétés chimiques et fonctionnelles obtenues lors de la modification de l'amidon par substitution chimique dépendent, entre autres, de la source d'amidon, des conditions de réaction (concentration du réactif, temps de réaction, pH et présence de catalyseur), du type de substituant, de l'étendue de la substitution (DS), et la distribution des substituants dans la molécule d'amidon. La modification est généralement obtenue par dérivatisation telle que l'éthérification, l'estérification, la réticulation et le greffage de l'amidon (Figure 10) ; décomposition (hydrolyse acide ou enzymatique et oxydation de l'amidon). Ces techniques sont cependant limitées en raison de problèmes concernant les clients et l'environnement. Ces techniques comprennent :

5.3.1 L'éthérification et l'estérification

La réaction d'éthérification de l'amidon est l'une des méthodes utilisées pour améliorer les propriétés physiques et chimiques de l'amidon. Les dérivés d'amidons éthérifiés, y compris l'amidon carboxyméthylé (sous le nom de glycolate d'amidon sodique), ont de meilleures propriétés physicochimiques par rapport à l'amidon ordinaire et sont généralement utilisés comme excipients dans la libération prolongée de médicaments. Au cours de la réaction de carboxyméthylation, les groupes hydroxyle dans les molécules d'amidon sont substitués par des groupes carboxyméthyle. Ils sont préparés par une réaction d'amidon et de chloroacétate de sodium (SCA) en présence de soude (NaOH) [14].

5.3.2 La réticulation (cross-linking)

La réticulation renforce les liaisons hydrogène dans le granulé avec des liaisons chimiques qui agissent comme un pont entre les molécules d'amidon. Lorsque du chlorure d'oxyde de phosphore (chlorure de phosphoryle, POCl_3) est ajouté à la suspension d'amidon

dans des conditions alcalines (pH 8-12), le groupe phosphore hydrophile réagit immédiatement avec les hydroxyles d'amidon, formant un phosphate de diamidon [15].

La réticulation modifie non seulement les propriétés physiques, mais aussi les caractéristiques de transition thermique de l'amidon, bien que l'effet de la réticulation dépend de la source botanique de l'amidon et de l'agent de réticulation. Une diminution du taux de rétrogradation et une augmentation de la température de gélatinisation sont observées avec l'amidon réticulé, et ces phénomènes sont liés à la mobilité réduite des chaînes amorphes dans le granule d'amidon à la suite des ponts intermoléculaires [15].

5.4 Mélanges avec des polymères

Le mélange avec les polymères s'est révélé être une méthode alternative importante et utile dans l'optique de développer de nouveaux matériaux ayant des propriétés améliorées. L'optimisation des propriétés difficile à obtenir avec un homopolymère ou un copolymère peut être obtenue grâce aux mélanges de polymères créant une synergie des propriétés des différents polymères mélangés. La plupart des polymères étant immiscibles entre eux, il est important de porter une attention particulière au développement de la morphologie au cours du procédé de mise en œuvre car c'est de celle-ci que vont dépendre les propriétés finales du matériau. D'une manière générale, deux polymères de natures chimiques différentes sont non miscibles entre eux [16].

6 Les liquides ioniques

6.1 Introduction

Les LIs appelés communément « sels fondus à température ambiante » font l'objet de nombreuses études académiques et suivent un développement industriel intense. Les LIs peuvent également intervenir comme solvants pour la synthèse organique, dans la catalyse, dans la synthèse pharmaceutique, dans les applications électrolytiques et dans le domaine de la polymérisation [17].

Contrairement aux sels fondus classiques (comme le NaCl ($T_f = 801^\circ\text{C}$)), les LIs présentent des températures de fusion inférieures à 100°C à pression atmosphérique. Les LIs sont constitués généralement d'un gros cation organique et d'un petit anion inorganique. Leurs intérêts résident dans le nombre des possibilités (quasiment infinies) de combinaison

entre un cation et un anion, et qui vont conditionner les propriétés et les applications de ces LIs [17].

Les cations les plus utilisés dans la bibliographie sont centrés sur l'azote (imidazolium, pyridinium, pyrrolidinium, ammonium) et le phosphore, avec des substituants alkyles ou avec des groupements fonctionnels comme le fluoroalkyle, ou le méthoxy. Pour les anions, c'est essentiellement des composés inorganiques comme, le chlorure (Cl^-), le fluorure (F^-) et le bromure (Br^-) [18].

6.2 Les propriétés des liquides ioniques

Les LIs présentent un certain nombre de propriétés et de caractéristiques sélectives qui justifient leur appartenance à cette famille, et font d'eux des composés de choix pour un très grand nombre d'applications.

Les caractéristiques importantes sont [19]:

- **La température de fusion** : comme mentionné précédemment, les LIs présentent des températures de fusion inférieure à 100°C .
- **La volatilité** : les LIs présentent des pressions de vapeur saturantes très faibles corrélées à des températures d'ébullition plus hautes que leurs températures de décomposition à pression atmosphérique. Néanmoins, pour une certaine famille de LIs, une distillation est possible à $200\text{-}300^\circ\text{C}$ sous une pression réduite sans décomposition.
- **L'inflammabilité** : typiquement, les LIs sont considérés comme non inflammables.
- **La stabilité chimique et thermique** : les températures de décomposition sont supérieures à 350°C .
- **La conductivité** : les LIs peuvent jouer un rôle de substituant dans les réactions électrochimiques. En effet, LIs présentent une large gamme de conductivité de 0.1 à $20 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$.
- **La densité** : la densité des LIs est située entre 1 et $1.6 \text{ g}/\text{cm}^3$, une valeur au-dessus de la valeur de l'eau et de celles des solvants organiques usuellement utilisés.

- **La viscosité** : la viscosité est un paramètre important qui conditionne les propriétés de catalyse et de diffusion des ILs. Comparativement aux solvants classiques, la viscosité des LIs est relativement importante, entre 0.04 à 1.11 Pa.s à 20-25°C.
- **La toxicité et la biodégradabilité** : la non-toxicité des LIs est induit par le fait qu'ils présentent des tensions de vapeur très faible (non volatiles).

6.3 Liquides ioniques comme solvants de l'amidon

Les LIs à base de cation imidazolium, sont capables d'être des solvants efficaces de l'amidon. Biswas et al [20] montrent que l'amidon est soluble dans le 1-butyl-3-méthylimidazolium chlorure Cl[BMIM] jusqu'à 15% à 80°C (Figure 11).

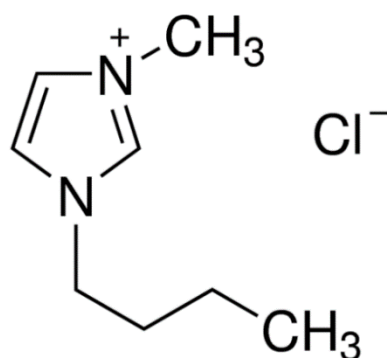


Figure 11 : structure du Cl[BMIM].

Un certain nombre de LIs contenant un anion chlorure (Cl⁻) sont capables de casser la structure cristalline du grain d'amidon et perturber les liaisons hydrogènes entre les groupes hydroxyles du polysaccharide.

CHAPITRE 02 : ÉTUDE TURBIDIMÉTRIQUE DE LA SOLUBILITÉ DE L'AMIDON DANS LE CL[BMIM]

1 Introduction

Nous avons vu dans le premier chapitre l'intérêt croissant des équipes de recherche pour l'utilisation des LIs. En effet, ceux-ci répondent parfaitement aux besoins de la chimie actuelle, la chimie « verte ». Si nous comparons les propriétés des LIs avec les principes de la chimie verte énoncés par les chimistes libyens Abdussalam-Mohammed et al [21], nous observons quelques adéquations.

Tableau 1 : comparaison des principes de la chimie verte avec les propriétés des LIs.

	Énoncé du principe	Propriété des LIs
P1	Produire moins de déchets	Les LIs sont recyclables
P3	Synthèse chimique moins nocives	Les LIs ne sont pas volatiles
P6	Amélioration du rendement énergétique	Les LIs permettent de travailler en milieu homogène et donc diminue le besoin énergétique d'une réaction
P9	Catalyse	Certains LIs ont un pouvoir catalytique
P12	Sécurité et prévention des accidents	Les LIs sont ininflammables et non volatiles

L'étude des LIs relève donc d'une nécessité pour le développement de la chimie verte (Tableau 1). Certains LIs présentent aussi la particularité d'être de bons solvants pour l'amidon (Figure 12). Ce sont principalement les LIs possédant des cations ammonium, pyridinium et imidazolium comme par exemple le chlorure de 1-butyl-3-méthylimidazolium Cl[BMIM], le chlorure de benzyl diméthyl (tétradécyl) ammonium Cl[BDTA] ou le chlorure de 1-butyl-3-méthylpyridinium Cl[BMPy]. LIs permettent alors de concevoir des chemins de synthèses en milieu homogène pour la fonctionnalisation de l'amidon [22].

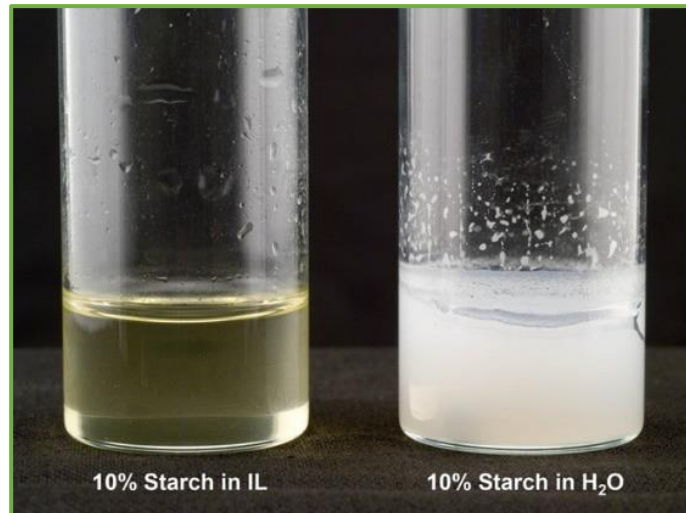


Figure 12 : photo de solution d'amidon dans le Cl[BMIM] et dans l'eau.

Les conditions hétérogènes ont aussi eu un impact négatif sur les résultats des réactions. Aussi, afin d'améliorer le greffage sur l'amidon, la réaction sera réalisée dans un milieu homogène en dissolvant l'amidon dans un LI. Les chapitres suivants traiteront de ces réactions.

2 Description du principe de l'étude turbidimétrique

La turbidité est le trouble induit par des particules en suspension dans un liquide. Elle est fonction du nombre de particules et de leur taille. Elle est mesurée grâce à un turbidimètre composé d'une source de lumière blanche (860 nm), et de deux détecteurs de lumière (un en face de la source, l'autre perpendiculaire à la source **Figure 13**).

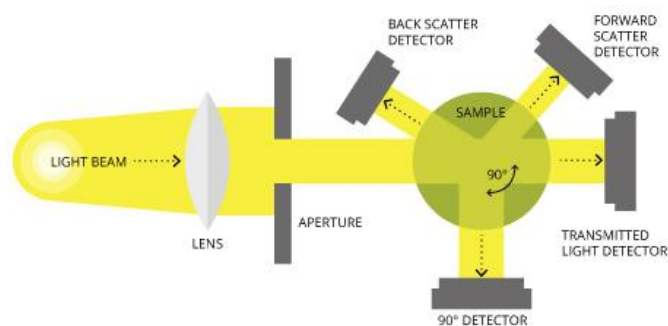


Figure 13 : principe du turbidimètre.

La corrélation entre la lumière transmise et celle déviée permet d'évaluer précisément la présence de particules en suspension (c'est-à-dire non dissoutes) dans un liquide. L'unité de mesure est appelée « Unités de Turbidité Néphélométrique » notée UTN. Le protocole utilisé est décrit dans l'annexe.

La turbidité du système doit rester faible tant que l'amidon est soluble dans le LI (Figure 14). Une fois que la solubilité maximale est atteinte, chaque ajout d'amidon doit augmenter le nombre de particules non-dissoutes dans le milieu. La turbidité donc augmenter rapidement.

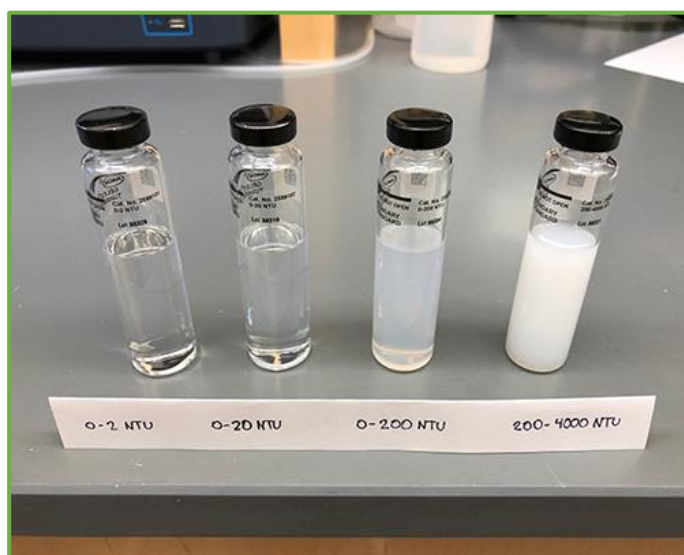


Figure 14 : aspect de la solution en fonction du UTN.

Après avoir présenté le principe d'étude turbidimétrique et sa validation, nous allons les utiliser pour déterminer la solubilité maximale de l'amidon dans Cl[BMIM].

3 Solubilité maximale de l'amidon dans Cl[BMIM]

L'étude est réalisée dans les conditions suivantes :

- Dissolution dans des flacons d'environ 15 ml,
- Température de mélange : 90°C,
- Ajout d'amidon : 10-20 mg par ajout,
- Agitation à l'aide d'un barreau aimanté,
- Mesure turbidimétrique toutes les 15 min environ.

Les résultats sont reportés dans un graphique représentant la turbidité (en UTN) en fonction de la concentration de l'amidon dans le Cl[BMIM] exprimée en grammes d'amidon pour 100 g de Cl[BMIM] (Figure 15).

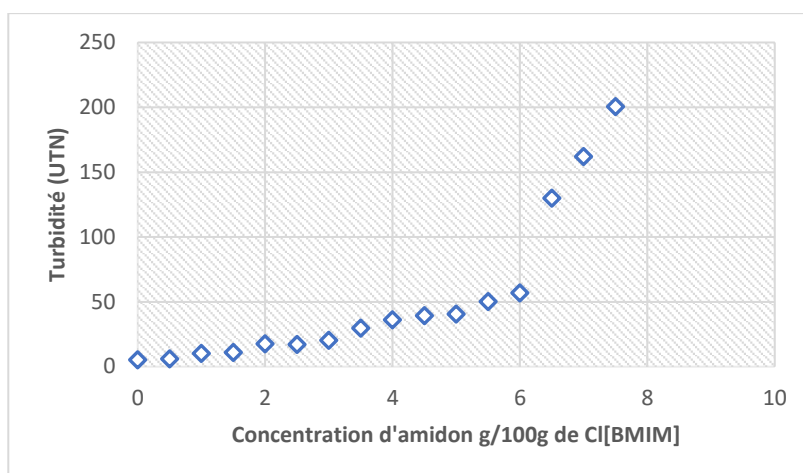


Figure 15 : étude turbidimétrique de la solubilité de l'amidon dans le Cl[BMIM] à 90°C.

La turbidité du système amidon/Cl[BMIM] augmente légèrement pour les faibles concentrations d'amidon. Elle reste néanmoins faible (la limite de détection du turbidimètre est de 1000 UTN). En revanche, la turbidité augmente fortement à partir de 6,2 g d'amidon pour 100 g de Cl[BMIM]. Ce changement de pente révèle le maximum de solubilité de l'amidon dans Cl[BMIM]. Nous pouvons donc conclure : La solubilité maximale de l'amidon dans Cl[BMIM] à 90°C est de 6,2 g d'amidon dans 100 g de Cl[BMIM].

De ce fait, lorsque nous étudierons la fonctionnalisation de l'amidon dans Cl[BMIM], nous pourrions travailler avec une concentration d'amidon maximale de 6 g pour 100 g de Cl[BMIM]. Toutefois, afin d'éviter des viscosités trop importantes, nous avons choisi de travailler avec des concentrations moyennes, à savoir 5 g d'amidon pour 100 g de Cl[BMIM].

4 Conclusion

On peut se rendre compte au cours de cette thèse sur l'amidon, que ce matériau n'est pas un polymère conventionnel mais plutôt complexe. Du fait de leur structure compacte, ce biopolymère est amené à subir des modifications physiques et/ou chimiques préalables avant utilisation. Les LIs sont des composés de plus en plus utilisés pour leurs propriétés en tant que solvants et catalyseurs, qualifiés de « verts ». Certains d'entre eux comme le Cl[BMIM] sont capables de dissoudre l'amidon en grande quantité. La solubilité de l'amidon dans Cl[BMIM] est étudiée. La méthode turbidimétrique mise au point pour cette étude a permis de confirmer les valeurs de la littérature concernant la solubilité de l'amidon dans Cl[BMIM].

CHAPITRE 03 : SYNTHÈSE, CARACTÉRISATION ET OPTIMISATION DE L'AMIDON MODIFIÉ

1 Introduction

Différents systèmes de solvants tels que l'eau, le solvant organique miscible à l'eau et le DMSO sont utilisés pour la synthèse d'amidon étherifié. Cependant, l'utilisation de ces solvants présente également certains inconvénients et limitations, tels que l'inflammabilité, la volatilité et des niveaux élevés de toxicité. Par conséquent, il est devenu important de rechercher un solvant respectueux de l'environnement et la santé humaine.

Il y a quelques années, des chercheurs ont exploré certains LIs, qui sont largement vendus comme « solvants verts », sont considérés comme des solvants respectueux de l'environnement, car LIs sont pratiquement ininflammables, non volatils, se dissolvent bien composés organiques et ont une bonne stabilité thermique et chimique [17].

Dans le présent travail, le milieu Cl[BMIM] est utilisé comme solvant de l'amidon de maïs natif (AN) pour obtenir de l'amidon modifié avec un DS et DR plus élevés que d'autres types d'amidon. Les effets de paramètres de fonctionnement tels que le rapport molaire des réactifs sur les unités de glucopyranose, le temps de réaction et la température sur le degré de modification et l'efficacité de la réaction (ER) sont étudiés.

2 Préparation de l'amidon étherifié (AÉ)

2.1 Le système (Amidon + Cl[BMIM])

Une solution d'amidon à 5% est préparée en mélangeant de l'amidon avec du Cl[BMIM] dans un ballon à trois cols avec un agitateur magnétique, et le mélange est agité brièvement à 90°C pendant 1,5 h. Pour assurer la dissolution complète des granules d'amidon sous la protection de N₂ gazeux.

2.2 Les réactions

Au système préparé, du NaOH est ajouté sous agitation pour reproduire une solution transparente homogène. Ensuite, des quantités requises de CAS sont ajoutées à 90°C et la réaction duré 180 min (Figure 16). Après, on laisse la réaction d'éthérisation se dérouler. Une fois la réaction terminée, le mélange qui est refroidi à température ambiante est précipité dans l'éthanol (95%, 100 ml) sous agitation pendant 1 h, puis centrifugé à 3000 tr/min pendant 40 min.

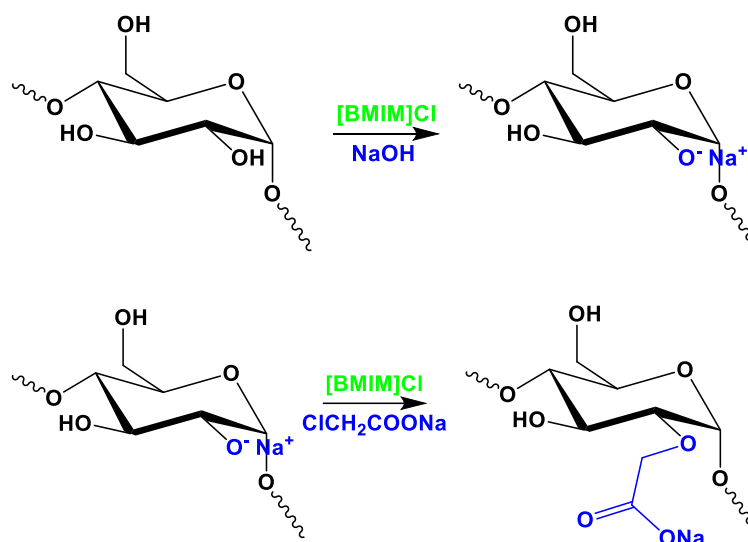


Figure 16 : réaction d'éthérisation (Carboxyméthylation).

Afin d'éliminer le LI résiduel, le solide est extrait à l'éthanol à l'aide d'un extracteur (soxhlet). L'installation est basée sur le même principe d'extraction solide-liquide.

2.3 Caractérisation par RMN ¹³C

Le spectre typique de la RMN ¹³C et les attributions de pic d'AÉ sont illustrés à la Figure 17. Le pic important à $\delta = 180$ est attribué au carbone -CO dans le groupe carboxyméthyle. Les pics à $\delta = 103$ et 99 ppm sont attribués à C-1. Ces deux pics reflètent le statut de substitution du C-2. En ce sens, deux environnements différents peuvent se produire pour C-1, selon qu'il y a ou non de substitution carboxyméthyle sur C-2. Le résultat obtenu montre que la substitution carboxyméthyle en C-2 produit un décalage vers le bas de ~ 3 ppm sur C-1. Les pics à $\delta = 74,48$ et $\delta = 75,22$ ppm sont attribués au C-2u et au C-3u respectivement tandis que les C-2s et C-3s apparaissent à $\delta = 77,73$ et $80,25$ ppm, respectivement. On peut observer que des décalages vers le bas de champ de $\sim 3-5$ ppm se sont produits sur C-2 et C-3 après carboxyméthylation. C-5 et C-6u sont attribués aux signaux à $\delta = 76,04$ ppm et $\delta = 63,44$ ppm, respectivement. La substitution carboxyméthyle produit un décalage vers le bas de ~ 8 ppm sur C-6, comme le montre la résonance à $\delta = 71,95$ ppm attribuée aux C-6s. Il est possible que l'effet inductif de l'oxygène dans le groupe carboxyméthyle entraîne des décalages de champ vers le bas après modification. Les atomes de carbone de méthylène des substituants carboxyméthyle (C-7) sont attribués avec des pics à $\delta = 72,66$ ppm, $73,42$ ppm et $74,19$ ppm. Comme prévu, trois pics apparaissent ici en raison des trois positions différentes possibles pour le substituant carboxyméthyle sur l'UG.

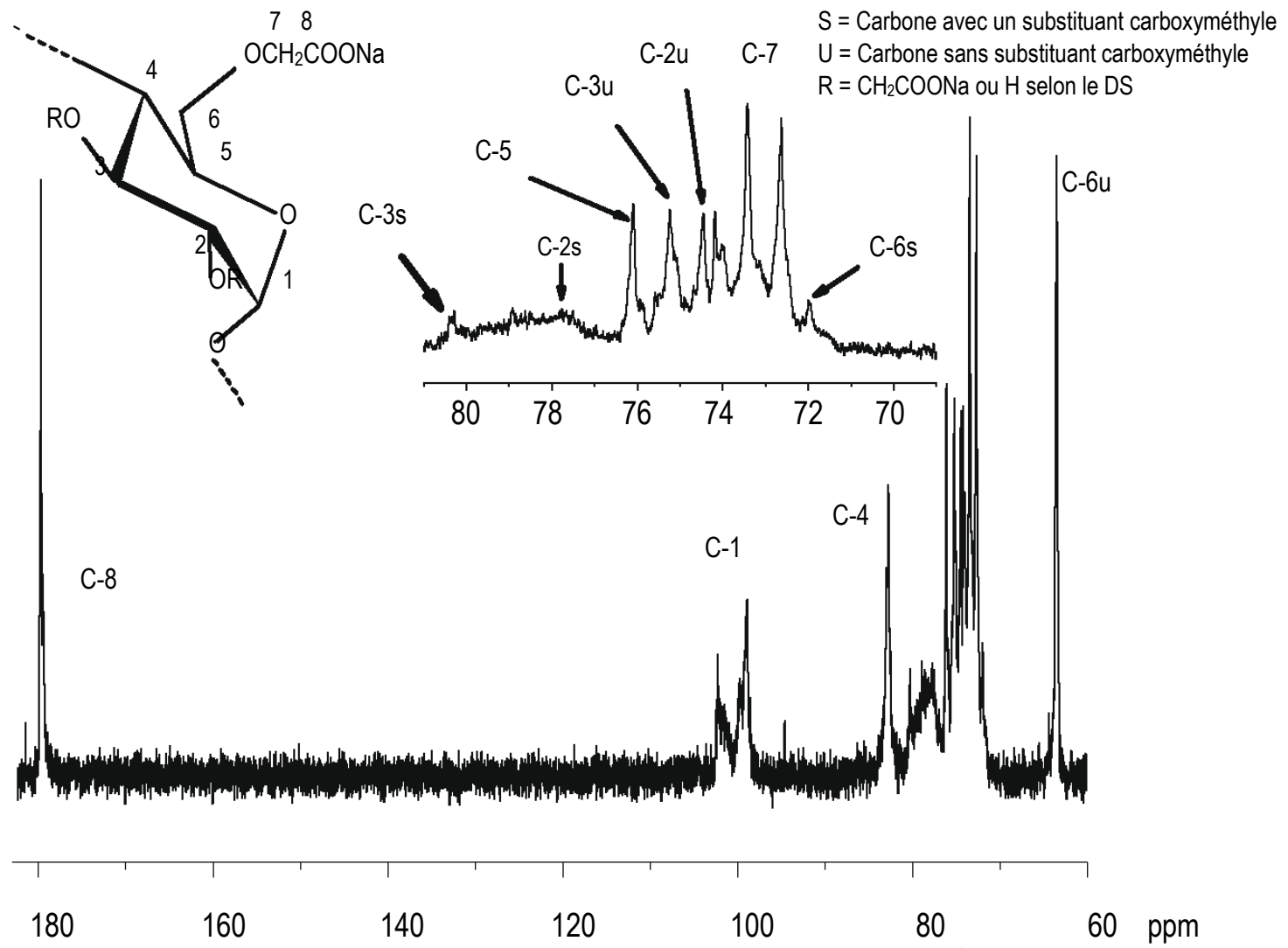
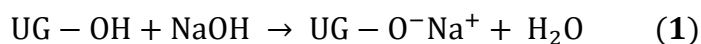


Figure 17 : spectres RMN ¹³C et attributions de pics d'amidon étherifié (AÉ).

2.4 Influence des paramètres opérationnels sur la réaction (optimisation)

Le processus d'éthérisation se déroule en deux étapes :

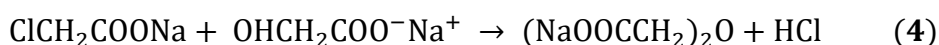
La première étape est la réaction où l'alcalinisation du groupe UG – OH au sein de la molécule d'amidon non activé et convertie en une forme alcaline plus réactive (UG – O⁻) :



Dans la deuxième étape, l'unité glucopyranose est éthérisée par des groupes carboxyméthyle (réaction (2)) :



De plus, deux réactions secondaires indésirables peuvent également se produire (réactions (3) et (4)) :



2.4.1 Influence du rapport molaire ($n_{\text{CAS}}/n_{\text{UG}}$)

L'influence des rapports molaires de CAS à AN sur les valeurs de DS et ER est présentée sur la Figure 18. La solution de NaOH utilisée dans cette étude est de 25% (p/v) et la température de la réaction est fixée à 90°C pendant 1,5 h. Le DS a augmenté avec l'augmentation du rapport CAS/UG. Cependant, l'ER a diminué avec l'augmentation de DS et $n_{\text{CAS}}/n_{\text{UG}}$. Cela est probablement dû à la réaction compétitive du CAS avec le NaOH pour former du glycolate de sodium. L'augmentation du $n_{\text{CAS}}/n_{\text{UG}}$ reflète une augmentation du rapport molaire CAS/AN ($n_{\text{CAS}}/n_{\text{UG}}$). Par conséquent, il favorise cette réaction secondaire. Lorsque le rapport ($n_{\text{CAS}}/n_{\text{UG}}$) n'est pas supérieur à (1,0/1,0), la concentration de CAS est réduite et tout ce réactif réagit avec l'AN. Par conséquent, la réaction secondaire ne se produit pas. Au-delà d'un rapport molaire CAS/UG de (1,0/1,0), le DS a diminué. En effet, l'augmentation du rapport CAS/UG consomme une certaine quantité de NaOH, tandis que, dans les conditions de réaction, la quantité de NaOH est constante et plus le CAS est, moins le NaOH peut réagir avec UG et cela conduit à un DS plus faible. La diminution de l'efficacité de la réaction (ER) avec l'augmentation de DS, peut également être le fait que CAS a du mal à réagir avec les groupes hydroxyles présents sur la chaîne d'AN en raison des effets stériques ou de la répulsion électrostatique provoquée par le carboxylique groupes déjà substitués sur le squelette AN.

2.4.2 Influence du temps de réaction

La **Figure 18** illustre l'effet du temps de réaction sur DS et ER pour une concentration de NaOH égale à 25% (p/v). La réaction est effectuée à une température de 90°C avec un $n_{\text{CAS}}/n_{\text{UG}}$ égal à 1,0. La réaction atteint un ER de 79% pour un DS optimal égal à 0,79 sur 1,5 h. Le DS augmente avec le temps de réaction. Cette augmentation est le résultat d'un meilleur temps de contact du réactif d'éthérisation (CAS) avec les macromolécules AN. Il est également raisonnable que le temps de réaction augmente l'homogénéité, renforce le gonflement des granules d'AN et améliore finalement l'effet des réactifs. Cependant, aucune augmentation supplémentaire n'a été observée dans le DS après 1,5 h de réaction. Le DS a atteint des valeurs presque constantes avec des temps de réaction plus longs. Cela pourrait être dû à l'état d'équilibre atteint après 1,5 h de réaction.

2.4.3 Influence de la température de réaction

Les résultats de l'influence de la température de réaction sur le DS et le ER sont illustrés sur la **Figure 18**. La concentration de la solution de NaOH est de 25% et la réaction est effectuée avec un $n_{\text{CAS}}/n_{\text{UG}}$ égal à 1,0 pendant 1,5 h. La température pour le processus de carboxyméthylation était comprise entre 20 et 110°C.

Les valeurs DS augmentent avec l'augmentation de la température d'éthérisation approchant son point maximum à 90°C. Une augmentation de la température augmente la solubilité des agents d'éthérisation et augmente également à la fois le gonflement du AN et la diffusion d'autres molécules de réactif présentes dans le milieu réactionnel. Il est également responsable de l'augmentation de l'énergie d'activation de la réaction, et par conséquent de la vitesse de réaction et du DS. Les valeurs maximales atteintes de DS et ER étaient respectivement de 0,79 et 79%.

2.4.4 Effet de la concentration en NaOH

L'effet de la concentration de NaOH sur le DS et le ER du AÉ est illustré à la **Figure 18**. Le processus de carboxyméthylation a été réalisé à différentes concentrations de NaOH allant de 5% à 45% (p/v). Le $n_{\text{CAS}}/n_{\text{UG}}$ est constant et égal à 1,0, à 90°C pendant 1,5 h.

La valeur DS s'est avérée augmenter de manière significative lorsque la concentration de NaOH a augmenté à 25% (p/v). Le degré de substitution maximum était de 0,79 avec une efficacité de réaction de 79%. Au cours du processus, du NaOH a été utilisé pour activer la réaction (**réaction (1)**). Les groupes hydroxyles des macromolécules AN ($\text{UG} - \text{OH}$) sont convertis en formes alcoxyde ($\text{UG} - \text{O}^- \text{Na}^+$) qui réagissent ensuite avec CAS, ce qui

donne la forme de $UG - O - CH_2COO^-Na^+$ (réaction (2)). Le traitement avec NaOH à une concentration plus élevée augmente le gonflement des granules d'amidon et produit plus ($UG - O^-Na^+$), résultant en de plus grandes possibilités de carboxyméthylation avec les groupes hydroxyle présents dans les molécules AN. Les valeurs DS obtenues variaient de 0,17 à 0,79. Des résultats similaires ont été obtenus pour les valeurs DS pour certaines modifications chimiques des amidons, telles que la carboxyméthylation de l'amidon de riz ($0,24 < DS < 0,40$) [23], l'amidon d'igname de Chine ($0,05 < DS < 0,45$) [24] et l'amidon de maïs ($0,3 < DS < 0,5$) [25]. Sangseethong et al [23] ont constaté que la valeur de DS augmente avec la concentration de NaOH lorsque le rapport molaire entre CAS et amidon est constant. Cependant, la concentration de NaOH n'a aucun effet sur la valeur DS de l'amidon carboxyméthyle lorsque la concentration de NaOH est deux fois supérieure à celle de CAS.

