

République algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université A. Mira de Bejaia



Faculté de Technologie
Département de Génie des procédés
Laboratoire de génie des procédés (S'il y a lieu)

Mémoire EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE Master

Domaine : Science et Technologie Filière : Génie des Procédés
Spécialité : Génie alimentaire.

Présenté par

BORDJAH Amina et ZEMOULI Merina.

Thème

Élaboration et caractérisation des biofilms à base d'agents antimicrobiens destinée à l'emballage alimentaire

Soutenue le 04/06/2024

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom	Grade	Affiliation	Qualité
BOUAKAZ Boubkeur Seddik	MCB	Université de Bejaia	Président
IHAMOUCHEN Chadia	MCA	Université de Bejaia	Examineur
HAMOUR Noura	MCA	Université de Bejaia	Encadrant
BENNACER Siham	Doctorante	Université de Bejaia	Co- Encadrant

Année Universitaire : 2023/2024

Remerciement

Et

Dédiasses

Remerciement

Nous voudrions exprimer notre profonde gratitude et reconnaissance envers tous les enseignants qui ont attribué à la réussite de notre parcours universitaire. Vos connaissances, votre dévouement et votre passion pour l'enseignement ont été une source d'inspiration. Vos conseils éclairés et votre volonté de partager vos connaissances ont joué un rôle essentiel dans notre formation et notre croissance intellectuelle.

Nous tenons à destiner nos remerciements les plus sincères et notre respect à notre promotrice Madame HAMOUR Noura de nous avoir encadré, aidé et guidé tout au long de notre parcours.

Nous tenons aussi à destiner un remerciement très spécial au Co-encadrante BENACER Siham qui a su très bien nous guider, nous remonter le moral à chaque fois que nous voulions baisser les bras et à nous éclairer les idées en cas de doute. Merci pour son ouverture d'esprit, sa disponibilité et sa bonne humeur.

Nous remercions également les membres de jury d'avoir accepté de corriger et d'examiner notre mémoire de fin d'études.

Nous tenons aussi à remercier les enseignants du département Génie des Procédés qui nous ont aidés, grâce à eux, on a pu avoir une base solide de travail sur laquelle nous nous sommes appuyées pour réaliser notre démarche de recherche et d'analyse.

Merci également à tous les ingénieurs des laboratoires du bloc 11 et Laboratoire des Matériaux Polymères Avancés.

A toute personne ayant contribué de près ou de loin à la bonne réalisation de ce travail, veuillez trouver notre gratitude et notre reconnaissance pour leur présence et leur dévouement.

Merci

Dédicace

Je remercie tout d'abord le bon DIEU tout puissant qui m'a donné la force et le courage pour terminer ce travail.

À ma très chère maman Hakima, aucune dédicace ne saurait être assez éloquent pour exprimer ce que tu mérites, Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études, Que Dieu te bénisse et te donne longue vie et de santé et de bonheur.

Mes remerciements particuliers à mon idéal père Abd el Halim pour son amour et son soutien inconditionnel. Je ne saurai jamais le récompenser suffisamment pour ses efforts et pour avoir fait toujours tout le possible pour que je puisse accomplir mes rêves, Je te remercie papa pour m'avoir accompagné jour et nuit.

À mes meilleures sœurs Asma et Amel et mon frère Axel, ma source de force et de bonheur, à travers les hauts et les bas de la vie vous êtes toujours mon plus grand soutien, votre présence dans ma vie est un cadeau inestimable que Dieu vous protège,

Et mes bébés d'amour Haythem, Magas et Alin mon bonheur.

À tous les membres de ma famille, petits et grands.

À « les plus belles » le fait de vous dire sœurs est trop peu pour ce que vous êtes pour moi. À salma, chahinez, thiziri, salima, dyhia, les cousines ilham, wafa, et sana, ma chère binôme Merina, Je n'oublierais jamais votre bonté et votre aide.

Merci

Dédicace

Je remercie tout d'abord le bon DIEU tout puissant qui m'a donné la force et le courage pour terminer ce travail.

Je dédie ce mémoire à mes chers parents djamal et Fatiha qui ont été toujours à mes côtés et m'ont toujours soutenu tout au long de ces longues années d'études. En signe de reconnaissance qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude pour me voir réussir dans mes études

A toute ma famille mes sœurs Nassima et Asma et mon frère Iyes.

A toutes mes amis lamia , fairouz, soulaf et Omar

Surtout à ma chère binôme Amina

Merci

Les

abréviations

Les abréviations

Les abréviations

Abs : Absorbance.

ACE : Enzyme de conversion de l'angiotensine.

AS : Alginate de sodium.

ASP : Aspergillus Niger.

ASTM: American society for testing and materials.

CaCl₂ : Chlorure de calcium.

CA²⁺ : Ions de calcium.

Cb : Cadmium.

cm² : Centimètre carré.

CO₂ : Dioxyde de carbone.

Cr^{VI} : Chrome VI.

C : Carbone.

°C : Degré Celsius.

DPPE : Diphenylphosphino.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).

DF : Fibres détergent.

EAM : Extraction assistée par micro-ondes.

EAU : Extraction par ultrasons.

EC: Escherichia coli.

EECP : Extrait de cosses des petits pois.

FAO : L'organisation pour l'alimentation et l'agriculture.

FD : Fibres alimentaire.

FICK : Loin de diffusion de la matière.

F: Formulations.

Les abréviations

GDP : Guanosinediphosphate.

GG: Diascial.

GMD: GDP-mannose dehydrogenase.

GMP: Guanosinemonophosphate.

GM: Axial-équatorial.

GTP: Guanosinetrés phosphate.

G : α -L-guluronique.

g : Gramme.

g/cm³ : Gramme par centimètre cube.

g/l : Gramme par litre.

g /ml : Gramme par mililètre.

g/mol : Gramme par mol.

Hg : Mercure.

H : Hydrogène.

h : Heure.

%H : Pourcentage d'humidité.

IRTF : Spectroscopie infrarouge a transformé de fourrier.

J.-C : Jesus Christ.

Mext : Masse d'extrait sec.

Méch : Masse dechantillon.

MG : Liaison équatorial-axial.

MM : Liaison Diéquatorial.

mm : Millimètre.

mn : Minute.

Les abréviations

M : β -D-mannuronique.

M : Masse.

NAD⁺ : Nicotinamide adénine dinucléotide.

nm: Nanomètre.

NP: *Penicillium* sp.

OH: Molécule d'hydroxyle.

O₂: Dioxygène.

O: Oxygène.

Pb : Plomb.

PCB: Polychlorobiphényles.

PCP : Teneur en pentachlorophénol.

PDA : Potato dextrose agar.

PHA : Polyhydroxyalcanoates.

PH : Potentiel hydrogène.

Pka : Constante d'acidité.

PLA : Polylacticacid.

PMM : Phosphomanno-mutase.

R : Rendement massique.

SA : *Staphylococcus aureus*.

μ m : Micro mètre.

Tf : Tension de fusion.

TG : Taux de gonflement.

TH : Taux d'humidité.

UV : Rayonnement ultraviolet.

Liste

Des

figures

Liste des figures

Chapitre I

Figure I.1 : Différents types d'emballage	7
Figure I.2 : Transfert de matières emballage/aliment	8
Figure I.3 : Equation de la deuxième lois de FICK	9
Figure I.4 : Organigramme des différentes familles de biopolymères.....	10
Figure I.5: Laminaria digitata	11
Figure I.6: Photographie des algues brunes pour la synthèse de l'alginate	12

Chapitre II

Figure II.1: Photographie des petits pois	20
Figure II.2 : Photographie de la cosse.....	23
Figure II.3 : Photographie d'un parchemin.....	23
Figure II.4: Classification des composés phénolique	25

Chapitre III

Figure III.1 Photographie de séchage des cosses des petits pois	31
Figure III.2: Broyeur électrique (a) et la poudre de cosses des petits pois obtenue (b).....	31
Figure III.3: (a) Mélange d'éthanol et la poudre et (b) Macération à l'aide d'une plaque Agitatrice.....	32
Figure III.4 : Photographie de formulations des films	33
Figure III.5 : Micromètre électronique	33
Figure III.6: Appareil spectroscopie infrarouge.....	34
Figure III.7 : Photographie des échantillons après la mise en étuve de 6h.....	34
Figure III.8: Photographie de l'évaluation de l'activité antioxydante des films.....	35
Figure III.9 : Photograpie des milieux de cultures coulé	37

Chapitre IV

Figure IV.1: variation d'épaisseur de films AS/ECPP.....	38
Figure IV.2: Spectres Infrarouge de la formulation vierge d'alginate	39
Figure IV.3 :Spectres IRTF des films alginates /EECP à différent concentrations et l'extrait.....	40
Figure IV.4: Valeur de taux d'humidité des films alginate/EECP.....	41
Figure IV.5: Evolution du taux de gonflement des films alginate/EECP	42
Figure IV.6:Pourcentages d'activité antiradiculaire et l'absorbance des films	43
Figure IV.7: Diamètres des zones d'inhibition mm.....	45

Liste

Des

Schémas

Liste des Schémas

Chapitre I

Shéma I.1 : Etapes de synthèse de l'alginat à partir d'algues brunes.....	13
Schéma I.2 : Monomères de la chaîne alginat.....	14
Schéma I.3: Structure chimique de la chaîne d'alginat de sodium	14
Schéma I.4: Interactions entre les unités M	15
Schéma I.5 : Interactions entre unités G.	15

Liste

Des

Tableaux

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Chapitre I

Tableau I.1 : Critères de choix d'un matériau d'emballage à contact alimentaire..... 9

Tableau I.2: Répartition de la production mondiale des alginates (en tonnage) entre les différents secteurs industriels et exemples d'application..... 17

Chapitre II

Tableau II.1 : Classification botanique du petit pois 22

Tableau II.2 : Caractéristiques morphologiques de *Pisum sativum*..... 22

Tableau II. 3: Composition chimique de cosse de petit pois (g/100g de matière sèche) 24

Tableau II.4: Propriétés biologiques des quelques composés phénoliques dans l'organisme 26

Chapitre III

Tableau III.1: Fiche techniques de l'alginate de sodium 30

Tableau III.2 : Fiche techniques de glycérol..... 30

Tableau III.3 : Différentes formulations des films AS/EECP..... 32

Chapitre IV

Tableau IV : Diamètres de la zone d'inhibition 44

Tableau IV.2 : Lecture des résultats des espèces bactériennes 45

Tableau IV.3 : Lecture des résultats des espèces antifongiques. Chapitre IV 46

Sommaire

Sommaire

Introduction générale	1
Références bibliographiques	3
Chapitre I : Etat d'art sur l'emballage.	5
I.1. Histoire de l'emballage alimentaire.....	5
I.2. Définition d'un emballage	5
I.3. Fonction de l'emballage	5
I.3. Types d'emballage alimentaire.....	6
I.4. Facteur de choix des emballages alimentaires.....	7
I.4.1. Critère de sélection d'un emballage alimentaire	7
I.4.2. Facteurs à considérer lors du choix d'un emballage.....	7
I.5. Interactions contenant/contenu	8
I.5.1. Types d'interaction	8
I.5.2. Critères de choix d'un matériau d'emballage pour un produit alimentaire	8
I.6. Généralités sur les biopolymères	9
I.6.1. Définition d'un biopolymère	9
I.6.2. Différentes familles des biopolymères	10
I.6.3. Avantages et inconvénients des biopolymères	10
I.6.3.1. Principaux avantages des biopolymères	10
I.6.3.2. Inconvénients des biopolymères.....	11
I.7.2.1 Bactéries	12
I.7.2.2. Algues brunes	12
I.7.3. Composition chimiques des alginates.....	14
I.7.4. Propriétés d'alginates.....	15
I.7.4.1. Propriétés physico-chimiques.....	15
I.7.4.2. Propriétés biologiques	16
I.7.5. Application d'alginates.....	17
Références bibliographiques	18
Chapitre II : Présentation de la plante Pisum sativum L.	20
II.1. Généralité sur les petits pois.....	20
II.1.2. Classification de petits pois.....	21

Sommaire

II.1.3. Aspect botanique de petits pois	21
II.1.3.1. Taxonomie et systématique	21
II.1.3.2. Descriptions morphologiques	22
II.1.3.4. Morphologie de cosses des petits pois	23
II.1.4. Utilisations potentiels	23
II.1.5. La composition chimique des cosses de petit pois	24
II.2. Les composés phénoliques	24
II.2.1. Définition.....	24
II.3. Propriétés biologiques des polyphénols	26
II.4. Extraction des polyphénols	26
II.4.1. Définition.....	26
II.4.2. Quelques types d'extraction.....	26
Références bibliographiques	28
Chapitre III : Matériels et méthodes	30
III.1. Matériels utilisés	30
III.2. Extraction des polyphénols	31
III.2.1. Séchage	31
III.2. 2. Broyage	31
III.2. 3. Tamisage	31
III.2.4. Préparation de l'extrait.....	32
III.2.5. Taux d'extraction	32
Le rendement est calculé selon cette formule :	32
III. 3. Préparation des films.....	32
III.2.3.1. Réticulation des films.....	33
III.4. Méthodes de caractérisation.....	33
III.4.1. Détermination de l'épaisseur	33
III.4.2. Spectroscopie infrarouge.....	34
III.4.3. Test d'humidité	34
Figure III.7: Photographie des échantillons après la mise en étuve de 6h.	34
III.4.5. Test de gonflement.....	34
III.4.6. Activité antioxydante	35

Sommaire

II.4.7. Test d'activité antibactérienne	35
Référence bibliographique	37
Chapitre IV: Résultat et discussion	38
IV.1. Extraction des polyphénols	38
IV.1.1. Taux d'extraction	38
IV.2. Caractérisation des films	38
IV.2.1. Epaisseur des films	38
IV.2.2. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier	39
IV.2.3. Taux d'humidité	41
IV.2.4. Taux de gonflement	42
IV.2.5. Activité antioxydante	43
IV.2.6. Activité antibactérienne	44
Références Bibliographiques	47
Conclusion générale	49

Introduction

Générale

Introduction générale

La préservation d'un aliment implique la préservation de ses qualités hygiéniques, nutritionnelles et organoleptiques pendant une durée maximale en agissant sur les différents mécanismes d'altération afin de les ralentir ou d'en éliminer les effets. [1]

Depuis les années 1970, l'emballage a joué un rôle crucial dans l'essor de la grande distribution et du libre-service. En effet, l'emballage permet une plus grande diversité de denrées en améliorant leurs capacités de conservation grâce à son étanchéité. Donc, il découvre.

En effet Plusieurs types d'interactions existent entre un emballage et l'aliment qu'il contient. L'inertie d'un emballage est rarement totale ce qui peut engendrer une altération des propriétés organoleptiques de l'aliment ou éventuellement un problème toxicologique et peut également influencer les propriétés mécaniques de l'emballage. [2, 3]

De cette manière, la majorité des emballages mentionnés dans la littérature offrent la possibilité d'intégrer des substances actives synthétiques et artificielles dans leurs systèmes. Toutefois, ces substances sont liées à différents effets préjudiciables à la santé humaine, y compris des effets cancérigènes, en raison de leur migration de l'emballage alimentaire vers l'aliment emballé, puis du consommateur vers l'organisme. Ainsi, de nouvelles solutions provenant de sources naturelles ont été explorées, comme l'utilisation des alginates.

Les sels d'alginates se trouvent naturellement dans les parois cellulaires des algues brunes, il s'agit de polysaccharides complexes constitués de deux unités d'acide mannuronique et d'acide guluronique, dérivées du mannose, les alginates, peu connus du grand public, sont pourtant des produits aujourd'hui utilisés dans de nombreux domaines. Chacun de nous les consomme ou les utilise régulièrement sans même le savoir. Cette lacune vient notamment du fait de l'incompréhension des ingrédients contenus dans les produits commercialisés qui s'avère un défi compliqué en raison de l'utilisation de nombreux symboles, le présent travail a pour objectif de développer et caractériser un film destiné à l'emballage alimentaire à base d'alginate de sodium et d'agents antimicrobien naturel (cosses de petit pois).

Le présent travail comporte quatre chapitres:

- ✓ Le premier chapitre consacré à l'emballage alimentaire (définition, types, fonctions, rôles, facteurs de choix d'emballage et interaction contenant/contenu), les biopolymères (définition, types, propriétés et avantages et inconvénients) et les alginates (définition, sources, propriétés et utilisation).
- ✓ Le second chapitre est consacré à Prestation de la plante *Pisum sativum* L. (généralités, classification, aspect botanique ainsi que la composition chimique et

Introduction générale

l'utilisation potentielle) et aussi le séchage (définition, principe, objet et types), mais aussi définition de l'extraction des polyphénols, principe et quelques types d'extraction.

- ✓ Présentation du matériels utilisés et les protocoles expérimentaux suivis et les techniques de de caractérisation sont résumés dans le chapitre trois.
- ✓ Les résultats et discussion sont donnés dans le chapitre quatre et enfin on termine par une conclusion et quelques perspectives.

Références bibliographiques

- [1] Gontard N, Guillard V., Gaucel S., Guillaume C. (2017). L'emballage alimentaire et l'innovation écologique dans toutes leurs dimensions. Innovations Agronomiques, INRA, 2017, 58, pp.1-9.
- [2] P.Y.PENNARUN «Migration à partir de bouteilles en PET recyclé Élaboration et validation d'un modèle applicable aux barrières fonctionnelles, thèse de doctorat, Université de Reims Champagne-Ardenne, Octobre 2001
- [3] O.ZAKI & Contribution à l'étude et à la modélisation de l'influence des phénomènes de transferts de masse sur le comportement mécanique de flacons en polypropylène thèse de doctorat, Université de Paris-Est, Juillet 2008

Chapitre I

Chapitre I : Etat d'art sur l'emballage.