Une nouvelle augmentation de la concentration de NaOH s'est accompagnée d'une baisse des valeurs de DS. En effet, lorsque la concentration de NaOH atteint 35%, le DS diminue. Ce résultat peut être attribué au fait qu'au cours du processus, la réaction secondaire de NaOH avec CAS (réaction (3)) est devenue plus importante et a concurrencé la réaction principale (réaction (2)).

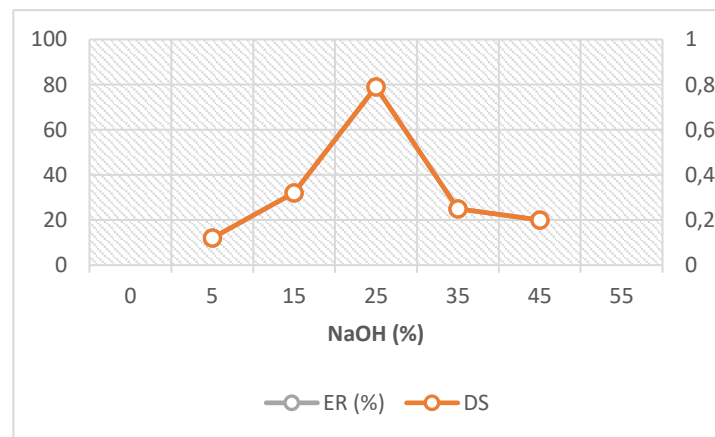
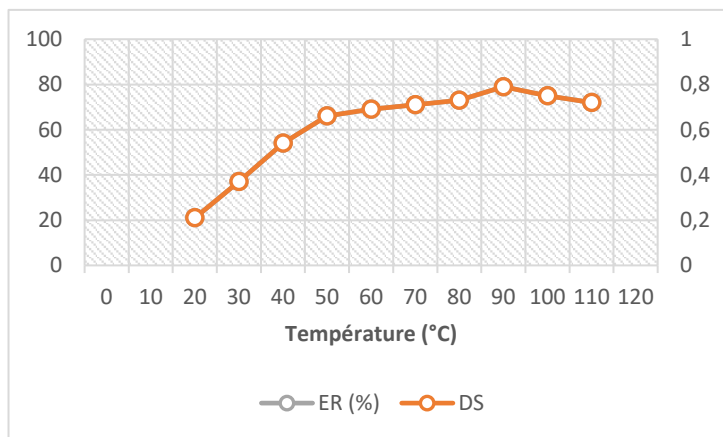
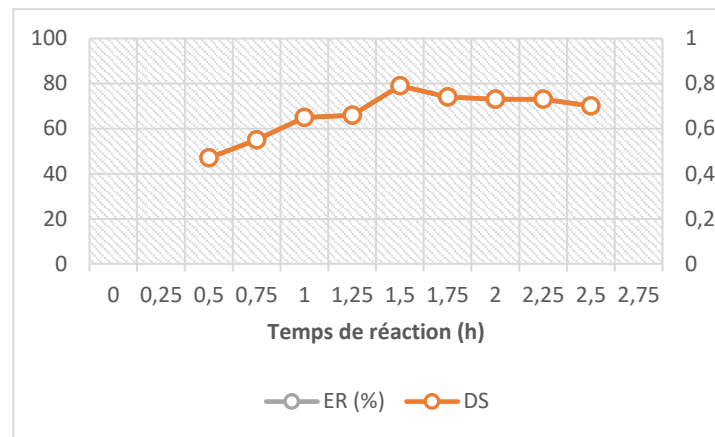
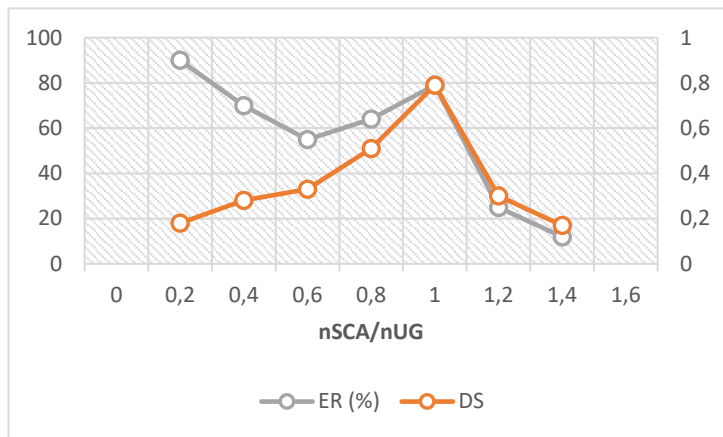


Figure 18 : effet des paramètres de la réaction sur le DS et l'ER.

3 Préparation de l'amidon réticulé (AR)

3.1 La réaction

La réticulation de l'amidon est réalisée en utilisant du TMPS en tant qu'agent de réticulation (Figure 19). Au système (Amidon + Cl[BMIM]), 0,10% de TMPS et 1,5% de Na_2SO_4 sont ensuite ajoutés. Le mélange est ajusté à pH 11,0 par addition goutte à goutte de NaOH 1 M pendant l'agitation.

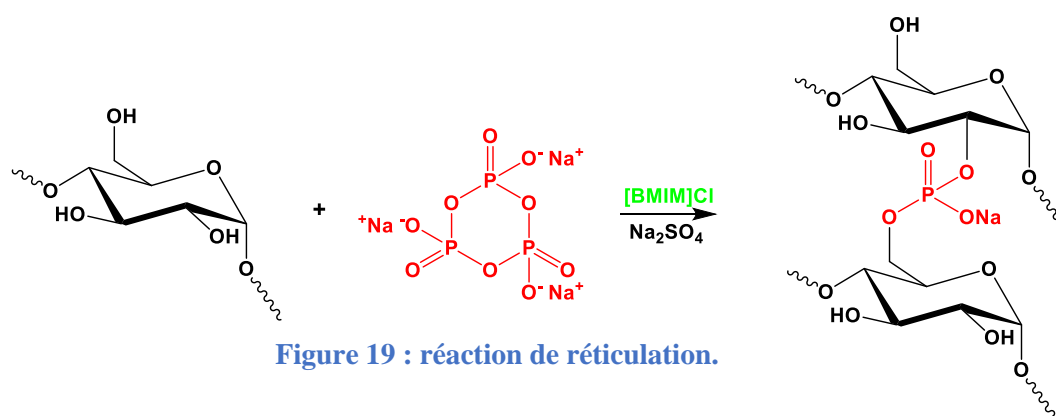


Figure 19 : réaction de réticulation.

La suspension est agitée successivement et réchauffée à 50°C puis conservée à cette température pendant 1,5 heure. Une fois que le temps de réticulation indiqué est arrivé, la suspension est ensuite neutralisée à pH 6,0 avec du HCl 1 M, puis lavée à fond. L'amidon obtenu (AR) est ensuite lavé et séché au four à 45°C.

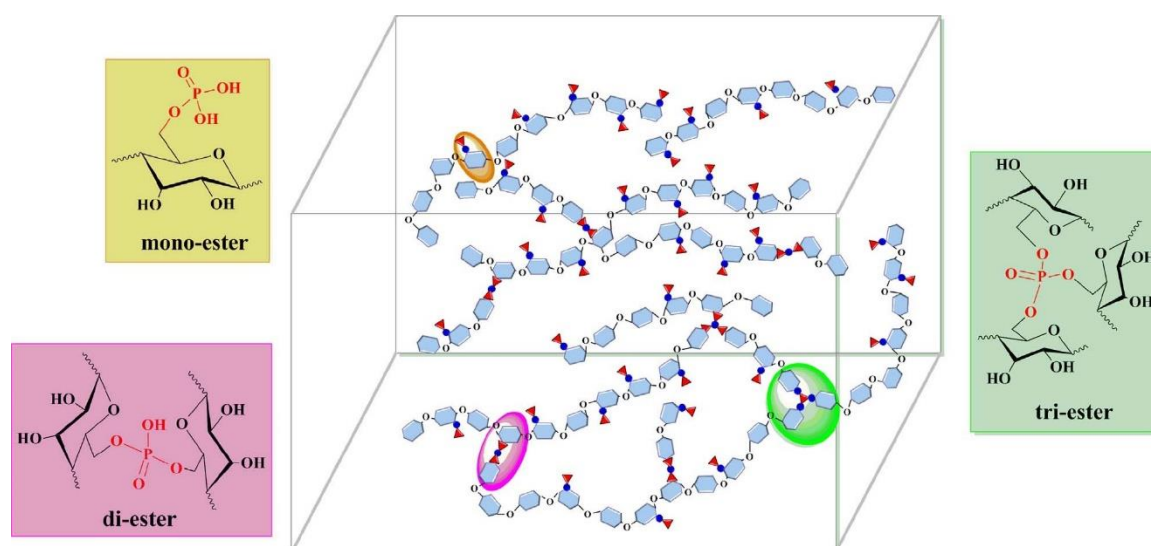


Figure 20 : représentation schématique du mono-ester, diester et triester.

La réaction de TMPS avec l'hydroxyle est une réaction SN1 typique qui peut former des mono-esters, diesters et triesters (Figure 20). Dans le cas de la phosphorylation, TMPS doit réagir simultanément avec deux ou trois groupes hydroxyle. Pour le polysaccharide, les groupes hydroxyle à différentes positions montrent une réactivité distincte en raison des différents types d'hydroxyle et de l'encombrement stérique.

3.2 Caractérisation par RMN ^{31}P

La résonance magnétique nucléaire du phosphore (RMN ^{31}P) est utilisée pour caractériser la nature du phosphore dans les amidons et a également été utilisée pour identifier la phosphorylation dans les amidons modifiés.

3.2.1 Phosphore dans l'amidon natif

Le pic intense à 2,7 ppm est attribué au phosphate inorganique (Pi). Le pic unique à 3,7 ppm est attribué au monophosphate mono-amidon (MPMA) substitué à C-6. Le petit pic centré à 4,6 ppm est attribué au MPMA substitué en position C-3 du glucose. Le pic à 5,3 ppm est attribué au MPMA substitué en C-2.

Le niveau et la forme du phosphore présent dans les céréales sont indiqués dans le Tableau 2. Dans l'AN, près de la moitié du phosphore est de nature inorganique, malgré les procédures de lavage pendant l'isolement de l'amidon. La partie restante du phosphore est présente sous forme de MPMA. Pour le MPMA, les proportions de phosphore à C-2, C-6 et C-3 dans MPMA sont respectivement de 67%, 32% et 1%. Il n'y a pas de monophosphate di-amidon (MPDA) dans l'amidon natif, ce qui indique l'absence de réticulation.

Tableau 2 : teneur en phosphore de différentes formes moléculaires dans les amidons natifs et modifiés (m/m%) [26].

	RMN						Phosphore total
	MPMA (C-2)	MPMA (C-3)	MPMA (C-6)	Pi	MPDA-1	MPDA-2	
Déplacement chimique (ppm)	4.7	4.4	3.5	2.5	1.0, 0.4	-0.1, -1.0	
AN	0.0001±0.0000	0.0032±0.0001	0.0067±0.0003	0.0071±0.0004	0±0.0000	0±0.0000	0.0171±0.0005
AR	0.0002±0.0000	0.0066±0.0003	0.0097±0.0004	0.0027±0.0001	0.0018±0.0001	0.0049±0.0002	0.0259±0.0008

3.2.2 Phosphore dans l'amidon réticulé

Le phosphore inorganique est toujours présent dans le spectre RMN de l'AR (Figure 21, 2,7 ppm). Les signaux pour MPMA peuvent également être clairement reconnus dans le spectre RMN d'AR. On peut voir que la plupart des esters MPMA sont positionnés en C-6 et C-2 avec une substitution mineure en C-3. Cette découverte implique que les groupes hydroxyle à C-6 et C-2 sont significativement plus réactifs qu'à C-3 dans le processus de réticulation. Dans AR, 4 signaux de phosphore supplémentaires sont présents dans le spectre RMN ^{31}P (1,0 à -1,0 ppm), qui n'ont pas été présents dans l'amidon natif. Ces signaux de phosphore correspondent à la réticulation MPDA. Pour l'amidon réticulé, les deux petits pics à 1,0 et 0,3 ppm sont désignés comme MPDA-1, et les deux autres pics à -0,1 et -1,0 ppm sont désignés comme MPDA-2. Sur la base de l'abondance des signaux MPDA-2 et de la description de ces signaux par Sang et al [26], les signaux MPDA-2 à 0,1, -1,0 ppm sont annotés pour provenir du phosphore réticulant deux molécules d'amidon différentes (réticulation intermoléculaire). Étant donné que les groupes hydroxyle C-6 et C-2 sont plus réactifs envers le réactif TMPS que l'hydroxyle en C-3, les liaisons croisées peuvent se produire uniquement au sein des groupes hydroxyle en C-6 et C-2. Cependant, la résolution est insuffisante pour le déterminer. Il est suggéré que les signaux MPDA-1 proviennent du phosphore impliqué dans la réticulation intramoléculaire de l'amidon : c'est-à-dire entre des groupes hydroxyle de fragments glucose présents dans la même chaîne. Le rapport de la réticulation intramoléculaire (MPDA-1) à la réticulation intermoléculaire (MPDA-2) est environ de 1:3.

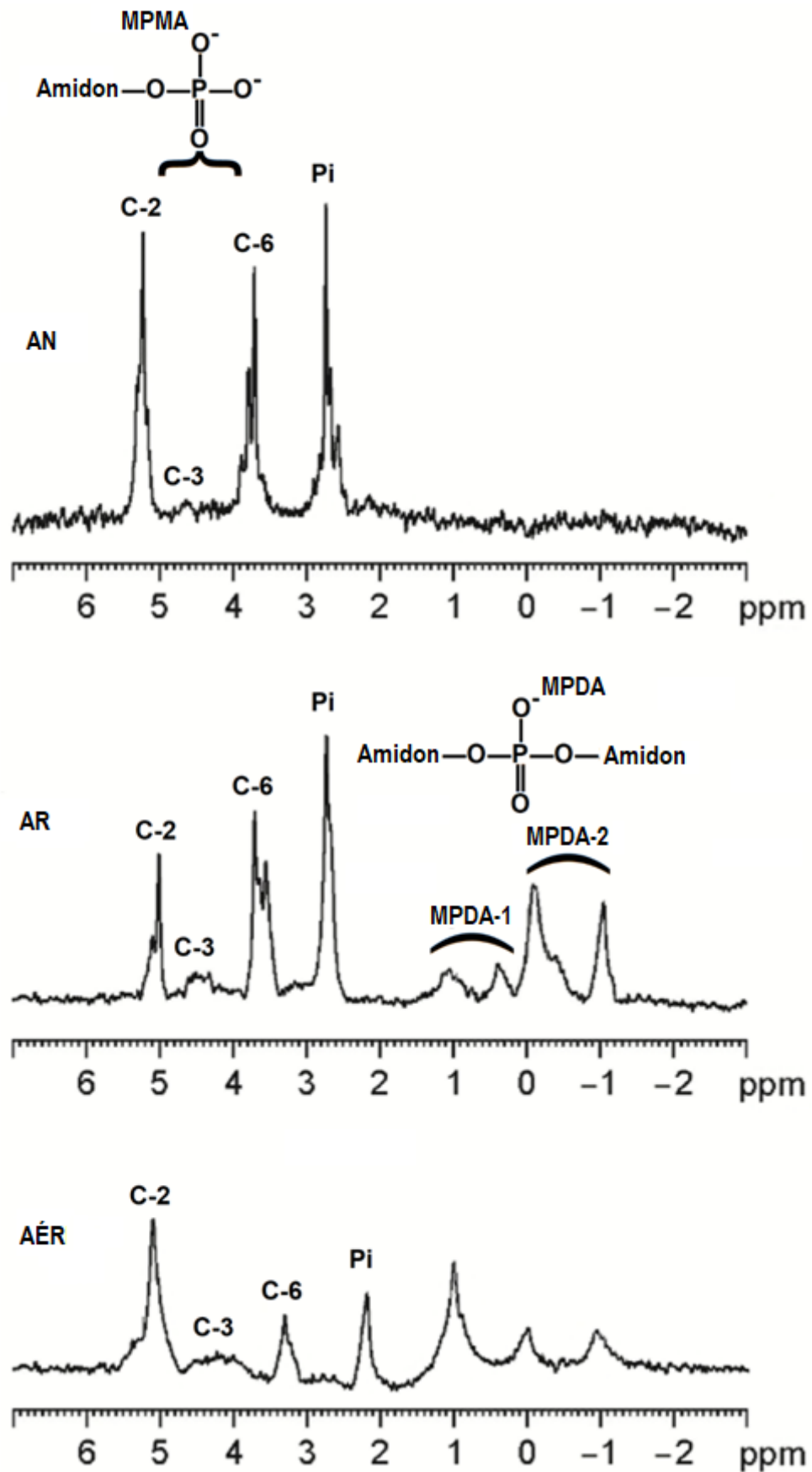


Figure 21 : spectres RMN ^{31}P du AN, AR et AÉR.

4 Préparation de l'amidon double modifié (AÉR et ARÉ)

4.1 La réaction

Des amidons à double modification sont préparés en utilisant les méthodes de réticulation et d'éthérisation en variante.

- **Éthérisation puis Réticulation** : Amidon Éthérisé Réticulé (AÉR).
- **Réticulation puis Éthérisation** : Amidon Réticulé Éthérisé (ARÉ).

La réticulation et l'éthérisation sont des méthodes chimiques normales pour modifier l'amidon. Comme mentionné ci-après, l'amidon de maïs à double modification présente des propriétés particulières, qui sont probablement associées à sa structure spéciale. Par conséquent, une structure possible d'amidon de maïs dual-modifiés est proposée (Figure 22).

La réticulation peut améliorer la stabilité des granules avec de nouvelles liaisons covalentes, offrant les propriétés fonctionnelles souhaitées. La réaction avec le TMPS forme du phosphate de di-amidon. Des groupes hydroxyle d'amidon et plusieurs groupes fonctionnels de TMPS peuvent former une liaison phosphodiester. Ces liens pourraient éventuellement se produire entre C-2 et C-2/C-3, C-6 et C-6, ou C-6 et C-2/C-3 du cycle du sucre, qui ont été confirmés par spectroscopie FTIR. Ce type de coopération peut « connecter » deux ou plusieurs molécules d'amidon et former une structure de réseau spatial multidimensionnel.

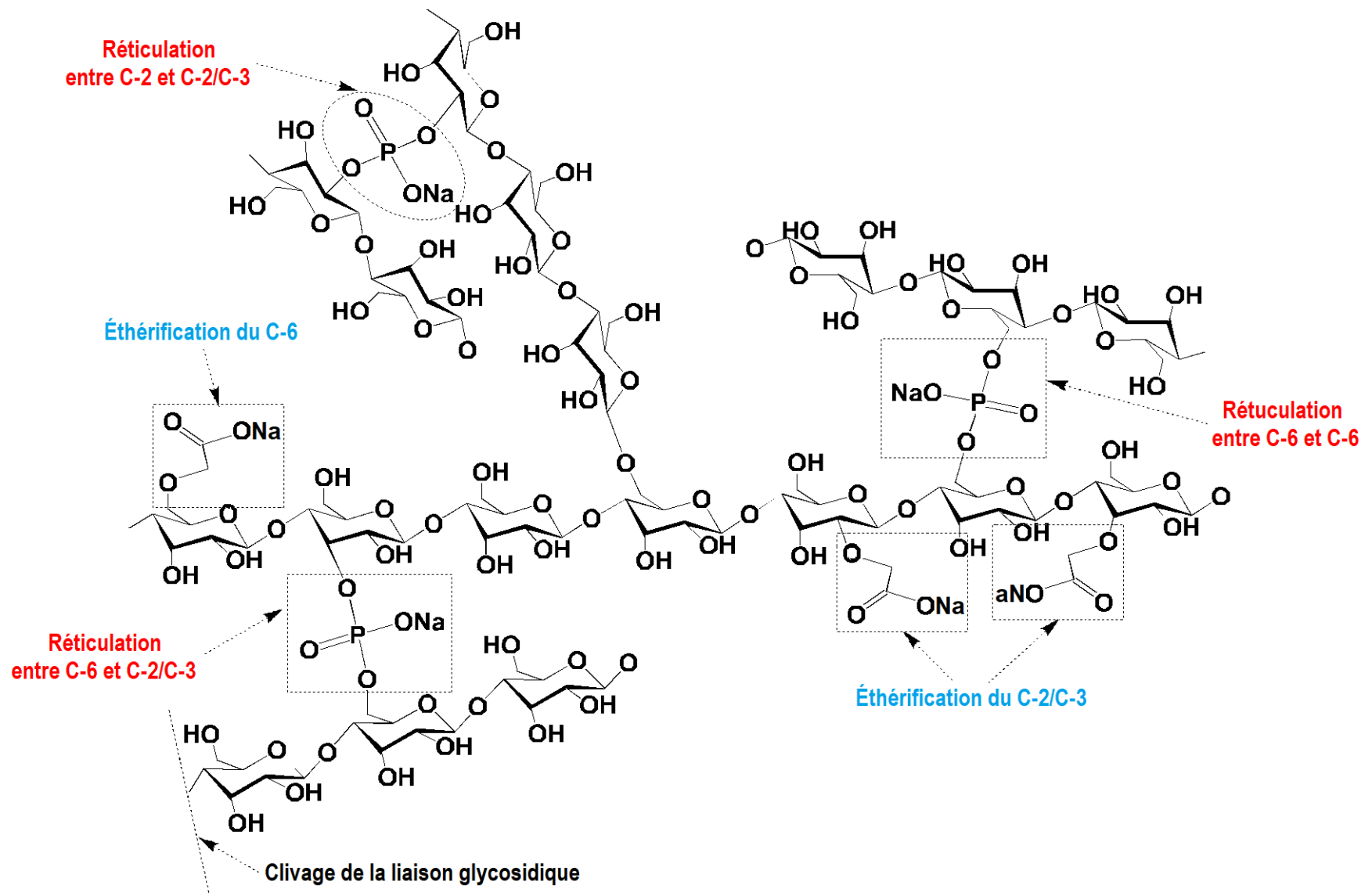


Figure 22 : une structure possible de l'amidon à double modification.

4.2 Caractérisation FT-IR

L'analyse des spectres FT-IR est réalisée afin d'identifier les principaux groupes fonctionnels de l'amidon (Figure 23). À titre de comparaison, la région fondamentale d'AN est également insérée. Comme on peut le constater, le spectre présente une large bande forte entre 2900 et 3600 cm^{-1} en raison de la vibration d'étirement des groupes hydroxyle liés à l'hydrogène. Un court pic aux alentours de 2930 cm^{-1} est attribué à la vibration d'étirement de la liaison C-H du glucose. Les pics à 1160 cm^{-1} , 1080 cm^{-1} et 1010 cm^{-1} sont liés à la vibration d'étirement de C-O-C et C-O-H à partir de liaisons glycosidiques, caractéristiques des polysaccharides.

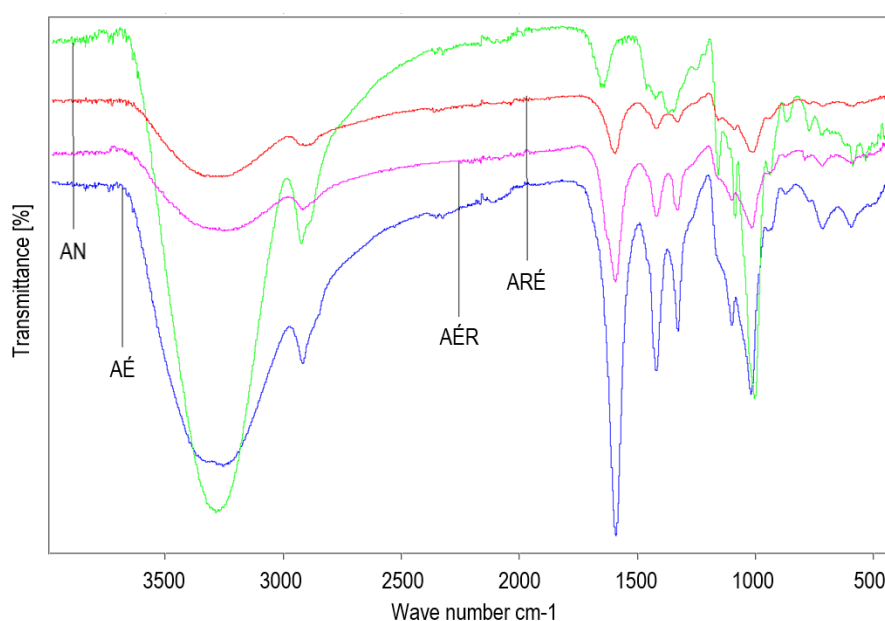


Figure 23 : spectres FT-IR d'amidon natif et modifiés.

Cependant, dans les amidons étherifiés (AÉ), le pic large à environ 2900-3600 cm^{-1} est réduit en intensité. Un tel phénomène peut être dû à la réduction du nombre de groupes hydroxyle convertis en groupes éther. De plus, dans le spectre FT-IR de l'amidon étherifié, une nouvelle bande est apparue à 1600 cm^{-1} . Cette bande n'est pas présente dans les spectres de l'AN, et son apparence est attribuée au groupe carbonyle dans l'éther C=O. Par conséquent, cela peut montrer que les produits AÉ sont formés après étherification. À des fins de comparaison, le signal de carbonyle dans le spectre FT-IR de l'acide monochloroacétique (CAS) apparaît vers 1700 cm^{-1} .

Dans l'amidon réticulé (AR), la bande d'absorption de la vibration d'étirement du P-O-C entre 990-1050 cm^{-1} est visible dans la région des empreintes digitales. Comme indiqué ci-dessus, la bande à 1590 cm^{-1} représente la liaison hydrogène intramoléculaire et un

pic est observé pour l'AN. En outre, dans l'état réticulé, le pic réduit dû aux liaisons hydrogènes brisées assure une réaction de réticulation réussie.

5 Conclusion

Dans cette étude, l'optimisation des conditions de réaction de carboxyméthylation de l'amidon de maïs est réalisée avec succès. Les conditions optimales pour obtenir de l'AÉ avec un DS élevé (0,79) et un RE raisonnable (79%) se sont révélées être à une concentration de 25% (p/v) de NaOH avec un rapport molaire CAS à UG de 1,0:1,0 pendant 1,5 h à 90°C. L'augmentation d'un rapport molaire de CAS à UG a entraîné une augmentation de DS mais à un rapport molaire supérieur à 1,0:1,0, une diminution de DS et ER est notée. Le NaOH s'est révélé être un facteur important dans l'augmentation du DS et du ER. L'augmentation de la concentration de NaOH a augmenté le DS et le ER mais seulement dans une certaine mesure. Une concentration plus élevée de NaOH a provoqué une diminution de ces deux valeurs.

CHAPITRE 04 : EFFET DE L'ORDRE DE DOUBLE MODIFICATION SUR LES PROPRIÉTÉS DE L'AMIDON

1 Introduction

La modification de l'amidon, qui implique l'altération des caractéristiques physiques et chimiques de l'amidon natif pour améliorer ses caractéristiques fonctionnelles, peut être utilisée pour adapter l'amidon à des applications spécifiques. De nombreuses modifications chimiques peuvent être appliquées à l'amidon pour lui conférer des propriétés utiles pour des applications particulières. La modification chimique implique l'introduction de groupes fonctionnels dans la molécule d'amidon, entraînant des propriétés physicochimiques nettement modifiées. Une telle modification chimique des amidons natifs modifie profondément leurs propriétés physicochimiques et fonctionnelles.

La modification chimique est généralement obtenue par oxydation, éthérisation, estérification, réticulation, double modification, etc. La réticulation modifie non seulement les propriétés physiques, mais également les caractéristiques de transition thermique de l'amidon, et ces phénomènes sont liés à la mobilité réduite des chaînes dans le granule d'amidon en raison des ponts intermoléculaires. Les amidons carboxyméthylés sont généralement préparés par éthérisation de l'amidon natif avec du Chloroacétate de Sodium en présence d'un catalyseur alcalin. Les groupes carboxyméthyles introduits dans les chaînes d'amidon sont capables de perturber les liaisons hydrogène inter et intramoléculaires, affaiblissant ainsi la structure granulaire de l'amidon, conduisant à une augmentation de la liberté de mouvement des chaînes d'amidon.

Bien que de nombreuses recherches aient été menées sur la modification chimique de l'amidon à partir de diverses sources, très peu d'enquêtes ont été signalées sur la double modification chimique de l'amidon. La plupart des travaux sur la modification chimique ont été réalisés dans des solvants conventionnels, il existe très peu d'études sur la modification chimique de l'amidon dans les solvants non-conventionnels comme les liquides ioniques. Ainsi, les objectifs de cette étude étaient de préparer des amidons à double modification avec deux niveaux différents, chacun d'éthérisation et de réticulation appliqués dans différentes séquences (ordres ou successions), et de comparer les propriétés physicochimiques des natifs, éthérisés, réticulés et dual-modifiés.

Les objectifs de cette étude sont de préparer des amidons à double modification, il s'agit de l'éthérisation et de la réticulation réalisée à différents ordres en présence de liquide ionique, et de comparer les propriétés physico-chimiques des amidons natifs, éthérisés, réticulés et doublement modifiés (l'amidon éthérisé puis réticulé et l'amidon réticulé puis éthérisé).

2 Caractéristiques morphologiques

Les caractéristiques morphologiques des amidons natifs et modifiés chimiquement par microscopie électronique à balayage sont représentées sur la Figure 24. Le MEB de l'amidon natif (Figure 24a) a montré une surface lisse des granules uniforme sans aucun dommage ni fissure. Les granules d'amidon étaient de taille hétérogène, de forme ronde et polygonale. Cependant, l'amidon modifié présente une morphologie différente.

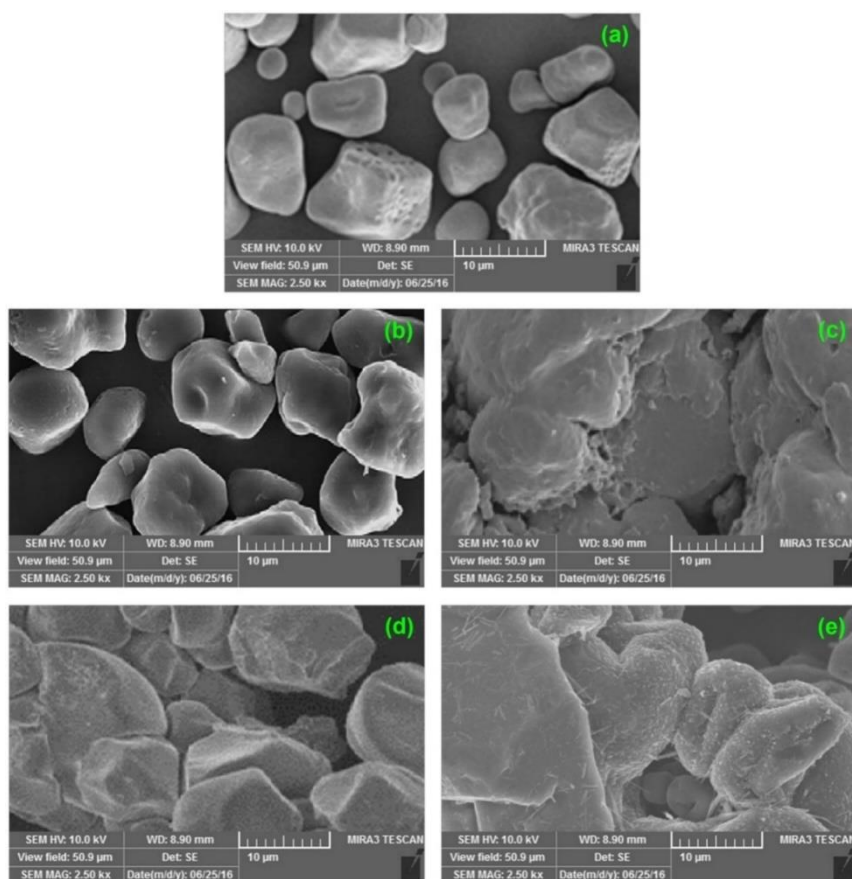


Figure 24 : MEB de l'AN (a), AR (b), AÉ (c), ARÉ (d) et AÉR (e).

L'amidon éthérisé, présente une surface plus rugueuse que l'amidon natif avec des imperfections ou des fissures à la surface de certains granules d'amidon (Figure 24c) qui peut être la conséquence d'une éthérisation extensive. En cas d'amidon éthérisé réticulé

(Figure 24e), l'éthérisation peut avoir provoqué des fissures superficielles avant la réticulation où les granules d'amidon sont totalement détruits et perdent leur individualité et leur régularité.

L'amidon réticulé (Figure 24b) n'a montré aucune altération de l'apparence des granules d'amidon. La surface d'amidon modifié s'est avérée lisse et similaire à celle de l'amidon natif. Dans l'amidon réticulé éthérifié (Figure 24d), la réticulation aurait entraîné un renforcement des granules d'amidon, par conséquent, aucune fissure ou rugosité de surface due à l'éthérisation n'était visible.

En cas des amidons doublement modifiés, on peut conclure que l'ordre dans lequel les modifications sont effectuées jouent un rôle important dans la morphologie des granules d'amidon.

3 Indice de solubilité dans l'eau et pouvoir gonflant

Le schéma de solubilité et de gonflement de tous les amidons à différentes températures est indiqué dans les Figures 25 et 26. La solubilité et le pouvoir gonflant des amidons natifs et modifiés augmentent avec l'augmentation de la température. La solubilité des amidons modifiés a été observée plus élevée que l'amidon natif, sauf pour l'amidon réticulé. L'augmentation de la solubilité de l'amidon éthérifié peut être le résultat de l'affaiblissement structurel augmentant l'accessibilité des granules d'amidon à l'eau. Forssell et al [27] ont déclaré que les agents éthérifiant auraient pénétré profondément dans les granules, agissant principalement sur les régions amorphes. Liu et al [28] ont également signalé une diminution de la solubilité de l'amidon de maïs réticulé, qui a été attribuée à une meilleure liaison et intégrité des granules d'amidon en raison de liaisons covalentes supplémentaires via des groupes phosphate qui maintiennent fermement les granules d'amidon.

La capacité de l'amidon à s'hydrater dans des conditions spécifiques est appelée pouvoir gonflant. L'éthérisation, la réticulation et la double modification de l'amidon ont réduit le pouvoir de gonflement des amidons et les valeurs ont été observées plus faibles que l'amidon natif. Cette réduction du pouvoir gonflant après éthérisation a été attribuée à la désintégration structurelle au sein des granules d'amidon pendant la modification. La réticulation de l'amidon à l'aide de TMPS renforce les liaisons hydrogène en pénétrant à l'intérieur des granules et en formant des réticulations uniformément réparties dans tout le granule, d'où une réduction du pouvoir de gonflement.

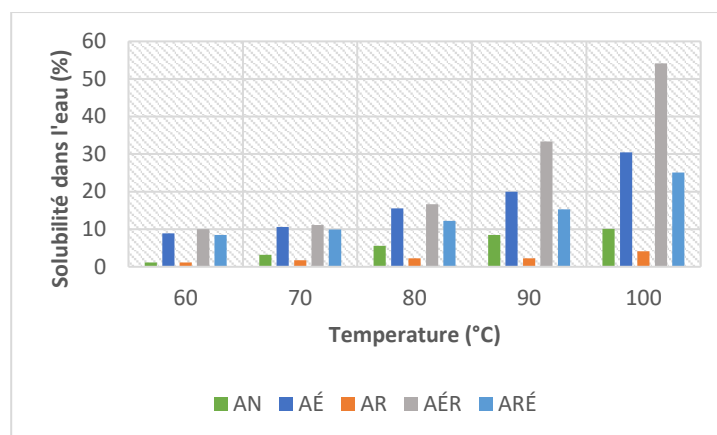


Figure 25 : effet de la température sur l'indice de solubilité dans l'eau des amidons.

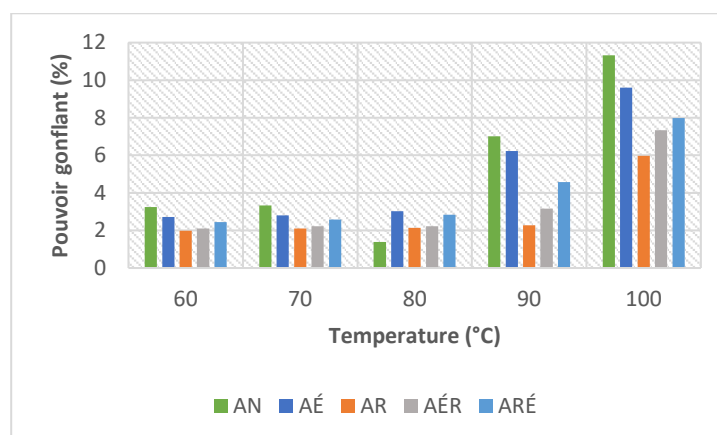


Figure 26 : effet de la température sur l'indice de gonflement des amidons.

Pour les amidons à double modification, il est en outre remarqué que l'ordre dans lequel les modifications sont effectuées joue un rôle important dans le gonflement et la solubilité des amidons à double modification. La solubilité des amidons à double modification dans lesquels l'éthérisation est effectuée en premier s'est avérée être supérieure à celle des amidons dans lesquels la réticulation est effectuée en premier. Pour le gonflement des amidons à double modification, la tendance s'est révélée inverse. La réticulation des amidons éthérifiés peut également avoir impliqué les groupes carboxyméthyle, ce qui a limité le gonflement. Par conséquent, le gonflement des amidons réticulés éthérifiés est inférieur à celui des amidons réticulés éthérifiés.

4 Analyse par diffraction des rayons X

Des études de diffraction aux rayons X permettent d'obtenir suffisamment d'informations sur les propriétés cristallines des granules d'amidon².

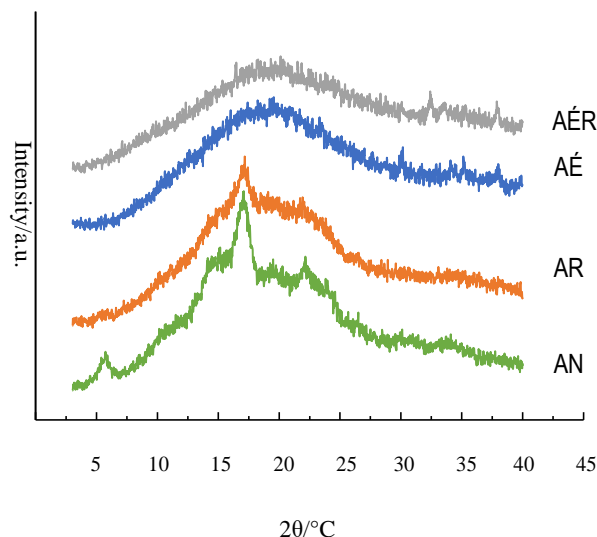


Figure 27 : DRX de l'amidon natif et modifié.

Les diagrammes de diffraction des rayons X des amidons natifs et modifiés sont représentés sur la Figure 27. L'amidon natif montre des pics à 2θ de $15,1^\circ$ et de $23,2^\circ$ et d'un doublet à 2θ de $17,0^\circ$ et de $18,1^\circ$, représentant un modèle d'amidon typique de type A. Le diffractogramme aux rayons X pour les amidons modifiés est également différent à celui de l'amidon natif. Cependant, les intensités des pics obtenus pour les amidons modifiés sont plus courtes que celles de l'amidon natif.

Le DRX de l'amidon seulement réticulé (AR) est cependant resté similaire à celui de l'amidon natif, ce qui est en accord avec les études rapportées précédemment. La réticulation TMPS n' montre aucun effet significatif sur le profil radiographique de l'amidon natif, la raison derrière cela peut être que la réticulation du phosphate a eu lieu principalement dans la région amorphe du granule d'amidon.

5 Propriétés thermiques

Lorsque l'amidon est chauffé en présence d'eau en quantité suffisante, son organisation cristalline se décompose. Cette désorganisation moléculaire est appelée gélatinisation,

² Les amidons sont classés dans les catégories suivantes : (i) type A, associé essentiellement aux amidons de céréales ; (ii) type B, apparaissant généralement dans les féculles de tubercules ; (iii) type C, un hybride de formes A et B ; et (iv) le type V, où l'amylose est complexée avec d'autres composés non glucidiques.

un phénomène endothermique fréquemment détecté en utilisant la DSC. La transition d'une phase ordonnée à une phase désordonnée se produit sur une plage de températures caractéristique de la source d'amidon. Pour cette raison, la DSC est une mesure adéquate pour connaître la composition chimique des amidons et, par conséquent, ses utilisations potentielles.

Les Figures 28, 29 et 30 représentent les caractéristiques de gélatinisation de l'amidon natif et modifié. L'altération des températures de transition des granules d'amidon modifiés est due à leur structure externe perturbée (fractures, pores) facilitant la pénétration de l'eau à l'intérieur.

L'amidon de maïs natif avait une température de pointe de gélatinisation à 61,88°C, avec une enthalpie de gélatinisation de 12,54 J/g. Cette transition unique correspondait à la dissociation des molécules d'amylose et d'amylopectine au sein des granules d'amidon.

L'amidon étherifié a montré une augmentation significative de la température de transition à savoir, pointe et conclusion avec diminution de la valeur d'enthalpie. L'augmentation de la température de gélatinisation a été attribuée à l'hydrolyse de la lamelle amorphe, qui a pour fonction de déstabiliser la lamelle cristalline en augmentant l'hydratation et le gonflement des cristallites [29]. Cependant, la valeur d'enthalpie de l'amidon étherifié était inférieure à celle de l'homologue natif. Sanchez-Rivera et al [30], ont expliqué que la dépolymérisation possible à la fois dans les molécules d'amylose et d'amylopectine a entraîné une diminution de l'enthalpie de gélatinisation.

L'amidon réticulé avec TMPS a montré une augmentation dans les trois températures de transition ainsi que la valeur d'enthalpie. Ces résultats ont confirmé que l'introduction du groupe phosphate dans l'amidon a resserré l'organisation moléculaire/renforcé la liaison entre les chaînes d'amidon, ce qui a amélioré la stabilité et augmenté la résistance des granules d'amidon au gonflement, ce qui a entraîné une température de gélatinisation plus élevée en raison de la difficulté de fusionner l'amidon.

Les températures de transition de l'amidon étherifié réticulé étaient significativement plus élevées que celles de l'amidon réticulé étherifié. Xiao et al [31] ont rapporté la même observation pour l'amidon de riz et la raison derrière cela était que l'amidon réticulé était plus difficile à modifier que l'amidon natif en raison de la structure renforcée de l'amidon après réticulation.

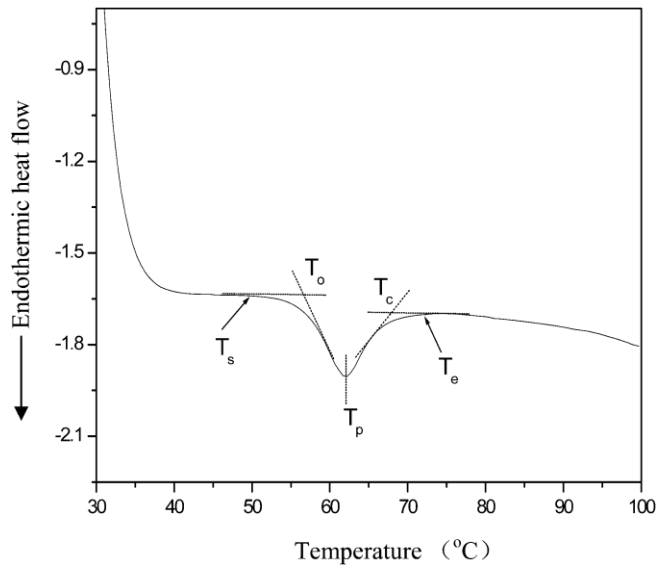


Figure 28 : courbe DSC obtenue pour les amidons natif.

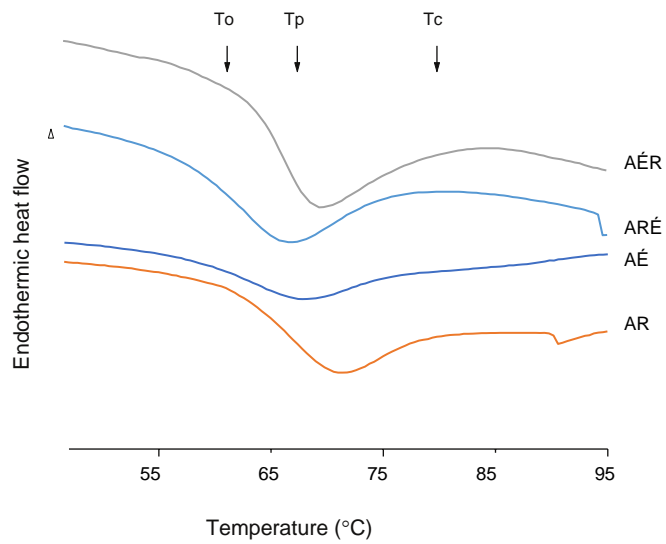


Figure 29 : courbes DSC obtenues pour les amidons modifiés.

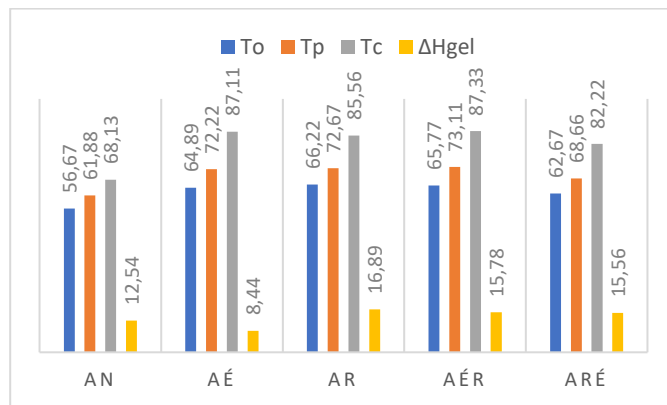


Figure 30 : propriétés thermiques de l'amidon natif et modifié.

6 Conclusion

Des différences marquées dans les propriétés des amidons natifs, à modification unique et à modification double ont été observées dans la présente étude. La modification chimique de l'amidon en utilisant une seule méthode pourrait améliorer certaines propriétés fonctionnelles, mais en même temps, certaines propriétés utiles sont également perdues. Dans le présent travail, il a été observé qu'en raison de l'éthérisation, le gonflement et la solubilité de l'amidon natif ont été améliorés tandis que la morphologie des granules s'est avérée endommager. De même pour les amidons réticulés, le gonflement et la solubilité se sont révélés inférieurs, mais la morphologie des granules s'est améliorée. Dans les amidons à double modification, toutes les propriétés se sont avérées meilleures que celles de l'amidon natif. La séquence dans laquelle les doubles modifications ont été effectuées affecte également les propriétés de l'amidon. Par conséquent, à partir de la présente enquête, on peut conclure que les propriétés spécifiques des amidons modifiés pour convenir à des applications spécifiques, telles que les produits alimentaires ou pharmaceutiques, peuvent être obtenus en appliquant deux méthodes différentes de modifications et en sélectionnant soigneusement leurs niveaux ou leur séquence de modifications.

CHAPITRE 05 : ÉVALUATION DE L'AMIDON ÉTHÉRIFIÉ COMME EX- CIPIENT PHARMACEUTIQUE

1 Introduction

Les amidons sont principalement utilisés dans les formes posologiques solides orales comme agents de charges, liants et délitants. Cependant, ils ont des propriétés de limitation. Pour améliorer leurs propriétés telles que l'aptitude à l'écoulement, la température de gélification, la viscosité du gel, l'hydrophilie ou la caractéristique de gonflement, les amidons sont modifiés. Des modifications comprenant des modifications physiques, chimiques et génétiques sont introduites sous forme de matrices formant des excipients pour les formes posologiques orales à libération prolongée [3]. Dans le présent travail, l'amidon modifié (AÉ) est utilisé pour la préparation d'excipients de comprimés à usage pharmaceutique.

2 Caractérisation de la poudre d'amidon étherifié

2.1 Solubilité dans l'eau froide

Le comportement de la solubilité dans un système aqueux est étudié. Les résultats ont révélé que la solubilité du AÉ augmente avec l'augmentation du DS (Figure 31). Cela est dû à la forte hydrophilie du groupe carboxyle, qui absorbe plus d'eau, ce qui permet une hydrosolubilité maximale.

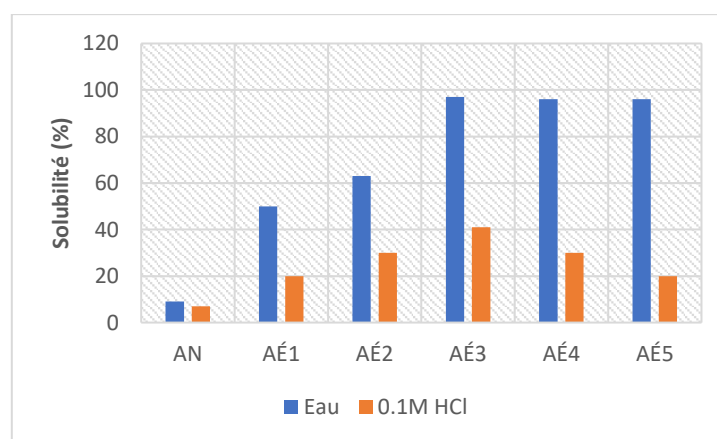


Figure 31 : solubilité (%) d'AN et AÉ avec différentes valeurs de DS dans l'eau et HCl.

La répulsion entre les charges négatives entraîne le gonflement des granules d'amidon et exerce une tension sur les cristallites adjacentes des molécules d'amidon. Les granules d'amidon modifié deviennent plus faibles et plus solubles dans l'eau froide. La diminution significative de la solubilité du AÉ lorsqu'il est placé dans du HCl 0,1 M peut être liée à la protonation et elle reflète la non dissociation des groupes acide carboxylique.

2.2 Analyse des propriétés de la poudre

Les résultats de fluidité et les valeurs de densité d'AN et AÉ avec différentes valeurs DS ont été étudiés en déterminant la densité apparente, la densité tassée, l'indice de Carr (IC) et le rapport de Hausner (RH). Les moyennes de trois valeurs de lecture ont été calculées (Tableau 3). Les résultats des mesures d'IC et RH d'AN ont indiqué que la poudre a un excellent caractère d'écoulement ($IC = (9,52 \pm 0,08)\%$, $RH = 1,10 \pm 0,02$). Les densités d'AÉ ont varié par rapport à celles du AN. Cela indique que lors du traitement chimique du AN, la structure de la couche de poudre a été modifiée et le volume intergranulaire réorganisé. La densité d'AÉ augmente avec l'augmentation de DS. Les résultats de la densité apparente et de la densité tassée (g/cm^3) d'AÉ variaient de $(0,65 \pm 0,07)$ à $(0,74 \pm 0,09)$ et de $(0,76 \pm 0,09)$ à $(0,87 \pm 0,04)$ respectivement.

Tableau 3 : propriétés de la poudre d'AÉ.

Poudre	DS	ρ_A (g/cm^3)	ρ_T (g/cm^3)	IC (%)	RH	Caractère de flux
AN	–	$0,76 \pm 0,09$	$0,84 \pm 0,10$	$09,52 \pm 0,08$	$1,10 \pm 0,02$	Excellent
AÉ1	0,17	$0,65 \pm 0,07$	$0,76 \pm 0,09$	$14,47 \pm 1,05$	$1,16 \pm 0,07$	Bien
AÉ2	0,32	$0,69 \pm 0,06$	$0,81 \pm 0,07$	$14,81 \pm 1,26$	$1,17 \pm 0,09$	Bien
AÉ3	0,79	$0,71 \pm 0,05$	$0,82 \pm 0,06$	$13,41 \pm 1,35$	$1,15 \pm 0,09$	Bien
AÉ4	0,25	$0,72 \pm 0,07$	$0,86 \pm 0,08$	$16,27 \pm 1,14$	$1,19 \pm 0,05$	Juste
AÉ5	0,20	$0,74 \pm 0,09$	$0,87 \pm 0,04$	$14,94 \pm 1,08$	$1,17 \pm 0,09$	Bien

L'IC (%) variait de $(13,41 \pm 1,35)$ à $(16,27 \pm 1,14)$, ce qui indique que les poudres AÉ ont un bon caractère d'écoulement et peuvent être compressibles sans ajout d'autres ingrédients. Le rapport de Hausner variait de $(1,15 \pm 0,09)$ à $(1,19 \pm 0,05)$. Ces résultats indiquent que l'AÉ possède de bonnes propriétés de cohésion. Le meilleur caractère d'écoulement a été obtenu pour le AÉ3 avec une valeur DS de 0,79 ($IC = 13,41 \pm 1,35\%$ et $RH = 1,15 \pm 0,09$). Les résultats globaux confirment que l'AÉ est librement fluide et facilement compressible. Enfin, tous les échantillons de AÉ obtenus présentaient des valeurs de densité assez élevées et typiques par rapport aux excipients courants standard [32].

3 Préparation du comprimé

Les formulations sont préparées uniquement avec 75% d'AÉ avec différents DS. La poudre d'excipient (AÉ) est mélangée dans un mélangeur à cube (Giuliani, France, Figure 32) pendant 15 min avec de l'ibuprofène (25%), comme modèle de médicament par mélange à sec. Aucun autre composant (lubrifiant, agent de charge ou de revêtement) n'est ajouté.

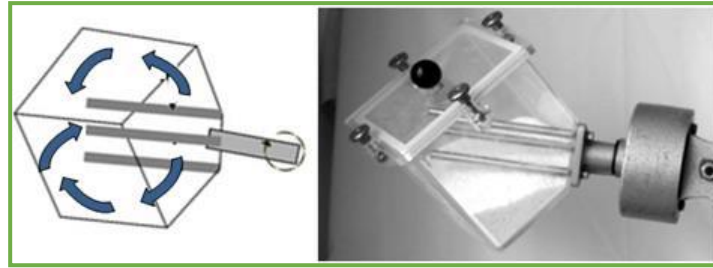


Figure 32 : le mélangeur à cube.

La poudre mélangée est ensuite comprimée en comprimés avec un poinçon plat de forme ronde en utilisant un appareil manuel à comprimé à poinçon unique (Erweka-Apparatebau, GmbH, France, Figure 33) à 50 kN.



Figure 33 : l'appareil manuel à comprimé à poinçon unique.

4 Caractérisation des comprimés

Les propriétés physiques des comprimés d'ibuprofène sont présentées dans le **Tableau 4**. Les formules des comprimés ont montré des propriétés physiques acceptables. La teneur en médicament des comprimés préparés était conforme aux exigences de la Pharmacopée américaine [33] et aucune différence significative dans les propriétés de compression n'a été trouvée. Cependant, les comprimés AN ont montré une friabilité plus élevée ($0,89 \pm 0,15\%$) et une dureté inférieure ($4,70 \pm 0,34 \text{ kg/cm}^2$) par rapport aux comprimés AÉ, car une dureté insuffisante a entraîné une friabilité élevée. Même ainsi, les résultats restent toujours dans les limites de la pharmacopée américaine. L'AÉ a généré des particules avec une compression améliorée par rapport aux comprimés AN. Ces résultats suggèrent que ces composés peuvent être utilisés comme excellents excipients pour les formes posologiques des comprimés.

Tableau 4 : paramètres physicochimiques des comprimés.

Formule de base	Dureté (kg/cm ²)	Friabilité (%)
AÉ1	5.87 ± 0.21	0.75 ± 0.11
AÉ2	5.35 ± 0.27	0.72 ± 0.35
AÉ3	5.37 ± 0.36	0.72 ± 0.21
AÉ4	5.57 ± 0.28	0.68 ± 0.24
AÉ5	5.84 ± 0.21	0.71 ± 0.18
AN	4.70 ± 0.34	0.89 ± 0.15

La libération d'ibuprofène des comprimés préparés a été étudiée en utilisant un tampon phosphate de pH 6,8 comme milieu de dissolution. Les polymères testés n'ont pas interféré avec l'analyse de l'ibuprofène dans les études de libération de médicaments car il n'y avait pas de pics significatifs pour les polymères utilisés observés dans la plage UV de 200 à 400 nm en utilisant un tampon phosphate de pH 6,8 comme blanc.

Les profils de libération de l'ibuprofène des comprimés basés sur l'AN, ont montré que 100% du médicament était libéré après 6 h dans un tampon phosphate de pH 6,8, tandis que 50% du médicament était libéré après 1,75 h comme le montre la [Figure 34](#). En fait, une perte rapide et significative de l'intégrité de la couche de gel a été observée pour les comprimés d'AN dans des milieux de dissolution. Ces résultats peuvent être dus à cela, l'ibuprofène est un médicament acide faible (pKa = 4,41) et sa solubilité dépend du pH qui augmente rapidement à des valeurs de pH supérieures à la valeur de pKa du médicament. La solubilité du médicament a été préalablement déterminée par Watkinson et al [34] et a été trouvée à 0,52 et 3,70 mg/mL dans (pH 6,0) et (pH 7,0), respectivement. Cependant, certaines études ont rapporté que les amidons prégélatinisés peuvent également avoir des propriétés de libération prolongée [35]. Herman et Remon [36] ont étudié l'effet de nombreux paramètres sur les propriétés de libération prolongée de l'amidon prégélatinisé et ont découvert que le rapport amylose/amylopectine est le facteur le plus important influençant les caractéristiques de gonflement et le taux de libération de médicament in vitro. Les comprimés à base d'amidon prégélatinisé (25% d'amylose m/m) sont divisés en plusieurs morceaux, augmentant la surface de contact avec le milieu de dissolution et conduisant à une libération plus rapide du médicament. Alors que l'amidon prégélatinisé à haute teneur en amylose (70% d'amylose) ne forme pas une couche de gel cohérente et ne maintient pas la libération, mais l'amidon de maïs cireux prégélatinisé (100% d'amylopectine m/m et sans amylose) aurait formé une couche de gel pendant l'hydratation et pour diminuer le taux de

libération de médicaments. Quoi qu'il en soit, la couche de gel gonflée obtenue était très faible et l'érosion des comprimés peut accélérer considérablement la libération du médicament [36]. Le profil de libération cumulative in vitro des formulations d'AÉ (AÉ1 à AÉ5) a montré des pourcentages variant de 92,69% à 100%. Parmi ces cinq formulations, AÉ1 a montré le pourcentage le plus élevé de libération de médicament après 6 h, par rapport à AÉ3 qui a montré une libération prolongée de médicament. Au cours de cette étude, il a été observé que les comprimés étaient initialement gonflés et non érodables au cours de la période d'essai. Le schéma de libération du médicament des comprimés variait selon le DS du AÉ. Dans la formulation AÉ1 (DS = 0,17), 100% du médicament est libéré à 7 h et 50% du médicament chargé total libéré à 2,27 h. Alors que dans le cas de la formulation AÉ2, (DS = 0,29), les comprimés forment une matrice de gel et retardent donc la libération du médicament. En effet, cette formulation (AÉ2) libère 99,7% de l'ingrédient actif après 8 h avec une moitié de l'ingrédient actif libéré après 3,30 h. De plus, l'augmentation du DS d'AÉ utilisé dans la formulation retarde la libération du médicament mais toutes les formulations ont libéré le médicament progressivement jusqu'à 92% au-delà de 8 h. Cela peut être attribué à l'augmentation du gonflement des polymères avec une valeur DS plus élevée. Les données globales sur les études de dissolution in vitro indiquent étroitement que parmi les six formulations, AÉ3 (DS = 0,79) s'est avéré être le meilleur en termes de libération prolongée de l'ingrédient actif. En effet dans cette formulation, 15,5% du médicament libéré à la première heure, 50% du total du médicament chargé libéré à 3,41 h et 92,69% du médicament chargé libéré après 8 h.

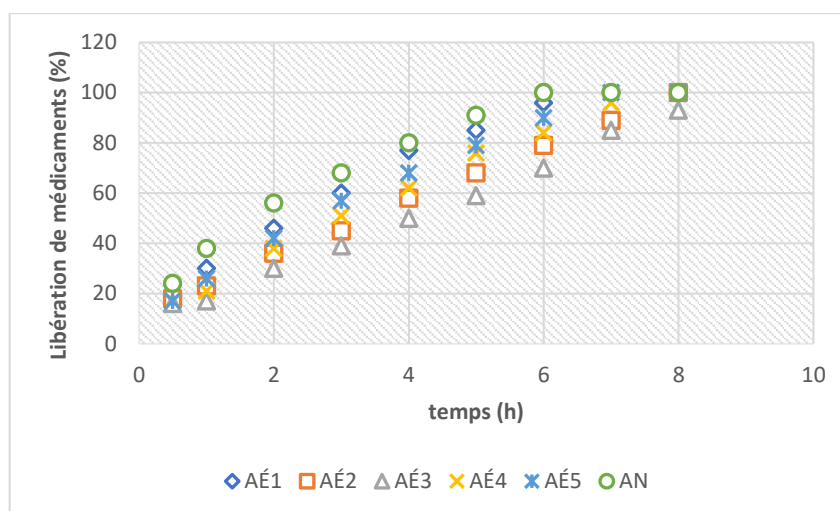


Figure 34 : profils de dissolution des formulations en comprimés.

Selon les résultats obtenus, il apparaît clairement qu'en augmentant la DS d'AÉ utilisée dans différentes formulations, le taux de libération de médicament à partir des comprimés s'est avéré être diminué. Cela peut être dû à l'augmentation des caractéristiques d'hydratation ou de gonflement des polymères avec une DS accrue. La capacité de gonflement des polymères substitués par des groupes ioniques dépend du pH et de la force ionique du milieu environnant [37]. En effet, dans un milieu à des pH supérieurs au pKa du AÉ (pKa d'environ 4,2), les groupements carboxyméthyle sont déprotonés. Le gel formé autour du comprimé au contact du milieu de dissolution en cours de déprotonation, améliore l'hydratation de la matrice AÉ en augmentant les forces de répulsion entre les groupes (COO^-), qui augmentent avec l'augmentation de DS. Cette hydratation du AÉ permet une libération progressive [38].

Tableau 5 : Coefficient de corrélation linéaire, R^2 et n valeurs pour la libération d'ibuprofène à partir de comprimés selon le modèle semi-empirique de Korsmeyer-Peppas.

	K (% h ⁻¹)	n	R ²	T _{50%} (h)
AÉ1	0.292	0.67	0.997	2.28
AÉ2	0.202	0.77	0.992	3.32
AÉ3	0.194	0.82	0.994	3.42
AÉ4	0.231	0.73	0.995	2.91
AÉ5	0.277	0.69	0.995	2.54
AN	0.379	0.55	0.982	1.73

Les données de libération de médicament in vitro de toutes les formulations ont été ajustées à l'équation de Korsmeyer-Peppas pour déterminer le modèle de libération de médicament (Tableau 5). Le R^2 a été évalué pour toutes les formulations et sa valeur était proche de 0,98. Selon l'équation de Korsmeyer-Peppas, la valeur « n » de l'exposant de

libération est supérieure à 0,5, ce qui indique que le mécanisme de libération du médicament pour toutes les formulations est de type diffusion non-Fickian. Pour les comprimés, lorsque $n < 0,45$, la libération du médicament est contrôlée par la diffusion et lorsque $n > 0,98$, la libération du médicament est contrôlée par l'érosion de la matrice. Des valeurs de n comprises entre 0,45 et 0,98 indiquent une superposition des deux phénomènes. Dans les formulations de comprimés à base de AÉ (AÉ1 à AÉ5), les valeurs moyennes n obtenues variaient entre 0,66 ($R^2 = 0,989$) et 0,81 ($R^2 = 0,993$), ce qui suggérait que la libération du médicament était contrôlée par la superposition de la diffusion et de l'érosion [39, 40]. Cela indique que le médicament se diffuse à travers le comprimé en même temps que la relaxation du polymère a lieu. Au contact du milieu de dissolution, une matrice hydrophile à base d'AÉ augmente de taille en raison de l'entrée du solvant et permet au polymère de gonfler en formant une barrière à la libération du médicament. Les particules de médicament se déplaceraient alors à travers cette couche de gel, permettant au médicament d'être libéré [41]. Il a été constaté que les réseaux de polymères montraient une libération contrôlée de médicament ralentissant ainsi le taux de diffusion de la molécule de médicament à travers les matrices [42]. Il a été démontré que le DS est l'un des principaux facteurs déterminant les propriétés de l'administration de médicaments [37].

5 Conclusion

Les comprimés ont été préparés par compression directe en utilisant du AN modifié avec différents DS et ibuprofène comme médicament modèle. La variation DS d'AÉ permet de varier les profils de libération. Ainsi, l'augmentation de la valeur DS du AÉ a diminué la libération de médicament des comprimés. Les profils de libération ont montré une libération prolongée suivant le modèle cinétique de Korsmeyer-Peppas. Le mécanisme de libération du médicament de ces systèmes matriciels monolithiques est la diffusion non fickienne.

CHAPITRE 06 : CARACTÉRISATION DES FILMS INTELLIGENTS À BASE D'AMIDON/APV

1 Introduction

L'emballage joue un rôle clé dans la maîtrise et la protection des aliments, car il est fortement manipulé par les producteurs et les consommateurs. Cependant, les matériaux d'emballage constituent l'un des principaux déchets solides dans les grandes villes du monde. Une grande partie de ces déchets sont des récipients de nourriture. La réduction de l'impact environnemental grâce à l'utilisation de polymères biodégradables dans l'industrie alimentaire constitue aujourd'hui une alternative pour éliminer les emballages issus du pétrole. Le terme "matériaux biodégradables" est utilisé pour décrire les matériaux qui peuvent être dégradés par l'action enzymatique d'organismes vivants, comme les bactéries et les champignons. D'autre part, une pression considérable est exercée sur la nécessité de prêter attention aux habitudes alimentaires actuelles des consommateurs. Des aliments plus sains, exempts de substances chimiques synthétiques et fabriqués de manière durable ont stimulé la recherche sur la mise au point de nouveaux emballages destinés à protéger des agents chimiques, physiques et biologiques.