I.1. Histoire de l'emballage alimentaire

Au cours des époques nomades de l'histoire humaine, les individus consommaient ce qu'ils pouvaient trouver et collecter de l'environnement de la nourriture, sans prendre en compte la préservation et le stockage de leur nourriture. Toutefois, quand l'humanité a commencé à s'établir dans les communautés, les régions et les villes, les individus se nourrissaient de ce qu'ils chassaient à l'aide d'équipement, d'armes et d'outils fabriqués. À cette époque, il est devenu indispensable de fermer et de conserver la nourriture. Il s'agissait de la preuve de l'utilisation de la poterie et du verre pour conserver les aliments, qui peut être datée d'environ 3000 avant J.-C., à l'époque de l'Égypte antique. La cire d'abeille ou de poix a également été utilisée par les Égyptiens pour sceller les récipients, protégeant ainsi la nourriture des insectes, des rongeurs, des bactéries et de l'air. Les bouchons en liège étaient utilisés par les Romains et les Grecs pour fermer les récipients vers 600 avant J.-C. L'utilisation de bois, de papier, de métal, de céramique et de verre dans l'emballage et la conservation des aliments a été facilitée par des progrès dans la fabrication de ces matériaux. À titre d'exemple, le fer blanc a été créé vers 1200 et est toujours employé aujourd'hui pour conserver les aliments en boîtes.[1]

En 1809, Nicolas Appert a inventé une méthode de conservation des aliments dans des récipients en verre bouchés placés dans un bain d'eau. L'industrie de la conserverie a été créée par Durand en 1810, et quelques années plus tard, Pasteur constate que les bactéries sont responsables de la dégradation des aliments et peuvent être inactivées par un traitement à la vapeur. Les matériaux d'emballage rigides et flexibles ont connu une amélioration au cours du vingtième siècle. Une technique de création d'un vide dans les aliments contenant des matériaux en métal et en verre a été mise au point dans les années 1930. En 1950, de nouveaux matériaux tels que le polychlorure de vinyle et le nylon étaient introduits et employés dans les films d'emballage.

Après la fin du vingtième siècle, plusieurs avancées majeures dans le domaine de l'emballage ont influencé le monde de l'emballage contemporain et de la préservation des aliments. Parmi les exemples, on peut citer le traitement des emballages aseptiques, les matériaux micronodules et les systèmes d'emballage actifs, intelligents et recyclables. [1]

I.2. Définition d'un emballage

L'emballage est un ensemble de matériaux destinés à protéger, transporter, stocker, vendre et consommer des produits, ainsi qu'à assurer la distribution sûre des produits aux utilisateurs finaux dans de bonnes conditions et à un coût minime. [2]

I.3. Fonction de l'emballage

Les sept (07) fonctions principales de l'emballage

- **Une fonction de contenant** : L'emballage est avant tout un récipient, associé à des servitudes Métrologiques réglementaires (obligation de l'indication exacte de la masse ou de volume Contenu).
- **Une fonction de présentation** : Visant à retenir l'attention et à séduire l'acheteur dans le linéaire de distribution (c'est la fonction qui intéresse les services marketing).
- **Une fonction d'information** : Par l'étiquetage, de plus en plus importante, associée à des servitudes réglementaires quant aux types d'information et à la loyauté des renseignements donnés (fonction qui concerne les services juridiques).
- **Une fonction de service** : Dans la mesure où l'emballage apporte un service spécifique : flacon pulvérisateur, flacon saupoudreur, boîte auto-chauffante, etc. La notion de service s'étend également à la commodité d'emploi, notamment à la facilité d'ouverture sans outils Particuliers.
- **Une fonction de sécurité alimentaire** : Protection vis-à-vis d'une contamination ou d'une pollution délictueuse (fraude, vol par substitution, malveillance, etc.).
- **Une fonction de protection physique** vis-à-vis des chocs mécaniques (manutentions,palettisation, transport), des variations de température (emballage isotherme), de la lumière(matériaux filtrant les UV par exemple).
- **la fonction principale** : Celle d'auxiliaire technologique de conservation et de protection de la qualité du produit alimentaire contre les agents extérieurs d'altération physico-chimique et biochimique des aliments, associée à une obligation d'innocuité toxicologique et d'inertie chimique des matériaux constituant l'emballage vis-à-vis de son contenu (problème de transferts) .[3]

I.3. Types d'emballage alimentaire

On a adopté une classification des emballages en fonction de leur but. On regroupe les emballages en trois catégories : [4-5].

- **Emballage commercial ou emballage primaire** : Il renferme le produit et est en contact direct avec celui-ci. C'est un produit commercial destiné au consommateur, comme par exemple une boîte métallique, une canette de limonade, une bouteille en plastique ou un pochon de lait.
- **Le packaging groupé ou emballage secondaire** : Il renferme un produit qui n'est pas directement en contact avec lui. Ce second emballage lui offre une protection pour éviter toute détérioration. Il peut contenir un seul article ou regrouper plusieurs, comme des céréales emballées dans un sachet plastique puis dans un carton.

- Emballage pour le transport ou emballage pour les entreprises qui l'emballage tertiaire , Il est spécialement conçu pour le transport, le stockage et la distribution des produits par lot, tels que les casiers à bouteilles, les caisses en carton épais, les palettes en bois, etc.

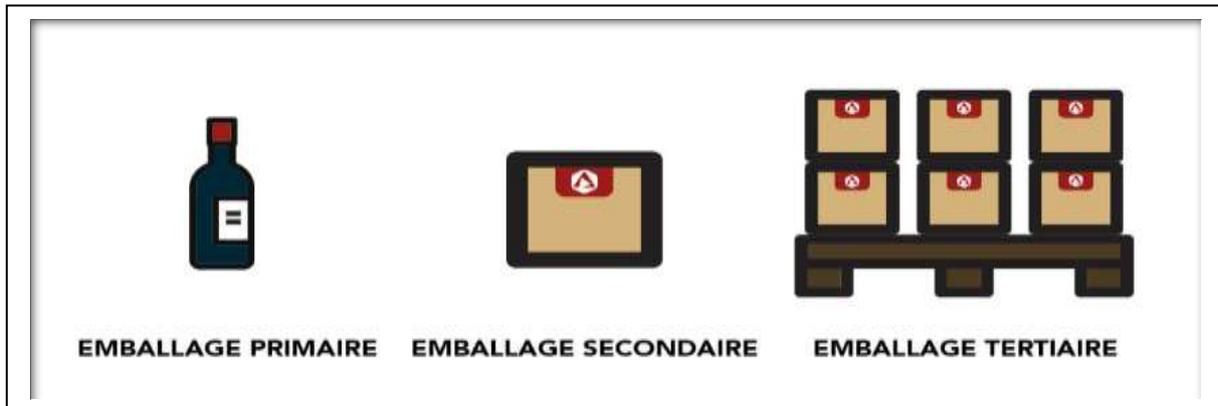


Figure I.1 : Différents types d'emballage. [6]

I.4. Facteur de choix des emballages alimentaires

I.4.1. Critère de sélection d'un emballage alimentaire

Il est essentiel de prendre en considération plusieurs critères pour sélectionner un emballage alimentaire approprié [7] :

- **Type de produit alimentaire** : En fonction de la nature du produit (solide, liquide, chaud, froid), certains matériaux ou formes d'emballage seront plus adaptés.
- **Protection de la santé** : L'emballage doit se conformer aux normes en vigueur pour préserver les denrées des contaminations microbiologiques, chimiques ou physiques.
- **Aptitude à conserver** : L'emballage doit garantir la préservation des qualités organoleptiques du produit tout au long de sa durée de vie.
- **Le design** doit être attrayant et en accord avec l'image de marque de l'entreprise afin de séduire les clients.

I.4.2. Facteurs à considérer lors du choix d'un emballage

- **Coût** : La décision dépend du prix de l'emballage. Pour garantir un rapport qualité-prix optimal, il est nécessaire de trouver un équilibre entre le coût et la qualité. [7]
- **Facilité d'utilisation** : La façon de fermer et d'ouvrir l'emballage a un impact sur la satisfaction du client. Un conditionnement pratique favorise sa réutilisation. [7]
- **Droit et réglementations** : La réglementation des emballages alimentaires est propre à chaque pays. La garantie de la sécurité des consommateurs repose sur le respect de ces normes dans l'emballage. [7]

I.5. Interactions contenant/contenu

La mise en contact d'un contenu (denrée alimentaire) et d'un contenant (emballage), dans des conditions définies : temps, de température, de surface relative, entraîne presque inéluctablement une éventualité de migration réciproque, aussi faible soit-elle, des produits en présence, c'est-à-dire passage de substances d'un milieu à l'autre. [8]

Lorsqu'on arrive à un état d'équilibre, le matériau est complètement pénétré, et les migrants se répartissent entre le matériau et le milieu au contact sur la base de leur affinité pour ces deux milieux. [8]

L'inertie d'un emballage est rarement totale ce qui peut engendrer par exemple une altération des propriétés organoleptiques de l'aliment ou éventuellement un problème toxicologique. [8]

I.5.1. Types d'interaction

Plusieurs types d'interactions existent entre un emballage (contenant) et le produit emballé (contenu). [9]

- Migration de substances présentes dans le matériau d'emballage vers le produit.
- Perméation de gaz : O₂ vers l'aliment, CO₂ vers l'extérieur de l'emballage.
- Sorption (absorption) des constituants du produit par l'emballage (exemple : arômes).

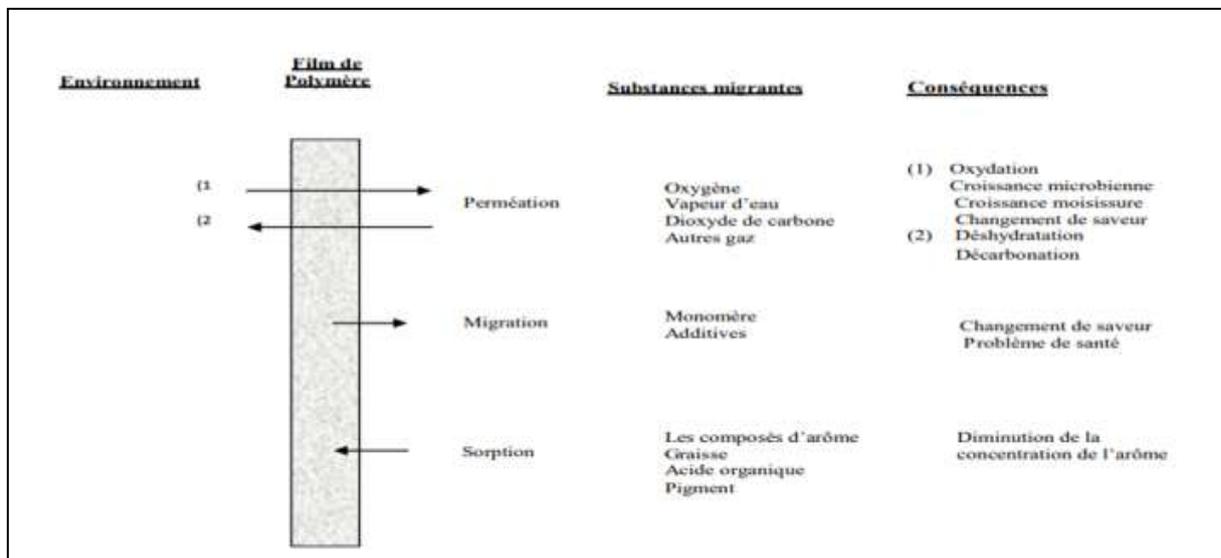


Figure I.2 : Transfert de matières emballage/aliment. [9]

I.5.2. Critères de choix d'un matériau d'emballage pour un produit alimentaire

- Critères de compositions

D'un point de vue toxicologique, nous allons nous intéresser plus précisément à la migration (interaction contenu-contenant). Cette migration d'une substance dans un aliment peut être modélisée par la seconde loi de FICK. La migration est fonction de différents paramètres. [10]

Figure I.3 : Equation de la deuxième lois de FICK .[10]

- De l'aliment mis au contact.
- Du procédé de conditionnement.
- Du temps de contact.
- Les concentrations des substances.
- **Critères de pureté**

Pour choisir un matériau d'emballage pour un produit alimentaire nous devons reprendre aux exigences de pureté et au contrôle systématique qui dépendent de la nature, de l'état physique ainsi que la composition de la d'entrée alimentaire .[10]

Tableau II.1 : Critères de choix d'un matériau d'emballage à contact alimentaire.[10]

Exigences de pureté, contrôle systématique	Aliments secs	Aliments humides Ou gras	Cuisson	Filtration à Chaud
Transfert des constituants antis microbiens	x	x	x	x
Inertie organoleptique	x	x	x	x
Teneur en PCP	x	x	x	x
Teneur en PCB	x	x	x	x
Teneur en matériaux extractibles (Pb, Cd, Hg, Cr VI)		x	x	x
Extraction à chaud				x

I.6. Généralités sur les biopolymères

I.6.1.Définition d'un biopolymère

Le terme biopolymère regroupe les polymères "issus de ressources renouvelables" et les polymères dits "biodégradables". Le premier aspect est défini par des normes (ASTM, 2005). Cette

dernière repose sur une méthode de mesure de la teneur en carbone de la biomasse. Les termes " biosourcé " ou " issu de ressources naturelles " ou encore " issu de ressources renouvelables " s'appliquent aux polymères dont la majorité de leurs constituants sont issus de la biomasse. La source peut être végétale ou animale.[11]

I.6.2. Différentes familles des biopolymères

- **Biopolymères synthétiques** : Ils sont obtenus par fermentation et sont appelés biopolymères synthétiques ou synthétisés chimiquement en fonction de leur mode de production. Il s'agit en fait d'une polycondensation (chauffage) de monomères naturels ou de monomères identiques aux monomères naturels. Le plus connu est le PLA (acide polylactique).[12]
- **Polymères biodégradables** : Ce sont des polymères d'origine fossile (issus du pétrole) auxquels est ajouté un additif qui permet de favoriser leur dégradabilité.
- **Biopolymères biosourcé** : peuvent être classés en trois familles :
 - Les polymères issus directement des ressources végétales et animales comme les polysaccharides, les protéines et les polynucléotides. [12]
 - Les polymères issus d'origine bactérienne comme les polyhydroxyalcanoates (PHA).
 - Les polymères obtenus indirectement par polymérisation de monomères eux-mêmes issus de ressources végétales comme l'acide lactique, résultant de la fermentation de sucres ou encore des composés monomères réactifs dérivés d'huiles végétales.[12]

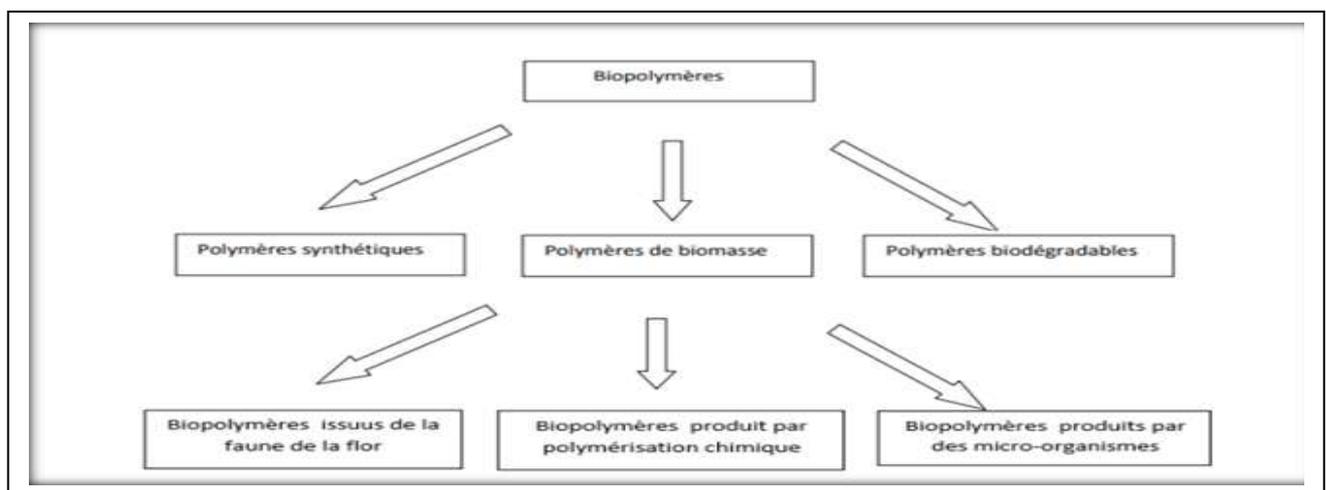


Figure I.4 : Organigramme des différentes familles de biopolymères. [13]

I.6.3. Avantages et inconvénients des biopolymères

I.6.3.1. Principaux avantages des biopolymères

- Neutralité en ce qui concerne le cycle CO₂.
- Gestion de la fin de vie est simplifiée grâce au compostage.

- Une gamme diversifiée de biopolymères à disposition.
- Fabriqués à partir de ressources renouvelables abondantes.
- Adaptables à des procédés classiques tels que l'extrusion, le gonflage, l'injection et le thermoformage.
- Une valeur ajoutée considérable. [14]

I.6.3.2. Inconvénients des biopolymères

De plus, ils comportent des désavantages [14] tels que :

- Coût élevé de vente (coût + production faible).
- Parfois, les caractéristiques physiques sont limitées.
- Secteur du polymère est peu structuré à l'échelle internationale en raison de l'absence de normes et de législations concernant la biodégradabilité.
- Compostage industriel des déchets bio-polymériques est peu développé dans le domaine.

I.7. Les alginates

I.7.1. Définition

Alginate de sodium est un polysaccharide anionique, un biopolymère extrait des algues brunes, et il peut être fabriqué par des bactéries. Dans le domaine industriel, il provient principalement de certaines espèces d'algues brunes telles que *Macrocystis pyrifera*, qui a été collectée aux États-Unis, *Laminaria digitata* (Figure I.15), *Laminaria hyperborea* et *Ascophyllum nodosum*, qui a été collectée en Europe.

Le polysaccharide le plus répandu dans ces organismes est l'alginate, qui représente plus de 40% de leur poids sec. Il est fréquemment employé dans des domaines biologiques tels que l'encapsulation cellulaire et la délivrance contrôlée de molécules à effet thérapeutique. Cette réussite est principalement attribuable à son processus de gélification et à sa biocompatibilité largement prouvée dans la littérature.[15]

Le biomatériau de l'alginate provient de deux sources naturelles : les bactéries et principalement les algues brunes.

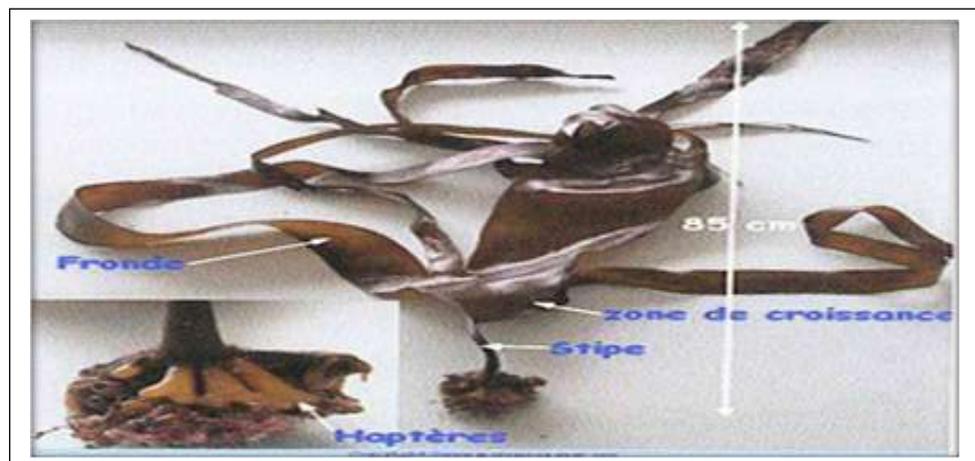


Figure I.5: Photographie *Laminaria digitata* .[15]

Le biomatériau de l'alginate provient de deux sources naturelles : les bactéries et principalement les algues brunes.

I.7.2.1 Bactéries

Les bactéries aérobies, comme *Azobacter vinelandii* et la bactérie pathogène opportuniste *Pseudomonas aeruginosa*, produisent de l'alginate. Les bactéries peuvent se protéger grâce à cette production. Effectivement, les alginates se rassemblent autour des bactéries afin de les préserver de l'action des antibiotiques et de la déshydratation.[16]

En ce qui concerne les bactéries, il est possible d'exploiter uniquement la synthèse de la bactérie *A. vinelandii*, car elle est la seule à produire un alginate avec des structures de type copolymères en blocs. L'alginate est produit à partir de cette bactérie en deux étapes :

- Dans la première étape, on utilise la voie d'Enter-Doudoroff, une voie secondaire du métabolisme du glucose : le fructose-6-phosphate est le produit d'arrivée de cette voie. Chez les bactéries, cette voie métabolique est caractérisée par sa cyclicité, ce qui permet la production de fructose-6-phosphate qui alimente la voie de biosynthèse des alginates à partir du cycle de Krebs.

-La deuxième étape consiste à convertir le fructose-6-phosphate en alginate grâce à une cascade enzymatique. [17]

I.7.2.2. Algues brunes

Les algues brunes sont une autre source d'alginate, où les alginates peuvent représenter jusqu'à 40% de leur extrait sec. L'utilisation des algues pour la synthèse est beaucoup plus répandue en raison de leur coût beaucoup plus attractif que celui des bactéries.

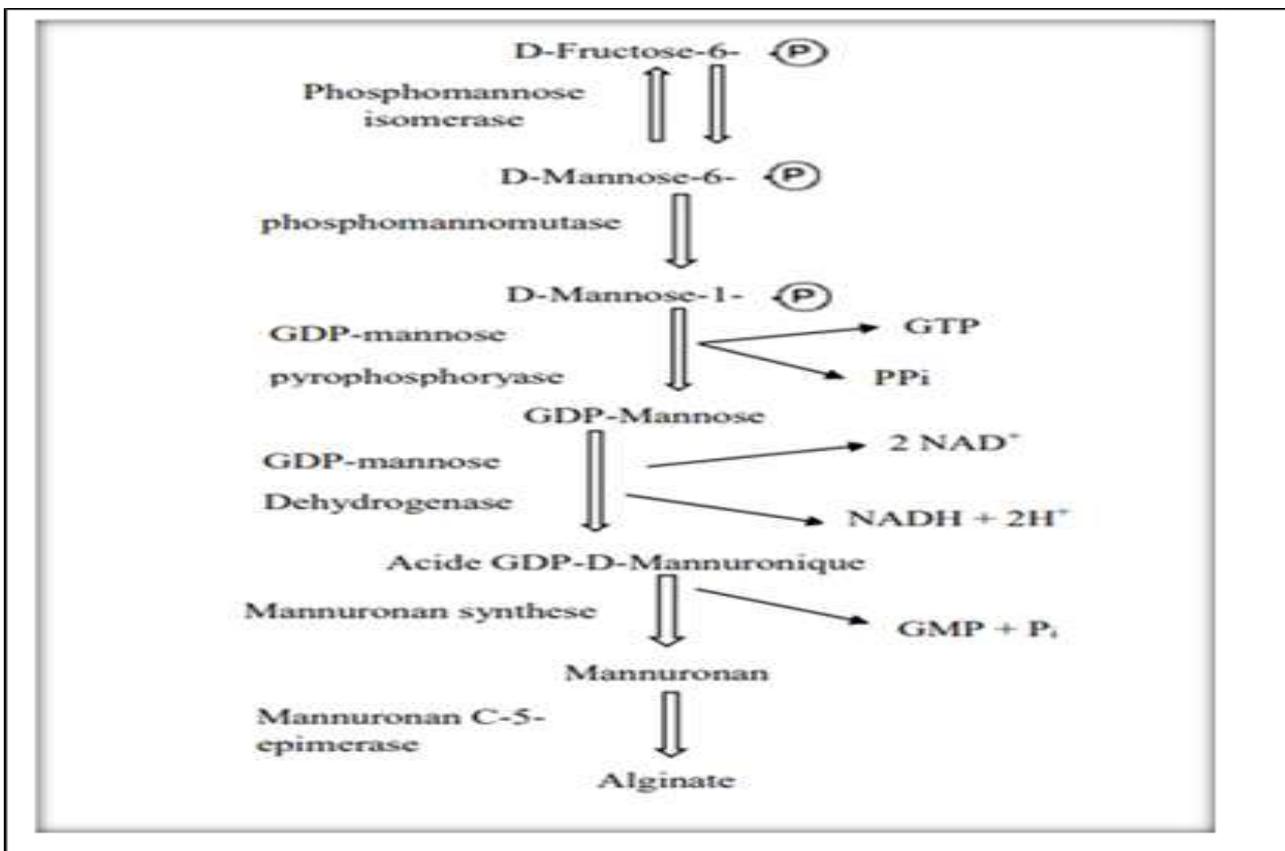
Les propriétés physiologiques de l'alginate des plantes marines sont similaires à celles de la cellulose des plantes terrestres. Les espèces les plus utilisées d'algues brunes sont *Laminaria digita* (Figure I.6 a) et *Ascophyllum nodosum* (Figure I.6 b) sur les côtes canadiennes et du nord de l'Europe, *Macrocystis pyrifera* (Figure I.6 c) sur la côte californienne . [18]



Figure I.6 : Photographie des algues brunes pour la synthèse de l'alginate.[18]

Dans les algues brunes, l'alginate se trouve naturellement sous forme de sels insolubles de potassium, de sodium et de calcium de l'acide alginique naturel. La rigidité et la flexibilité des algues sont influencées par leur composition et leur séquence en monomères. La synthèse de l'alginate à partir des algues se déroule en suivant les étapes suivantes :

- La phosphomannose isomérase transforme le fructose-6-phosphate en mannose-6-phosphate.
- En présence de glucose 1-6-di-phosphate, la phosphomanno-mutase (PMM) catalyse la conversion du mannose-6-phosphate en mannose-1-phosphate lors de la deuxième étape.
- Ensuite, la formation de GDP-mannose est catalysée par une troisième enzyme, la GDP-mannose pyrophosphorylase (GMP), qui fixe un GTP sur le mannose-1-phosphate.
- La dernière enzyme cytoplasmique connue de la chaîne de biosynthèse, la GDP mannose déshydrogénase (GMD), assure la double oxydation du GDP-mannose en GDP-mannuronate en réduisant 2 NAD⁺.
- La mannuronane synthase va transformer l'acide mannuronique en mannuronane, ce qui provoquera la libération d'une molécule de GMP et d'un phosphate inorganique.
- Par la suite, une enzyme essentielle joue un rôle crucial dans la synthèse de l'alginate : la mannuronane C5-épipimérase, qui catalyse la conversion du mannuronane en alginate. On peut synthétiser ces étapes dans le schéma I.. [18]



Shéma I.1 : Étapes de synthèse de l'alginate à partir d'algues brunes. [18]

I.7.3. Composition chimiques des alginates

Les alginates se composent de deux monomères saccharidiques de base, à savoir l'acide α -L-guluronique (G) et l'acide β -D-mannuronique (M), dont la séquence diffère (voir Schéma I.2).

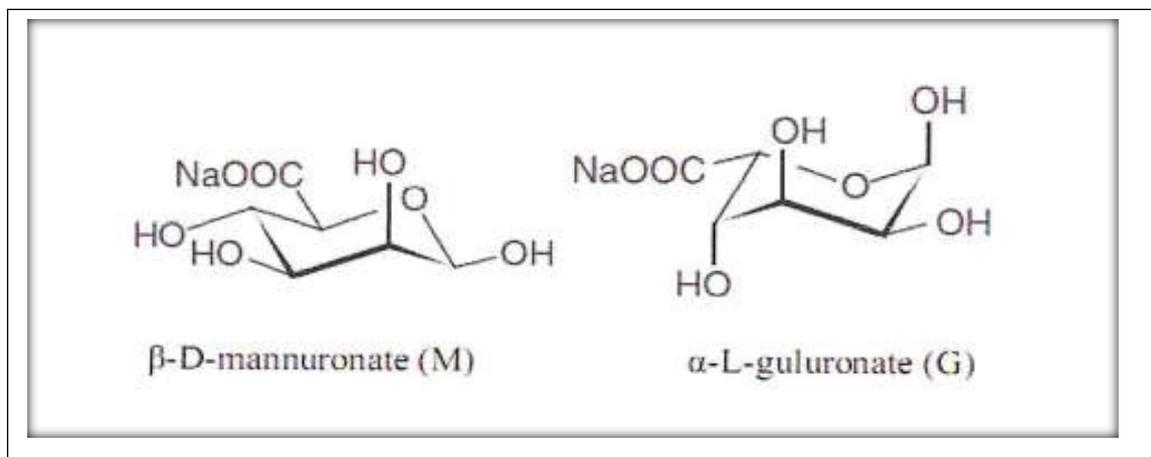


Schéma I.2 : Monomères de la chaîne alginate.[19]

La succession des blocs (M) et (G) varie en fonction du type d'algue, de son âge et de la partie dont l'alginate est isolé. La composition en blocs et les séquences sont également influencées par la saison de récolte. [19]

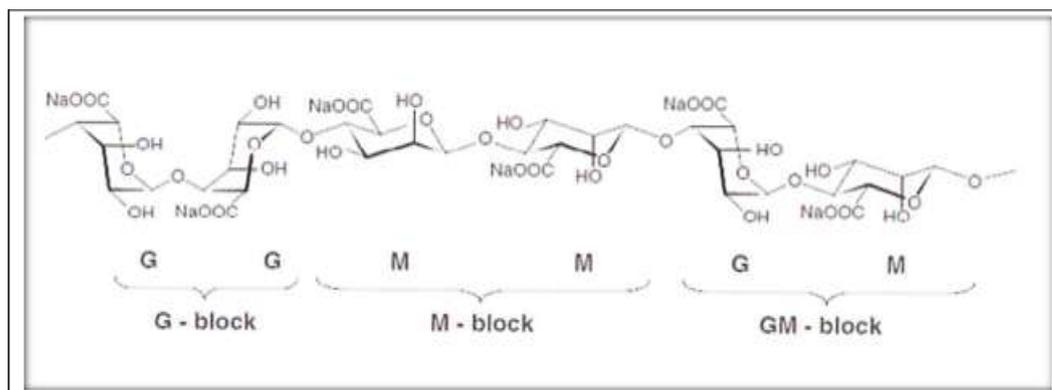


Schéma I.3: Structure chimique de la chaîne d'alginate de sodium. [19]

En outre, il existe quatre types de liaisons glycosidiques possibles chez les alginates (voir schéma I.3) : diéquatorial (MM), diaxial (GG), équatorial-axial (MG) et axial-équatorial (GM).

Les segments polyacides mannuronique présentent une structure très similaire à celle de la cellulose. Ces segments présentent une structure aplatie, de type ruban, grâce aux liaisons diéquatoriales entre les unités M. La stabilité de cette structure est assurée par des liaisons d'hydrogène (voir schéma I.3). Par exemple, l'atome d'oxygène du cycle monomère M. organiques interagit avec le groupement hydroxyle en C3 du monomère M+1. Il augmente dans l'eau mais ne se dissout pas dans celle-ci. Il est soluble dans les solutions contenant des hydroxydes alcalins.

De leur côté, ses sels monovalents sont parfaitement solubles dans l'eau. [19]

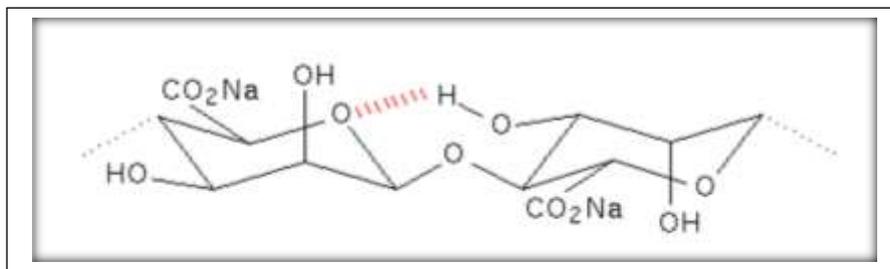


Schéma I.4: Interactions entre les unités M.[19]

La liaison diaxiale (GG) diffère grandement de la liaison (MM) en raison de sa structure non plate et de son arrangement plus rigide similaire à celui d'une boucle. Différentes liaisons hydrogène stabilisent également cette structure (schéma I.4). Par exemple, ce type de liaison permet d'interagir entre le groupement hydroxyle en C2 du monomère G et le groupement carboxyle du monomère G+1. [19]

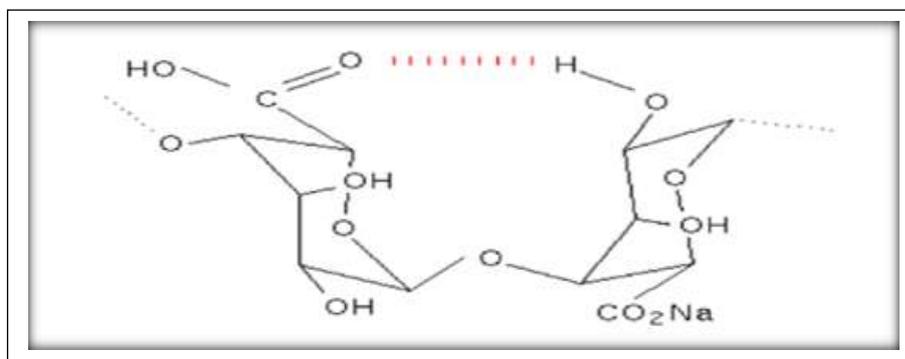


Schéma I.5 : Interactions entre unités G. [19]

L'alternance des liaisons axiales-équatoriales et équatoriales-axiales est présente dans les blocs MG. Ces différences dans la tacticité de la chaîne sont à l'origine d'une plus grande souplesse des blocs MG par rapport aux autres blocs. [19]

De plus, les données de viscosité révèlent une augmentation de la rigidité des blocs dans l'ordre :

$MG < MM < GG$.