Il est bien connu que certains polymères, tels que l'amidon et l'alcool polyvinylique APV, sont des matériaux biodégradables appropriés, capables de former des films dotés de propriétés physiques appropriées. En outre, leurs mélanges forment des réseaux de polymères interpénétrés ayant des effets bénéfiques sur les propriétés du film, renforçant principalement la barrière à la vapeur d'eau et les propriétés mécaniques, les films devenant beaucoup plus étirables et stables pendant le stockage. Les films purs et les films mélangés peuvent servir de supports à des substances bioactives, telles que des antimicrobiens et/ou des antioxydants. Ces films peuvent aider à réduire la détérioration des aliments tout en prolongeant leur durée de vie [43].

La détérioration des aliments est un processus dans lequel les aliments se détériorent ou sont altérés, ce qui influe sur leur qualité et leur sécurité. De plus, les métabolites produits par les micro-organismes et les réactions d'oxydation peuvent détruire considérablement le pH, le goût (la rancidité) et la qualité nutritionnelle (perte de vitamines et d'acides gras essentiels) des aliments et génère des composés réactifs et toxiques qui constituent un danger pour les consommateurs [44]. Par conséquent, il existe une forte demande pour un emballage alimentaire multifonctionnel capable de prédire les changements qualitatifs tout en inhibant la croissance microbienne et annulant les réactions d'oxydation.

Les emballages intelligents destinés à la surveillance en temps réel de la qualité des aliments sont de plus en plus populaires parmi les clients. Un emballage spécial fournit des informations sur la détérioration des produits en utilisant une fonction de détection pour enregistrer et surveiller leurs modifications en temps réel. Par exemple, des colorants naturels extraits de tissus végétaux tels que des anthocyanes sont appliqués pour indiquer par colorimétrie la variation du pH [45]. Leur changement de couleur est basé sur les modifications structurelles des anthocyanes à différents pH.

Les vitamines sont d'importants antioxydants naturels qu'il est proposé d'incorporer à l'emballage pour améliorer la stabilité à l'oxydation des lipides et prolonger la conservation des produits en raison de leur capacité à éliminer les radicaux libres [46].

Les huiles essentielles sont largement utilisées comme substance antimicrobienne dans les matrices à film en raison de leur forte activité contre les bactéries et les champignons. Leur activité antimicrobienne ne peut être expliquée par un seul mécanisme spécifique pour certaines substances, et dans d'autres cas, on ne le sait toujours pas, bien que dans la plupart d'entre eux, le mécanisme d'action soit normalement lié aux interactions entre les substances actives et la membrane cellulaire, ce qui entraîne des modifications de sa perméabilité et ensuite l'inhibition ou la réduction des micro-organismes [47].

Le but de cette étude est de caractériser des films intelligents en incorporant à la fois du curcuma (CUR) et de l'huile essentielle de cannelle (CAN) dans l'emballage des aliments et de tester leur capacité multifonctionnelle d'indication de couleur, d'activité antimicrobienne et/ou antioxydante. Tout d'abord, la résistance à l'eau des films AN-APV enrobé de CUR et/ou CAN est déterminée. Deuxièmement, la variation colorimétrique des films est caractérisée à différentes valeurs de pH allant de 1,0 à 14,0. Les activités antimicrobiennes des films sont testées pour trois microorganismes typiques dans les aliments, *Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger* et *Staphylococcus aureus*. Ainsi, le lait pasteurisé est utilisé comme modèle alimentaire pour tester l'indication de la couleur et l'activité antimicrobienne. L'activité antioxydante est testée en utilisant l'huile de tournesol. Les résultats montrent que les films intelligents rapportés ici montrent de bonnes capacités à la fois pour détecter et empêcher la détérioration des aliments. Enfin, les effets de l'incorporation de substances actifs dans des films de mélange d'AN-APV sur leur biodégradation sont étudiés. Des analyses gravimétriques, structurelles et visuelles ont également été analysées tout au long de la période de compostage.

2 Préparation du film (AN-APV)R-CUR-CAN

Les films sont préparés en utilisant le procédé de coulée. Des expériences préliminaires sont menées pour évaluer les concentrations maximales d'additifs pouvant être incorporés aux films, afin d'obtenir des matériaux homogènes, souples et faciles à manipuler.

- La solution d'amidon est préparée en dissolvant 1 g d'amidon dans 10 ml d'eau distillée tout en agitant sur un agitateur magnétique à 55°C. Ensuite, la solution d'amidon est chauffée à 80°C pendant 30 min supplémentaires jusqu'à ce que le polymère d'amidon soit complètement dissous.
- La solution d'alcool polyvinylique APV est préparée en dissolvant 1 g d'APV dans 10 ml d'eau distillée sous agitation magnétique à 95°C pendant 30 min jusqu'à dissolution complète.
- La solution de curcuma est préparée en dissolvant 5 mg de curcuma dans l'éthanol sous agitation magnétique à température ambiante.
- La solution de TMPS est préparée en dissolvant 25 mg de TMPS dans 1 ml d'eau distillée sous agitation magnétique.

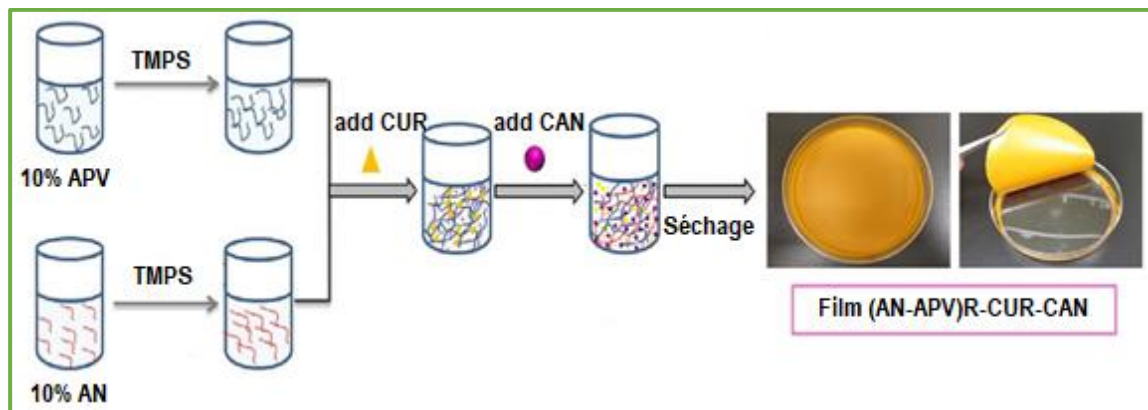


Figure 35 : illustration schématique du processus de préparation des films.

Le processus de préparation des films est présenté dans la [Figure 35](#). La solution finale pour la production du film est préparée en mélangeant les solutions d'amidon et d'APV dans un rapport de 3:5 (v/v) à 40°C sous agitation magnétique pendant 30 min (pour un film AN-APV). Pour les trois autres types de films, les solutions d'amidon et d'APV sont près mélangés avec 1 ml d'une solution de TMPS pour favoriser la réticulation (film réticulé (AN-APV)R). Ensuite, 5 ml de la solution de curcuma sont ajoutés et agités à 40°C pendant une heure supplémentaire (pour le film (AN-APV)R-CUR). Alternativement, trois

gouttes d'huile de cannelle peut également être ajoutée à la solution (pour le film (AN-APV)R-CUR-CAN). Les quatre types de solutions sont versés dans des boîtes de Pétri et placés dans un four pendant 12 h à 40°C pour éliminer le solvant. Les solutions sont ensuite stockées dans un dessiccateur avec une solution saturée de bromure de sodium pendant 48 h, donnant les films finaux. Les films sont conservés dans le dessiccateur.

3 Caractérisation des propriétés des films

Il est connu que les films d'amidon ne résistent pas à l'eau et ne possèdent pas des propriétés mécaniques suffisantes. Par conséquent, des polymères APV sont ajoutés aux films d'amidon afin d'améliorer leur hydrophobicité et leur résistance mécanique. Cependant, les films préparés à partir d'amidon et d'APV sans réticulation (AN-APV) se sont dissociés en morceaux après quelques minutes d'immersion dans l'eau (Figure 36 a). Pour améliorer leur résistance à l'eau, les polymères d'amidon et d'APV dans le film sont réticulés par le TMPS. La Figure 36 (b) montre que le film de (AN-APV)R est resté intact dans l'eau pendant plus de 3 mois.

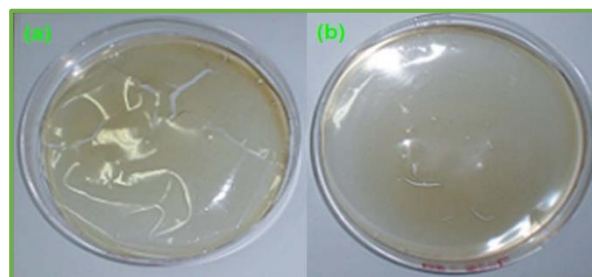


Figure 36 : photographies montrant les propriétés de résistance à l'eau des films AN-APV après 10 min (a) et (b) (AN-APV)R après 3 mois (b).

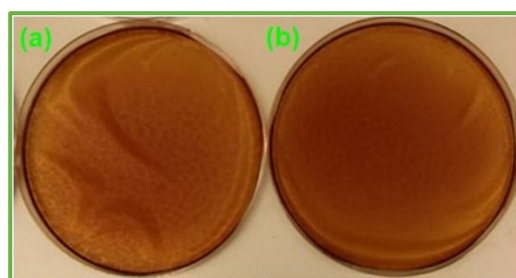


Figure 37 : photographies représentant les films (AN-APV)R-CUR (a) et (AN-APV)R-CUR-CAN (b).

Des réticulations sont induites entre les groupes hydroxyle de l'amidon (ou des polymères d'APV) avec du TMPS. Le réseau de polymères à double réticulation favorisé l'inter-pénétration de polymères réticulés dans le film. De cette manière, les films à double

réticulation restent non dissous dans l'eau. Par conséquent, la formulation de films d'amidon réticulé est choisie pour une exploration plus poussée. L'aspect des films à curcuma est présenté à la [Figure 37 \(a\)](#). Les films contenant du curcuma et de l'huile de cannelle sont représentés sur la [Figure 37 \(b\)](#). Le film (AN-APV)R-CUR semble plus fragile que le film (AN-APV)R-CUR-CAN. Cela peut être dû à la nature lipophile de l'huile de cannelle, qui offre plus de lubrification dans le film.

4 Indication de couleur par pH-réactivité

Le changement de couleur visible est mesuré en immergeant le film (AN-APV)R-CUR-CAN dans de l'eau ayant des valeurs de pH variable. Une fois que les films sont mis en contact avec des solutions à différents pH, un changement de couleur est détecté, les couleurs virent du jaune à l'orange et brune lorsque le pH est augmenté ([Figure 38](#)).

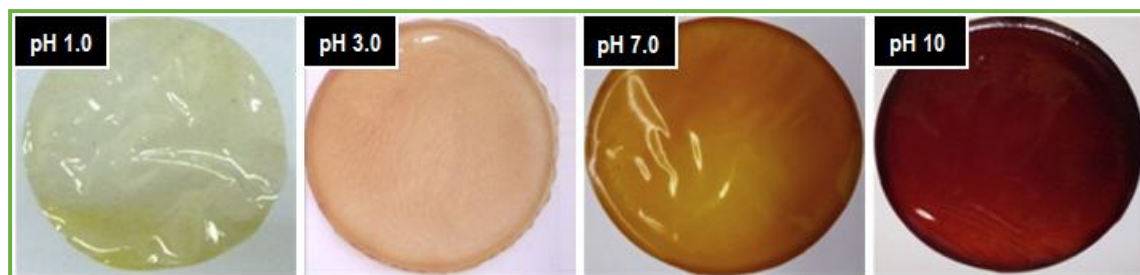


Figure 38 : réponse colorimétrique du film (AN-APV)R-CUR-CAN.

La couleur du film s'est fixée au jaune très clair à pH 1,0 et au rose à pH 3,0. Lorsqu'il est en contact avec la solution à pH neutre, le film présente une couleur orange tandis qu'à pH 10, il présente une teinte brune très perceptible. À $\text{pH} > 10$, le film présente une couleur brun foncé, cette couleur s'est intensifiée à mesure que le pH augmente ($> 12,0$).

5 Propriétés antimicrobiennes des films

B. subtilis, *S. aureus* et *A. niger* présentent les microorganismes indésirables les plus contaminés dans la viande, les produits laitiers et les fruits/légumes, respectivement. Ils ont donc été choisis comme micro-organismes indésirables typiques pour vérifier les activités antimicrobiennes de nos films. Les résultats pour les colonies après 72 h de traitement avec les différents films, sont illustrés à la [Figure 39](#).

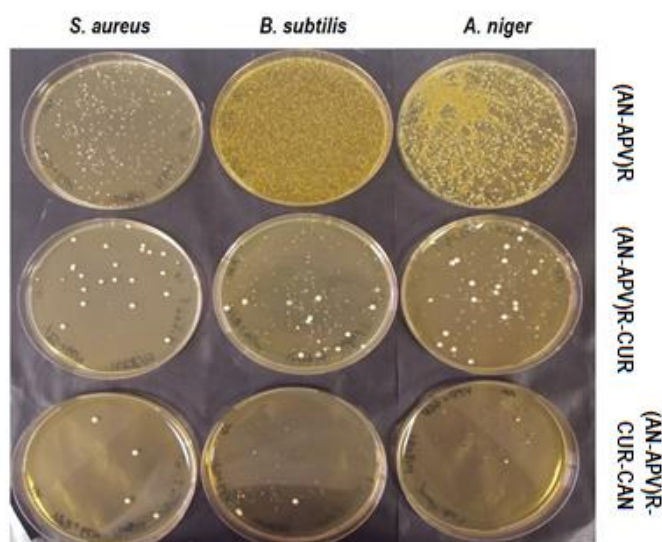


Figure 39 : photographies de bactéries cultivées en culture.

Les résultats montrent que les échantillons traités avec le film (AN-APV)R-CUR-CAN ont un nombre minimal de colonies et que ceux traités avec le film (AN-APV)R ont des colonies maximales. Cela indique que le CAN a joué un rôle important dans l'inhibition de la croissance microbienne. Le CUR a également un effet sur la croissance microbienne, mais très faible.

En général, le film (AN-APV)R indique le nombre maximal de colonies par rapport aux deux autres films. De toute évidence, le film (AN-APV)R-CUR-CAN contient un nombre beaucoup plus réduit de colonies parmi chacun des trois groupes. Ce résultat montre que le film (AN-APV)R-CUR-CAN contenant à la fois de curcuma et de l'huile de cannelle présente l'activité antimicrobienne la plus élevée par rapport aux films (AN-APV)R-CUR. Le film vierge de (AN-APV)R n'a pratiquement aucune activité antimicrobienne. En effet, l'huile de cannelle présent dans le film joue un rôle important dans l'activité antimicrobienne. Selon la littérature [48], l'huile de cannelle appartient à la famille des hydrocarbures monoterpènes cycliques, qui peuvent s'accumuler dans les membranes plasmiques microbiennes, entraînant une perte de l'intégrité de la membrane et la dissipation de la force motrice des protons.

6 Application potentielle du film

6.1 Test de détérioration du lait pasteurisé

Il est difficile de vérifier les variations de pH et l'effet d'inhibition sur trois types de microorganismes coexistant dans un même produit alimentaire. Nous avons donc choisi le lait pasteurisé pour tester la fonction du film, car il est pratique de réaliser l'expérience et d'observer facilement la détérioration de l'apparence. Le film intelligent développé ici est testé avec du lait pasteurisé stocké (pH 7) afin de tester son efficacité dans des applications pratiques. Les photographies sont prises au moment initial et conservées pendant 48 h à température ambiante. Comme le montre la **Figure 40**, les échantillons de lait sont tous détériorés à l'exception du film (AN-APV)R-CUR-CAN. En outre, le lait frais et contaminé peut être détecté par une indication de couleur du film placé au-dessus d'eux. Le film pour le lait détérioré présente une couleur jaune ou rose et une couleur orange pour le lait normal, en raison des variations de pH provoquées par l'acidification lors de la détérioration. Le pH du lait normal à pH 7,0 est abaissé à pH 6,0 ou 5,0. Elle peut être causée par la production d'acides lactiques par des bactéries se développant au début de la détérioration. Cela montre que l'huile de cannelle présente dans le film peut inhiber efficacement la croissance des bactéries lactiques au début de détérioration du lait pasteurisé.

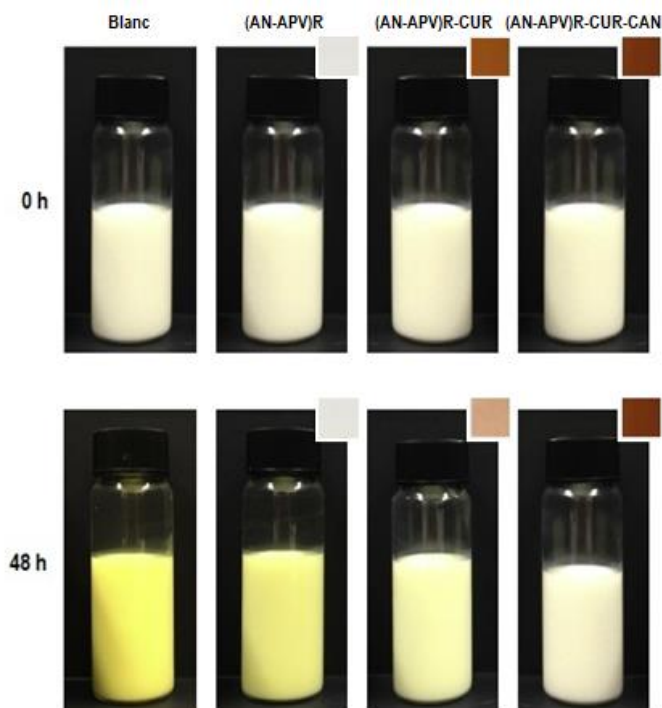


Figure 40 : photographies de lait pasteurisé après 48 h avec différents films.

Le large spectre d'activité antimicrobienne du CAN et le changement de couleur reconnaissable du CUR à différents pH ont contribué à l'intelligence de notre film pour le lait frais. De plus, le film doit avoir une large application dans divers types d'aliments tels que les produits à base de viande, de fruits et de légumes. Par exemple, le film peut empêcher la contamination de *B. subtilis* dans les produits à base de viande et indiquer le changement de pH dû aux acides lactiques ou aux acides organiques produits lors de la détérioration. De nombreux champignons pendant la détérioration des fruits et légumes peuvent être inhibés et la couleur modifiée peut être enregistrée. Nos résultats ont démontré que notre film peut servir d'indicateur de qualité et de conservateur pour divers produits alimentaires.

6.2 Test de stabilité de l'huile de tournesol

La Figure 41 présente l'évolution de l'indice de peroxyde (IP) exprimée en mEq/kg d'huile de tournesol conditionnée dans des sacs fabriqués avec les films contenant du CUR, des films sans CUR et de PE. Tous les films contenant du CUR ont retardé l'oxydation lipidique de l'huile de tournesol au cours de la période d'étude. L'huile de tournesol utilisée dans les tests présente une IP initiale de 1,2 mEq/kg et atteint des valeurs de 189 mEq/kg pour l'emballage de PE après 30 jours de stockage.

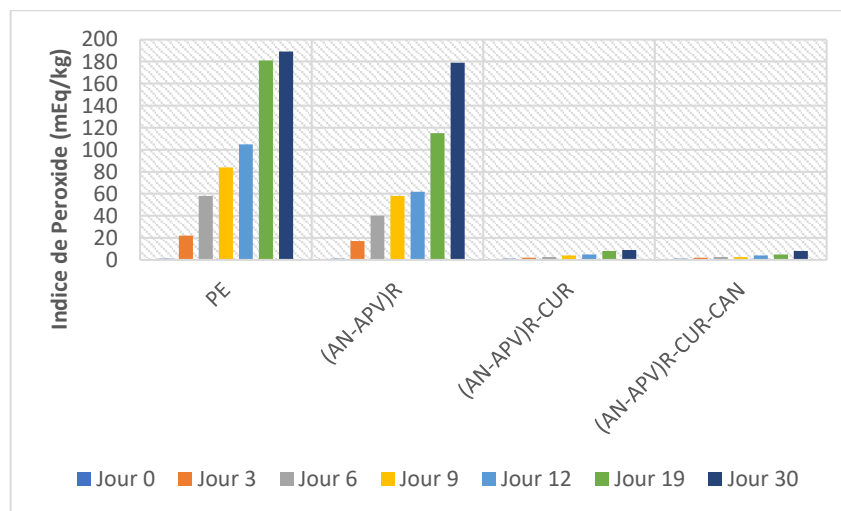


Figure 41 : IP de l'huile de tournesol stockée dans des conditions d'oxydation accélérée.

Les films avec CUR ont un effet protecteur plus important sur l'huile de tournesol par rapport aux autres emballages. Les films de (AN-APV)R-CUR et (AN-APV)R-CUR-CAN montrent un effet protecteur plus large et des IP de 9,04 mEq/kg et de 8,15 mEq/kg après 30 jours de stockage, respectivement inférieures à ceux établis par le Codex Alimentarius pour le pétrole raffiné (10 mEq/kg) [49]. Cet effet protecteur accru sur l'huile de tournesol est lié à l'activité antioxydante du CUR.

Au cours du processus d'oxydation, il se produit une formation de peroxydes (radicaux libres), due à la présence d'acides gras polyinsaturés pouvant être déterminés par l'IP. La formation des produits d'oxydation de l'huile de tournesol a augmenté pendant le stockage, qui se produit parallèlement au mécanisme d'oxydation et à la détermination de l'indice de peroxyde. Un autre facteur lié à l'instabilité est la teneur élevée en acide linoléique dans l'huile de tournesol, susceptible de réactions d'oxydation lorsqu'il est soumis à différents facteurs tels que la lumière et la température. Les résultats montrent le caractère protecteur des films avec CUR, en particulier le film (AN-APV)R-CUR-CAN, et une application potentielle en tant qu'emballage actif pour les aliments riches en lipides.

7 Comportement de la biodégradation

Le comportement de biodégradation de tous les films préparés est évalué à l'aide de tests gravimétriques et d'une évaluation macroscopique. Les valeurs calculées en pourcentage de perte de masse des films biodégradés avant 70 jours sont illustrées à la [Figure 42](#). Le processus de biodégradation après 70 jours s'est poursuivi lentement, jusqu'à ce que les films soient complètement biodégradés.

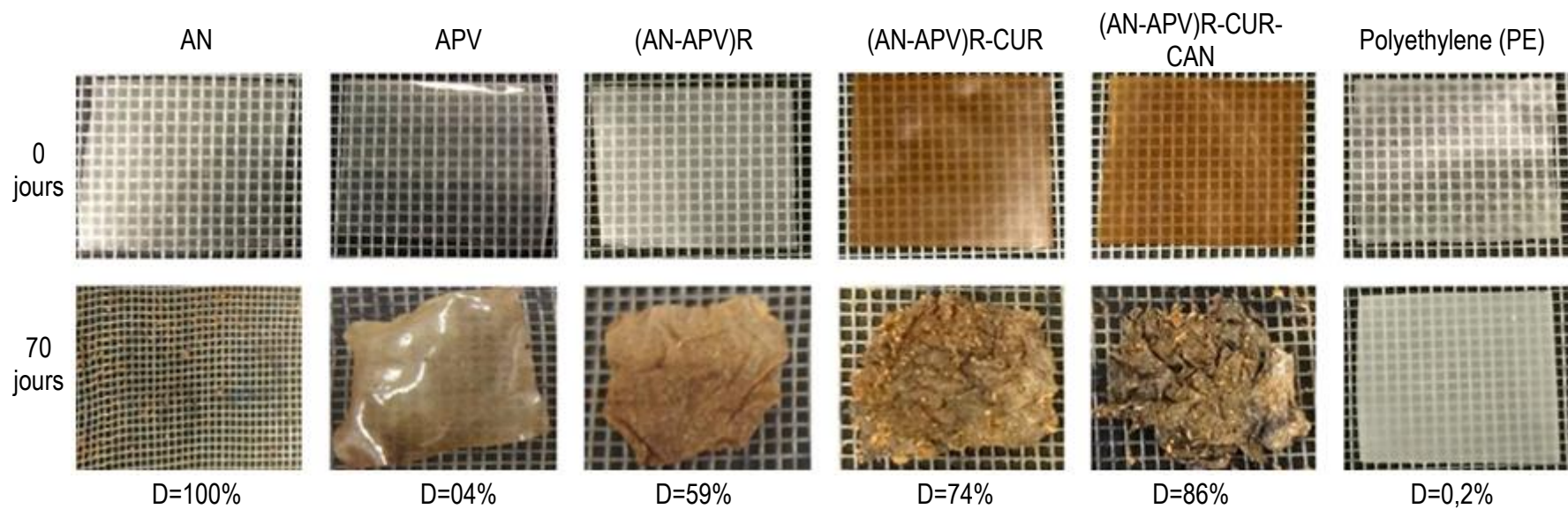


Figure 42 : aspect macroscopique et les résultats gravimétriques de la biodégradation dans le sol des différents films.

Le film APV pur montre un profil de dégradation très lent, alors que la dégradation du film AN pur est très rapide. Cette dégradation lente du APV peut être liée à une érosion de surface (pas en masse) de la matrice couplée à un clivage enzymatique des liaisons hydrolysables.

La cinétique d'érosion est principalement affectée par deux phénomènes majeurs : (i) la diffusion de l'eau pénétrant à travers le matériau polymère, et (ii) la vitesse de dégradation du squelette du polymère en présence d'eau. Si le processus de diffusion est plus rapide que le processus de dégradation, une érosion en masse se produira puisque l'eau pénètre à travers le matériau avant qu'une érosion importante ne se produise à la surface. Si le processus de dégradation est plus rapide que le processus de diffusion, une érosion de surface se produira car la surface du matériau se dégradera rapidement avant que l'eau ait le temps de se diffuser à travers le matériau. Dans le film APV, la diffusion de l'eau dans la matrice est très lente car il s'agit d'un matériau très hydrophobe.

La **Figure 42** montre que le film de (AN-APV)R présente un profil de dégradation intermédiaire entre celui montré par les films polymères purs en raison de la dégradation plus rapide de l'amidon, montrant ainsi que le polymère de vinyle (APV) n'a pas d'incidence sur l'assimilation microbienne du film sous l'exposition au compostage.

L'incorporation de substances actives a considérablement augmenté les valeurs de dégradation D (%). Plusieurs auteurs ont attribué cet effet à la résistance mécanique plus faible de ces échantillons, compte tenu du fait que la continuité du réseau de polymères est interrompue par la présence de gouttelettes d'huile/particules solides et les interactions plus faibles entre les chaînes de polymères, renforçant l'érosion de la matrice.

La **Figure 42** présente des images de morphologie caractéristique de films testés, où l'on peut observer le caractère dégradé différent des échantillons. Au début du processus, tous les films présentent une structure continue sans pores visibles. Il est également possible de constater que le film APV est plus transparent que le film AN. L'incorporation de CUR a conféré aux films une opacité et une couleur jaune.

Le film AN est complètement dégradé, alors que le film APV est partiellement dégradés. Les autres films ont présenté un comportement intermédiaire, comme indiqué ci-dessus. Après 70 jours, la biodégradation de la plupart des films est terminée. Par contre, aucun changement de couleur et/ou de morphologie de surface des films de polyéthylène n'est enregistré.

8 Conclusion

Les films biodégradables intelligents à base d'amidon-alcool polyvinylique comportant des fonctions d'indication colorimétrique et d'activité antimicrobienne/antioxydante a été préparé avec succès. Les résultats des tests d'altération sur les aliments montrent que le film peut empêcher la détérioration du lait tout en indiquant simultanément son pH et peut représenter un excellent antioxydant naturel pour les aliments à haute teneur en lipides comme l'huile de tournesol. Au-delà de ces caractéristiques, Les tests de résistance à l'eau et de biodégradabilité sont évalués. Les films d'AN-APV présentent un comportement de biodégradation intermédiaire entre ceux contenant des films d'AN et d'APV purs. L'ajout de CUR a amélioré la dégradation du film en raison de l'introduction de discontinuités structurelles dans le réseau de polymères. De même, l'huile de cannelle a légèrement diminué le taux maximal de biodégradation sans affecter le temps nécessaire pour atteindre ce maximum. Ainsi, ces composés actifs confèrent aux films des propriétés fonctionnelles supplémentaires tout en satisfaisant la demande actuelle des consommateurs pour des technologies respectueuses de l'environnement.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les liquides ioniques sont des composés de plus en plus utilisés pour leurs propriétés en tant que solvants et catalyseurs, qualifié de « verts ». Certains d'entre eux comme le Cl[BMIM] sont capables de dissoudre l'amidon en grande quantité. La solubilité de l'amidon dans le Cl[BMIM] est étudiée. La méthode turbidimétrique mise au point pour cette étude a permis de confirmer les valeurs de la littérature concernant la solubilité de l'amidon dans le Cl[BMIM].

L'optimisation des conditions de réaction d'éthérisation de l'amidon est réalisée avec succès dans le LI. Les conditions optimales pour obtenir une AÉ avec DS élevé (0,79) et ER raisonnable (79%) se sont révélées être à une concentration de 25% de NaOH avec un rapport molaire de CAS à UG de 1:1 pendant 1,5 h à 90°C. L'augmentation du rapport molaire CAS/UG a entraîné une augmentation du DS, mais à une valeur supérieure à 1:1, une diminution de la DS et de la ER est constatée. Le NaOH s'est avéré être un facteur important dans l'augmentation du DS et de l'ER. L'augmentation de la concentration de NaOH en solution augmente les DS et les ER mais seulement dans une certaine mesure. Une concentration plus élevée de NaOH a entraînée une diminution de ces deux valeurs. Les propriétés d'AÉ avec divers DS ont également été déterminées. Il est constaté que tous les échantillons d'AÉ sont complètement solubles dans l'eau froide et moins solubles en milieu acide.

Des différences marquées dans les propriétés des amidons natifs, à modification unique et à modification double sont observées dans la présente étude. La modification chimique de l'amidon en utilisant une seule méthode peut améliorer certaines propriétés fonctionnelles, mais en même temps, certaines propriétés utiles sont également perdues. Dans le présent travail, il est observé qu'en raison de l'éthérisation, le gonflement et la solubilité de l'amidon natif sont améliorés. De même pour les amidons réticulés, le gonflement et la solubilité se sont révélés inférieurs. Dans les amidons à double modification, toutes les propriétés se sont avérées meilleures que celles de l'amidon natif. L'ordre dans lequel les doubles modifications sont effectuées a également affecté les propriétés de l'amidon. Par conséquent, à partir de la présente enquête, on peut conclure que les propriétés spécifiques des amidons chimiquement modifiés pour convenir à des applications spécifiques, telles que les produits alimentaires nécessitant à la fois une stabilité au stockage à

froid ou une dureté plus élevée et une meilleure solubilité, peuvent être obtenus en appliquant deux méthodes différentes de modifications et en sélectionnant soigneusement leur ordre de modifications.

Les comprimés sont préparés par compression directe en utilisant un amidon modifié avec différents DS et ibuprofène en tant que médicament modèle. La variante DS du AÉ permet de varier les profils de libération. Les modèles de libération montrent une libération prolongée suivant le modèle cinétique de Korsmeyer-Peppas.

Les films biodégradables intelligents à base d'amidon-alcool polyvinylique comportant des fonctions d'indication colorimétrique et d'activité antimicrobienne/antioxydante a été préparé avec succès. Les résultats des tests d'altération sur les aliments montrent que le film peut empêcher la détérioration du lait tout en indiquant simultanément son pH et peut représenter un excellent antioxydant naturel pour les aliments à haute teneur en lipides comme l'huile de tournesol. Au-delà de ces caractéristiques, Les expériences de résistance à l'eau et de biodégradabilité sont évaluées. Ainsi, ces composés actifs (CUR et CAN) confèrent aux films des propriétés fonctionnelles supplémentaires tout en satisfaisant la demande actuelle des consommateurs pour des technologies respectueuses de l'environnement.


PARTIE EXPÉRIMENTALE

1 Matières premières

L'amidon de maïs utilisé dans cette thèse est fourni par Sigma-Aldrich. Il contient approximativement 25% d'amylose et 75% d'amylopectine. Dans les conditions de conservation, l'amidon de maïs contient environ $7.3\% \pm 0.1\%$ d'eau (valeur déterminée par gravimétrie).

Un certain nombre de caractéristiques des principaux réactifs utilisés dans cette étude, sont données dans le **Tableau 6**.

Tableau 6 : les propriétés physico-chimiques des réactifs.

	Cl[BMIM]	CAS	TMPS	APV	Fournisseur
Formule	$C_8H_{14}N_2O_2$	$C_2H_2ClNaO_2$	$Na_3O_9P_3$	$(CH_2CHOH)_n$	 SIGMA-ALDRICH
M ($g \cdot mol^{-1}$)	174.67	116.48	305.88	44,0526	
T _f (°C)	70	199	53	> 200	

2 Techniques physicochimiques

2.1 Solubilisation de l'amidon dans les LIs.

La dissolution de l'amidon est menée sous agitation jusqu'à obtention d'une solution libre de particules. La durée de dissolution dépend de la concentration de l'amidon dans le LI. Il faut, par exemple, 20 min pour dissoudre 2 grammes d'amidon dans 100 grammes de Cl[BMIM].

2.2 Solubilité dans l'eau froide et pouvoir gonflant

L'indice de pouvoir gonflant (IPG) ou la capacité de l'amidon à s'hydrater dans des conditions spécifiques et l'indice de solubilité dans l'eau (ISE) des amidons sont déterminés par la méthode décrite par [50]. L'échantillon d'amidon (1 g) est vigoureusement mélangé dans 100 ml d'eau dans un bol mélangeur et mélangés à basse vitesse pendant 3 min à 25°C et conservés à température ambiante pendant 2 h. La suspension d'amidon ensuite été transférée dans une bouteille à centrifuger et centrifugée à 4 000 tr pendant 15 min, et 5 ml du liquide surnageant sont évaporés dans un four à 105°C. Jusqu'à ce qu'une masse constante soit pesée.

La quantité de solides dans le surnageant séché par rapport au total des solides séchés dans l'échantillon initial de 1 g est un indicateur du ISE.

$$\text{ISE}(\%) = \left(\frac{\text{Poids de l'amidon soluble}}{\text{Poids de l'échantillon}} \right) \times 100$$

$$\text{IPG}(\%) = \left(\frac{\text{Poids de la pâte de sédiment}}{\text{Poids de l'échantillon}(100 - \text{ISE}\%)} \right) \times 100$$

2.3 Degré de substitution³ (DS)

Un poids connu de Na-AÉ est d'abord traité dans de l'acétone avec HCl 5 M pour obtenir la forme acide de H-AÉ. La dispersion est ensuite neutralisée par lavage avec plusieurs fois un mélange à 85% de l'éthanol-eau, suivi d'une filtration avec de l'acétone. Le filtrat est séché dans un four à 105°C pendant environ 5 h.

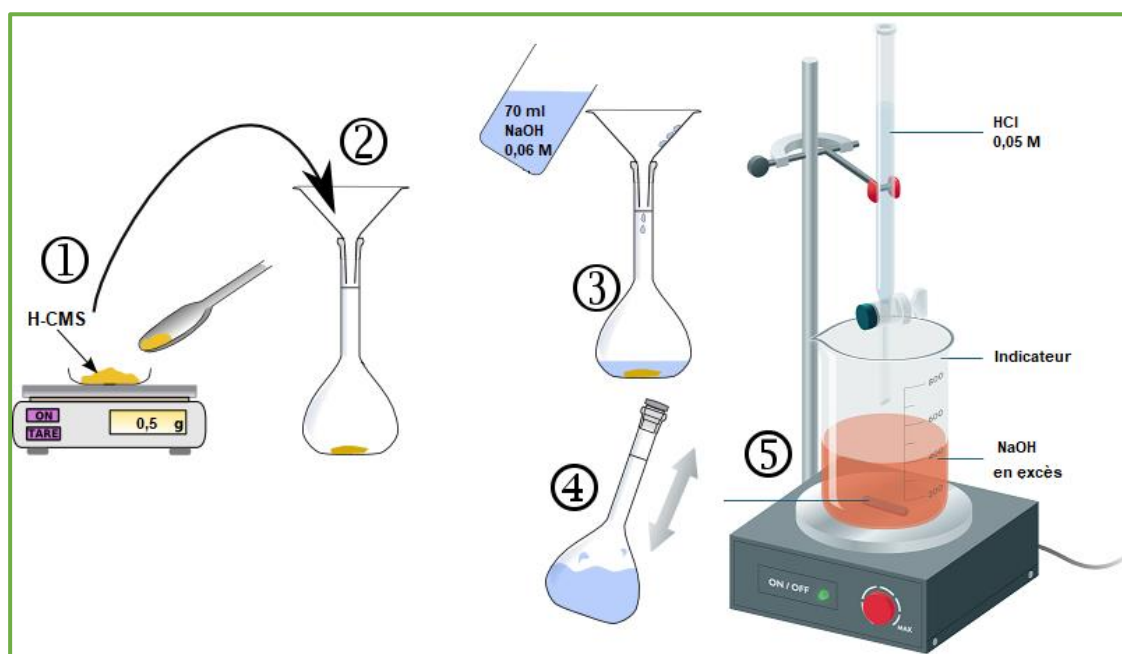


Figure 43 : montage de titration en retour.

Un poids connu de l'acide H-AÉ (0,5 g) est dissous dans 20 ml de solution de NaOH 0,2 M et 50 ml d'eau distillée ont également été ajoutés. L'alcali en excès est ensuite titré en retour (Figure 43) avec une solution standard de HCl 0,05 M en utilisant la phénolphthaléine comme indicateur. Le titrage est répété trois fois et la valeur moyenne du volume de HCl est utilisée pour les estimations. Un titrage à blanc a également été réalisé en parallèle. Le degré de substitution est calculé comme suit [51]:

³ Le degré de substitution (DS) d'AÉ est défini comme le nombre moyen de groupes carboxyméthyle par UG et se situe entre 0 et 3.

$$DS = \frac{162 \times n_{\text{COOH}}}{m_{\text{ds}} - 58 \times n_{\text{COOH}}}$$

Où 162 g/mol est la masse molaire d'une UG, 58 g/mol est le complément net de la masse d'une UG pour chaque groupe carboxyméthyle substitué, m_{ds} (en g) est la masse de l'échantillon sec d'amidon étherifié AÉ, n_{COOH} (en mol) est la quantité de COOH déterminée à partir de la valeur obtenue du volume d'équivalence de HCl en molarité connue :

$$n_{\text{COOH}} = (V_b - V)C_{\text{HCl}} \times 4$$

Où V et V_b sont le volume de HCl (en ml) utilisé pour le titrage de l'échantillon et du blanc, respectivement. C_{HCl} est la concentration d'acide chlorhydrique et la décimale 4 est le rapport entre le volume total de la solution (100 ml) et le volume pris pour le titrage (25 ml).

L'efficacité de la réaction (ER) est calculée selon la méthode de Kweon et al. (1996).

$$ER(\%) = \frac{DS}{n_{\text{CAS}}/n_{\text{UG}}} \times 100$$

Où n_{CAS} est le nombre de moles de CAS et, n_{UG} est le nombre de moles de UG.

2.4 Degré de réticulation (DR)

Un échantillon d'amidon (250 mg) est combiné à 20 ml d'eau dans un Erlenmeyer de 250 ml. De l'acide sulfurique (1 ml) et de l'acide nitrique concentré (5 ml) sont ajoutés et le mélange est bouilli dans une hotte jusqu'à l'obtention d'une solution transparente incolore et le volume est réduit à environ 2 ml. Après refroidissement, 20 ml d'eau et quelques gouttes de phénolphtaléine sont ajoutés à la solution. Une solution d'hydroxyde de sodium (6 M) est ajoutée goutte à goutte jusqu'à l'obtention d'un rose pâle stable et le volume est ajusté à 50 ml. La solution (10 ml) est soigneusement mélangée à 10 ml de réactif vanadate-molybdate. Au bout de 10 min, l'absorbance de la solution colorée est mesurée à 420 nm. Le pourcentage de phosphore (P) dans l'échantillon est calculé d'après la teneur en phosphore obtenue à partir de la courbe d'étalonnage. Le degré de réticulation (DC) peut ensuite être calculé comme suit [52] :

$$DR = 324P/(3100 - 96P)$$

2.5 Étude turbidimétrique.

La turbidité des binaires LIs/amidon est mesurée grâce à un turbidimètre de marque Hach Lange modèle 2100 N (Figure 44). Cet appareil mesure la turbidité des solutions à l'aide d'un faisceau de lumière blanche à 860 nm.



Figure 44 : photo du turbidimètre.

Pour l'étude de la solubilité maximale de l'amidon dans un LI, le protocole suivant est suivi : La mesure de la dissolution maximale de l'amidon est réalisée en ajoutant des quantités précises d'amidon (10 à 20 mg par ajout) dans une ampoule contenant le LI (environ 15 g) et équipé d'un barreau aimanté. La turbidité de l'échantillon ensuite été mesurée toutes les 15 min jusqu'à obtenir une valeur constante.

2.6 Analyse des propriétés de la poudre

L'étude des propriétés d'écoulement est importante pour évaluer les effets des paramètres de fonctionnement sur les propriétés du produit final, en particulier dans l'industrie pharmaceutique. L'écoulement de la poudre est un paramètre important dans la préparation des solides pharmaceutiques (comprimés). Cela dépend fortement de la morphologie des particules. Seule la poudre avec une bonne fluidité atteint un dosage uniforme dans la presse à comprimés, grâce à un bon flux de matière de la trémie au moule. La fluidité peut être évaluée par le ratio de Hausner (RH) et l'indice de compressibilité (IC) également appelé indice de Carr calculés respectivement à l'aide des équations déduites de la méthode USP [53]:

$$IC = \frac{\rho_T - \rho_A}{\rho_T} \times 100$$

$$RH = \frac{\rho_T}{\rho_A}$$

Où ρ_A est la densité apparente et ρ_T la densité tassée (g/m^3).

La densité apparente ρ_A , est une grandeur utilisée essentiellement avec les substances se présentant sous forme de granulés, afin de rendre compte de la masse de matériau contenue dans un volume donné, comprenant le volume d'air interstitiel. La densité tassée ρ_T ou densité apparente après tassement est la masse volumique d'un matériau granulaire qui est opposée à sa masse volumique apparente. Elle est obtenue suite au compactage ou au tapotement de ce matériau. Par conséquent, la fluidité de la poudre est excellente si $IC \leq 10$, bonne si $11 < IC < 15$, juste si $16 < IC < 20$, passable si $21 < IC < 25$ et finalement mauvaise si $IC > 25$. Le rapport de Hausner représente l'état de frottement entre particules. Plus la valeur RH est proche de 1, meilleure est la fluidité. En général, la mauvaise fluidité est observée lorsque le ratio RH est supérieur à 1,25 [53].

2.7 Évaluation des comprimés

Les comprimés préparés sont évalués pour la valeur de dureté (Sotax HT1, France, Figure 45), le pourcentage de friabilité (Erweka, France, Figure 45) et l'uniformité du contenu du médicament selon US Pharmacopeia [33].



Figure 45 : système de test de dureté et de friabilité.

2.8 Libération in-vitro du médicament

Les études de libération in vitro d'ibuprofène à partir des comprimés préparés ont été réalisées selon la US Pharmacopeia [33], en utilisant l'appareil de dissolution (testeur de dissolution DT 620, Erweka, France). Un comprimé a été placé dans chaque panier et immergé dans 500 ml de milieu de dissolution qui a tourné à 50 tr/min et maintenu à $37 \pm 0,5$ C (Figure 46). Le milieu de dissolution était un tampon phosphate de pH 6,8. Des

échantillons de 1 ml ont été prélevés à des intervalles de temps spécifiés et le volume a été compensé au volume initial en ajoutant du milieu de dissolution frais après chaque prélèvement. Les échantillons ont été dilués, puis filtrés à l'aide d'un filtre millipore (0,45 µm) et analysés par spectrophotométrie à 272 nm (Thermo spectronic scientific Helios, France).



Figure 46 : appareil de dissolution.

L'expérience est réalisée en trois fois. Le mécanisme de libération d'ibuprofène à partir des comprimés préparés au cours de la dissolution est déterminé à l'aide du modèle semi-empirique de Korsmeyer-Peppas [39, 40]:

$$M_t/M_\infty = Kt^n$$

Où M_t/M_∞ est la fraction de médicament libérée au temps t , K est une constante incorporant les caractéristiques structurales et géométriques de la matrice des comprimés, n est l'exposant de libération, indicatif du mécanisme de libération du médicament ; c'est la pente de la fraction libérée (%) logarithmique par rapport au temps (h) logarithmique ($\log M_t/M_\infty = f(\log t)$).

2.9 Indication de couleur par pH-réactivité

Les films (AN-APV)R-CUR-CAN sont plongés dans des solutions à pH différents pendant environ 5 min. Ensuite, les images du film sont acquises par un appareil photo numérique.

2.10 Activité antimicrobienne des films

Les microorganismes testés *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*), *Aspergillus niger* (*A. niger*) et *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) sont inoculés dans un bouillon nutritif et incubés dans un incubateur, pendant 24 h pour obtenir la croissance de la phase de logarithme. La culture de Lawn est préparée en étalant 0,1 ml d'inoculum sur le milieu nutritif en gélose. Les films

(AN-APV)R, (AN-APV)R-CUR, (AN-APV)R-CUR-CAN sont placés dans la plaque inférieure du milieu de diverses souches. Les plaques inoculées sont incubées dans un incubateur pendant 72 h à 37°C. Les films (AN-APV)R traités aux micro-organismes sont utilisés comme groupe témoin.

2.11 Activité antioxydante des films

L'effet antioxydant des films est analysé selon Liu et al [54], avec quelques modifications, grâce à la détermination de produits de l'oxydation de l'huile de tournesol sans addition d'antioxydants. L'analyse est réalisée dans des conditions d'oxydation accélérée, en stockant les échantillons dans une chambre sous la lumière fluorescente (900-1000 lux) (Luxometer VA Instrument, MS6610, France), humidité (60% HR) et température (30°C). L'indice de peroxyde (IP) est déterminé et des extinctions spécifiques à 232 nm (diènes conjugués) et 268 nm (triènes conjugués) sont déterminés.

2.12 Application potentielle du film (test d'altération des aliments)

2.12.1 Test de détérioration du lait pasteurisé

4 ml de lait pasteurisé sont placés dans une bouteille de stockage en verre couverte. Les films (AN-APV)R, (AN-APV)R-CUR, (AN-APV)R-CUR-CAN sont découpés en carrés et placés au fond de chaque bouteille. Des images sont prises après 48 h pour surveiller les changements dans le film et le lait. Le lait non traité est utilisé comme le blanc.

2.12.2 Test de stabilité de l'huile de tournesol

1 ml d'huile de tournesol dans laquelle les films sont scellés pour former des sacs (Figure 47).



Figure 47 : films en forme de sacs d'emballage d'huile de tournesol.

L'huile stockée dans le film d'amidon sans addition d'antioxydant (AN-APV)R et de polyéthylène (PE) sont utilisés comme outils de contrôles. Des échantillons d'huile sont prélevés à 0, 3, 6, 9, 12, 19 et 30 jours pour la détermination du IP en tant que produit d'oxydation. Trois répétitions sont effectuées pour chaque échantillon. Les résultats sont exprimés en milliéquivalents d'oxygène par kilogramme d'huile (mEq/kg).

2.13 Comportement de la biodégradation

Les films de polymère sont pris en sandwich entre deux couches d'un mélange de perlite broyée (100 g) et de terre (200 g) humidifiée avec 100 ml d'eau distillée (Figure 48). Les couches inférieure et supérieure sont remplies avec 60 g de perlite humidifiée avec 120 ml d'eau distillée. La perlite est ajoutée pour augmenter l'aération du sol et la quantité d'eau retenue.



Figure 48 : essai de dégradation de l'enfouissement au sol.

Les films sont retirés au bout de 70 jours, brossés doucement, lavés plusieurs fois avec de l'eau distillée et séchés sous vide à température ambiante jusqu'à poids constant. Le degré de dégradation est déterminé en évaluant les modifications de l'apparence physique, de la morphologie et de perte de poids. À titre de comparaison, un film de polyéthylène (PE) est placé dans le sol.

La perte de poids des films est évaluée en pesant l'échantillon avant et après le test de biodégradation. La perte de poids de l'échantillon avec le temps est utilisée pour indiquer le taux de dégradation lors de l'essai d'enfouissement dans le sol. Le pourcentage de perte de poids des films est calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$\%D = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100$$

Où m_i est la masse sèche initiale des films et m_f est la masse sèche du matériau résiduel.

3 Techniques de caractérisation

3.1 Diffraction rayon X (DRX)

Les structures cristallines de la poudre d'amidon traitée avec différents plastifiants sont étudiées à l'aide d'un analyseur XRD (Bruker Advance D8, France, Figure 49) réglé à 43 kV et 35 mA.



Figure 49 : photo du diffractomètre.

Les intensités des rayons X aux angles larges sont recueillies pour 2θ , allant de 5° à 50° . Les courbes sont obtenues en utilisant un détecteur de rayonnement $\text{Cu K}\alpha$ avec une vitesse de balayage de $3^\circ\text{C}/\text{min}$.

3.2 Infrarouge à transformation de Fourier (FT-IR)

Les spectres infrarouges à transformée de Fourier d'AN ou d'amidon modifié sont acquis sur un spectrophotomètre (Perkin Elmer, Mostaganem, Figure 50) en utilisant la technique du disque au bromure de potassium (KBr). Pour la mesure FT-IR, les échantillons sont mélangés avec du KBr anhydre et ont ensuite été compressés en pastilles minces en forme de disque. Le balayage est effectué entre 4000 et 400 cm^{-1} avec une résolution de 4 cm^{-1} de résolution pour chaque échantillon.



Figure 50 : photo du spectrophotomètre.

3.3 Résonance magnétique nucléaire du carbone 13 (RMN ^{13}C)

Le spectre RMN ^{13}C à large bande est obtenu sur un spectromètre (Bruker Avance, Turquie) en utilisant le sel de sodium de l'acide 3-(triméthylsilyl) propionique 2,2,3,3-d₄ comme référence interne et le D₂O comme solvant (Figure 51). L'amidon modifié est dégradé par dégradation ultrasonore à l'aide d'un appareil de dégradation par ultrasons W-450 sonificateur.



Figure 51 : photo du spectromètre RMN ^{13}C .

3.4 Spectroscopie par résonance magnétique nucléaire du phosphore 31 (RMN ^{31}P)

Chaque échantillon d'amidon est converti en phosphodextrines par digestion enzymatique avant spectroscopie RMN ^{31}P sur la base des méthodes publiées avec modification

mineure. Les spectres RMN ^{31}P découplés par protons sont acquis sur un appareil (Bruker Avance 300 WB, Turquie, [Figure 52](#)) fonctionnant à 121,5 MHz. Les expériences de RMN ^{31}P sont effectuées à 25°C en utilisant un délai de 9 s entre les impulsions. Des déplacements chimiques sont signalés en δ (ppm) par rapport au signal de référence de l'acide phosphorique externe à 85%.



Figure 52 : photo du spectromètre RMN ^{31}P .

3.5 Microscopie électronique à balayage (MEB)

La morphologie et la taille des granules d'amidon sont observées à l'aide de microscopie électronique à balayage (Philips XL 20 SEM, France) ([Figure 53](#)). L'amidon est déposé directement sur le tube d'aluminium à l'aide d'une bande adhésive conductrice de carbone à double face et l'amidon est revêtu d'or sous vide et examiné sous une tension d'accélération de 10 kV.

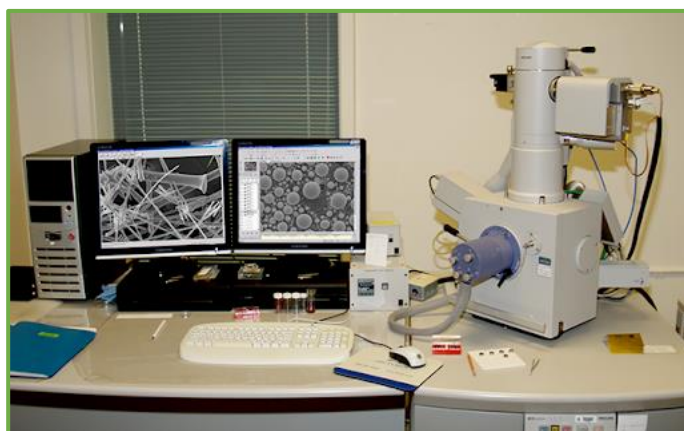


Figure 53 : photo de microscopie électronique à balayage (MEB).

3.6 Analyse thermique (DSC)

Les caractéristiques thermiques des amidons isolés sont déterminées à l'aide d'un calorimètre à balayage différentiel (DSC, modèle-821e, Mettler-Toledo, Suisse) (Figure 54). L'amidon (3,5 mg, poids sec) est chargé dans un bac en aluminium d'une capacité de 40 ml et de l'eau distillée est ajoutée à l'aide d'une micro seringue Hamilton pour obtenir une suspension d'amidon-eau contenant 70% d'eau. Les échantillons sont scellés hermétiquement et laissés au repos pendant 2 h à température ambiante avant d'être chauffés dans le DSC. L'analyseur DSC est étalonné à l'aide d'indium et un plateau en aluminium vide est utilisé comme référence. Les récipients d'échantillonnage sont chauffés à une vitesse de 10°C/min de 40 à 120°C. Température de début (T_o) ; température de pointe (T_p) ; la température de conclusion (T_c) et l'enthalpie de gélatinisation (ΔH_{gel}) sont calculées.



Figure 54 : photo de calorimètre à balayage différentiel.

Postface

J'ai trouvé ce travail de rédaction de thèse à la fois intéressant et instructif. Je suis fier des résultats que j'ai obtenus et suis ravi d'avoir mené à bien mon projet.

Le plan initialement conçu en janvier a évolué avec l'avancement de ma thèse. Au lieu de mener une étude seulement quantitative, j'ai finalement choisi d'ajouter une étude qualitative.

Mon directeur de thèse, Mr K. GUEMRA, a néanmoins su me convaincre de la nécessité de donner une nouvelle direction à mes recherches. Je lui ai fort heureusement fait confiance. J'ai en effet beaucoup appris en entreprenant puis en menant à bien ces études. De plus, j'ai appris à ne pas avoir peur de me retrouver en terrain inhabituel, car c'est justement dans ce type de situation que l'on apprend le plus.

Au sein de notre laboratoire, la prochaine étape consistera à appliquer les résultats de cette thèse. Des autres laboratoires m'a demandé de les aider lors de cette mise en œuvre et je me réjouis de travailler avec eux InshAllah.

RÉFÉRENCES

- [1] J. Zou, M. Xu, L. Wen, and B. Yang, "Structure and physicochemical properties of native starch and resistant starch in Chinese yam (*Dioscorea opposita* Thunb.)," *Carbohydrate Polymers*, p. 116188, **2020**.
- [2] N. Castanha, D. N. e Santos, R. L. Cunha, and P. E. D. Augusto, "Properties and possible applications of ozone-modified potato starch," *Food research international*, vol. 116, pp. 1192-1201, **2019**.
- [3] O. A. Adetunji, "Chemically Modified Starches as Excipients in Pharmaceutical Dosage Forms," in *Chemical Properties of Starch*: IntechOpen, **2019**.
- [4] I. Plazanet, R. Zerrouki, D. Montplaisir, C. Gady, B. Boens, and G. Costa, "effect of ionic liquids on dissolution and identification of wood polysaccharides," *Annals of Glycomics & Lipidomics*, **2018**.
- [5] H. Bakouri and K. Guemra, "Etherification and cross-linking effect on physicochemical properties of Zea mays starch executed at different sequences in 1-butyl-3-methylimidazolium chloride [BMIM] Cl ionic liquid media," *International journal of biological macromolecules*, vol. 125, pp. 1118-1127, **2019**.
- [6] K. Guo, L. Zhang, X. Bian, Q. Cao, and C. Wei, "A-, B-and C-type starch granules coexist in root tuber of sweet potato," *Food Hydrocolloids*, vol. 98, p. 105279, **2020**.
- [7] K. K. Singh, Y. Yadav, D. Kumar, A. Singh, and D. Goswami, "Study of Starch Using Bright Field and Polarized Light Microscopy," in *2019 Workshop on Recent Advances in Photonics (WRAP)*, **2019**: IEEE, pp. 1-2.
- [8] W. Wang, H. Wang, X. Jin, H. Wang, T. Lin, and Z. Zhu, "Effects of hydrogen bonding on starch granule dissolution, spinnability of starch solution, and properties of electrospun starch fibers," *Polymer*, vol. 153, pp. 643-652, **2018**.
- [9] W. Wu *et al.*, "A new characterization methodology for starch gelatinization," *International journal of biological macromolecules*, vol. 125, pp. 1140-1146, **2019**.
- [10] C. R. Mapengo, S. S. Ray, and M. N. Emmambux, "Pasting properties of hydrothermally treated maize starch with added stearic acid," *Food chemistry*, vol. 289, pp. 396-403, **2019**.
- [11] M. Zdanowicz, T. Szychaj, and H. Mała, "Imidazole-based deep eutectic solvents for starch dissolution and plasticization," *Carbohydrate polymers*, vol. 140, pp. 416-423, **2016**.
- [12] C. Zhang, S.-T. Lim, and H.-J. Chung, "Physical modification of potato starch using mild heating and freezing with minor addition of gums," *Food hydrocolloids*, vol. 94, pp. 294-303, **2019**.
- [13] F. Haq *et al.*, "Advances in chemical modifications of starches and their applications," *Carbohydrate research*, vol. 476, pp. 12-35, **2019**.
- [14] X. He *et al.*, "Preparation and Characterization of Amphiphilic Composites Made with Double-Modified (Etherified and Esterified) Potato Starches," *Starch-Stärke*, vol. 71, no. 9-10, p. 1900089, **2019**.
- [15] S. Wang, B. Zhang, T. Chen, C. Li, X. Fu, and Q. Huang, "Chemical cross-linking controls in vitro fecal fermentation rate of high-amylose maize starches and regulates gut microbiota composition," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2019**.
- [16] N. Russ, B. I. Zielbauer, M. Ghebremedhin, and T. A. Vilgis, "Pre-gelatinized tapioca starch and its mixtures with xanthan gum and ι-carrageenan," *Food hydrocolloids*, vol. 56, pp. 180-188, **2016**.
- [17] S. Singhal, S. Agarwal, M. Singh, S. Rana, S. Arora, and N. Singhal, "Ionic liquids: Green catalysts for alkene-isoalkane alkylation," *Journal of Molecular Liquids*, **2019**.
- [18] R. L. Vekariya, "A review of ionic liquids: Applications towards catalytic organic transformations," *Journal of Molecular Liquids*, vol. 227, pp. 44-60, **2017**.
- [19] J. Claus, F. O. Sommer, and U. Kragl, "Ionic liquids in biotechnology and beyond," *Solid State Ionics*, vol. 314, pp. 119-128, **2018**.

- [20] A. Biswas, R. Shogren, D. Stevenson, J. Willett, and P. K. Bhowmik, "Ionic liquids as solvents for biopolymers: Acylation of starch and zein protein," *Carbohydrate polymers*, vol. 66, no. 4, pp. 546-550, **2006**.
- [21] W. Abdussalam-Mohammed, A. Qasem Ali, and A. O Errayes, "Green Chemistry: Principles, Applications, and Disadvantages," *Chemical Methodologies*, **2020**.
- [22] Z. Luo and Z. Zhou, "Homogeneous synthesis and characterization of starch acetates in ionic liquid without catalysts," *Starch-Stärke*, vol. 64, no. 1, pp. 37-44, **2012**.
- [23] K. Sangseethong, P. Chatakanonda, R. Wansuksri, and K. Sriroth, "Influence of reaction parameters on carboxymethylation of rice starches with varying amylose contents," *Carbohydrate polymers*, vol. 115, pp. 186-192, **2015**.
- [24] W. Yanli, G. Wenyan, and L. Xia, "Carboxymethyl Chinese yam starch: synthesis, characterization, and influence of reaction parameters," *Carbohydrate Research*, vol. 344, no. 13, pp. 1764-1769, **2009**.
- [25] S. Lee *et al.*, "Carboxymethylation of corn starch and characterization using asymmetrical flow field-flow fractionation coupled with multiangle light scattering," *Journal of Chromatography A*, vol. 1217, no. 27, pp. 4623-4628, **2010**.
- [26] Y. Sang, O. Prakash, and P. A. Seib, "Characterization of phosphorylated cross-linked resistant starch by ³¹P nuclear magnetic resonance (³¹P NMR) spectroscopy," *Carbohydrate polymers*, vol. 67, no. 2, pp. 201-212, **2007**.
- [27] P. Forssell, A. Hamunen, K. Autio, P. Suortti, and K. Poutanen, "Hypochlorite oxidation of barley and potato starch," *Starch-Stärke*, vol. 47, no. 10, pp. 371-377, **1995**.
- [28] J. Liu *et al.*, "Functional, physicochemical properties and structure of cross-linked oxidized maize starch," *Food Hydrocolloids*, vol. 36, pp. 45-52, **2014**.
- [29] J. W. Donovan, "Phase transitions of the starch-water system," *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, vol. 18, no. 2, pp. 263-275, **1979**.
- [30] M. Sánchez-Rivera, F. García-Suárez, M. V. Del Valle, F. Gutierrez-Meraz, and L. Bello-Pérez, "Partial characterization of banana starches oxidized by different levels of sodium hypochlorite," *Carbohydrate polymers*, vol. 62, no. 1, pp. 50-56, **2005**.
- [31] H.-X. Xiao, Q.-L. Lin, G.-Q. Liu, and F.-X. Yu, "A comparative study of the characteristics of cross-linked, oxidized and dual-modified rice starches," *Molecules*, vol. 17, no. 9, pp. 10946-10957, **2012**.
- [32] R. C. Rowe, P. Sheskey, and M. Quinn, *Handbook of pharmaceutical excipients*. Libros Digitales-Pharmaceutical Press, **2009**.
- [33] U. Pharmacopeia, "National Formulary [current revision]. Rockville, MD: US Pharmacopeial Convention," ed: Inc, **2016**.
- [34] A. Watkinson, K. Brain, and K. Walters, "The penetration of ibuprofen through human skin in vitro: vehicle, enhancer and pH effects," *Prediction of percutaneous penetration*, vol. 3, pp. 335-341, **1993**.
- [35] M. Nakano, N. NAKAZONO, and N. INOTSUME, "Preparation and evaluation of sustained release tablets prepared with α -starch," *Chemical and pharmaceutical bulletin*, vol. 35, no. 10, pp. 4346-4350, **1987**.
- [36] J. Herman and J. Remon, "Modified starches as hydrophilic matrices for controlled oral delivery. II. In vitro drug release evaluation of thermally modified starches," *International journal of pharmaceuticals*, vol. 56, no. 1, pp. 65-70, **1989**.
- [37] J. Mulhbachter, P. Ispas-Szabo, M. Ouellet, S. Alex, and M. A. Mateescu, "Mucoadhesive properties of cross-linked high amylose starch derivatives," *International journal of biological macromolecules*, vol. 40, no. 1, pp. 9-14, **2006**.
- [38] K. Sangseethong, S. Ketsilp, and K. Sriroth, "The role of reaction parameters on the preparation and properties of carboxymethyl cassava starch," *Starch-Stärke*, vol. 57, no. 2, pp. 84-93, **2005**.
- [39] R. W. Korsmeyer, R. Gurny, E. Doelker, P. Buri, and N. A. Peppas, "Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers," *International journal of pharmaceuticals*, vol. 15, no. 1, pp. 25-35, **1983**.
- [40] N. Peppas, "Analysis of Fickian and non-Fickian drug release from polymers," *Pharmaceutica Acta Helveticae*, vol. 60, no. 4, pp. 110-111, **1985**.