En outre, si l'on considère l'alginate comme un polyélectrolyte – c'est-à-dire un polyanion –, on observe que la répulsion électrostatique entre les groupes chargés sur la chaîne polymère contribuera à l'augmentation de la viscosité intrinsèque. [19]

I.7.4. Propriétés d'alginate

I.7.4.1. Propriétés physico-chimiques

A. Comportement en solution

L'alginate de sodium est soluble dans l'eau en fonction de sa force ionique. Effectivement, lorsque la force ionique de la solution évolue, la structure des chaînes du polymère évolue également, ce qui entraîne une variation de la viscosité. En outre, une augmentation de la force ionique entraîne une réduction de la solubilisation de l'alginate. Par conséquent, il est préférable de

préalablement solubiliser l'alginate dans l'eau pure avant d'y ajouter une espèce ionique sous agitation. [20]

La solubilisation de l'alginate est également influencée par le pH de la solution. L'acide mannuronique a un pH de 3,38 et l'acide guluronique un pH de 3,65. Si le pH de la solution contenant l'alginate est plus bas que les pKa des deux acides, il est envisageable de créer un hydrogel.[20]

La viscosité joue aussi un rôle dans la solubilité des alginate, qui est ensuite liée à la structure des chaînes du polymère. Une chaîne est plus souple d'autant que sa viscosité est réduite. On peut aisément constater ce phénomène chez les alginate lorsque l'on ajoute du sel. Ce sel réduit les répulsions et tend à rapprocher les chaînes entre elles, ce qui entraîne une augmentation de la viscosité de la solution. [20]

B. Aptitude à la gélification

Les alginate peuvent geler en utilisant deux mécanismes différents :

- La gélification de l'acide alginique est le premier phénomène qui se produit lorsque le pH du milieu est inférieur au pKa de l'alginate. Dans cette situation, il est possible que des liaisons hydrogènes et des interactions hydrophobes se produisent entre les molécules. [20]
- On effectue le deuxième processus de gélification en présence d'ions multivalents comme les ions calcium. Dans cette situation, les chaînes d'alginate se lient à ces ions dans une structure appelée "boîte à œufs", où un ion divalent est enveloppé dans une coque d'acide gluconique de l'alginate. [20]

I.7.4.2. Propriétés biologiques

A. Biocompatibilité

On considère qu'un matériau est biocompatible lorsqu'il n'agit pas sur les tissus et qu'il est bien toléré par les cellules. [21]

On discute toujours de la biocompatibilité de l'alginate car on ignore encore l'impact de sa composition et de ses propriétés sur la réponse inflammatoire. [21]

Effectivement, les sources naturelles d'alginate peuvent renfermer des impuretés telles que des métaux lourds, des endotoxines, des protéines et des composés polyphénoliques. Cependant, des recherches menées par ont démontré que l'emploi d'un alginate hautement purifié effectué à plusieurs étapes d'extraction ne provoquait pas de réaction inflammatoire. [21]

B. Agent cicatrisant

Les alginate ont démontré leur effet cicatrisant en stimulant des molécules actives à partir de cellules clés impliquées dans le processus de cicatrisation.

Selon [21], il a été démontré que les alginates contenant davantage d'unités mannuroniques ont des effets bénéfiques sur la cicatrisation, même si cette activité dépend également du niveau de purification de l'alginate.

C. Agent absorbant

Il est connu que les alginates sont des hydrogels qui peuvent absorber leur taille en eau à plusieurs reprises (jusqu'à 300 fois). Les alginates ont deux mécanismes d'absorption: une absorption inter-fibres qui implique l'absorption du fluide entre les fibres et une absorption intra-fibres qui implique l'absorption à l'intérieur de la structure de la fibre. [21]

I.7.5. Application d'alginates

Le tableau I.3 regroupe les différents secteurs industriels concernés. Les exemples d'applications montrent que les alginates sont principalement utilisés comme agent épaississant, texturant et/ou stabilisateur. [21]

Tableau I.2: Répartition de la production mondiale des alginates (en tonnage) entre les différents secteurs industriels et exemples d'application. [22]

application	Rôle de l'alginate
Industrie textile (50%)	Epaississant pour les pâtes d'impression, Epaississant et stabilisateur des teintures, Agent d'imperméabilisation, Agent plastifiant et filmogène.
Industrie agroalimentaire (30%) codes E401 à E405	Epaississant, texturant, conservateur, dans de nombreux produits confitures, jus de fruits, sauces (moutarde, mayonnaise), potages, produits laitiers, stabilisateur dans les crèmes glacées (empêche la formation de cristaux)
Industrie du papier (5%)	Agglomérant pour les fibres, apprêt de surface, Epaississant et stabilisant dans les colles, Maintien des pigments en suspension.
Industrie pharmaceutique (5%)	Stabilisateur d'émulsions, agglomérant dans les comprimés, épaississant et hémostatique dans les pommades, pansements, mèches nasales, Gélifiant dans les pâtes à empreinte dentaire.
Divers (10%)	Epaississant dans les produits de beauté et pâtes à dentifrice, stabilisateur pour les peintures et vernis, Flocculant en traitement des eaux, Agglomérant pour les électrodes de soudure, Agent absorbant dans les couches pour bébé.

Références bibliographiques

- [1] Abaza, L., Msallem, M., Daoud, D., & Zarrouk, M. (2002). Caractérisation des huiles de sept variétés d'olivier tunisiennes. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 9(2), Article 2. <https://doi.org/10.1051/ocl.2002.0174> [9] Gontard N., 1999, « Les différents types d'emballages. Matériaux et propriétés ».
- [2] Mohamed Mathlouthi. (1996). *Emballage et conservation des produits alimentaires*: Vol. 322 pages.
- [3] Multon Jean-Louis. (1998). *L'emballage des denrées alimentaires de grande consommation / coordonnateurs J.-L. Multon, G. Bureau (2e éd. revue et augmentée)*. Tec & doc-Lavoisier.
- [4] Les différents types d'emballage en logistique <https://marocitl.com/logistique/solutions/demballage/les-differents-types-demballage-en-logistique/>
- [5] Abaza, L., Msallem, M., Daoud, D., & Zarrouk, M. (2002). Caractérisation des huiles de sept variétés d'olivier tunisiennes. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*,
- [6] Aspects technico-économiques de l'utilisation des plastiques. (s. d.). *Techniques de l'Ingénieur*.
- [7] GHALI, S. (2017). *Nanotechnologie et emballages alimentaires : Enjeux, acteurs et impacts [UNIVERSITÉ DU QUÉBEC]*. <https://core.ac.uk/reader/96125919>.
- [8] Zaki, O., Abbès, B., Safa, L., & Leprince-Wang, Y. (2007). Etude de l'influence des transferts de masse sur les propriétés thermomécaniques d'emballage en polypropylène.
- [9] Nir, M. M., Ram, A., & Miltz, J. (1996). Sorption and migration of organic liquids in, poly(ethylene terephthalate). *Polymer Engineering & Science*, 36(6), 862-868. <https://doi.org/10.1002/pen.10473>
- [10] Masson, E., & Severin, I. (s. d.). Évaluation et gestion des risques—Matériaux d'emballage à contact alimentaire. *EM-Consulte*. <https://doi.org/10.1016/j.cnd.2010.11.003>
- [11] Ray, S. S., & Bousmina, M. (2005). Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: in greening the 21st century materials world. *Progress in materials science*, 50(8), 962-1079.
- [12] Avérous, L. (2004). Biodegradable Multiphase Systems Based on Plasticized Starch : A Review. *Polymer Reviews*, C44, 231-274. <https://doi.org/10.1081/MC-200029326>.
- [13] Différentes familles de biopolymères et leurs propriétés. (s. d.). *Techniques de l'Ingénieur*.
- [14] Boukerrou, A., D. Hammiche. Mémoire de Master « Effet D'un Renfort Biodégradable Sur Les Propriétés Physico-Mécaniques D'un Biopolymère PHBV » : Université A. Mira – Bejaia. 2015.

- [15] Wang, L., Shelton, R. M., Cooper, P. R., Lawson, M., Triffitt, J. T., & Barralet, J. E. (2003). Evaluation of sodium alginate for bone marrow cell tissue engineering. *Biomaterials*, 24(20), 3475-3481. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00167-4](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00167-4)
- [16] Vincent, E. (2010). Les alginates et leurs applications en pharmacie et en ingénierie. Application à la construction d'un biomatériau (p. non renseigné) [Other, UHP - Université Henri Poincaré]. <https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01732593>
- [17] Hay, I., Rehman, Z., Ghafoor, A., & Rehm, B. (2010). Bacterial biosynthesis of alginates. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 85, 752-759. <https://doi.org/10.1002/jctb.2372>
- [18] Mjahed H., Caractérisation physico-chimique des films multicouches de polyélectrolytes à base de polysaccharides et de polypeptides en vue d'applications dans le domaine des biomatériaux, thèse de l'Université Louis Pasteur, Strasbourg, 2009, pp. 22-29.
- [19] Jørgensen, T., Sletmoen, M., Draget, K., & Stokke, B. (2007). Influence of Oligoguluronates on Alginate Gelation, Kinetics, and Polymer Organization. *Biomacromolecules*, 8, 2388-2397. <https://doi.org/10.1021/bm070208d>
- [20] HAUNG, A.(1959).Fractionation of alginic acid. *Acta Chem Scand*, 13, p.601-603.
- [21] Williams, D. F. (2008). On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials*, 29(20), 2941-2953. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.04.023>.
- [22] Pérez R., R. Kaas, F. Campello, S. Arbault & O. Barbaroux. (1992). La culture des algues marine dans le monde. Editions IFREMER.

Chapitre II

Chapitre II : Présentation de la plante *Pisum sativum* L.

Les petits pois (*Pisum sativum* L.) (Figure II.1) sont l'une des légumineuses les plus cultivées et fréquemment consommées à travers le monde, notamment au Canada, en France, en Chine, aux États-Unis et en Russie. Ils possèdent une grande valeur nutritionnelle et une grande quantité de lysine. Il s'agit aussi d'une excellente source pour produire des peptides bioactifs, qui peuvent avoir une activité antioxydante et une activité inhibitrice de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I (ACE) pour des effets cardiaques et pour la santé. [1].

Ils sont largement consommés et cultivés partout dans le monde. Selon l'organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. [2]

En effet, la cosse de petit pois en tant que principal sous-produit de l'industrie traditionnelle de la conserverie de petit pois présente à l'instar de nombreux déchets issus de l'industrie agroalimentaire, des problèmes économiques et environnementaux. [3]

A premier abord, les cosses de petit pois semblent un sous-produit sans grand intérêt alimentaire. Des analyses plus approfondies montrent la présence des composés phénoliques des pigments, des fibres et des minéraux dont la valorisation en tant qu'ingrédients alimentaires ou fonctionnels (en vue d'améliorer la fonctionnalité des produits alimentaires) pourrait être d'un grand intérêt économique. [3]

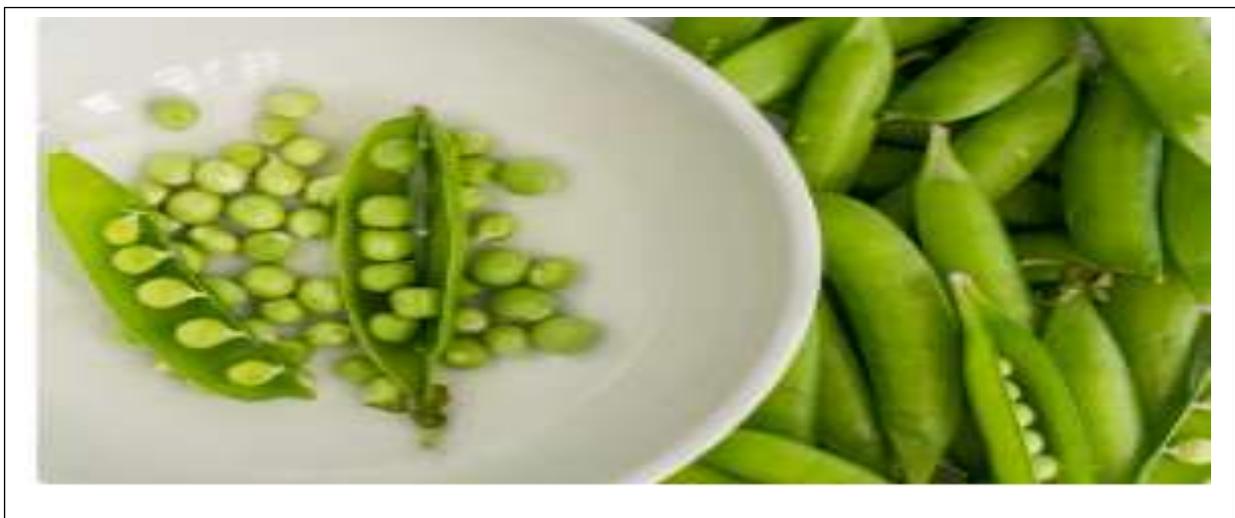


Figure II.1: Photographie des petits pois. [4]

II.1. Généralité sur les petits pois

La région méditerranéenne, l'Asie centrale et occidentale et l'Éthiopie sont considérées comme des centres d'origine. Récemment, la FAO a désigné l'Éthiopie et l'Asie occidentale comme centres de diversité et a établi des centres secondaires en Asie du Sud et dans la région méditerranéenne. Des données archéologiques remontant à 8000 avant JC démontrent l'utilisation des pois par les habitants du Croissant Fertile. Les pois semblent avoir été cultivés pour la première fois en Asie, d'où ils se sont répandus en Europe, en Chine et en Inde. Dans l'Antiquité, des auteurs grecs et romains ont

signalé sa culture comme légume sèche et plante fourragère. Le pois était connu dans les hautes terres d'Afrique centrale et orientale avant l'arrivée des Européens et, en 1860, il était devenu une culture vivrière importante et bien établie au Rwanda et dans le sud-ouest de l'Ouganda. La consommation des gousses a été signalée pour la première fois aux Pays-Bas et en France au XVI^e siècle, et un siècle plus tard, les graines immatures ont commencé à être utilisées comme légumineuses en Europe. [5]

Actuellement, les pois se trouvent dans tous les pays tempérés et dans la plupart des hauts plateaux tropicaux. Les pois secs sont largement cultivés en Afrique centrale (orientale) et orientale (en particulier en Éthiopie) et dans les régions montagneuses d'Afrique australe. Dans certaines régions du Rwanda et de l'Ouganda, c'est la principale impulsion. Les pois secs ne sont pas réellement cultivés en Afrique de l'Ouest. En Afrique, les pois et les pois mange-tout sont principalement des produits exotiques. Ils sont importants au niveau régional, les pois mange-tout étant plus importants dans les pays francophones et les pois surtout dans les pays anglophones. Les pois en conserve importés peuvent être achetés dans n'importe quelle épicerie. [6]

II.1.2. Classification de petits pois

Pisum sativum L. est une espèce de plantes de la famille des Fabaceae (Viciae). Elle regroupe différentes espèces de plantes herbacées annuelles, sous la forme de cinq genres : *Lathyrus* L. (gesse/pois doux, environ 160 espèces), *Lens* (lentilles, 4 espèces), *Pisum* L. (pois, 3 espèces), *Vicia* L. (vesces, environ 140 espèces) et le genre monotypique *Vavilovia*. [6]

Le genre *Pisum*, après avoir recensé plusieurs espèces, ne comprend que trois espèces :

- *P. sativum* L (Species subsp. *sativa* m, Sous-préfecture.)
- *P. fulvum*.
- *C. abyssinicum*. [7]

II.1.3. Aspect botanique de petits pois

II.1.3.1. Taxonomie et systématique

Le petit pois, *Pisum sativum* L., est une espèce de pois du genre *Pisum*, de la tribu des Fabacées *P. abyssinicum*, *P. fulvum*, *P. sativum* L. La plus cultivée est celle-ci. [7,8]

La classification botanique du petit pois est résumée dans le tableau II.1 situé ci-dessous [9].

Tableau II.1 : Classification botanique du petit pois. [10]

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Fabales
Famille	Fabacées
Sous famille	Faboïdeae
Genre	<i>pisum</i>
Espèces	<i>Pisum sativum</i> L

II.1.3.2. Descriptions morphologiques

La description morphologique du petit pois est présentée dans le tableau II.2.

Tableau II.2 : Caractéristiques morphologiques de *Pisum sativum*. [6]

Compartiments	Descriptions	Photographies
Plante	Plante herbacée Annuelle, glabre, Grimpante, atteignant 2 m de haut	
Fleur	Bisexuée, papilionacé, Zygomorphe, à ovaire supère et cléistogame.	
Fruit	Gousse oblongue-ovale de 3,5–15cm × 1–2,5 cm, Pendante, contenant 2-11 graines.	
Graine	Globuleuses, parfois ridées, de 5–8 mm de diamètre, de couleur verte ou jaune crème	

II.1.3.4. Morphologie de cosses des petits pois

La cosse de petit pois (ou gousse) est un fruit sec oblongue-ovale de 3,5-15 cm × 1–2,5 cm, pendante [11]. Sa couleur avant la maturité est habituellement verte, elle est composée d'un seul carpelle (uniloculaire) et s'ouvre à maturité par deux fentes de déhiscence, l'une des placentas et l'autre de la nervure médiane du carpelle. Selon la (Figure II.2), la gousse est divisée en deux valves, ce qui facilite l'écosse et la collecte de la graine [12]

Les cosses de petit pois (*Pisum sativum*) sont couvertes d'un parchemin (un film solide mince), ce qui lui confère une rigidité et facilite sa déhiscence (Figure II.3).