- [41] P. Colombo, R. Bettini, P. Santi, and N. A. Peppas, "Swellable matrices for controlled drug delivery: gel-layer behaviour, mechanisms and optimal performance," *Pharmaceutical science & technology today*, vol. 3, no. 6, pp. 198-204, **2000**.
- [42] C. Maderuelo, A. Zarzuelo, and J. M. Lanao, "Critical factors in the release of drugs from sustained release hydrophilic matrices," *Journal of controlled release*, vol. 154, no. 1, pp. 2-19, **2011**.
- [43] K. Thakur, A. Rajhans, and B. Kandasubramanian, "Starch/PVA hydrogels for oil/water separation," *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 26, no. 31, pp. 32013-32028, **2019**.
- [44] Z. MATEJČEKOVÁ, S. Spodniakova, M. KOŇUCHOVÁ, D. Liptakova, and L. VALÍK, "In vitro growth competition of *Lactobacillus plantarum* HM1 with pathogenic and food spoilage microorganisms," *Journal of Food & Nutrition Research*, vol. 58, no. 3, **2019**.
- [45] S. Mohammadlinejad, H. Almasi, and M. Moradi, "Immobilization of Echium amoenum anthocyanins into bacterial cellulose film: A novel colorimetric pH indicator for freshness/spoilage monitoring of shrimp," *Food Control*, vol. 113, p. 107169, **2020**.
- [46] C. R. Sonar *et al.*, "Investigating thermal and storage stability of vitamins in pasteurized mashed potatoes packed in barrier packaging films," *Food Packaging and Shelf Life*, vol. 24, p. 100486, **2020**.
- [47] S. Ataei, P. Azari, A. Hassan, B. Pinguang-Murphy, R. Yahya, and F. Muhamad, "Essential Oils-Loaded Electrospun Biopolymers: A Future Perspective for Active Food Packaging," *Advances in Polymer Technology*, vol. 2020, **2020**.
- [48] E. Elcocks, P. Spencer-Phillips, and E. Adukwu, "Rapid bactericidal effect of cinnamon bark essential oil against *Pseudomonas aeruginosa*," *Journal of Applied Microbiology*, vol. 128, no. 4, pp. 1025-1037, **2020**.
- [49] C. Alimentarius, "Codex Alimentarius-International food standards. Retrieved February 10, 2019," ed, **2019**.
- [50] S. Senanayake, A. Gunaratne, K. Ranaweera, and A. Bamunuarachchi, "Effect of heat moisture treatment conditions on swelling power and water soluble index of different cultivars of sweet potato (*Ipomea batatas* (L). Lam) starch," *ISRN Agronomy*, vol. 2013, **2013**.
- [51] K. Kaczmarek, S. Żymankowska-Kumon, Ł. Byczyński, B. Grabowska, A. Bobrowski, and S. Cukrowicz, "Thermoanalytical studies (TG–DTG–DSC, Py–GC/MS) of sodium carboxymethyl starch with different degrees of substitution," *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, vol. 138, no. 6, pp. 4417-4425, **2019**.
- [52] C. Hirschl *et al.*, "Determining the degree of crosslinking of ethylene vinyl acetate photovoltaic module encapsulants—A comparative study," *Solar energy materials and solar cells*, vol. 116, pp. 203-218, **2013**.
- [53] T. Hao, "Understanding empirical powder flowability criteria scaled by Hausner ratio or Carr index with the analogous viscosity concept," *RSC Advances*, vol. 5, no. 70, pp. 57212-57215, **2015**.
- [54] J. Liu, C.-g. Meng, S. Liu, J. Kan, and C.-h. Jin, "Preparation and characterization of protocatechuic acid grafted chitosan films with antioxidant activity," *Food Hydrocolloids*, vol. 63, pp. 457-466, **2017**.



ELSEVIER

International Journal Of Biological Macromolecules

Certificate of publication for the article titled:

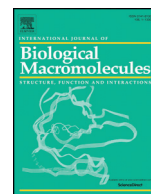
"Etherification and cross-linking effect on physicochemical properties of Zea mays starch executed at different sequences in 1-butyl-3-methylimidazolium chloride [BMIM]Cl ionic liquid media"

Authored by:

**Hichem Bakouri
Kaddour Guemra**

Published in:

Volume 125C, 2019, Pages 1118-1127



Review

Etherification and cross-linking effect on physicochemical properties of *Zea mays* starch executed at different sequences in 1-butyl-3-methylimidazolium chloride [BMIM]Cl ionic liquid media

Hichem Bakouri *, Kaddour Guemra

Department of Chemistry, Laboratory of Macromolecular Physical Organic Chemistry, Djillali Liabes University, BP89 City El Arbi Ben Mhidi, Sidi Bel Abbas, Algeria

ARTICLE INFO

Article history:

Received 20 June 2018

Received in revised form 8 December 2018

Accepted 16 December 2018

Available online 18 December 2018

Keywords:

Etherification

Cross-linking

Starch

Ionic liquid

ABSTRACT

In this paper, Single and dual modification with etherification and Cross-linking of *Zea mays* starch were homogeneously carried out and in [BMIM]Cl ionic liquid media (IL), an excellent solvent for the starch modification using sodium monochloroacetic acid and sodium trimetaphosphate in different sequences. Characteristics analyzed indicated modification of starch which was further confirmed by determining a high degree of etherification (0.79) and Cross-linking (91.2%) could be achieved at short time scale in [BMIM]Cl, which is apparently due to the excellent dissolving capacity and catalytic effect of IL. Temperature showed a positive effect on swelling power and water solubility indexes of native and modified starches, however in Cross-linked starch the swelling power decreased. A considerable reduction in amylose content was noticed after modification except for Cross-linked starch. FT-IR and NMR analyses confirmed the modification of starch. Furthermore, the results of XRD and a SEM revealed that the crystallinity and the morphology of the native *Zea mays* starch was slightly changed throughout its modification in IL and was completely destroyed. Studies on the phase transitions associated with gelatinization using a DSC showed higher enthalpy values for Cross-linked starch and dual modified starches as compared to native and etherified starch.

© 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.

Contents

1.	Introduction	1119
2.	Materials and methods	1119
2.1.	Materials and chemicals.	1119
2.2.	Starch modification	1120
2.2.1.	Preparation of the mixture Ionic Liquid and Native Starch (IL + NS).	1120
2.2.2.	Preparation of etherified starch (ES)	1120
2.2.3.	Preparation of Cross-linked starch (CS)	1120
2.2.4.	Preparation of dual modified starch	1120
2.3.	Degree of etherification (D_e) and Cross-linking (D_c)	1120
2.4.	Physicochemical properties	1120
2.5.	Scanning Electron Microscope (SEM) analysis	1120
2.6.	X-ray diffraction (XRD) analysis	1120
2.7.	Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy	1121
2.8.	Carbon-13 nuclear magnetic resonance (^{13}C NMR) spectroscopy	1121
2.9.	Phosphorus-31 nuclear magnetic resonance (^{31}P NMR) spectroscopy	1121
2.10.	Differential Scanning Calorimetry (DSC) analysis	1121
3.	Results and discussions	1121
3.1.	Dissolution mechanisms of NS in IL.	1121
3.2.	D_e and D_c values	1121

* Corresponding author.

E-mail address: hichem.bakouri@univ-mosta.dz (H. Bakouri).

3.3.	Physicochemical properties	1121
3.4.	Morphological characteristics	1121
3.5.	X-ray diffraction analysis	1122
3.6.	FT-IR characterization	1122
3.7.	¹³ C NMR characterization	1124
3.8.	³¹ P NMR characterization	1124
3.9.	Thermal properties	1125
4.	Conclusion	1125
	References	1126

1. Introduction

More recently, the development of new products and materials stand on natural, non-petrochemical resources is continually increasing. Renewable biomaterials, such as starch and its derivatives are biodegradable, easily available, safe and subsequently attractive materials. Because starch is less expensive than most other biomaterial resources, it has diverse applications in textile, plastics, paper, food as well as in biomedical engineering industries. Native starch is characterized by high delicacy and an incompatibility with hydrophobic polymers. It also has a low moisture resistance, meaning it has low processing qualities (due to high viscosity), low solubility and is intensely hydrophilic. These properties can notably limit the use of a starch to obtain a new type of material. Therefore, various types of modifications have been realized to improve the mechanical properties of starch and its hydrophilization [1]. The conventional way to improving the functionality of starch is chemical modification which results in altered physicochemical properties by including new functional groups in starches. The chemical modification of starches is frequently carried out by derivatization such as etherification, esterification, Cross-linking and decomposition reactions such as acid or enzymatic hydrolysis and oxidation, acetylation [2].

In etherified starch, as shown in Fig. 1, some of hydroxyl groups in anhydroglucose unit (AGU) are substituted with ether groups, which can suppress the formation of hydrogen bonding between the hydroxyl groups of starch, leading to an amelioration in the water resistance. In the previous literature, many variety of starch, such as potato starch [3], cocoyam starch [4], water yam starch [5], cassava starch [6], have been used as materials for the etherification reaction of starches.

Cross-linking or phosphorylation is the other traditionally used method for chemical modification of starches by introducing inter- and intramolecular bonds at random regions of starch molecule (Fig. 1). It reinforces the starch granules, increases resistance to acid, heat, shearing and moderates their tendency to rupture and solubilize [7]. Common Cross-linking agents currently used are phosphoryl chloride (POCl₃), sodium tripolyphosphate (STPP), sodium trimetaphosphate (STMP), epichlorohydrin, a mixture of adipic acid and acetic anhydride and vinyl chloride [8]. Epichlorohydrin possesses toxic nature and even small amount of its unreacted fraction may lead to toxic side effects, so, STMP has been proposed as non-toxic and qualified Cross-linking agent for starch [9]. However, part of researchers has combined different modifications and tagged them as dual modifications resulting in varied characteristics of starches. Some researchers have studied the effect of dual modification on maize, potato and rice starches [10,11].

Different solvent systems such as water [12], water-miscible organic solvent [13] and dimethyl sulphoxide [14] are used for the synthesis of etherified starch. However, the use of solvents also has some disadvantages and limitations, such as flammability, volatility and high levels of toxicity. Therefore, it has become important to aim for an environmentally friendly solvent.

A few years ago, researchers explored some ionic liquids (ILs), which have been widely selling as “green solvents”, are considered to be environmentally sympathetic solvents after all they are practically non-flammable, non-volatile, they dissolve well organic and inorganic compounds and have a good thermal and chemical stability [15]. One of the first of these IL was 1-butyl-3-methylimidazolium chloride, which was used during the chemically catalyzed synthesis of a starch acetate using acetic anhydride [16].

Up to now, few reports are available on chemical modification of starch [11,17], there are no published data on dual chemical modification of *Zea mays* starch in ILs. Thus, the objectives of this study were to prepare dual-modified of *Zea mays* starches, each of carboxymethylation and Cross-linking executed in different sequences, and to compare the physicochemical properties of native, etherified, Cross-linked, and dual-modified starches.

2. Materials and methods

2.1. Materials and chemicals

Unmodified regular corn (*Zea mays*) starch used containing approx. 25% amylose and 75% amylopectin, was obtained from Sigma Aldrich and dried at 50 °C for 24 h before reaction to remove the moisture prior use. 1-Butyl-3-methylimidazolium chloride [BMIM]Cl was purchased from Sigma Aldrich. All other chemicals were of analytical grade and used as received without further purification. Etherification and Cross-linking of starches were carried out using sodium monochloroacetic acid and sodium trimetaphosphate, respectively. The chemicals were purchased from Voigt Global Distribution Inc. and Sigma Aldrich.

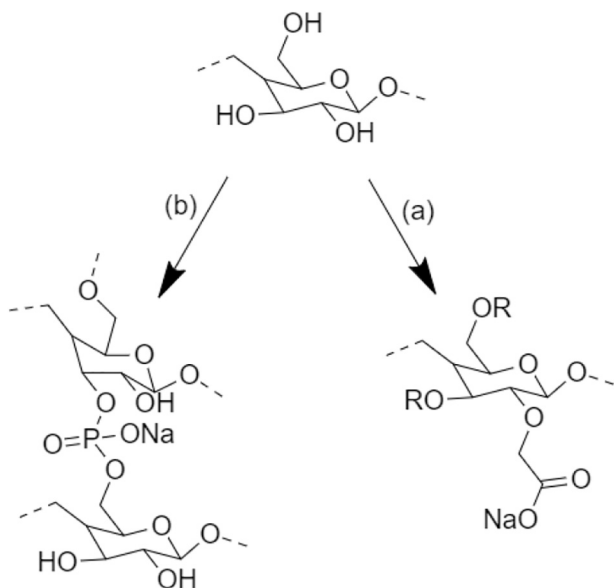


Fig. 1. Chemical reaction (a) etherification of starch. (b) Cross-linking of starch.

2.2. Starch modification

2.2.1. Preparation of the mixture Ionic Liquid and Native Starch (IL + NS)

Starch solution, 5% (w/w), was prepared by mixing *Zea mays* starch with [AMIM]Cl in a three-necked flask with a condenser and a magnetic stirrer, and the mixture was shortly stirred at 90 °C up to 1.5 h to ensure complete dissolution of starch granules under the protection of gaseous N₂.

2.2.2. Preparation of etherified starch (ES)

To the mixture (IL + NS), NaOH (the molar ratio of NaOH to AGU was 1.2) was added under stirring, reproduce a homogeneous transparent solution. Then the required quantities of sodium monochloroacetate (the molar ratio of SMCA to AGU was 1.00) were added at 90 °C, and the reaction ran for 180 min. After, the carboxymethylation reaction was permitted to proceed. Once the reaction had finished, the mixture, which was cooled to room temperature, was precipitated with ethanol (95 wt%, 100 mL) under stirring for 1 h, and then centrifuged at 3000 rpm for 40 min. The precipitate was washed with ethanol twice to eliminate IL. In conclusion, the product was dried at 45 °C in a vacuum oven for 1 h and the modified starch was achieved.

2.2.3. Preparation of Cross-linked starch (CS)

Cross-linking of starch was carried out using phosphoryl chloride (STMP) as Cross-linking agent. To the mixture, STMP was added at 0.10% and 1.5% of Na₂SO₄ based on dry weight of starch. The mixture was then adjusted to pH 11.0 by drop wise addition of 1 M NaOH during stirring. The slurry was stirred successively and warmed up to 50 °C and guarded at this temperature for 1.5 h. After the indicated Cross-linking time delayed, the slurry was then neutralized to pH 6.0 with 1 M HCl, and then washed thoroughly. The starch obtained was then washed and oven-drying at 45 °C.

2.2.4. Preparation of dual modified starch

Cross-linked etherified (CES) and etherified Cross-linked (ECS) starches were prepared using the methods for Cross-linking and carboxymethylation alternatively.

2.3. Degree of etherification (D_e) and Cross-linking (D_c)

A known weight of Na–CMS was first treated in acetone with 5 M HCl to obtain the acid form of H–CMS. The dispersion was then neutralized by washing with 85% (v/v) methanol–water mixture for several times, followed by washing with acetone and filtration. The filtrate was dried in an oven at 105 °C for about 5 h.

A known weight of the acid (0.5 g) was dissolved in 20 mL of 0.2 M NaOH solution and 50 mL of distilled water was also added. The excess alkali was then back-titrated with standard 0.05 M HCl solution using phenolphthalein as an indicator. The titration was repeated three times and the average value of the HCl volume was used for the estimations. A blank titration was also realized in parallel. The degree of etherification was calculated as follows:

$$D_e = \frac{162 \times n_{\text{COOH}}}{m_{\text{ds}} - 58 \times n_{\text{COOH}}} \quad (1)$$

where 162 g/mol is the molar mass of an AGU, 58 g/mol is the net supplement in the mass of an AGU for each carboxymethyl substituted, m_{ds} (in g) is the mass of dry ES sample, n_{COOH} (in mol) is the amount of COOH determined from the obtained value of the equivalent volume of known molarity HCl equable:

$$n_{\text{COOH}} = (V_b - V)C_{\text{HCl}} \times 4 \quad (2)$$

where V and V_b are the volume of HCl (in mL) employed for titration of sample and the blank, respectively. C_{HCl} is the concentration of

hydrochloric acid and the decimal 4 is the ratio of the total volume of the solution (100 mL) to the volume taken for titration (25 mL).

The relative degree of Cross-linking of modified starch was determined according to the effort of [7] working Rapid Visco Analyzer ((RVA-4). The relative D_c was calculated using the following mathematical statement:

$$D_c = \left(\frac{A-B}{A} \right) \times 100 \quad (3)$$

where, A is the peak viscosity of NS; B is the peak viscosity of CS.

2.4. Physicochemical properties

The swelling power index (SPI) or the ability of starch to hydrate under specific conditions and water solubility index (WSI) of starches were determined by the method described by [18] with slight modifications. The starch sample (0.6 g) was vigorously mixed in 40 mL of water in a pre-weighed centrifuge tubes and the mixture was heated at 60, 70, 80 and 90 °C for 30 min with continuous stirring to prevent lump formation. After cooling, the dispersion was centrifuged at 3000 rpm for 15 min. Then, the supernatant was carefully decanted in a pre-weighed petri dish and the residue thus obtained was weighted after one night in an oven-drying at 130 °C. The amount of solids in the dried supernatant with respect to the total dried solids in the original 0.6 g sample is an indicator of the WSI.

$$WSI(\%) = \left(\frac{\text{Weight of soluble starch}}{\text{Weight of sample}} \right) \times 100 \quad (4)$$

$$SPI(\%) = \left(\frac{\text{Weight of sediment paste}}{\text{Weight of sample}(100 - \% \text{Solubility})} \right) \times 100 \quad (5)$$

Amylose content was determined as stated in the colorimetric method described by [19]. The starch sample (70 mg) was placed in a test tube and 10 mL of urea (6 M)-DMSO solution (1:9) was added with continuous stirring. The samples were heated for 10 min in boiling water and placed in an oven at 100 °C for 1 h and then cooled at room temperature. Then 0.5 mL of the solution was taken into volumetric flask containing 25 mL distilled water 1 mL of I₂/KI (1000 mg KI and 100 mg I₂ in 50 mL distilled water) and final volume was made up to 50 mL using distilled water and mixed thoroughly. The absorbance was measured at 635 nm in a UV spectrophotometer.

2.5. Scanning Electron Microscope (SEM) analysis

Morphology and size of starch granules were observed using a Philips XL 20 SEM. Starch was directly deposited on aluminum stub using double-sided adhesive carbon conductive tape and starch was coated with gold in a vacuum and examined under an acceleration voltage of 10 kV.

2.6. X-ray diffraction (XRD) analysis

The X-ray diffraction patterns were recorded with D8 Focus X ray diffractometer equipped with a Ni-filtered Cu K_α radiation source with a wavelength of 0.154 nm. The measurements were operated at 40 kV and 35 mA.

The degree of crystallinity D_t was quantitatively estimated, following the method of [20]. The crystallinity was expressed for the mathematical estimation of the peak area under the curve in X-ray diffraction pattern. The D_t was calculated according to the equation:

$$D_t(\%) = \frac{A_t}{A_t + A_a} \times 100 \quad (6)$$

where D_t refers to the degree of crystallinity; A_t refers to the crystallized area on the X-ray diffractogram; A_a refers to the amorphous area on the X-ray diffractogram.

2.7. Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy

The Fourier transform infrared spectra of NS or modified starch were acquired on a PerkinElmer spectrophotometer using potassium bromide (KBr) disc technique. For FT-IR measurement, the samples were mixed with anhydrous KBr and were then compressed into thin disk-shaped pellets.

2.8. Carbon-13 nuclear magnetic resonance (^{13}C NMR) spectroscopy

The broad band ^{13}C NMR spectrum was obtained on a Bruker Avance spectrometer using 3-(Trimethylsilyl) propionic 2,2,3,3-d₄ acid sodium salt as internal reference and D₂O as solvent. Modified starch was degraded by ultrasonic degradation with a sonifier W-450 ultra-sonic degradation device.

2.9. Phosphorus-31 nuclear magnetic resonance (^{31}P NMR) spectroscopy

Each starch sample was converted to phosphodextrins by enzymatic digestion before ^{31}P NMR spectroscopy based on the published methods [21] with minor modification. The proton decoupled ^{31}P NMR spectra were acquired on a Bruker Avance 300WB operating at 121.5 MHz. The ^{31}P NMR experiments were performed at 25 °C using a delay of 9 s between pulses. Chemical shifts were reported in δ (ppm) from the reference signal of external 85% phosphoric acid.

2.10. Differential Scanning Calorimetry (DSC) analysis

Thermal characteristics of starches were determined using a differential scanning calorimeter Mettler-Toledo. Starch (3.5 mg, dry weight) was loaded into aluminum pan and deionized water was added. The pans were hermetically sealed and kept at room temperature for 2 h before analysis. Sample pans were heated at a rate of 10 °C/min from 40 to 120 °C.

3. Results and discussions

3.1. Dissolution mechanisms of NS in IL

In the dissolving mechanism of starch in IL, the oxygen and hydrogen atoms of OH in the starch chain act as electron donors and electron acceptors to form electron donor–acceptor complexes with the cations and anions of the ILs, respectively.

This interaction evenly destroyed the hydrogen bonds between different starch chains, produce the dissolution of starch in IL [22].

3.2. D_e and D_c values

Starch is constructed of linear amylose and branched amylopectin. The amylose is responsible for the amorphous region, while the branched amylopectin is associated with the crystalline region. As a result of the crystalline structure of starch, the reagents cannot easily penetrate into the granules. The heterogeneous modification, in which starches are generally kept in granular shape, is given to result in diminished degrees of modification value than a homogeneous one. As the *Zea mays* starch, NaOH, SMCA and STMP were soluble in the [BMIM]Cl, the etherification and Cross-linking reaction solution remained clear during the reaction and as follows a homogeneous modification could be acquired in this IL.

In this investigation, [BMIM]Cl acted as a reaction medium, relying on the disintegration of the crystalline granules of starch (Table 1). Suitably, the uniform substitution of modification reaction could be carried

Table 1
Degrees of etherification (D_e) and Cross-linking (D_c) of native and modified starch.

	NS	ES	CS	ECS	CES
D_e	–	0.79	–	–	–
D_c (%)	–	–	24.7	–	91.2

out by certifying the hydroxyl group of starch are more attainable to the reagents.

3.3. Physicochemical properties

WSI and SPI of all starches at different temperatures are shown in Figs. 2 and 3. Increases of WSI and SPI revealed as the temperature increased is because water penetrated into the more amorphous region of the starch granule and as the temperature increases the swelling of the amorphous phase stimulates the division of the crystalline region provoke elevated swelling.

The solubility of modified starches was observed inferior than native starch except for etherified starch. The decrease in swelling power and solubility of Cross-linked starches might be due to the incorporation of a phosphate group that is capable of arranging inter- and intra-molecular hydrogen bonds that act as a bridge between the starch chains, thereby increasing the resistance of the granules to swelling. The increase in swelling power and solubility of etherified starches might be due to the incorporation of a carboxymethyl group that is capable of disrupting inter- and intra-molecular hydrogen bonds in the starch chains, acting mainly on amorphous regions, thereby weakening the granular structure of starch and increasing the accessibility of the starch granules to water [10].

For the dual-modified starches, it was further observed that the sequence in which the modifications were effectuated played an important action in the solubility and swelling. The solubility of the dual-modified starches in which Cross-linking was executed first were found to be lower from the starches in which etherification was carried out first. For the swelling of dual-modified starches the aim was found to be opposite. The lowering of swelling probably due to depolymerization of amylopectin chains in Cross-linked starches reciprocal to etherified starches which resulted in a sponge such granule structure that is adequate to absorb water during heating but cannot save the absorbed water under centrifugation [23]. Therefore, the swelling of Etherified-Cross-linked starches was lower than the Cross-linked-etherified starches.

The amylose content differs as reported by the source, but conventionally varies from 15 to 25% in tubers and from 20 to 30% in cereals [24]. The amylose content has a crucial effect on the starch chemical properties and hence it will determine the starch functions [25]. The amylose content of native and modified *Zea mays* starches is represented in Fig. 4.

Were found to be lower than the NS which may be considering the introduction of the carboxyl groups in the amorphous regions which notably contains amylase [26]. Thus, the decrease in amylose content of Cross-linked starch might be attributed to inter-molecular bonding between amylose and amylopectin or between two amylose molecules.

3.4. Morphological characteristics

Morphological characteristics of starches like size and shape vary stand on the plant source. Besides the biological origin, the morphology of the starch granule depends on the biochemistry and metabolic routes take place in the amyloplast, as well as physiology of the plant and climatic and agronomic conditions under which they were grown [27].

As shown in Fig. 5, the surface of the *Zea mays* starch granules is uniform, without any deterioration or fissures. The starch granules were heterogeneous in size, round and polygonal in shape. However, the modified starch exhibited a very different morphology, where the

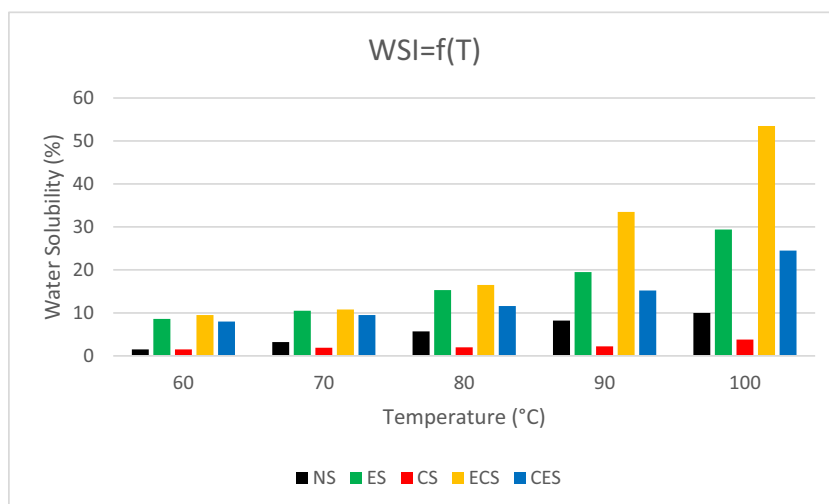


Fig. 2. Effect of temperature on water solubility index of native, etherified, Cross-linked, etherified Cross-linked and Cross-linked etherified *Zea mays* starches.

starch granules were totally destroyed, and lost their individuality and regularity. The morphological changes in the ether can be attributed to the effect of NaOH treatment and the IL as a reaction medium destroys the crystalline structure of the starch granules [28]. In case of etherified Cross-linked starch, the etherification might have caused surface fissures prior to Cross-linking. The Cross-linked and Cross-linked etherified (Fig. 5b, d) starches showed no alteration in the showing of starch granules, the Cross-linking would have resulted in reinforce of starch granules.

3.5. X-ray diffraction analysis

Enough of the information about starch granule crystalline properties can be obtained from X-ray diffraction studies. In general, the starches are classified as: (i) type A, associated essentially with cereal starches; (ii) type B, usually appearing in tuber starches; (iii) type C, a hybrid of A and B forms; and (iv) type V, where amylose is complexed with other non-carbohydrate compounds [29]. Also, according to the work of [29], the amylose content influences the pattern of starches diffractograms.

X-ray diffraction was achieved to investigate the difference in the crystallinity between the unmodified and the modified starch (Fig. 6). The NS displayed the diffraction peaks of typical A pattern of cereal starch at 2θ of 15.1° and 23.2° , and a doublet at 2θ of 17.0° and 18.1°

[30]. The XRD pattern changed hardly after the modification in the IL (i.e. the main signals change into less intense or partly disappeared). The intensities of the peaks obtained for modified starches are shorter than those of NS resulting in sharper peaks. The relative crystallinity was estimated as the ratio of above diffraction peak area (A_c) to the total diffraction area. The etherification resulted in a significant decrease in degree of crystallinity of etherified, etherified Cross-linked and Cross-linked etherified *Zea mays* starches (Fig. 4). Clearly, the loss of crystallinity could be associated to the effect of IL during the dissolution processes and thus authorizing the reagents to have more access to the starch molecules for the etherification processes and reduction of the intermolecular hydrogen bonds [31], which are responsible for an extremely ordered crystalline structure.

3.6. FT-IR characterization

The analysis of the FT-IR spectra was achieved in order to identify the major functional groups of starch (Fig. 7). For comparison, the fundamental region of NS is also inserted. As it can be seen, the spectrum presents a large strong band at $2900\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$ due to the stretching vibration of hydrogen-bonded hydroxyl groups. A short peak in the region of 2930 cm^{-1} is assigned to the stretching vibration of C—H bond from glucose. An important peak is that at 1645 cm^{-1} , which has been usually assigned to scissors vibrations of O—H coming from water of

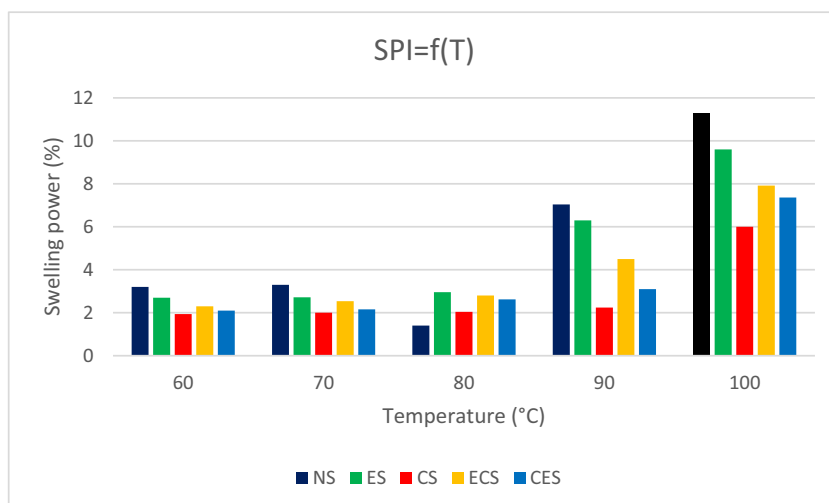


Fig. 3. Effect of temperature on swelling power index of native, etherified, Cross-linked, etherified Cross-linked and Cross-linked etherified *Zea mays* starches.

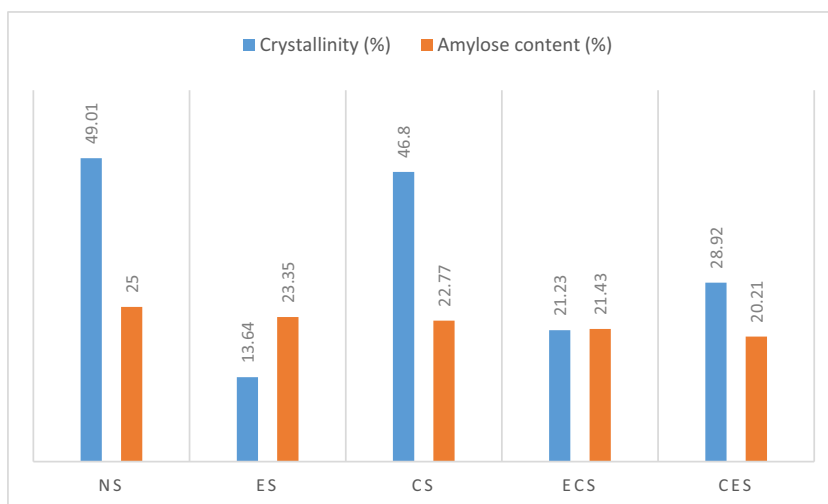


Fig. 4. Amylose content and relative crystallinity of samples.

hydration. The peaks at 1160 cm^{-1} , 1080 cm^{-1} and 1010 cm^{-1} are related to the stretching vibration of C—O—C and C—O—H from glycosidic bonds, characteristic of polysaccharides [32].

However, in the etherified starches, the broad peak at about $2900\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$ was reduced in intensity. Such a phenomenon may be due to the reduction in the number of hydroxyl groups, which have

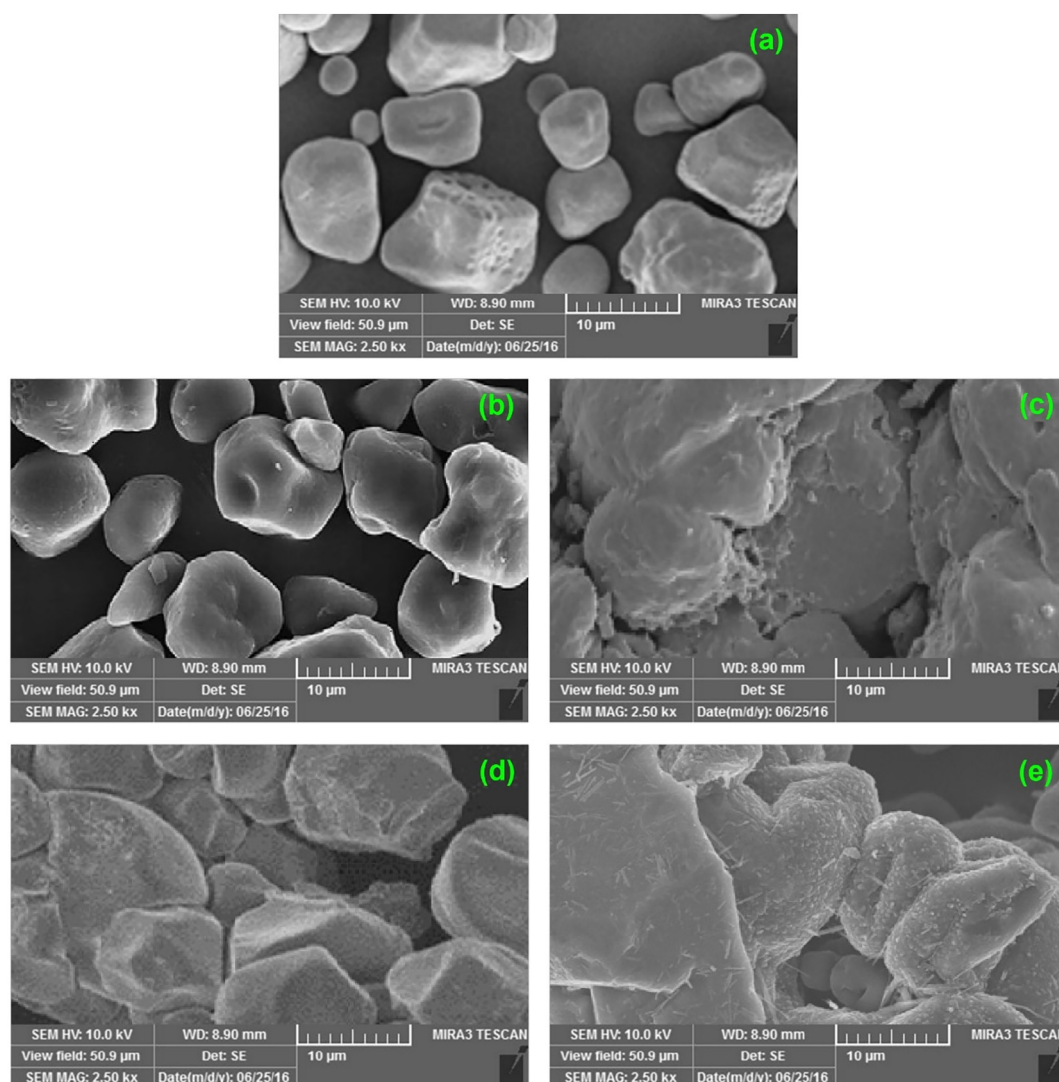


Fig. 5. Scanning electron micrographs of native (a), Cross-linked (b), etherified (c), Cross-linked etherified (d) and etherified Cross-linked (e).