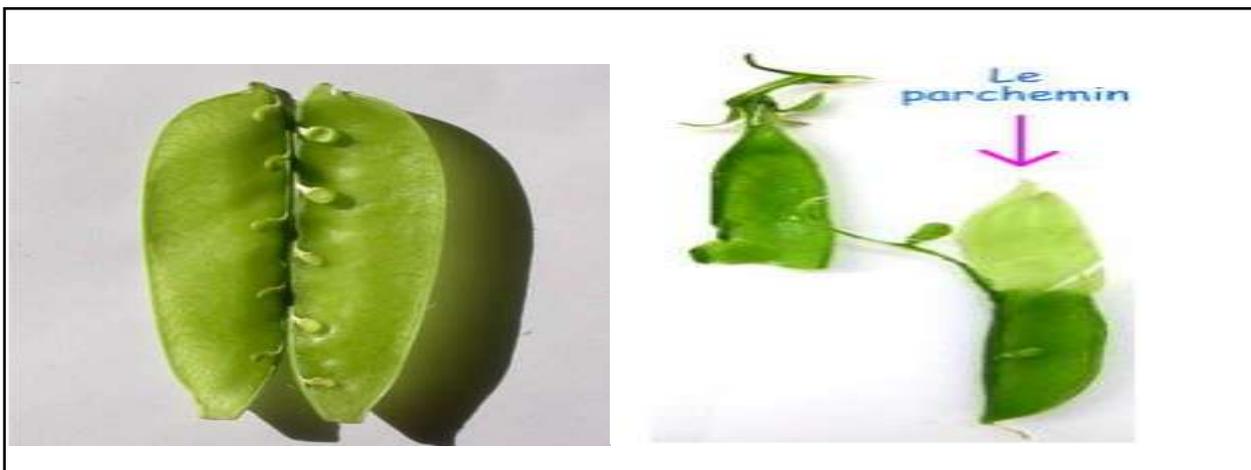


Figure II.2 : Photographie de la cosse. [12] Figure II.3 : Photographie d'un parchemin. [12]

II.1.4. Utilisations potentiels

Dans l'industrie alimentaire, les cosses pourraient jouer un rôle crucial en tant qu'ingrédient riche en fibres alimentaires. Il s'agit d'un élément riche en cellulose, avec une proportion importante de pectine. Les deux composés jouent un rôle essentiel dans la nutrition humaine, cependant les effets potentiels attendus de ce sous-produit seraient principalement liés à ceux liés aux fibres insolubles, tels que la régulation des fonctions intestinales et de la rétention d'eau. [13]

Les composés phénoliques présentent une activité antioxydante particulièrement intéressante dans le cadre de la création de nouveaux produits ou bioadditifs, qui possèdent de grandes propriétés fonctionnelles. De plus, les extraits riches en composés phénoliques pourraient avoir un impact très bénéfique sur la qualité des produits alimentaires en ce qui concerne la couleur, le goût et la saveur des aliments frais et/ou transformés. [14]

Après avoir mené des recherches à travers le monde, et en utilisant les bases de données courantes d'informations, il est clair que les cosses de petit pois contiennent des niveaux élevés de composés phytochimiques. La mise en œuvre des techniques de transformation contemporaines en intégrant la connaissance traditionnelle constituera une fondation importante pour l'exploitation

commerciale de ces sous-produits, pour la création de nouvelles nourritures originales (ou pour la biofortification), ainsi que pour l'utilisation dans l'industrie pharmaceutique. [15]

II.1.5. La composition chimique des cosses de petit pois

La cosse de pois joue un rôle essentiel dans l'alimentation en raison de sa richesse en nutriments : fibres, sucre, protéines, minéraux et métabolites secondaires, tels que des composés phénoliques. [15] (Tableau II.4) :

Tableau II. 3: Composition chimique de cosse de petit pois (g/100g de matière sèche). [16]

Composition chimique	Concentration
Lipides	0,5-1,3
Protéines	0,2-10,8
LMWC	0,5-22,7
Saccharose	0,5-22,7
Glucose	0,5-11,9
Fructose	0,3-1,2
Amidon	0,2-3,7
Fibres alimentaire (FD)	1,0-58,6
DF insoluble	1,2-4,2
DF soluble	0,6-54,4
Cendres	0,1-6,6
Potassium	0,3-1,03
manganèse	0,0-0,27
Zinc	0,0-0,16
Fer	0,1 – 1,20
Sodium	0, 0 – 0,14
Magnésium	0,0 – 0,21
Calcium	0,0 – 0,77

II.2. Les composés phénoliques

II.2.1. Définition

Les polyphénols, également connus sous le nom de composés phénoliques, sont une famille de molécules organiques fréquemment rencontrées dans le règne végétal. Ils sont présents dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits, et sont donc indispensables à notre table. Les plantes produisent des métabolites secondaires afin d'interagir avec les autres végétaux et les animaux. Ils ne

jouent pas un rôle direct dans les fonctions essentielles de l'organisme végétal, telles que la croissance ou la reproduction.

L'expression phénolique désigne des substances qui présentent au moins un substitué hydroxyle (OH) sur un cycle aromatique. Cette appellation est issue du composé parent le plus simple : le phénol.

Il est possible que les polyphénols naturels soient des molécules simples telles que les acides phénoliques, ainsi que des composés extrêmement polymérisés tels que les tanins. Jusqu'à présent, plusieurs milliers de composés phénoliques ont été identifiés dans le règne végétal.

Actuellement, on dénombre environ 8000 composés. La présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles est commune à tous .[17]

D'un point de vue pratique, les composants actifs des plantes médicinales et leur processus de production constituent la base de ces molécules. Le rôle de ces oligo-éléments est crucial pour l'être humain, car ils ont un impact direct sur la valeur nutritionnelle des fruits et légumes et ont une influence significative sur la santé des consommateurs. Ils ont différents effets positifs comme des antioxydants et une protection contre des types de cancer spécifiques. [17]

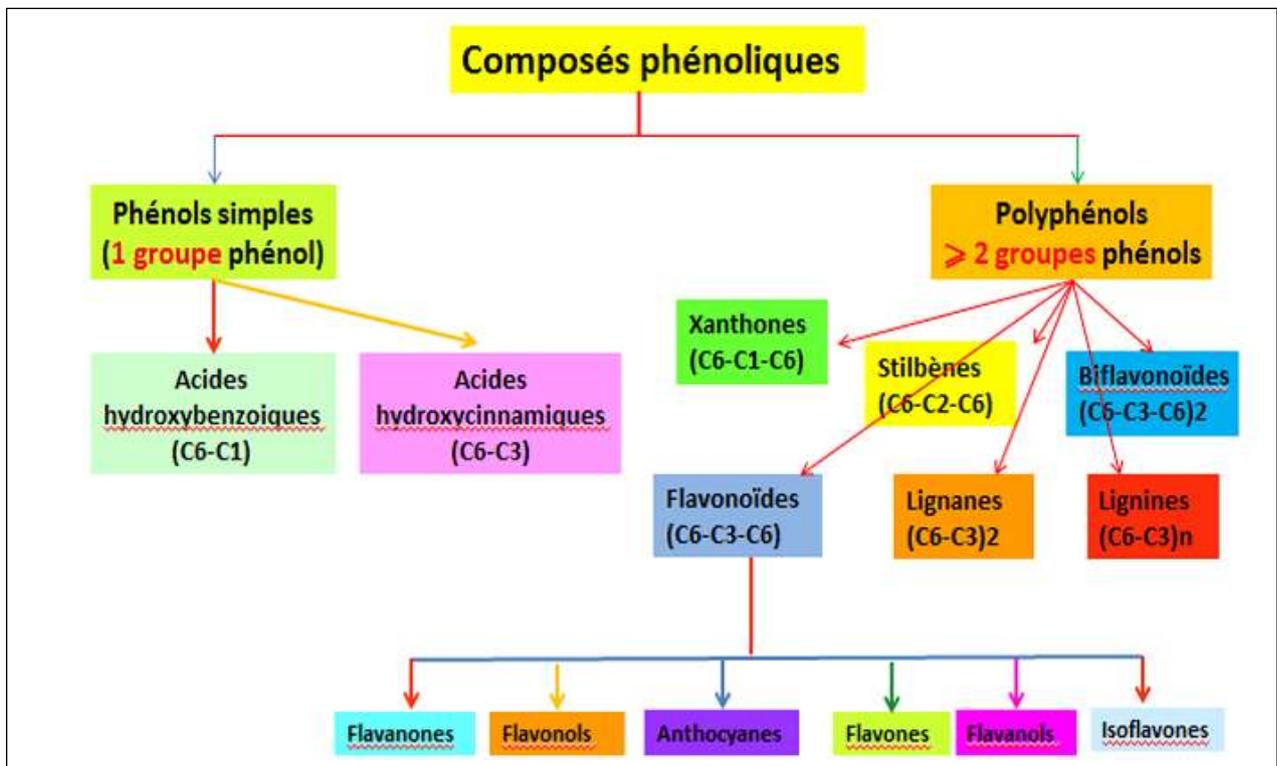


Figure II.4 : Classification des composés phénolique.[17]

II.3. Propriétés biologiques des polyphénols

Tableau II.4: Propriétés biologiques des quelques composés phénoliques dans l'organisme. [18]

<i>Polyphénols</i>	<i>Activité biologique</i>
Acides phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes, Anti-ulcéreuses, Antiparasitaires Antifongiques, Antioxydantes,
Coumarines	Protectrices vasculaires, Anti-inflammatoires, Anti parasitaires, Analgésiques et Anti œdémateuses
Flavonoïde	Antioxydant, Réduit l'agrégation plaquettaire, Antithrombotique, Antiulcéreuse
Anthocyanes	Antioxydante, Antiinflammatoire, Antiulcéreuse
Proanthocyanidines	Protection contre les maladies cardiovasculaires
Tannins galliques et catéchiques	Anti cancéreux, Activité antibactérienne
Lignanes	Anti-inflammatoires, Analgésiques
Stilbènes	Pouvoir anticancéreux.

II.4. Extraction des polyphénols

II.4.1. Définition

On utilise l'extraction pour extraire de manière sélective un ou plusieurs composés d'un mélange initial, en se basant sur leurs caractéristiques chimiques ou physiques.

L'extraction implique le passage d'une phase à une autre d'un composé :

- D'une phase liquide à une autre phase liquide.
- D'une phase solide à une phase liquide.

L'extraction définit comme séparation des parties actives de tissus végétaux ou animaux des composants inactifs ou inertes à l'aide de solvants sélectifs, traditionnellement l'eau, les huiles végétales ou les graisses animales. Les produits ainsi obtenus sont relativement impurs sous forme de liquides, semi-solides ou poudres exclusivement destinés à un usage oral ou externe. Il s'agit de préparations connues comme les tisanes et les huiles médicinales. [19]

II.4.2. Quelques types d'extraction

Différentes techniques d'extraction existent, dont certaines ont été élaborées par les artisans parfumeurs bien avant l'avènement de la chimie contemporaine.

A. Extraction par macération

La macération est la méthode la plus facile d'extraction solide-liquide. Dans cette méthode, le matériel végétal est mis en contact avec le solvant sans ou avec agitation, généralement à température ambiante. Malgré sa durée habituelle et son rendement souvent médiocre, cette opération est couramment employée pour extraire des molécules thermosensibles. Afin d'être efficace, une macération sans agitation peut prendre environ 4 à 10 jours, ce qui peut entraîner quelques désavantages. En ce qui concerne la fermentation ou la présence de bactéries, en particulier si le solvant utilisé est de l'eau. Il est possible que ces phénomènes entraînent une détérioration des molécules actives.

Pour éviter ou diminuer ces désavantages, la macération peut être réalisée dans un récipient couvert, à l'abri de la lumière et, dans certains cas, conservée dans un réfrigérateur. [20]

B. Extraction par ultrasons (EAU)

L'utilisation des ultrasons pour extraire les composés bioactifs est une méthode facile, efficace et abordable qui permet une grande reproductibilité en un temps record, trois fois plus rapide qu'une extraction traditionnelle par solvant. Elle se met en place facilement et consomme peu de solvant et d'énergie. Effectivement, la matière première est plongée dans l'eau ou dans le solvant, tout en étant exposée aux ultrasons. [20]

C. Extraction assistée par micro-ondes (EAM)

À la fin des années 1980, l'extraction de produits naturels a été introduite avec l'utilisation du EAM, qui, grâce aux avancées technologiques, est devenue l'une des méthodes d'extraction les plus appréciées et les plus rentables. Grâce à cette technique, il est possible de réaliser plusieurs extractions quantitatives d'échantillons en seulement quelques minutes, ce qui améliore la reproductibilité et diminue la consommation de solvant. Ce processus permet également d'obtenir une température élevée et de contrôler la température. [20]

D. Infusion

Infusion est la méthode de préparation la plus simple. On le prépare en versant de l'eau bouillante sur des parties de plantes fraîches ou séchées et en les infusant bien pour développer leurs propriétés curatives. Il convient à l'extraction de parties de plantes sensibles ou finement hachées (fleurs, feuilles, graines, écorces, racines) contenant des composants volatils ou thermolabiles comme les huiles essentielles. [20]

E. Décoction

Il convient à l'extraction de matières végétales dures ou très dures : bois, racines, écorces ou plantes contenant des composants insolubles comme l'acide silicique. Il s'agit de faire bouillir des plantes fraîches ou séchées dans de l'eau pendant 10 à 30 minutes pour en extraire complètement les ingrédients médicinaux. [20]

Références bibliographiques

- [1] Burger, T., & Zhang, Y. (2019). Recent Progress in the Utilization of Pea Protein as an Emulsifier for Food Applications. *Trends in Food Science & Technology*, 86. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.007>
- [2] FAO, 2013. Food and alimentation organisation. site FAO-STAT : <<http://faostat3.fao.org/home/F>>
- [3] Mateos-Aparicio, I., Redondo-Cuenca, A., Villanueva-Suárez, M.J., 2012. Broad bean and pea by-products as sources of fibre-rich ingredients: potential antioxidant activity measured in vitro. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 92, 697-703.)
- [4] Husson, J.-P. (2007). M. Benoît, J.-P. Deffontaines, S.Lardon, Acteurs et territoires locaux : Vers une géoagronomie de l'aménagement. *Revue Géographique de l'Est*, 47(2), Article 2. <https://doi.org/10.4000/rge.226> [62] Brink, M., Belay, G.M., 2006. Ressources végétales de l'Afrique tropicale 1: céréales et légumes secs. PROTA.
- [5] Smykal, P., Kenicer, G., Flavell, A., Corander, J., Kosterin, O., Redden. Curator, A. G. G., Robert, Ford, R., Coyne, C., Maxted, N., Ambrosea, M., & Ellis, N. (2011). Phylogeny, phylogeography and genetic diversity of the *Pisum* genus. *Plant Genetic Resources*, 9, 4-18. <https://doi.org/10.1017/S147926211000033X>
- [6] Cousin, R. (1997). Petits pois (*Pisum sativum*L.). *Field Crops Research*, 53(1), 111-130. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(97\)00026-9](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(97)00026-9)
- [7] Images de Cosses De Petits Pois – Téléchargement gratuit sur Freepik. (s. d.). Freepik. Consulté 4 juin 2024, à l'adresse <https://fr.freepik.com/photos-vecteurs-libre/cosses-de-petits-pois>
- [8] Maesen, L. J. G. van der (Éd.). (1989). *Plant resources of South-East Asia. 1 : Pulses* / L. J. G. van der Maesen ... (eds.). Pudoc.
- [9] Contribution à l'Etude des Variétés de Pois potager cultivées en France. (s. d.). Consulté 4 juin 2024, à l'adresse <https://ressources.semencespaysannes.org/document/fiche-document-147.html>
- [10] Bravo, L., & Saura-Calixto, F. (1998). Characterization of Dietary Fiber and the In Vitro Indigestible Fraction of Grape Pomace. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49(2), 135-141. <https://doi.org/10.5344/ajev.1998.49.2.135>
- [11] Mateos-Aparicio, I., Redondo-Cuenca, A., M.J., V.-S., Zapata-Revilla, M.-A., & Tenorio-Sanz, M.-D. (2010). Pea pod, broad bean pod and okara, potential sources of functional compounds. *Lwt - Food Science and Technology*, 43, 1467-1470. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.05.008>.
- [12] Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(4), 287-306. <https://doi.org/10.1080/1040869059096>

- [13] Scalbert, A., Johnson, I. T., & Saltmarsh, M. (2005). Polyphenols : Antioxidants and beyond. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1 Suppl), 215S-217S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/81.1.215S>
- [14] Gowen, A. A., Abu-Ghannam, N., Frias, J., & Oliveira, J. (2008). Modeling dehydration and rehydration of cooked soybeans subjected to combined microwave–hot-air drying. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(1), 129-137. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.06.009>
- [15] Scherr, P. (1981). *La géothermie et le séchage : principaux généraux et application au séchage du maïs*. Bureau de recherches géologiques et minières. 44 pages.
- [16] *Le Séchage—Calculs sur les séchoirs*. (s. d.). Consulté 4 juin 2024, à l'adresse <https://tech-alim.univ-lille.fr/sechage/co/Chapitre2.html>
- [17] Handa S.S. (2008) An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants. In: Handa S.S., Khanuja S.P.S., Longo G., Rakesh D.D. (Eds) *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. International Centre For Science and High Technology, Trieste, Italy. p 21-54.
- [18] Boubekri, Ch. (2014). *Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques*. Thèse de Doctorat, Université Mohamed Khider – Biskra, p 24.
- [19] Pronyk C. et Mazza G. (2009). Design and scale-up of pressurized fluid extractors for food and bioproducts. *Journal of food engineering*, 95 : 215-226
- [20] Azmir J., Zaidul I. S. M., Rahman M. M., Sharif K. M., Mohamed A., Sahena F., Jahurul M. H. A., Ghafoor K., Norulaini N. A. N. et Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117: 4, p 427-428.

Chapitre III

Chapitre III : Matériels et méthodes

Ce chapitre est consacré pour définir les différents matériels, méthodes et techniques de caractérisation de différentes formulations.