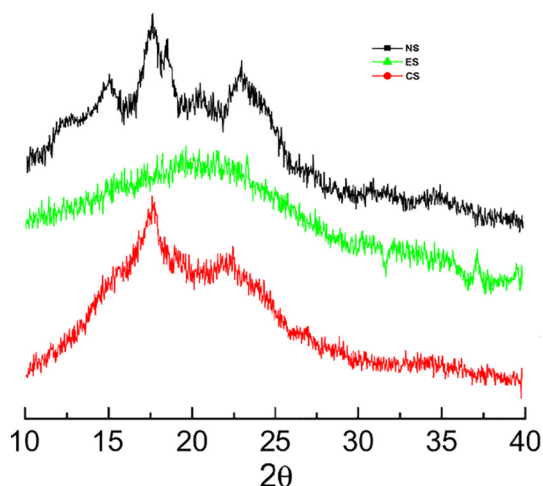


Fig. 6. X-ray diffraction patterns of native starch and modified starch.

been converted into ether groups. In addition, in the FT-IR spectrum of the etherified starch a new band appeared at 1600 cm^{-1} . This band was not present in the spectra of either the NS, and its appearance is attributed to the carbonyl group in the ether $\text{C}=\text{O}$. Hence, this could suggest that the ES products were formed after etherification. For comparison, the carbonyl signal in the FT-IR spectrum for monochloroacetic acid appears at about 1700 cm^{-1} [33].

In Cross-linked and dual modified starches, the absorption band of $\text{P}-\text{O}-\text{C}$ stretching vibration ($990\text{--}1050\text{ cm}^{-1}$) can be seen in fingerprint region. As mentioned above, the band at 1590 cm^{-1} represents the intramolecular hydrogen bond and a bilker peak was observed for NS. Also, in Cross-linked starch the reduced peak due to broken hydrogen bonds assures successful modification reaction.

3.7. ^{13}C NMR characterization

The typical ^{13}C NMR spectrum and peak assignments of ES are shown in Fig. 8. The peak at 180.38 is assigned to $-\text{CO}$ carbon in the carboxymethyl group. Besides, there are two resolved peaks at 102.71 and 98.64 ppm were assigned to C-1. These two peaks appeared here

because of two different environments of C-1, relying upon whether the carboxymethylation reactions occurred at the neighboring C-2 or not and causing a split of the peak at C-1. The result obtained showed that carboxymethyl substitution at C-2.

The peaks at 74.39 and 75.20 ppm were assigned to C-2U and C-3U respectively while C-2S and C-3S appear at 77.69 and 80.25 ppm, respectively. It can be observed that downfield shifts of $\sim 3\text{--}5$ ppm occurred on C-2 and C-3 after etherification. Additionally, the peak of 79.95 ppm was believed to correspond to C-4, while the signal at 76.10 ppm and 63.45 ppm were assigned to C-5 and C-6 U, respectively. Carboxymethyl substitution produces a downfield shift of $\sim 7\text{--}8$ ppm on C-6 as shown by the resonance at 71.95 ppm assigned to C-6S. Possibly the electron withdrawing effect of oxygen in the carboxymethyl group causes the downfield shifts after modification. Furthermore, the three peaks at 72.65 ppm, 73.40 ppm and 74.20 ppm could be attributed to methylene carbon atoms of the carboxymethyl group (C-7), owing to the carboxymethyl reactions occurred in three different positions (C-2, C-3 or C-6) [34]. Thus, the ^{13}C NMR results confirmed the presence of carboxymethyl groups in the products.

3.8. ^{31}P NMR characterization

Fig. 9 shows that CS and CES had two types of phosphate esters: mono- starch mono-phosphate (MSMP) and di-starch mono-phosphate (DSMP), which had a signal meet at 3 to 5.5 ppm and -1 to 1 ppm, respectively.

The intense peak at ~ 2.6 ppm was confirmed to be inorganic phosphate (Pi) in the sample [35]. The peak meet at ~ 3.6 ppm was from the monophosphate ester substituted at C-6 of a glucose residue [35] and the peak at ~ 4.5 ppm was assigned to C-3 bound MSMP [36].

Most likely the C-2 and C-6 are the positions of substitution in the DSMP and MSMP structures as has been found for other modified starches prepared by reaction of granular starch with various electrophilic reagents in alkali [37]. It appears the reactivity of the C-2 is caused by its acidity whereas that of the C-6 is caused by its steric accessibility. There was no distarch monophosphate present in native sweet potato starch, indicating the absence of cross-links.

The dual modified *Zea mays* starch was cross-linked followed by etherification. The spectrum of dual modified starch contains the spectral features of both cross-linked and etherified starch.

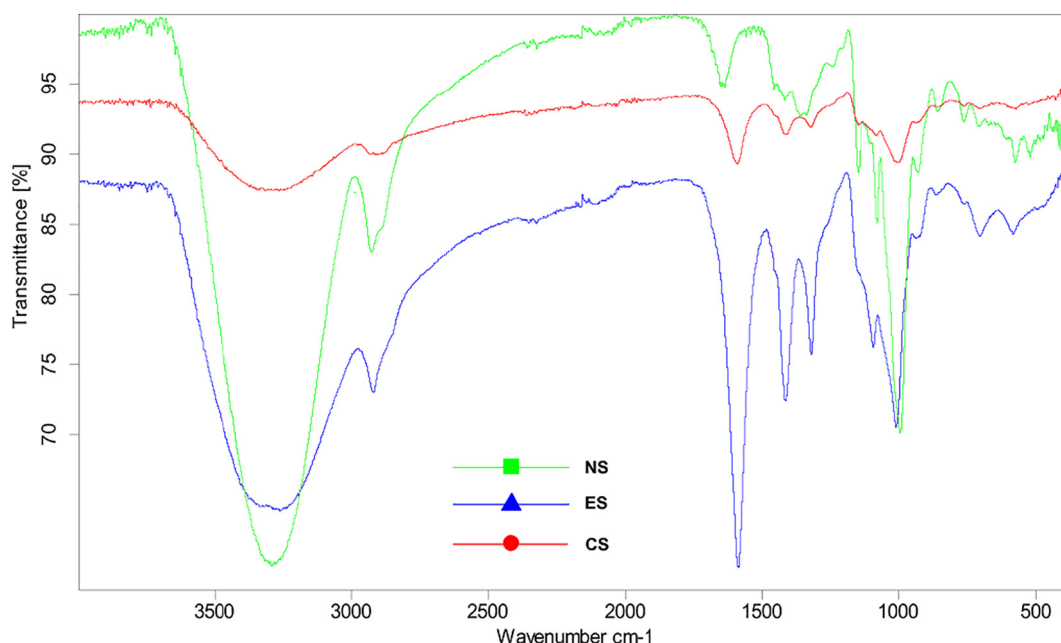


Fig. 7. FT-IR spectra of native and modified starch.

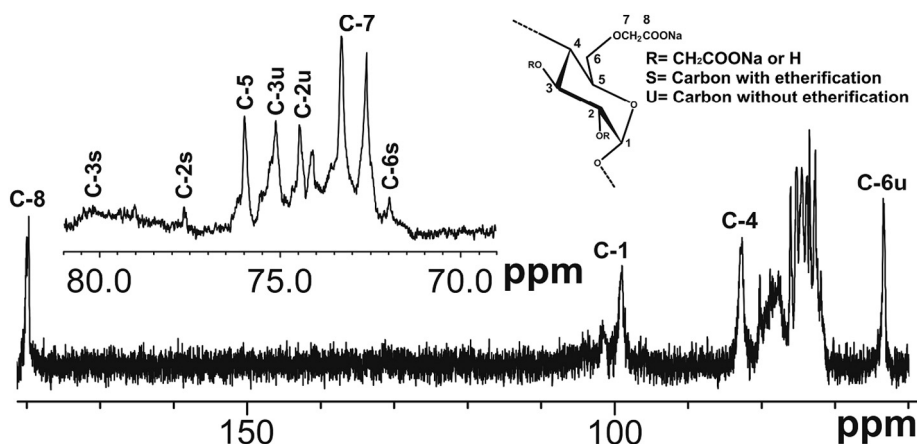


Fig. 8. ^{13}C NMR spectra and peak assignments of etherified starch (ES).

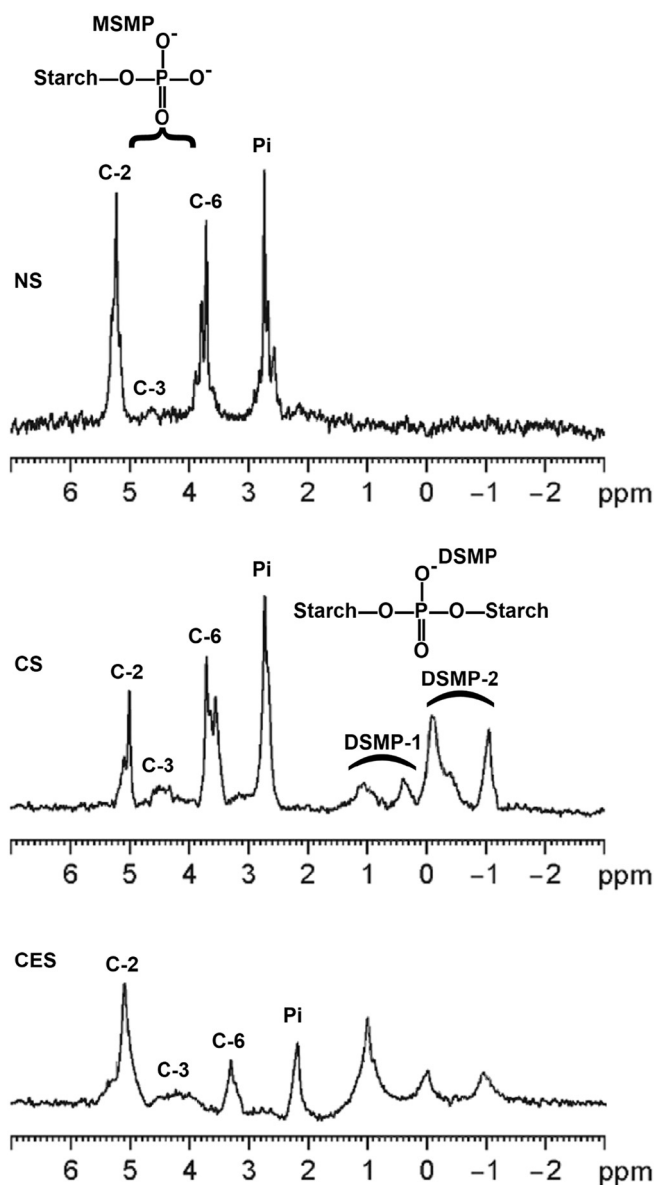


Fig. 9. ^{31}P NMR spectra of native (NS) cross-linked (CS), and dual modified (CES) *Zea mays* starches.

3.9. Thermal properties

When starch is heated in the presence of sufficiency water, its crystalline organization decomposes. This molecular disorganize is called gelatinization, an endothermic phenomenon frequently acquired by using DSC [38]. The transition from an ordered to a disordered phase occurs over a temperature range characteristic of the starch source. For that reason, DSC is an important measure to know the chemical composition of starches and, as a result, its potential utilizations.

Fig. 10 shows the thermal characteristics of chemically modified and native starch. The exchange in the transition temperatures of chemically modified starch granules was resulted due to their upset surface structure (pores, fractures) make easy penetration of water into them [39]. The NS had a gelatinization peak temperature at 70.73°C with gelatinization enthalpy value ($\Delta H = 13.98 \text{ J/g}$). The starch etherified displayed a significant increase in the transition temperature i.e. peak and conclusion with decrease in ΔH value. The increased T_g was referred to the hydrolysis of the amorphous zones, which functions as to damage the crystalline lamella by increasing the hydration and swelling of the crystallites [40]. Sandu et al. [41] declared that the carboxyl groups gets included into starch granules during etherification which resulted in the debilitation of intermolecular bonds responsible for crystalline forms of amylopectin therefore altering thermodynamic characteristics of gelatinization.

The Cross-linked and Cross-linked etherified starches offered an increase in the enthalpy value as well as the transition temperatures. These results assured that the introduction of phosphate group into starch laced the molecular organization/reinforced the bond between starch chains, subsequently, ameliorated stability and increased the solidity of starch granules to swelling which resulted in higher T_g due to difficulty of starch melting [42]. These results were in accord with Carmona-Garcia et al. [43] who studied the impact of Cross-linking reagent type on the physicochemical and functional characteristics of banana starch. They discovered that the starch modified with STMP/STPP and EPI displayed an increase in T_g , but slight decrease in ΔH . The transition temperatures of etherified Cross-linked starch were significantly inferior than that of Cross-linked etherified starch. Xiao et al. announced the same observation for Cross-linked oxidized rice starch and the accumen behind it was that the Cross-linked starch was more difficult to oxidize as compared to native starch due to reinforced structure of starch after Cross-linking.

4. Conclusion

This study has indicated that the IL creates by all mean of the word homogenous system for the modification of *Zea mays* starch. FT-IR and

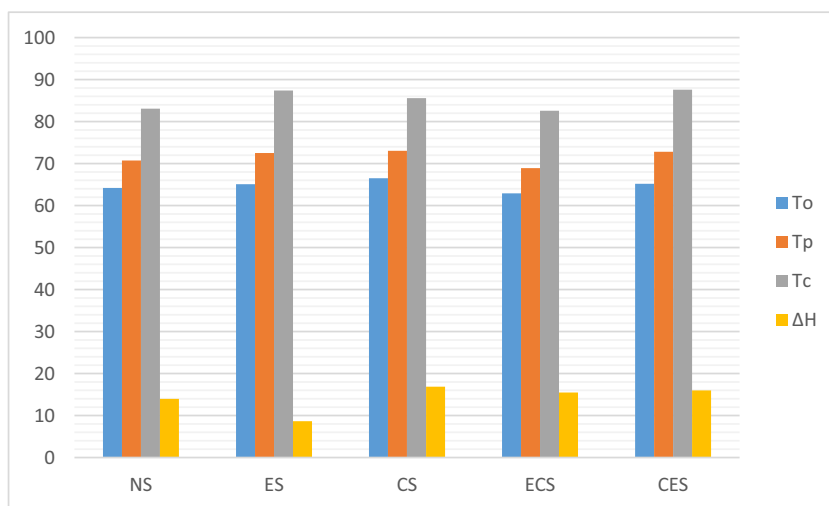


Fig. 10. Thermal properties of native and modified starch. T_0 : Onset temperature, T_p : Peak temperature, T_c : Conclusion temperature, ΔH : enthalpy of gelatinization.

^{13}C NMR analysis confirmed the successful modifications. In addition, SEM and XRD results showed that the granules of starch were generally destroyed by breaking a large fraction of hydrogen bonds in starch throughout the modifications process. Visible differences in the properties of native, single modified and dual-modified starches were observed in the present work. Chemical modification of starch using a single method might improve specific functional properties, but simultaneously some useful properties are also missing. It was observed that due to carboxymethylation the swelling power and water solubility indexes of native starch was improved whereas. Similarly, for the Cross-linked starches SPI and WSI was found to be less. In the dual-modified starches all the properties were found to be best than that of the native starch. The sequence in which the dual modifications were executed also influenced the properties of starch. Etherification followed by Cross-linking in case of Cross-linked etherified starch, resulted an amelioration in solubility, thermal characteristics without having any opposite effect on the surface structure of starch granules. The weakened structure of etherified Cross-linked starch limited in gel formation as the disintegrated etherified starch could not reinforce effective Cross-linking. Therefore, from the present investigation it can be inferred that specific properties of chemically modified starches to suit specific applications, can be acquired by stratifying two different methods of modifications and cautiously selecting their levels and sequence of modification.

References

- [1] C.K. Reddy, M. Suriya, P.V. Vidya, S. HariPriya, Effect of g-irradiation on structure and physic-chemical properties of *Amorphophallus paeoniifolius* starch, *Int. J. Biol. Macromol.* 79 (2015) 309–315.
- [2] J. Singh, L. Kaur, O.J. McCarthy, Factors influencing the physic-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications: a review, *Food Hydrocoll.* 21 (2007) 1–22.
- [3] C.J. Tijssen, H.J. Kolk, E. Stamhuis, A.C. Beenackers, An experimental study on the carboxymethylation of granular potato starch in non-aqueous media, *Carbohydr. Polym.* 45 (2001) 219–226.
- [4] O.S. Lawal, M.D. Lechner, B. Hartmann, M.W. Kulicke, Carboxymethyl cocoyam starch: synthesis, characterization, *Starch/Staerke* 59 (2007) 224–233.
- [5] O.S. Lawal, M.D. Lechner, W.M. Kulicke, Single and multi-step carboxymethylation of water yam (*Dioscorea alata*) starch: synthesis and characterization, *Int. J. Biol. Macromol.* 42 (2008) 429–435.
- [6] K. Sangseethong, S. Ketsilp, K. Sriroth, The role of reaction parameters on the preparation and properties of carboxymethyl cassava starch, *Starch/Staerke* 57 (2005) 84–93.
- [7] L. Kaur, J. Singh, N. Singh, Effect of cross-linking on some properties of potato (*Solanum tuberosum* L.) starches, *J. Sci. Food Agric.* 86 (2006) 1945–1954.
- [8] K.S. Woo, P.A. Seib, Cross-linking of wheat starch and hydroxypropylated wheat starch in alkaline slurry with sodium trimetaphosphate, *Carbohydr. Polym.* 33 (1997) 263–271.
- [9] B.Z. Li, L.J. Wang, Y.L. Chiu, Z.J. Zhang, J. Shi, X.D. Chen, Physical properties and loading capacity of starch-based microparticles crosslinked with trisodium trimetaphosphate, *J. Food Eng.* 92 (2009) 255–260.
- [10] J. Liu, B. Wang, L. Lin, J. Zhang, W. Liu, J. Xie, Functional, physicochemical properties and structure of cross-linked oxidized maize starch, *Food Hydrocoll.* 36 (2014) 45–52.
- [11] H.X. Xiao, Q.L. Lin, G.Q. Liu, F.X. Yu, A comparative study of the characteristics of cross-linked, oxidized and dual-modified rice starches, *Molecules* 17 (2012) 10946–10957.
- [12] A.A. Ragheb, H.S. El-Sayiad, A. Hebeish, Synthesis and characterization of hypochlorite oxidized starches, *Starch/Staerke* 56 (1997) 238–245.
- [13] C.J. Tijssen, R.M. Voncken, A.A.C.M. Beenackers, Design of a continuous process for the production of highly substituted granular carboxymethyl starch, *Chem. Eng. Sci.* 56 (2001) 411–418.
- [14] T. Heinze, T. Liebert, U. Heinze, K. Schwikal, *Cellulose* 11 (2) (2004) 239.
- [15] A. Pinkert, K.N. Marsh, S. Pang, M.P. Staiger, Ionic liquids and their interaction with cellulose, *Chem. Rev.* 109 (2009) 6712–6728.
- [16] A. Biswas, R.L. Shogren, D.G. Stevenson, J.L. Willett, P.K. Bhowmik, Ionic liquids as solvents for biopolymers: acylation of starch and zein protein, *Carbohydr. Polym.* 66 (2006) 546–550.
- [17] S.J. Lee, J.Y. Hong, E.J. Lee, H.J. Chung, S.T. Lim, Impact of single and dual modifications on physicochemical properties of japonica and indica rice starches, *Carbohydr. Polym.* 122 (2015) 77–83.
- [18] S. Balasubramanian, R. Sharma, J. Kaur, N. Bhardwaj, Characterization of modified pearl millet (*Pennisetum typhoides*) starch, *J. Food Sci. Technol.* 51 (2011) 294–300.
- [19] W.R. Morrison, B. Laignelet, An improved colorimetric procedure for determining apparent and total amylose in cereal and other starches, *J. Cereal Sci.* 1 (1983) 19–35.
- [20] S. Nara, T. Komiy, Studied on the relationship between water-saturated state and crystallinity by the diffraction method for moistened potato starch, *Starch/Staerke* 35 (1983) 407–410.
- [21] Y. Sang, O. Prakash, P.A. Seib, Characterization of phosphorylated cross-linked resistant starch by ^{31}P nuclear magnetic resonance (^{31}P NMR) spectroscopy, *Carbohydr. Polym.* 67 (2007) 201–212.
- [22] L. Feng, Z. Chen, Research progress on dissolution and functional modification of cellulose in ionic liquids, *J. Mol. Liq.* 142 (2008) 1–5.
- [23] N. Vanier, E.D. Zavareze, V.Z. Pinto, B. Klein, F.T. Botelho, A.R. Dias, Physicochemical, crystallinity, pasting and morphological properties of bean starch oxidized by different concentrations of sodium hypochlorite, *Food Chem.* 131 (2012) 1255–1262.
- [24] M. Joshi, P. Aldred, S. McKnight, J.F. Panozzo, S. Kasapis, R. Adhikari, Physicochemical and functional characteristics of lentil starch, *Carbohydr. Polym.* 92 (2013) 1484–1496.
- [25] C. Martinez, J. Prodoliet, Determination of amylose in cereal and non-cereal starches by a colorimetric assay: collaborative study, *Starch/Staerke* 48 (1996) 81–85.
- [26] O.S. Lawal, O.O. Ogundiran, E.K. Adesogan, B.M. Ogunsanwo, O.A. Sosanwo, Effect of hydroxypropylation on the properties of white yam (*Dioscorea rotundata*) starch, *Starch/Staerke* 60 (2008) 340–348.
- [27] R.A. Freitas, R.C. Paula, J.P. Feitosa, S. Rocha, M.R. Sierakowski, Amylose contents, rheological properties and gelatinization kinetics of yam (*Dioscorea alata*) and cassava (*Manihot utilissima*) starches, *Carbohydr. Polym.* 55 (2004) 3–8.
- [28] X. Lu, Z. Luo, X. Fu, Z. Xiao, Two-step method of enzymatic synthesis of starch laurate in ionic liquids, *J. Agric. Food Chem.* 61 (2013) 9882–9891.
- [29] Y.I. Matveev, J.G. Soest, C. Nieman, L.A. Wasserman, V.A. Protserov, M. Zemernskaja, The relationship between thermodynamic and structural properties of low and high amylose maize starches, *Carbohydr. Polym.* 44 (2001) 151–160.
- [30] X.F. Wei, R.Y. Bao, Z.Q. Cao, W. Yang, B.H. Xie, M.B. Yang, Stereocomplexation and morphology of polylactides, *Macromolecules* 47 (2014) 1439–1448.

- [31] T. Desalegn, I.J.V. Garcia, J. Titman, P. Licence, I. Diaz, Y. Chebude, Enzymatic synthesis of epoxy fatty acid starch ether in ionic liquid–organic solvent mixture from vernonia oil, *Starch/Staerke* 66 (2014) 385–392.
- [32] T.M. Silva, P.O. Santiago, L.L.A. Purcena, K.F. Fernandes, Study of the cashew gum polysaccharide for the horseradish peroxidase immobilization – structural characteristics, stability and recovery, *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 30 (2010) (562–530).
- [33] National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Spectral Database for Organic Compounds, <http://sdbs.db.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/directframedisp.cgi?sdbno=1035> 2015.
- [34] O.S. Lawal, M.D. Lechner, W.M. Kulicke, The synthesis conditions, characterizations and thermal degradation studies of an etherified starch from an unconventional source, *Polym. Degrad. Stab.* 93 (2008) 1520–1528.
- [35] S. Lim, P.A. Seib, Location of phosphate esters in a wheat starch phosphate by ³¹P-nuclear magnetic resonance spectroscopy, *Cereal Chem.* 70 (1994) 145–152.
- [36] Y.J. Sang, P.A. Seib, A.I. Herrera, O. Prakash, Y.C. Shi, Effects of alkaline treatment on the structure of phosphorylated wheat starch and its digestibility, *Food Chem.* 118 (2010) 323–327.
- [37] Y.M. Van der Burgt, J. Bergsma, I.P. Bleeker, P.H. Mijland, J.P. Kamerling, J.F. Vlietenthart, Distribution of methyl substituents over branched and linear regions in methylated starches, *Carbohydr. Res.* 312 (1998) 201–208.
- [38] C. Beninca, T.A.D. Colman, L.G. Lacerda, M.A.S.C. Filho, G. Bannach, E. Schnitzler, The thermal, rheological and structural properties of cassava starch granules modified with hydrochloric acid at different temperatures, *Thermochim. Acta* 552 (2013) 65–69.
- [39] S. Garg, A.K. Jana, Characterization and evaluation of acetylated starch with different acyl groups and degree of substitution, *Carbohydr. Polym.* 83 (2011) 1623–1630.
- [40] J.W. Donovan, Phase transition of the starch-water system, *Biopolymers* 18 (1979) 263–275.
- [41] K.S. Sandhu, M. Kaur, N. Singh, S. Lim, A comparison of native and oxidized normal and waxy corn starches: physicochemical, thermal, morphological and pasting properties, *J. Food Sci. Technol.* 41 (2008) 1000–1010.
- [42] F. Gao, D. Li, C.H. Bi, Z.H. Mao, B. Adhikari, Preparation and characterization of starch crosslinked with sodium trimetaphosphate and hydrolyzed enzymes, *Carbohydr. Polym.* 103 (2014) 310–318.
- [43] R. Carmona-Garcia, M.M.S. Sanchez-Rivera, G.M. Montealvo, B.G. Montoya, L.A. Bello-Perez, Effect of cross-linked reagent type on some morphological, physicochemical and functional characteristics of banana starch (*Musa paradisiaca*), *Carbohydr. Polym.* 76 (2009) 117–122.

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/286739147>

Synthesis and in vitro biodegradation of poly(ethylene adipate-co-D,L-lactic acid) copolymers (PLEA)

Article in *Oriental Journal of Chemistry* · September 2014

DOI: 10.13005/ojc/300318

CITATIONS

2

READS

44

3 authors:



Hichem Bakouri

University of Sidi-Bel-Abbes

3 PUBLICATIONS 4 CITATIONS

SEE PROFILE



Guebra Kaddour

University of Sidi-Bel-Abbes

18 PUBLICATIONS 36 CITATIONS

SEE PROFILE



Imene Boukhouya

faculté des sciences exactes

2 PUBLICATIONS 3 CITATIONS

SEE PROFILE

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Chemical modifications of polysaccharides [View project](#)



Polymères photosensibles [View project](#)



Synthesis and in vitro Biodegradation of poly(ethylene adipate-co-D,L-lactic acid) Copolymers (PLEA)

BAKOURI HICHEM, GUEMRA KADDOUR* and BOUKHOUYA IMENE

Laboratory of Macromolecular Physical Organic Chemistry, Djillali Liabes University,
BP89 City El Arbi Ben Mhidi Sidi Bel Abbes, Algeria.

*Correaponding author E-mail: guemra_2@yahoo.fr

<http://dx.doi.org/10.13005/ojc/300318>

(Received: June 03, 2014; Accepted: August 08, 2014)

ABSTRACT

The present research mainly focused on the synthesis and study of biodegradation of poly(ethylene adipate-co-D,L-lactic acid). PLEA were prepared via ring opening polymerization from D,L-lactide and poly(ethylene adipate). PLEA was characterized by ¹H NMR spectra and DSC; results showed that those properties showed high dependence on its composition. In vitro degradation behaviors of PLEA have been systematically investigated up to 12 weeks in phosphate buffer saline solution at 37 °C. The weight and polymer molecular weight were measured as a function of degradation time. Bacterial degradation was completed by investigating the physico-chemical properties using spectroscopy FTIR and DSC.

Key words: Ethylene adipate, D,L-Lactide, Biodegradation, Bacteria, physico-chemical properties.

INTRODUCTION

The synthesis routines of poly(lactic acid) (PLA) could be directly divided into polycondensation reaction from lactic acid and ring opening polymerization (ROP) from lactides, a coordination-insertion mechanism has been proposed and widely accepted¹⁻².

Microorganisms degrading PLA identified in literature are limited to *Actinomyces Amy-*

colatopsis type, and a bacterium, *Bacillus Brevis*. However, despite of the growing interests for its biomedical applications, many properties of PLA products still fall short of those required for some potential applications, due to its lackage of toughness and impact resistance³⁻⁵.

The poly(ethylene adipate) (PEA), exhibits excellent flexibility, whereas its mechanical strength is relatively poor and cannot meet various requirements due to its relatively low melting temperature (60 °C)^{6,7}.

Furthermore, as one of the most common aliphatic polyesters prepared from diacids and diols, PEA is also expected to be an economically competitive biodegradable polymer for its potent to be degraded and assimilated completely by microorganisms, as well as its low cost⁸⁻⁹.

Structural changes or composition modifications have been regarded as effective approaches to improve the properties of the polymers and promote its application to a much broader range^{4,10,11}.

Taking into consideration the difference in chain flexibility and physical properties between PLA and PEA, it seems of interest to prepare PLEA copolymer with hard PLA and soft PEA segments sharing the merits of PLA such as biocompatibility and biodegradability and PEA such as flexibility and thermal properties. Up to now, few related works have been reported on such a copolymer.

Moreover, taking into the consideration of excellent biodegradable performance of PLA and PEA, the PLEA copolymers are expected to be good alternatives for the non-degradable polymers in various applications.

In this article, we describe the synthesis of PLEA copolymers with various compositions, but the aim of this work was mainly dedicated to bacterial degradation of PLEA at 37 °C. Moreover, in vitro degradation behaviors of the sample in phosphate buffer saline solution (PBS) solution at 37 °C were investigated in detail, with emphasis on change of the molecular weight, physico-chemical properties, weight and morphologies of sample during degradation.

EXPERIMENTAL

Materials

Adipic acid (AA) (p.a. Fluka), ethylene glycol (EG) (p.a. Fluka), D,L-lactide and stannous octoate were acquired from Aldrich. We investigated four different polymer formulations: PEA, PLEA75/25, PLEA55/45 and PDLLA. PLEA with lactic/ethylene adipate (LA/EA) molar ratio of 75/25 (PLEA75/25), 55/45 (PLEA55/45) and Poly(D,L-lactide) (PDLLA) were synthesized via ring opening polymerization.

Average molecular weights, melting and glass transition temperatures of these polyesters are shown in Table 1.

Synthesis of hydroxyl terminated PEA

PEA prepolymer was synthesized by a two-stage preparation procedure, including esterification and polycondensation, AA and EG with a feeding molar ratio 1/2 were added into the reactor, with 0.1 wt% stannous chlorides as catalyst. The reactor was evacuated and then filled with nitrogen for several times, in order to remove all of the oxygen. Then, the mixture was heated to 200 °C under stirring of 60 rpm with reaction pressure of 0.35 MPa for 4 h to eliminate the water generated.

The PEA prepolymer was removed, cooled, and milled. The PEA prepolymer was dissolved in chloroform and precipitated with methanol, then filtered and dried under vacuum at 40 °C to a constant weight for use.

Synthesis of PLEA copolymers via ROP

Different molar ratio of hydroxyl terminated PEA prepolymer and D,L-lactide mixed with stannous octoate (1wt%) were added into a oneneck flask; after degassing, the flask was sealed under vacuum and the polymerization was proceeded at 120 °C for 24 h. The copolymers were dissolved in chloroform initially and then precipitated by adding excessive amount of cold methanol under stirring. Finally, the precipitants were filtered and washed by methanol, then dried under vacuum at 40 °C up to constant weight. The synthesis routine was shown in Figure 1.

Microorganisms and Inoculums Preparation Bacteria

The following bacterial strains cited in the ISO 846 standard¹² were used in the bio-degradation tests: *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa*. These bacterial strains were supplied by the German DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH) in lyophilized form and distributed separately in sterile glass tanks.

Inoculums preparation

At first, each bacterial strain was rehydrated separately. In a second step, a specific amount of hydrated fungus was inoculated into a solution

composed of 250 ml of basal liquid medium for bacteria which was incubated at 37 °C during 72 h.