III.1. Matériels utilisés

- Alginate de sodium

Tableau III.1: Fiche techniques de l'alginate de sodium.

Propriétés	Unité
Formule chimique	$(C_6H_7NaO_6)_n$
Fournisseur	Sigma aldrich
Apparence	Poudre blanc crème
Solubilité	Soluble dans l'eau 10 g/l
pH	8
Température de fusion	Tf >300 °C

- Glycérol

Tableau III.2 : Fiche techniques de glycérol.

propriétés	Unité
Formule chimique	C_2H_6O
Etat physique	Liquide
Masse molaire	46,07
Point de fusion	-114 °C
Valeur de ph	7
Point d'ébullition	78 °C
Densité	0,789
Densité gaz/vapeur	1,59
Solubilité	Dans l'eau: miscible, Complète dans les solvants polaires et apolaires (acétone, éther diéthylique)

- Chlorure de calcium

Le chlorure de calcium est le sel de calcium de l'acide chlorhydrique, sa formule chimique est $CaCl_2$, il est déliquescent et très soluble dans l'eau. Sa masse molaire est 110,98 g/mol et la masse volumique est 2,15 g/cm³, point de fusion : 772°C et point d'ébullition : 1935 °C.

Il est utilisé dans notre cas comme agent de réticulation.

III.2. Extraction des polyphénols

III.2.1. Séchage

Les cosses de petits pois ont été lavées abondamment à l'eau distillée, puis séchées dans l'étuve à température 60 °C pendant 48 heures.



Figure III.1: Photographie de séchage des cosses des petits pois.

III.2. 2. Broyage

L'échantillon séché est réduit en poudre fine grâce à un broyeur électrique, la poudre obtenue est conservée dans une boîte en verre couverte avec du papier aluminium à l'abri de la lumière pour éviter la photo oxydation des substances actives dans la poudre.

III.2. 3. Tamisage

La poudre ainsi obtenue après broyage (broyeur électrique figure III.2 (a).) est tamisée en faisant passer le broyat à travers un tamis de 250 μm en vue d'obtenir des particules de taille moyenne et homogène qui permettent une meilleure extraction tout en évitant le colmatage et le passage des particules dans l'extrait après filtration. La poudre ainsi obtenue est conservée dans des flacons en verre, bien hermétiques, à l'abri de la lumière.

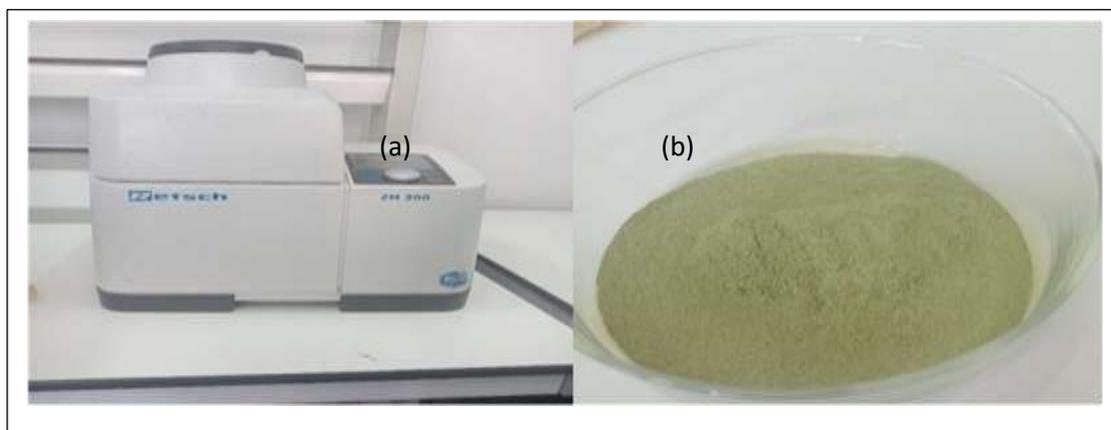


Figure III.2: Broyeur électrique (a) et la poudre de cosses des petits pois obtenue (b).

III.2.4. Préparation de l'extrait

L'extraction a été faite par macération sous agitation magnétique, 10g de poudre dans 100 ml de l'éthanol pendant 48 h dans le but d'extraire au maximum les composés polaires tels que les polyphénols. Après filtration sur papier Whatman, les filtrats obtenus ont été évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif à 43°C. [1]

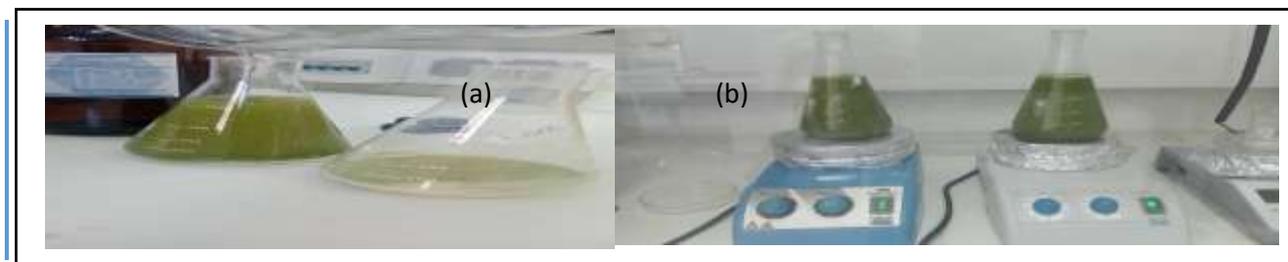


Figure III.3: (a) Mélange d'éthanol et la poudre et (b) Macération à l'aide d'une plaque agitatrice.

III.2.5. Taux d'extraction

Le rendement est calculé selon cette formule :

$$R\% = (M_{\text{Ext}} / M_{\text{éch}}) * 100$$

- ✓ R : Rendement massique (%)
- ✓ M_{ext} : La masse de l'extrait sec
- ✓ $M_{\text{éch}}$: La masse de la poudre

III. 3. Préparation des films

Plusieurs formulations ont été préparée par voie casting (en solution) en dissolvant des différentes quantités d'extrait dans une eau déminéralise sous agitation magnétique température 60°C pendant 30 minutes. Pour dissoudre l'extrait et homogénéise la solution, pour chaque erlenmeyer on ajoute un 1,5g de glycérol, 1,5g alginate et les chauffe pendant 2 heures. Les différentes formulations sont récapitulées dans le tableau III.3. [2]

La solution est ensuite coulée dans des boîtes pétries puis séchées dans l'étuve à température 60 °C pendant 48 heures.

Tableau III.3 : Différentes formulations des films AS/EECP.

	F0	F1	F2	F3	F4	F5
EECP (g)	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1
AS (g)	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Glycérol (g)	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5



Figure III.4 : Photographie de formulations des films.

II.2.3.1. Réticulation des films

Le processus de réticulation a été rapidement achevé à l'étape suivante (deuxième étape) en immergeant complètement le film dans 3 ml de solution aqueuse de Ca^{2+} (3,0 g/100 ml) pendant 1 min à température ambiante (25°C).

Le film traité a été retiré du bain, rincer avec de l'eau distillée, égoutter et placé à l'étuve pendant 1 heure.

Après ce processus de séchage, ils ont été emballés dans des sacs hermétiques jusqu'à ce que des tests de caractérisation soient effectués. [3]

III.4. Méthodes de caractérisation

Plusieurs techniques sont utilisées pour la caractérisation des films.

III.4.1. Détermination de l'épaisseur

L'épaisseur du film est mesurée à l'aide d'un micromètre électronique (figure III.5) ayant une sensibilité de 0,001 mm, La surface plane des films est identifiée et l'épaisseur est mesurée.

Pour chaque échantillon, cinq points sont analysés (le centre et quatre points autour du périmètre) et enregistrés. L'épaisseur moyenne est déterminée et signalée.



Figure III.5 : Micromètre électronique.

III.4.2. Spectroscopie infrarouge

L'obtention d'un spectre infrarouge (IRTF) par transmission, pour les échantillons transparents. La spectroscopie infrarouge est une technique d'analyse utilisée pour l'identification des groupements fonctionnels qui apparaissent sous forme de bande d'absorption. L'appareil utilisé est un spectrophotomètre de type SHIMADZU FTIR -8400 S, piloté par un ordinateur muni d'un logiciel de traitement avec une résolution de 4 cm⁻¹ dans l'intervalle 400-4000 cm⁻¹. L'analyse est réalisée sur les films réticulés.



Figure III.6: Appareil spectroscopie infrarouge.

III.4.3. Test d'humidité

Le taux d'humidité des films a été déterminé en séchant de petits morceaux des de taille (2 cm × 2 cm) films préparés préalablement pesés (M_1) dans une étuve à 105 °C pendant 6 h jusqu'à ce qu'un poids constant soit constaté (M_2). [4]

Le taux d'humidité a été calculée par l'équation ci-dessous :

$$\%H = (M_1 - M_2/M_1)*100$$

M_1 : Masse de l'échantillon avant le séchage.

M_2 : Masse de l'échantillon après le séchage.

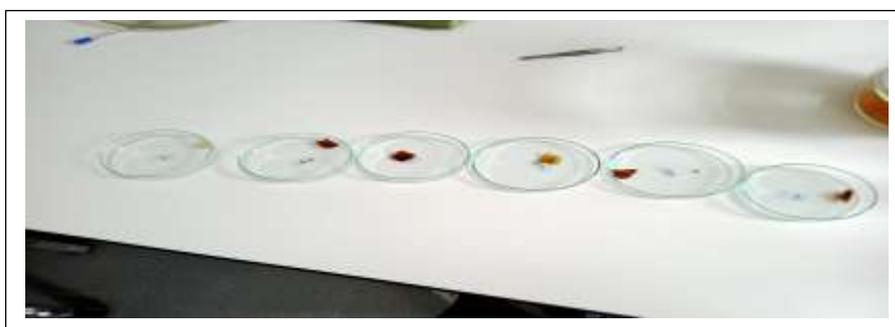


Figure III.7: Photographie des échantillons après la mise en étuve de 6h.

III.4.5. Test de gonflement

Le test de gonflement a été déterminé en prenant les mêmes échantillons de masse M_2 . Ces derniers ont été émergés dans 30 ml d'eau distillé pendant 5mn puis ont été pesé (M_3). [4]

Nous avons calculé le taux de gonflement (TG) des films en utilisant la formule suivante:

$$TG (\%) = M_2 - M_3 / M_2 \cdot 100$$

M₂: Masse après le séchage.

M₃: Masse des formulations récupérer après l'émergence dans l'eau.

III.4.6. Activité antioxydante

La méthode de piégeage du radical de DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est un test de décoloration qui mesure la capacité de l'antioxydant à réagir directement avec le radical DPPH•. Le radical DPPH• est un radical libre organique riche en azote, stable d'une couleur violette foncée. Lorsqu'il est réduit en sa forme non radicalaire par l'antioxydant, il devient incolore. [4]

Une solution de DPPH a été préparée en dissolvant 1,25 mg de ce produit dans 50 ml d'éthanol, L'absorbance a été mesurées à 517 nm.

La méthode expérimentale utilisé est celle décrite dans [4]. Une surface de 3 cm² de films préparés à base d'extraits est ajoutée à 3 ml de la solution éthanolique de DPPH. Le mélange a été laissé à l'obscurité pendant 30 mn. Les absorbances sont lues à 517 nm. Les concentrations des composés phénoliques utilisés varient selon les extraits.

Les résultats de l'activité sont exprimés en pourcentage d'inhibition estimée selon l'équation ci-dessous. [5]

$$\% \text{d'activité anti radicalaire} = [(Abs_{\text{contrôle}} - Abs_{\text{échantillon}}) /$$

- Abs contrôle : Absorbance de la solution de DPPH. / Abs échantillon : Absorbance de l'extrait.

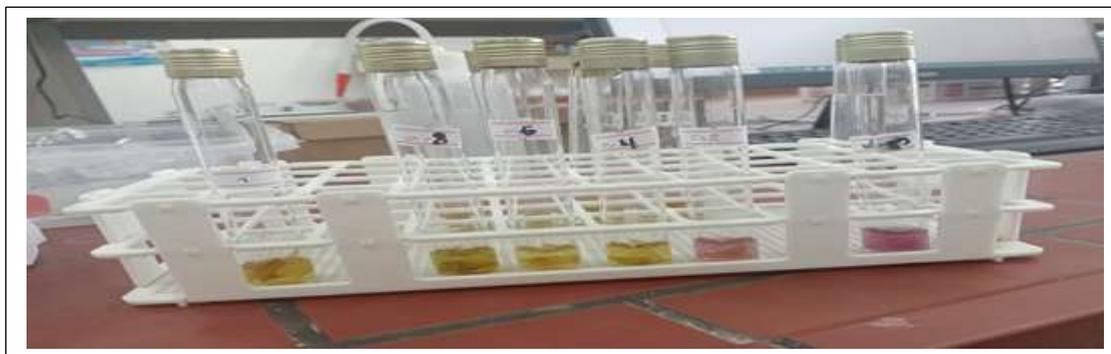


Figure III.8 : Photographie de l'évaluation de l'activité antioxydante des films.

II.4.7. Test d'activité antibactérienne

Des suspensions bactérienne et fongique ont été préparée à partir d'une culture pure et jeune. Ces inocula servent à ensemercer la gélose Mueller Hinton et PDA coulée dans des boîtes pétries sur une épaisseur de 4mm, les boîtes sont ensuite incubées à l'étuve à 37 °C.

L'ensemencement est effectué par écouvillonnage, il consiste à mettre en contact un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et fongique puis le frotter à trois reprises sur toute la surface gélosée de façon à former des stries serrées, en tournant la boîte à environ 60 ° après chaque

application pour obtenir une distribution égale de l'inoculum. Pour chaque souche testée, 6 boîtes pétri sont écouvillonnées, (1 boîtes pour chaque concentration). [6]



Figure III.9 : Photographie des milieux de cultures coulés.

Référence bibliographique

- [1] Dieng, S. I. M., Fall, A. D., Diatta-Badji, K., Sarr, A., Sene, M., Sene, M., Mbaye, A., Diatta, W., & Bassene, E. (2017). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits hydro-ethanoliques des feuilles et écorces de *Piliostigma thonningii* Schumach. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11(2), 768. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v11i2.19>
- [2] Biao, Y., Yuxuan, C., Qi, T., Ziqi, Y., Yourong, Z., McClements, D. J., & Chongjiang, C. (2019). Enhanced performance and functionality of active edible films by incorporating tea polyphenols into thin calcium alginate hydrogels. *Food Hydrocolloids*, 97, 105197. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105197>
- [3] Alves Lopes, I., Coelho Paixão, L., Souza Da Silva, L. J., Almeida Rocha, A., D. Barros Filho, A. K., & Amorim Santana, A. (2020). Elaboration and characterization of biopolymer films with alginate and babassu coconut mesocarp. *Carbohydrate Polymers*, 234, 115747. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115747>
- [4] Akhtar, H. M. S., Zhao, Y., Li, L., & Shi, Q. (2024). Novel active composite films based on carboxymethyl cellulose and sodium alginate incorporated with phycocyanin : Physico-chemical, microstructural and antioxidant properties. *Food Hydrocolloids*, 147, 109440. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109440>
- [5] Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski, B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industrielle*, 4, 25-39.
- [6] Tong, G., Yulong, M., Peng, G., & Zirong, X. (2005). Antibacterial effects of the Cu(II)-exchanged montmorillonite on *Escherichia coli* K88 and *Salmonella choleraesuis*. *Veterinary Microbiology*, 105(2), 113-122. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.11.003>

Chapitre IV

Chapitre IV: Résultat et discussion

Dans ce chapitre, nous présentons les résultats obtenus ainsi que les interprétations et les conclusions que nous en avons tirées.

IV.1. Extraction des polyphénols

IV.1.1. Taux d'extraction

Le résultat obtenu pour l'extrait brut, montrent que le taux d'extraction avec le solvant éthanol (R=20%), ces résultats sont en accord avec ceux de plusieurs auteurs [1, 2, 3] qui ont révélé que les solvants tel que acétone (R=19,24%), sont très efficaces à extraire les polyphénols. Selon Mohammadi et al [2] l'utilisation de solvants aboutit à un fort enrichissement des extraits en polyphénols. La supériorité des solvants seraient dues à l'augmentation de la solubilité des composés phénoliques dans les extraits obtenus [4]. Velickovic et al [5] ont expliqué ce résultat par le choix du solvant pour l'extraction des composés phénoliques, à partir du matériel végétal, dépend de la nature et de ces composés. Généralement, les solvants organiques sont les plus utilisés pour l'extraction des différents constituants des plantes.

IV.2. Caractérisation des films

IV.2.1. Epaisseur des films

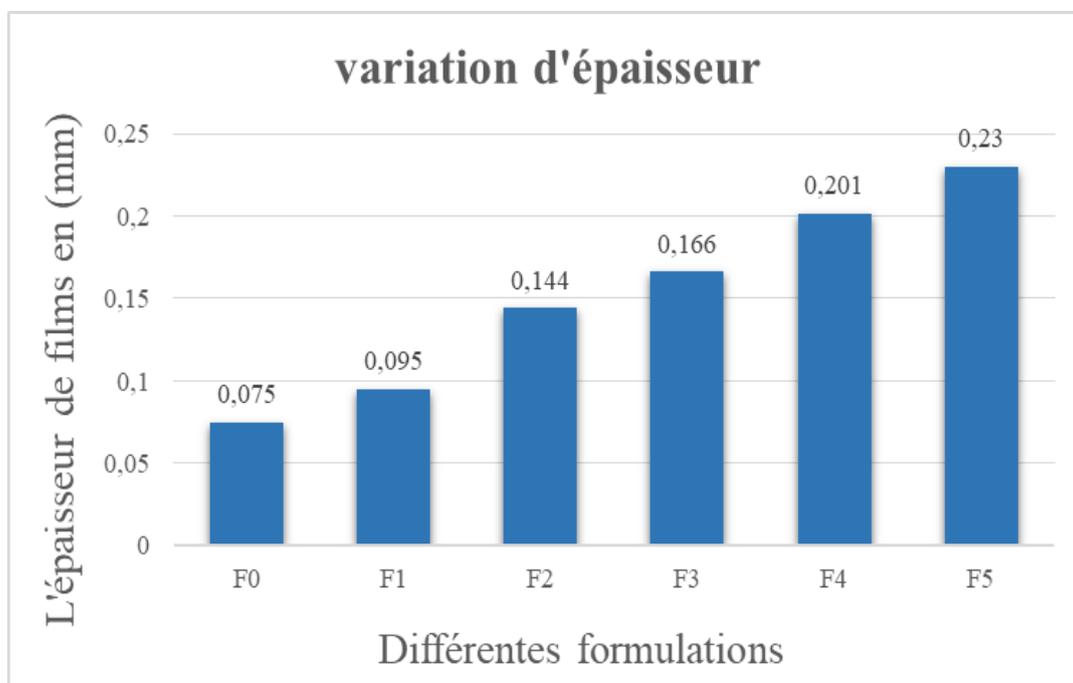


Figure IV.1: Variation d'épaisseur de films AS/ECPP.

L'épaisseur d'un film est un signe de sa fiabilité et de sa qualité sa variation influe sur les propriétés physiques et barrière. La variation d'épaisseur des différents films est illustrée en figure

IV.1, on observe une légère augmentation d'épaisseur pour toutes les formulations F1=0,095 ; F2=0,144 ; F3=0,166 ; F4=0,201 ; F5=0,23) par rapport à F0=0,075. Ces valeurs augmentent légèrement à mesure que la concentration de (L'EECP) l'extraction éthanolique des cosses de petit pois dans les films d'alginate a augmenté, Riaz et coll [6] ont trouvé un résultat similaire, rapportant que l'augmentation de la quantité d'extrait polyphénolique de cosses des petits pois dans la matrice de l'alginate améliore l'épaisseur. Peng et coll [7] ont découvert qu'avec une quantité accrue d'extrait ajoutée au film, l'interaction entre le polyphénol et les composants CH augmente. Cette interaction croissante provoque une liaison composite plus forte, à mesure que l'espace entre les deux molécules en interaction devient plus petit, améliorant ainsi le film épaisseur avec une augmentation de la concentration de l'EECP appliqué dans la matrice CH-alginate.

IV.2.2. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

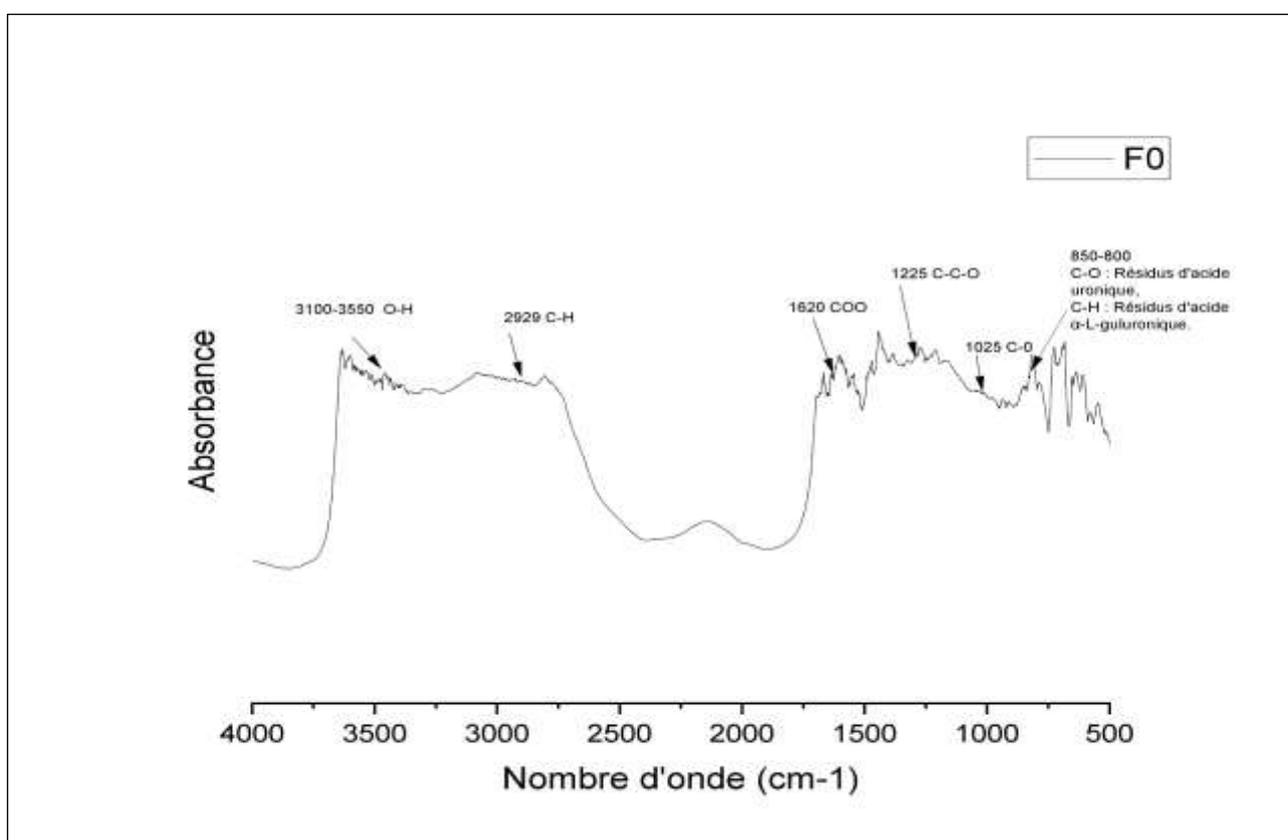


Figure IV.2 : Spectre Infrarouge de la formulation vierge d'alginate.

On observe dans la figure IV.2 que l'alginate de sodium présente des bandes caractéristiques qui ont été précédemment identifiées dans la référence [8] et correspondent à :

- Une large bande entre 3100 et 3550 cm^{-1} qui est attribuée aux vibrations de valence de la liaison OH des groupements hydroxyles caractéristiques des polysaccharides naturels et une bande à 2929 cm^{-1} qui peut être attribuée à l'élongation du groupement C-H.

- Une autre bande caractéristique à 1620 cm^{-1} relative à l'élongation asymétrique du carboxylate (COO^-) ce qui confirme la haute teneur en acide uronique de ce biopolymère.
- Une bande située vers 1419 cm^{-1} est attribuée à une vibration de déformation C–OH avec la contribution de l'étirement symétrique du groupement carboxylate COO^- .
- Une bande située vers 1225 cm^{-1} correspondant aux vibrations d'élongations C–C–O.
- Une bande située vers 1022 cm^{-1} correspondant aux vibrations de valence –CO.
- La bande très faible située à 850 cm^{-1} , caractéristique d'un composé cyclique qui a été affecté à l'étirement C–O vibration des résidus d'acide uronique, et un à 800 cm^{-1} affecté à vibration de déformation C–H des résidus d'acide $\alpha\text{-L-gulonique}$.

La figure IV.3 représente les différents spectres IRTF des différentes formulations F0, F2, F3 et F5 :

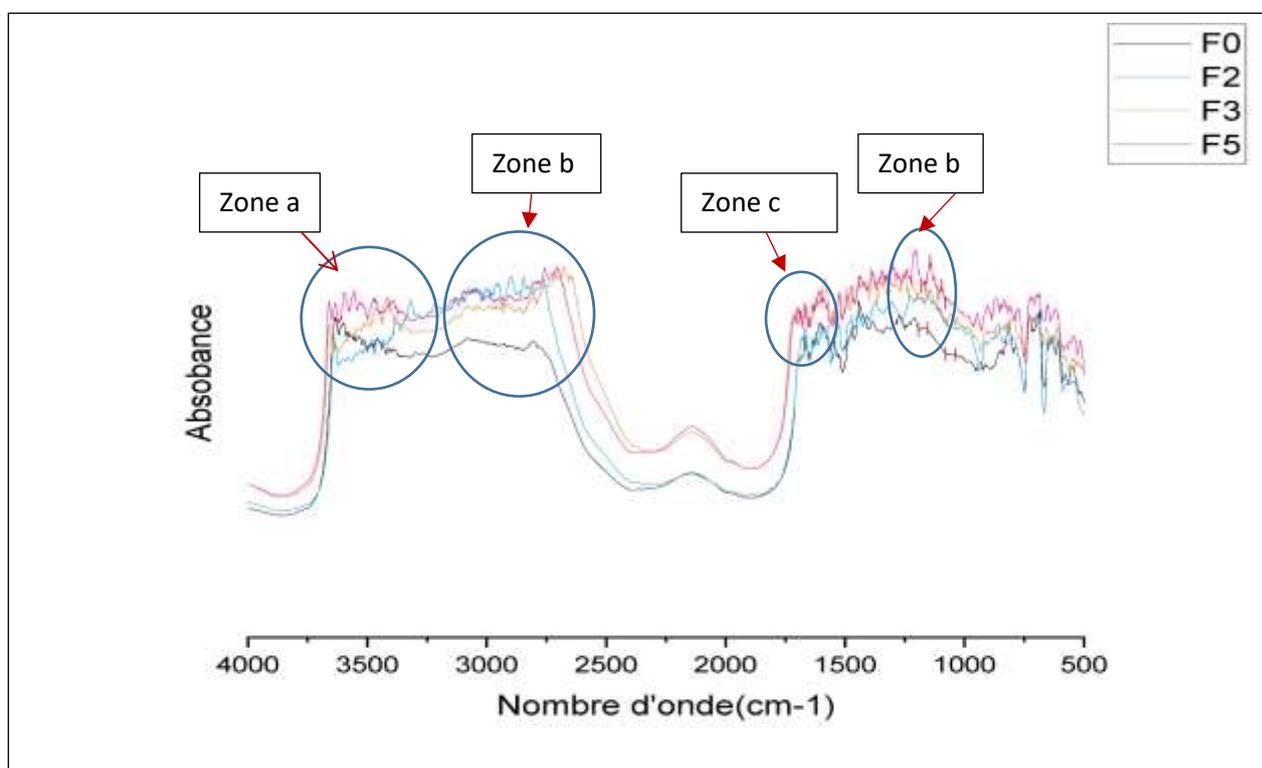


Figure IV. 3 : Spectre Infrarouge de la formulation vierge d'alginate.

Une augmentation notable de l'intensité des bandes caractéristiques de l'alginate a été observée lors de l'incorporation du DPPE. L'intensité des pics d'élongation des O–H (zone a) et ceux de la bande de valence C–O (zone b).

D'autre part, l'apparition des pics entre $3000\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$ qui correspondent à la liaison C–H et à 1700 cm^{-1} relatif aux groupes C=O (zone 3 et zone 4 respectivement), dans les films d'alginate/DPPE a confirmé la présence de DPPE dans les films composites. [9]

IV.2.3. Taux d'humidité

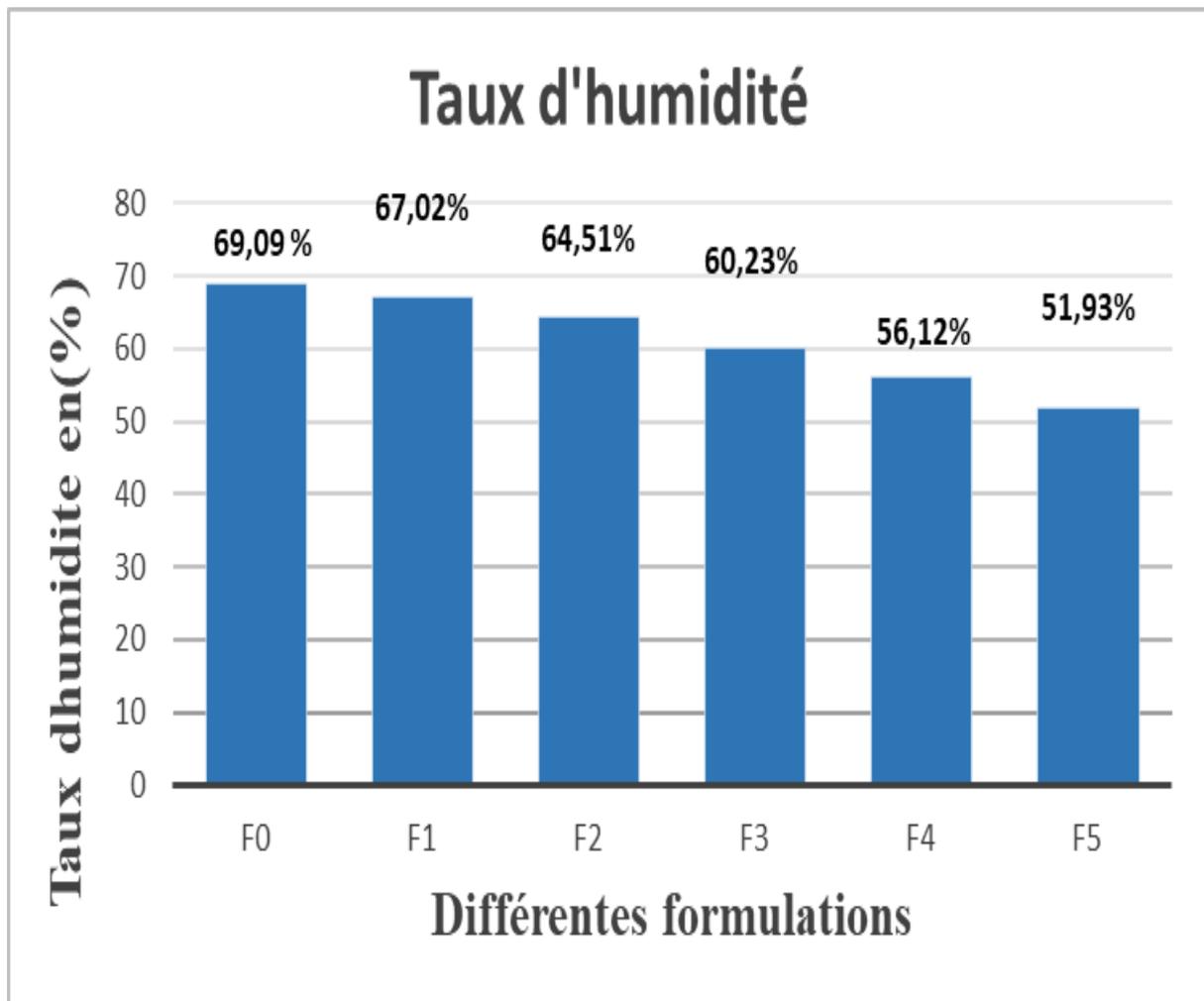


Figure IV.5: Valeurs de taux d'humidité des différents films alginate/EECP.