The composition of the basal liquid medium for bacteria is: 1.0 g of NH_4NO_3 ; 0.7 of KH_2PO_4 ; 0.3 g of K_2HPO_4 ; 0.5 g of $(\text{MgSO}_4, 7 \text{ H}_2\text{O})$; 0.5 g of NaCl; 0.01 g of $(\text{FeSO}_4, 7 \text{ H}_2\text{O})$; and 1L of distilled water. The pH was adjusted to 6–6.5 by NaOH solution at 0.01 mol/L.

Incomplete agar medium for the growth test

Add to mineral salts solution, enough agars to obtain a concentration of 20 g/L. The mixture is boiled with stirring.

Full agar medium for the bacteriostatic effect

Add to incomplete agar medium, enough glucose to obtain a concentration of 30 g/L.

Methods

Biodegradation kinetics of PLEA

All the experiment vessels and mineral media were sterilized by autoclaving at 121 °C at a pressure of 1 bar for 20 min or by decontamination using a 0.5% sodium hypochlorite solution.

Testing growth

Samples polymers are seeded with a bacterial strain (*Pseudomonas aeruginosa*) in the presence of incomplete nutrient medium (free from carbon source). Bacterial growth can then be established at the expense of the polymer, in fact, if the polymer is not a nutrients of bacteria cannot grow¹².

Bacteriostatic effects

The sample is subjected to this time

bacterial strain in the presence of a complete nutrient medium (with a carbon source). Even if the plastic contains no nutrients, bacteria can grow and metabolites can attack the material. The reaction medium is identical with the previous by the presence of glucose (at 30 g/L) as the carbon source.

Hydrolytic Degradation Test

Hydrolytic degradation experiments of copolyesters were carried out in a phosphate buffer solution (PBS, pH=7.4) at 37 °C. The samples were stored in a thermostatical water bath for up to 12 weeks. At predetermined degradation time intervals, the samples were isolated from the medium, washed with purified water and then dried under vacuum at room temperature for 48 h before analysis.

RESULTS AND DISCUSSION

Chemical structure and compositions

Figure 2a illustrates the ¹H NMR spectra of hydroxyl terminated PEA prepolymer synthesized via polycondensation reaction. The proton resonance signals arise at $\delta=1.64$ (H²), 2.34 (H¹), 3.72 (H⁶), 3.82 (H⁴), 4.21 (H⁵), and 4.27 ppm (H³), and the assignment of the signals is shown in accordance with the digital numbers marked in the structural formula of the PEA. Among the proton signals, =3.72 (H⁶), 3.82 (H⁴), 4.21 ppm (H⁵) were reasonably attributed to those protons in the end groups.

The relative integrity value of the methylene proton signals could be used to calculate the degree of polymerization (D_p) and number-average molecular weight ($M_{n, \text{NMR}}$) of PEA prepolymer by using [4]:

Table 1: Molecular weight, melting temperature (T_m) and glass transition temperature (T_g) of the polyesters

	Composition (%)		T_g (°C)	T_f (°C)	M_n (g/mol)
	EA	LA			
PEA	100	0	-46	49	1278
PLEA1	45	55	40	159	9644
PLEA-2	25	75	45	190	15780
PLA	0	100	62	300	32928

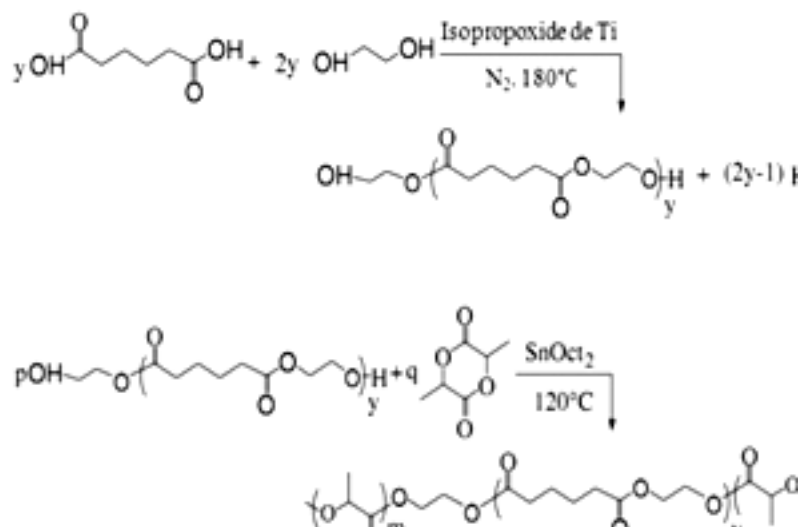
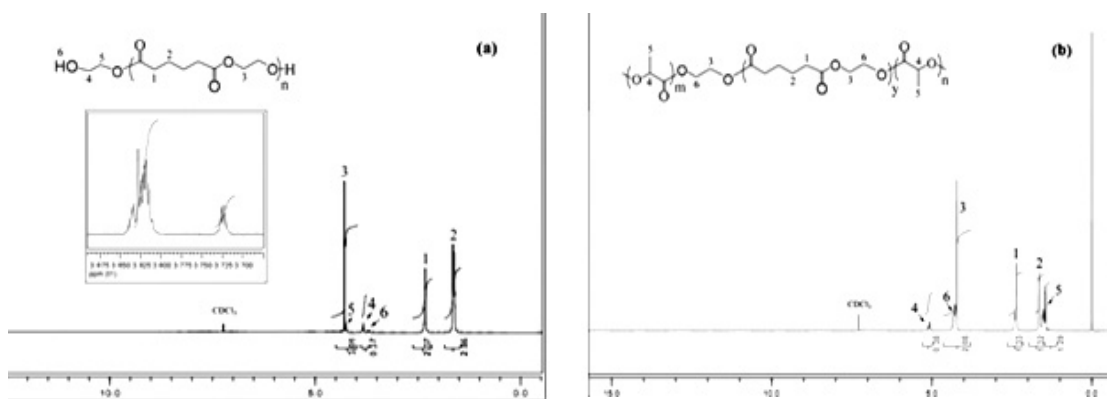
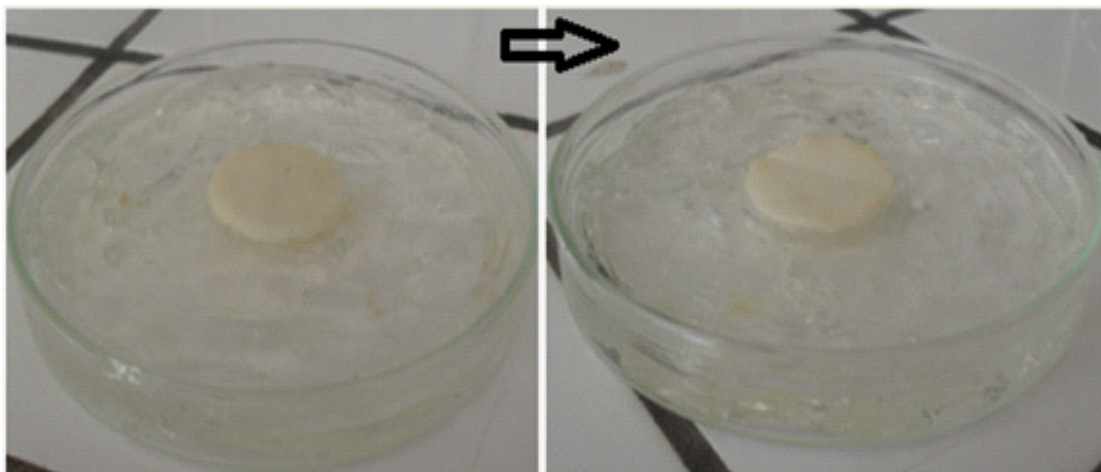


Fig. 1: Synthesis routine of PLEA copolymers

Fig. 2: ^1H NMR spectra of PEA prepolymer (a), and PLEA copolymers (b)Fig. 3: Growth of a bacterial strain on samples PLEA in a poor medium at 37°C

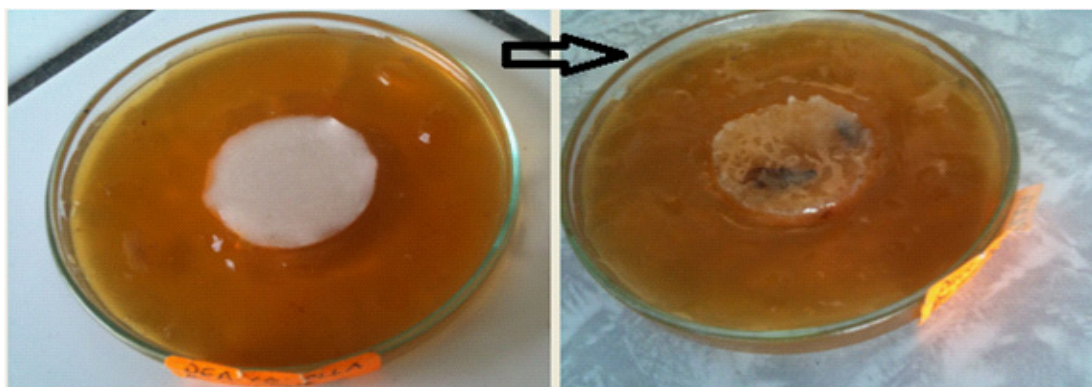


Fig. 4: Growth of a bacterial strain on samples PLEA in rich media at 37 °C

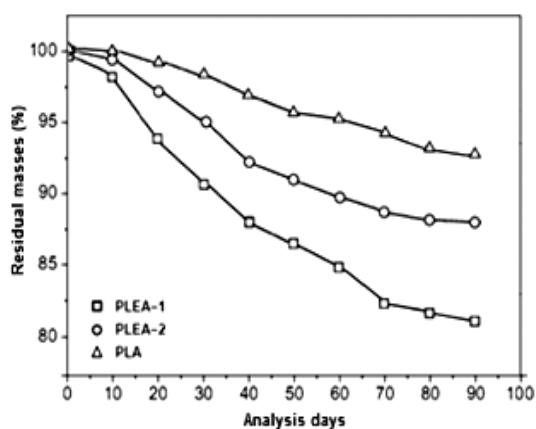


Fig. 6: Residual masses of PLEA-1, PLEA-2 and PLA after hydrolytic degradation in PBS

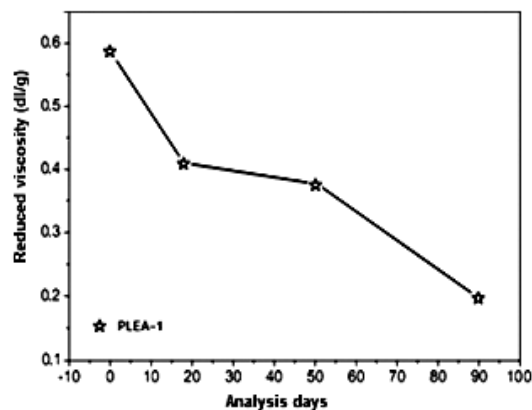


Fig. 7: Evolution of the reduced viscosity of PLEA-1 during the hydrolytic degradation

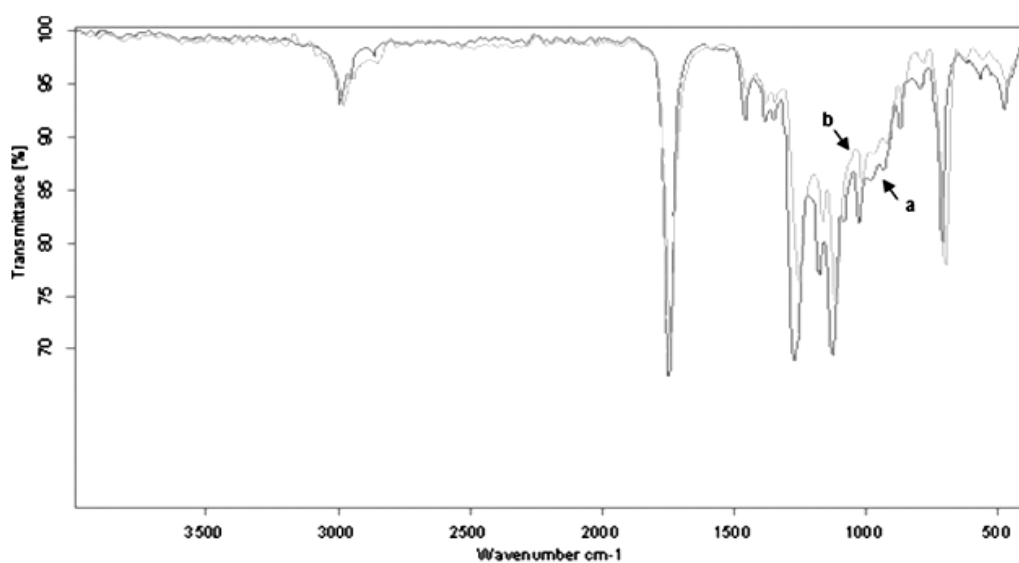


Fig. 8: FTIR spectra of PLEA initial (a) and after 90 days of degradation in abiotic media (b)

$$D_r = \frac{I_3}{I_4} + 1$$

$$M_{n, NMR} = 172 \times D_r + 2$$

where I_3 and I_4 represent the intensity of methylene peak of EG located in the internal and end of PEA prepolymer's molecular chain, 172 and 2 the masses of repeating unit of EA segments and hydrogen atoms at the end of PEA prepolymer's molecular chain, respectively. The value of $M_{n, NMR}$ was 1278 g/mol, corresponding closely to $M_{n, viscosimetry}$ 1319 g/mol.

Typical ^1H NMR spectrum of PLEA copolymers was illustrated in Figure 2b. It was found that all the intrinsic proton resonance signals for PEA and PLA homopolymers were all detected at chemical shifts of ≈ 2.37 (H^1), 1.68 (H^2), 4.28 ppm (H^3) for PEA, as well as 5.10 (H^4) and 1.52 ppm (H^5) for PLA, respectively. Moreover, other new signals were also found at chemical shifts at ≈ 4.38 (H^6), the assignment of which was marked in the sequence structure of PLEA copolymer in.

The bacteriostatic effect

The visual examination of the samples of polymers exposed to a bacterial suspension in

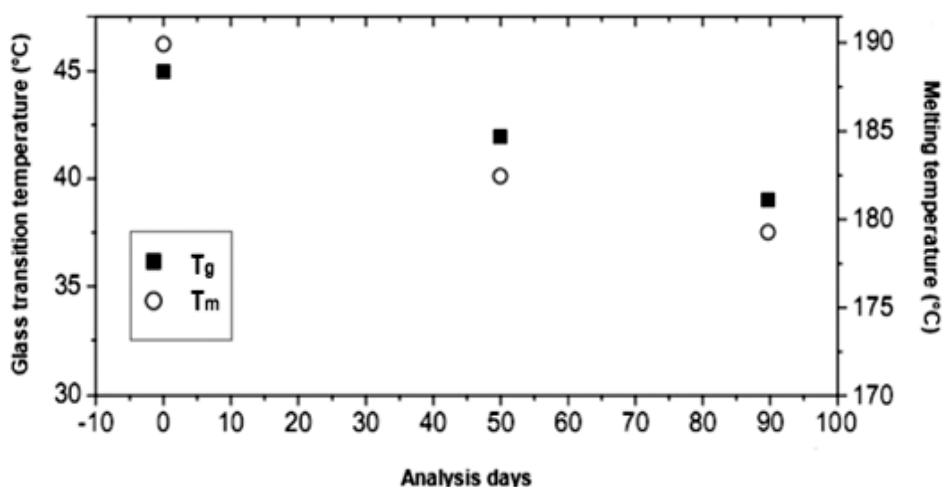


Fig. 9: Evolution of the thermal properties of PLEA during its bacterial degradation

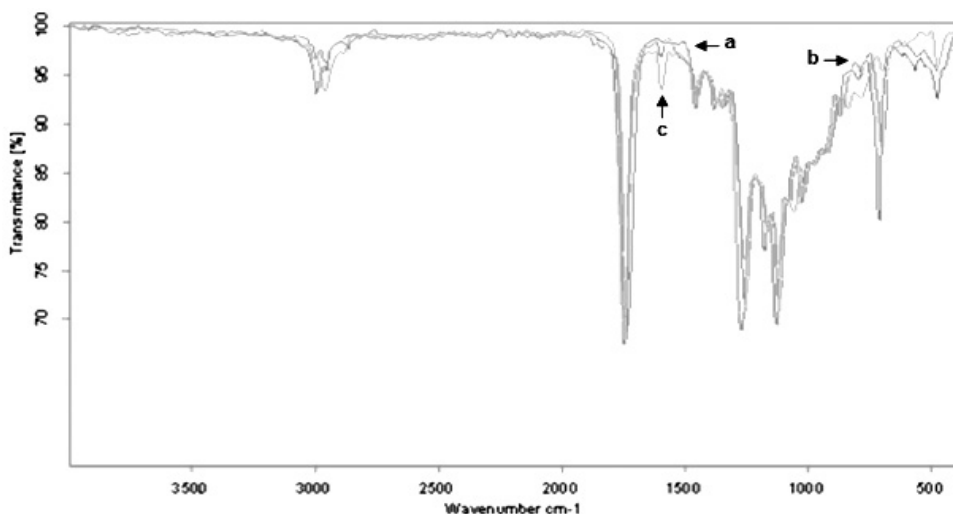


Fig. 10: FTIR spectra of PLEA initial (a), after 50 days (b) and 90 days (c) of degradation in biotic media

complete medium (Figure 4) demonstrates a strong visible to the naked eye bacterial growth. So there total lack of bacteriostatic effect for PLEA, it does not inhibit the growth of bacteria metabolizing glucose. The copolymer apparently is not causing toxicity towards bacteria.

Evolution of physico-chemical properties

Two types of mixtures were prepared for this test to distinguish the purely bacterial degradation and chemical hydrolysis. The biodegradation tests were performed in a biotic medium (polymer inoculated by bacteria), and also in an abiotic medium (not inoculated by bacteria) to investigate the effect of the hydrolysis degradation. In a biotic medium, a process of biodegradation can occur; in an abiotic one, only chemical hydrolysis can happen.

At predetermined time intervals of degradation residues visible samples, are isolated periodically clamp undergoes various washings with water, dried in a desiccators at room temperature for 48 h and then weighed to determine the weight loss and the reduced viscosity of the sample, characterization by DSC and FTIR spectroscopy were determined at the same time intervals.

Test hydrolytic degradation «abiotic medium»

The degradation characteristics of the copolymers (PLEA-1, PLEA-2) were evaluated by measuring the weight loss and decrease in reduced viscosity. For this purpose, the copolymer is pre-weighed and then placed in 25 ml of PBS pH 7.4 at 37 °C. Phosphate Buffer Solution (PBS) was prepared by dissolving the mixture of KH_2PO_4 (4.710 g) and Na_2HPO_4 (19,778 g) in 1 L of sterile distilled water.

Evolution of the residual mass

Changes in the molecular weight and the mass of the samples were monitored throughout the process of hydrolytic degradation. The effects of hydrolytic degradation are measured and expressed as a variation of the residual mass as a function of time in Figure 5.

Fig. 5: Residual masses of PLEA-1, PLEA-2 and PLA after hydrolytic degradation in PBS

Moreover, the results also indicated that the degradation rate of the copolymer increases

with increasing PEA content. This phenomenon has been attributed to the morphology of the copolymers. The copolymer with PLA low (PLEA-1) was amorphous and water easily penetrated the mass of the copolymer, so that the rate of degradation of the samples was fast, but in the PLA alone, the water was difficult to into the polymer as it is semi-crystalline and the rate of degradation of the samples was low.

Evolution of the reduced viscosity of PLEA

Figure 6 shows a drastic decrease of the reduced viscosity in abiotic medium during the first 17 days.

Infrared analyses

Figure 7 shows the FTIR spectra in the attenuated total reflection mode of PLEA at its initial state ($t=0$) and after 90 days of degradation in abiotic media. Peak positions and assignments for PLEA initial are: ν ($-\text{CH}-$) stretch at 2,997 and 2,985 cm^{-1} ; carbonyl ester ($\text{C}=\text{O}$) at 1,759 cm^{-1} , δ ($-\text{CH}-$) deformation at 1,383 and 1,365 cm^{-1} , ν ($-\text{C}-\text{O}-$) stretch at 1,186, 1,134, 1,091 and stretch ν ($-\text{C}-\text{C}-$) at 870 cm^{-1} .

Several changes are observed in the thermal properties of PLEA during the biodegradation process: decreases of T_g from 44.9 to 39.2 °C and that of T_m from 190.2 to 163.7 °C between the beginning of the test and the day 90. The fact that T_g decreased indicates that the PLEA undergone a physical degradation throughout the experiment conducted. The occurred damage in the amorphous phase and the formation of low molecular weight fragments, which are easily crystallized, lead to an increase of the degree of crystallinity in the earliest days of the biodegradation. Then, this percentage crystallinity starts later to decrease which means that the crystalline regions start to be damaged because of the bioassimilation of the small fragments by the microorganisms. Gattin and al. [16] had investigated on the biodegradation of a polylactic acid-based material by microorganisms in a liquid medium. They found the T_g values decreased strongly throughout the experiment of biodegradation and with increasing time, the extent of the degradation was characterized by simultaneous decreases of T_g and percentage crystallinity.

Infrared Analyses

PLEA fragments, recovered after 50 and 90 days in biotic mediums were analyzed by FTIR (Figure 9). Spectra comparison before and after degradation showed the formation of a new band at $1,600\text{ cm}^{-1}$ that corresponds to carboxylate ions in the spectrum of the biotic media. The appearance of carboxylate ions at the $1,600\text{ cm}^{-1}$ position is due to microorganisms which consume lactic acid and its oligomers on the surface and leave carboxylate ions at the chain end¹⁷.

Fig. 10: FTIR spectra of PLEA initial (a), after 50 days (b) and 90 days (c) of degradation in biotic media

The first step in the biodegradation is a chemical hydrolysis in the middle of the polymer chain with the oligomer in the migration medium; the second stage corresponds to a bacterial mineralization at the ends of strings. The PLEA therefore undergoes a profound change in its chemical structure activity precedes significant mineralization (chemical hydrolysis and bioassimilation are not simultaneous).

A series of PLEA copolymers with various compositions was synthesized from hydroxyl terminated PEA prepolymer and D,L-lactide with stannous octoate (SnOct_2) as catalyst via ROP.

DSC analysis demonstrated that the crystal structures in PLEA copolymers were dominated by LA segments, while EA segments remained amorphous due to the existence of ester exchange reaction during the polymerization process. Moreover, T_m and T_g increased with less EA segments incorporated into the PLEA.

The evaluation of the ability of bacteria to use a polymer as a carbon source has been demonstrated by testing growth on solid media, performed at 37°C , show that the conformations adopted by the polymer seem more accessible to enzymes microorganisms.

After defining the bacteria degrading copolymer, monitoring changes in the physico-chemical properties of the polymer during the degradation and the time was made.

In the case of PLEA, at the beginning the monomers and monoesters (formed by hydrolysis) are bioassimilated by microorganisms then a long hydrolysis of ester bands occurs due to the temperature and the humidity, then the oligomer fragments formed by extended hydrolysis are bioassimilated by microorganisms. During these two steps, hydrolysis and bioassimilation, both molecular weights and glass transition decrease (degradation happens at the level of ester bonds and at chain-ends).

REFERENCES

1. Garlotta, D. A., *literature review of poly (lactic acid)*. *J. Polym. Environ.*, **2001**; *9*(2): 63-84.
2. Li, B.; Chen, S.C.; Qiu, Z.C.; et al., Synthesis of poly(lactic acid-b-p-dioxanone) block copolymers from ring opening polymerization of p-dioxanone by poly(L-lactic acid) macroinitiators. *Polym. Bull.*, 2008; *61*(2): 139-146.
3. Mehta, R.; Kumar, V.; Bhunia, H.; Upadhyay, S.N., Synthesis of poly (lactic acid): a review. *J. Macromol. Sci. Polym. Rev.*, **2005**; *45*(4): 325–349 (2005)
4. Zeng, J.B.; Li, Y.D.; Zhu, Q.Y.; et al., A novel biodegradable multiblock poly (ester urethane) containing poly (L-lactic acid) and poly (butylene succinate) blocks. *Polymer.*, 2009; **50**(5): 1178–1186.
5. Ba, C.Y.; Yang, J.; Hao, Q.H.; et al., Syntheses and physical characterization of new aliphatic triblock poly (L-lactide-b-butylene succinate-b-L-lactide)s bearing soft and hard biodegradable building blocks. *Biomacromolecules.*, **2003**; *4*(6):1827-1834.
6. Kim, S.W.; Lim, J.C.; Kim, D.J.; Seo, K.H., Synthesis and characteristics of biodegradable copolyesters from the transesterification of poly (butylene adipate-co-succinate) and poly (ethylene terephthalate). *J. Appl. Polym. Sci.*, **2004**; *92*(5): 3266–3274.
7. Monvisade, P.; Loungvanidprapa, P., Synthesis of poly (ethylene adipate) and poly (ethylene

- adipate-co-terephthalate) via ring-opening polymerization. *Eur. Polym. J.*, **2007**; *43*: 3408-3414.
8. Atkins, T.W., *Biodegradation of poly (ethylene adipate) microcapsules in physiological media. Biomaterials.*, **1998**; *19*(1-3): 61–67.
 9. Kim, M.N.; Kim, K.H.; Jin, H.J.; et al., *Biodegradability of ethyl and n-octyl branched poly (ethylene adipate) and poly (butylene succinate). Eur. Polym. J.*, **2001**; *37*(9):1843–1847.
 10. Kramer, J.W.; Treitler, D.S.; Dunn, E.W.; et al., *Polymerization of enantiopure monomers using syndiospecific catalysts: a new approach to sequence control in polymer synthesis. J. Am. Chem. Soc.*, **2009**; *131*(44): 16042–16044.
 11. Pfeifer, S.; Lutz, J.F., *A facile procedure for controlling monomer sequence distribution in radical chain polymerizations. J. Am. Chem. Soc.*, **2007**; *129*(31): 9542–9543.
 12. ISO 846, *Plastics-evaluation of the action of microorganisms. International Organization for Standardization, Geneva 1997*
 13. Deng, L.M.; Wang, Y.Z.; Yang, K.K.; et al., *A new biodegradable copolyester poly (butylene succinate-co-ethylene succinate-co-ethylene terephthalate). Acta. Mater.*, **2004**; *52*(20):5871–5878.
 14. Hakkarainen, M.; Karlsson, S.; Albertsson, A.C., *Polymer.*, **2000**; *41*:2331.
 15. Khabbaz, F.; Karlsson, S.; Albertsson, A.C., *J. Appl. Polym. Sci.*, **2000**; *78*: 2369.
 16. Gattin, R.; and al., *Comparative biodegradation study of starch- and polylactic acid-based materials. Journal of Polymers and the Environment.*, **2001**; *9*(1): p. 11-17
 17. Khabbaz, F.; Karlsson, S and Albertsson, A.C., *Py-GC/MS an effective technique to characterizing of degradation mechanism of poly (L-lactide) in the different environment. Journal of Applied Polymer Science.*, **2000**, *78*(13): p. 2369-2378.

ملخص

تم إجراء التعديل الفردي والمزدوج مع إيثر وربط النشا بشكل متجانس في الوسط السائل الأيوني ، وهو مذيب ممتاز لتعديل النشا باستخدام حمض أحادي كلورو أسيتيك الصوديوم وتريميثافوسفات الصوديوم في تسلسلات مختلفة. وأشارت الخصائص التي تم تحليلها إلى أن تعديل النشا والذي تم تأكيده بدرجة أكبر عن طريق تحديد درجة عالية من الأثير والربط المتبادل يمكن تحقيقه على نطاق زمني قصير ، وهذا على ما يبدو بسبب القدرة الذاتية الممتازة والتأثير الحفاز للسائل الأيوني. وقد لوحظت اختلافات واضحة في خصائص النشويات الأصلية والمعدلة والمعدلة المزدوجة. قد يؤدي التعديل الكيميائي للنشا باستخدام طريقة واحدة إلى تحسين الخواص الوظيفية المحددة ، ولكن في الوقت نفسه ، هناك بعض الخصائص المفيدة مفقودة أيضًا. لذلك ، من الاستقصاء الحالي ، يمكن استنتاج أن الخصائص المحددة للنشويات المعدلة لتتناسب مع تطبيقات معينة ، يمكن الحصول عليها عن طريق تقسيم طريقتين مختلفتين من التعديلات واختيار مستوياتها وتسلسل التعديل بحذر. أخيرًا ، تم تقديم النشا المعدلة كمصفوفات تشكل سواغ لأشكال جرعة الإفراج المستدام عن طريق الفم.

تم تطوير أفلام ذكية قابلة للتحلل مع خصائص مضادة للميكروبات / قابلة للأكسدة وقادرة على مراقبة التغيرات في درجة الحموضة من خليط كحول النشا والبولي فينيل. تم ربط النشا المحب للماء وبوليمرات كحول البولي فينيل الكاره للماء في الفيلم بفعل ثلاثي ميثافوسفات الصوديوم لتحسين مقاومته للماء. تم دمج الكركم وزيت القرفة في الخليط للحصول على مؤشر لوني ونشاط مرض ضد الميكروبات و الأكسدة في وقت واحد. أخيرًا ، تمت دراسة تأثيرات دمج هذه المواد الفعالة في الفيلم على عملية التحلل الحيوي.

الكلمات الدالة : النشا؛ تعديل؛ السائل الأيوني؛ فيلم ذكي؛ قابلية التحلل البيولوجي.

Résumé

L'optimisation de la modification simple et double avec l'éthérisation et la réticulation de l'amidon a été réalisée de manière homogène dans un milieu liquide ionique, un excellent solvant pour la modification de l'amidon en utilisant de l'acide monochloroacétique de sodium et du triméthaphosphate de sodium dans différentes séquences. Les caractéristiques analysées indiquent une modification de l'amidon qui a été confirmée par la détermination d'un degré élevé d'éthérisation et la réticulation pourrait être obtenue à court terme, ce qui est apparemment dû à l'excellente capacité de dissolution et à l'effet catalytique du liquide ionique. Des différences visibles dans les propriétés des amidons natifs, à modification unique et à modification double ont été observées. La modification chimique de l'amidon en utilisant une seule méthode pourrait améliorer des propriétés fonctionnelles spécifiques, mais simultanément certaines propriétés utiles manquent également. Par conséquent, de la présente enquête, il peut être déduit que les propriétés spécifiques des amidons modifiés pour convenir à des applications spécifiques, peuvent être acquises en stratifiant deux méthodes différentes de modifications et en sélectionnant avec prudence leurs niveaux et leur séquence de modification. Enfin, les amidons modifiés ont été introduits sous forme de matrices formant des excipients pour les formes posologiques orales à libération prolongée.

Des films biodégradables intelligents dotés de propriétés antimicrobiennes/antioxydantes et capables de surveiller les changements de pH ont été développés à partir d'un mélange amidon-alcool polyvinylique. Les polymères d'amidon hydrophile et d'alcool polyvinylique hydrophobe dans le film ont été réticulés par action du triméthaphosphate de sodium afin d'améliorer leur résistance à l'eau. Le curcuma et l'huile de cannelle ont été incorporés dans le mélange pour obtenir simultanément une indication colorimétrique, une activité antimicrobienne et antioxydante satisfaisante. Enfin, les effets de l'incorporation de ces substances actives dans le film sur leur processus de biodégradation ont été étudiés.

Mots clés : Amidon ; Modification ; Liquide ionique ; Film intelligent ; Biodégradabilité.

Abstract

Optimization of the single and dual modification with etherification and Cross-linking of starch was homogeneously carried out in ionic liquid media, an excellent solvent for the starch modification using sodium monochloroacetic acid and sodium trimetaphosphate in different sequences. Characteristics analyzed indicated modification of starch which was further confirmed by determining a high degree of etherification and Cross-linking could be achieved at short time scale, which is apparently due to the excellent dissolving capacity and catalytic effect of ionic liquid. Visible differences in the properties of native, single modified and dual-modified starches were observed. Chemical modification of starch using a single method might improve specific functional properties, but simultaneously some useful properties are also missing. Therefore, from the present investigation it can be inferred that specific properties of modified starches to suit specific applications, can be acquired by stratifying two different methods of modifications and cautiously selecting their levels and sequence of modification. Finally, the modified starches were introduced as matrices forming excipients for oral sustained release dosage forms.

Intelligent biodegradable films with antimicrobial / antioxidant properties and capable of monitoring pH changes have been developed from a starch-polyvinyl alcohol mixture. The hydrophilic starch and hydrophobic polyvinyl alcohol polymers in the film were crosslinked by the action of sodium trimetaphosphate to improve their water resistance. Turmeric and cinnamon oil have been incorporated into the mixture to simultaneously obtain a colorimetric indication, satisfactory antimicrobial and antioxidant activity. Finally, the effects of incorporating these active substances into the film on their biodegradation process have been studied.

Keywords: Starch; Modification; Ionic liquid; Smart Film; Biodegradability.