Le taux d'humidité des films joue un rôle fondamental dans la durée de conservation des matériaux emballés ou revêtus. [10]

La figure IV.3 illustre les valeurs de taux d'humidité des différentes formulations. Les résultats montrent que la teneur en eau des films a remarquablement diminué par rapport au film d'alginate de sodium témoin qui présentait une teneur en humidité beaucoup plus élevée passant de 69,09 % à 51,93 %, en raison de l'abondance des groupes hydrophiles (-OH et -COOH) dans les molécules d'alginate de sodium. Lorsque EECP a été ajouté à l'alginate de sodium, les groupes hydroxyles des extraits ont pu former des liaisons hydrogène intermoléculaires avec les groupes hydrophiles de l'alginate de sodium. Par conséquent, l'interaction entre l'eau et la matrice composite a été réduite. Une tendance similaire à la variation de la teneur en eau a également été rapportée par Wu et al lors d'une étude des films de farine d'écorce de pomelo incorporant du polyphénol de thé. [11]

IV.2.4. Taux de gonflement

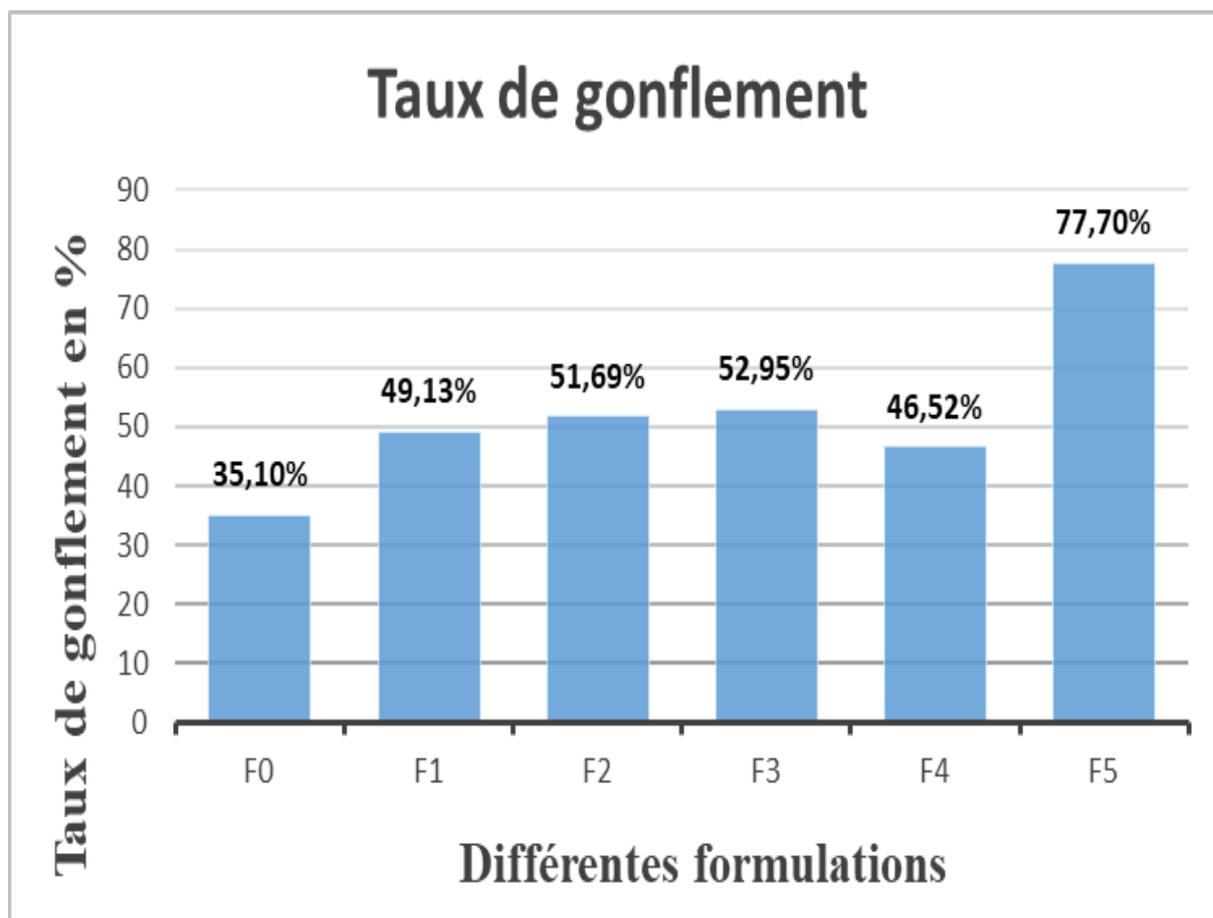


Figure IV.4: Evolution du taux de gonflement des films alginate/EECP

Un autre paramètre tout aussi important est le pouvoir gonflant des films liés à leur capacité d'absorption. Le pouvoir gonflant matérialisé par l'indice de gonflement est une propriété très étudiée au niveau des films pour applications alimentaires ou pharmaceutiques. Tous les résultats obtenus du rapport de gonflement sont illustrés en figure IV.4. Les résultats du test de gonflement augmentent d'une façon remarquable. Cela peut être expliqué, l'absorption de l'eau par ce biopolymère augmente jusqu'à la déformation ou dissolution des échantillons.

Cette hausse est attribuée d'une part à la présence de glycérol dans les films à base d'EECP car ce dernier est hydrophile, donc sa capacité à absorber de l'eau est plus élevée, d'autre part à la nature elle-même d'agent antibactérien. [12]

En revanche le résultat du gonflement de la formulation F4=46,52% diminue. Cette réduction peut être due à la formation des liaisons rigides entre la matrice d'alginate et le carbonate de calcium superficiellement traité où ces liaisons peuvent rendre le biopolymère imperméable.

La solubilité dans l'eau est le reflet de la résistance à l'eau des films et des enrobages. Le film d'alginate de sodium ordinaire a présenté la plus faible solubilité dans l'eau (F1=0,2). La solubilité

dans l'eau des films s'est améliorée avec l'augmentation de la teneur en EECP. L'amélioration de la solubilité dans l'eau a été attribuée à l'alginate de sodium.

IV.2.5. Activité antioxydante

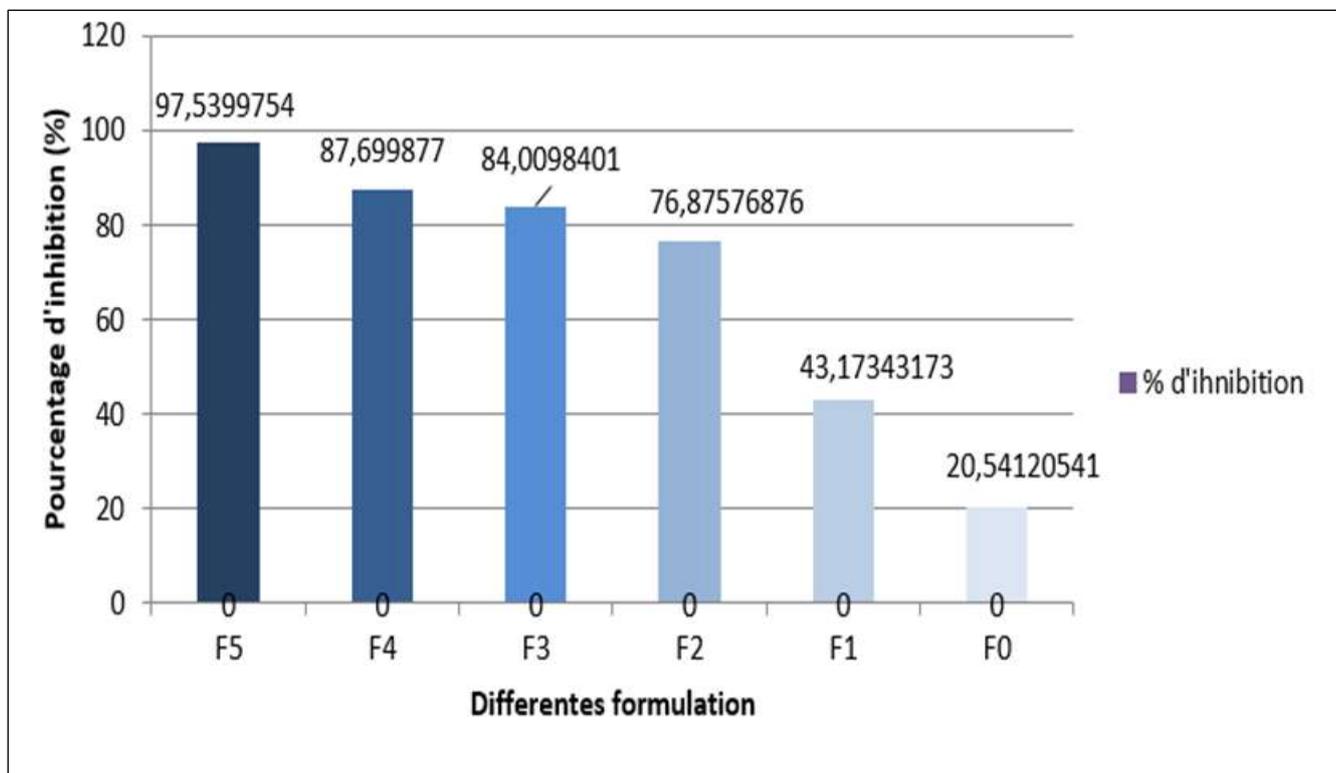


Figure IV.5: Pourcentages d'activité antiradicalaire et l'absorbance des films.

Les nouveaux matériaux d'emballage doivent présenter des propriétés antioxydantes pour ralentir le processus d'auto-oxydation des aliments. L'extrait phénolique est ajouté pour fonctionner comme un composé actif. Il confère des propriétés antioxydantes aux films finalement produits à partir des complexes d'alginate de sodium/EECP. L'activité antioxydante augmente avec la teneur en extrait. De nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des composés purs ou des extraits. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. [13]

L'activité antioxydante est obtenue par une méthode radicalaire (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) DPPH dans laquelle un radical libre stable DPPH est piégé par une molécule antiradicalaire, Cette dernière est généralement employée pour évaluer l'activité antiradicalaire de n'importe quelle substance antioxydante parce que c'est une méthode rapide, fiable et reproductible pour rechercher in vitro l'antioxydant, généralement, des composés purs comme des extraits des végétaux. [14] Les pourcentages d'activité antiradicalaire et l'absorbance des films sont illustrés en figure IV.5. Le pourcentage le plus important est enregistré pour la formulation F5=97.53%, car il

possède la capacité de réduire le radical DPPH. Tandis que le vierge, présente le pourcentage le plus faible d'activité antiradicalaire, avec une valeur de 20 ,54 %.

En général, l'activité antioxydante des extraits végétaux est due principalement aux composés phénoliques. Pour les extraits de cosse de petits pois, la présence de différents groupes de composés phénoliques tels que les diterpénoïdes, les flavonoïdes et les acides phénoliques est responsable des propriétés antioxydantes observées. [15]

De nombreuses recherches [16,17] ont prouvé qu'il y a une corrélation entre les activités antiradicalaire et les composés phénoliques.

IV.2.6. Activité antibactérienne

L'aspect quantitatif a été évalué, selon la méthode de dénombrement des bactéries (Inoculation par Mueller-Hinton) sur milieu gélosé solide. Le test a été estimé par le diamètre de la zone d'inhibition au tour du disque contenant l'EECP, cette méthode nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien des dispersions de différentes concentrations d'EECP dans la matrice alginate, testés sur deux souches bactériennes l'une à gram négatif *Escherichia coli* (EC) et à gram positif *Staphylococcus aureus* (SA). Et pour l'activité antifongique de l'EECP, deux souches fongiques ont été incluses, *Aspergillus Niger* (ASP) et *Penicillium sp* (NP).

En se basant sur les résultats obtenus, nous avons pu suivre la cinétique de développement de *E. coli* et *S.aureus*, en présence de six concentrations de EECP.

Et les résultats sont inscrits donnés dans la figure IV.6 et le Tableau IV.1

Tableau IV.1 : Diamètres de la zone d'inhibition.

Souches bactériennes	F0	F1	F2	F3	F4	F5
SA	10	16	16	16	16	16
EC	10	10	11	12	13	15
ASP	12	14	16	16	18	20
NP	10	14	14	16	18	20

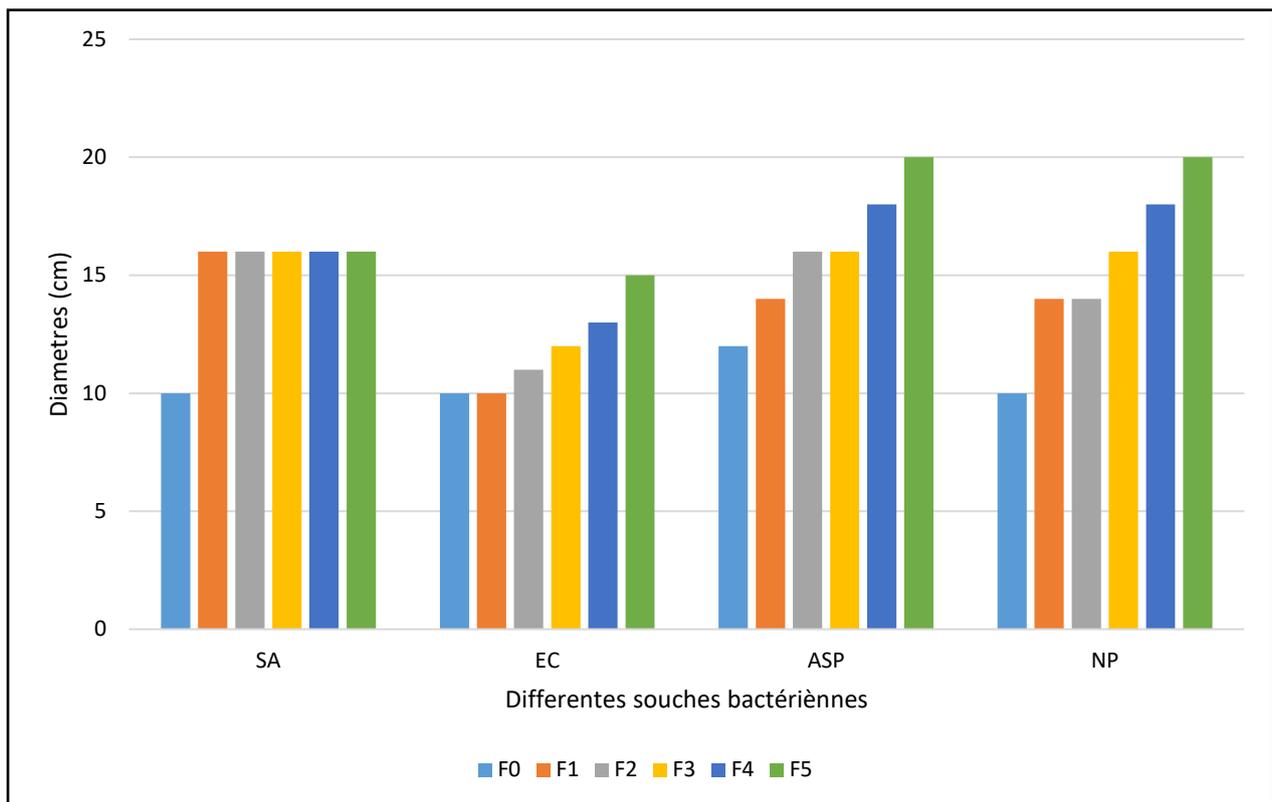


Figure IV.6: Diamètres des zones d'inhibition.

La lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre (mm) de la zone claire autour du disque (halo translucide) appelée : zone d'inhibition. Les zones doivent être uniformément circulaires [18]. L'activité antimicrobienne est exprimée en zones d'inhibition comme suit [19] :

- ✓ Diamètres inférieurs à 7 mm : aucune activité antimicrobienne (-).
- ✓ Diamètres de 7 à 9,9 mm : activité antimicrobienne faible (+).
- ✓ Diamètres de 10 à 11,9 mm : activité antimicrobienne modeste (+ +).
- ✓ Diamètres de 12 à 15 mm : activité antimicrobienne élevée (+ + +).
- ✓ Diamètres supérieurs à 15 mm : activité antimicrobienne forte (+ + + +).

• Espèces bactériennes

Tableau IV.2 : Lecture des résultats des espèces bactériennes.

	F0	F1	F2	F3	F4	F5
SA	++	++++	++++	++++	++++	++++
EC	++	++	++	+++	++++	++++

- **Espèces fongiques**

Tableau IV.3 : Lecture des résultats des espèces antifongiques.

	F0	F1	F2	F3	F4	F5
ASP	+++	+++	++++	++++	++++	++++
NP	++	+++	+++	++++	++++	++++

D'après le tableau nous avons remarqué que les films préparés avec l'extrait de cosses des petits pois montrent des zones claires d'inhibition qui marquent la sensibilité de la bactérie à gram positif (*Staphylococcus aureus*) et négatif (*Escherichia coli*) et les diamètres des zones d'inhibition augmentent avec les concentrations utilisées à savoir F0, F1, F3, F4, F5 et F5

Même observation pour l'évaluation de l'activité antifongique, cette dernière a montré que les variations d'inhibition sont en fonction de nombreux facteurs, notamment la nature et la concentration de l'extrait utilise, ainsi que la souche fongique étudiée. Ainsi, les différences observées entre les activités antifongiques d'EECP étudiées peuvent être attribuées à des différences dans leurs fractions actives.

En générale l'action des agents antibactériens se déroule en trois phases [20]:

- Attaque de la paroi bactérienne, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires ;
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure ;
- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort cellulaire

On conclusion l'effet antibactérien des EECP peut être utilisé dans les industries alimentaires pour conserver les aliments et prévenir la détérioration microbienne.

Références Bibliographiques

- [1] Hadj Salem.J. Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoides de *Nitraria retusa* et synthèse de dérivés acyle de ses molécules par voie enzymatique. Thèse de doctorat de l'Institut National Polytechnique de Lorraine. France. (2009). pp. 270.
- [2] Mohammedi.Z and F. Atik. Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarix aphylla* (L.) karst. *Inter. J. Pharma. Bio. Sci.* Vol. 2. (2011). pp. 609-615.
- [3] Ozsoy.N, A. Can, R. Yanardag and N. Akev. Antioxidant activity of *Smilax excels* L. leaf extracts. *J. Food chem.* Vol. 110. (2008). pp. 571-583.
- [4] Trabelsi, N., Megdiche, W., Ksouri, R., Falleh, H., Oueslati, S., Bourgou, S.,Hajlaoui, H. & Abdelly, C. (2010). Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte *Limoniastrum monopetalum* leaves. *Food Sci Tech.* 43: pp 632-639.
- [5] Velickovic, D. T., Milenovic, D. M., Ristic, M. S. & Veljkovic, V. B. (2006). Kinetics of ultrasonic extraction of extractive substances from garden (*Salvia officinalis* L.) and glutinous (*Salvia glutinosa* L.) sage. *Ultrasonic Sonochemistry*, 13: pp 150 - 156.
- [6] Riaz, A.; Lei, S.; Akhtar, H.M.S.; Wan, P.; Chen, D.; Jabbar, S.; Abid, M.; Hashim, M.M.; Zeng, X. Preparation and characterization of chitosan-based antimicrobial active food packaging film incorporated with apple peel polyphenols. *Int. J. Biol. Macromol.* 2018,114, 547–555. [CrossRef] [PubMed].
- [7] Peng, Y.; Wu, Y.; Li, Y. Development of tea extracts and chitosan composite films for active packaging materials. *Int. J. Biol. Macromol.* 2013, 59, 282–289. [CrossRef] [PubMed].
- [8] Sylia, B., & AMIR, S. (s. d.). Développement des biofilms à base d'agents antimicrobiens naturels et chimiques destinés à l'emballage alimentaire [Mémoire de Master]. Université A.MIRA.
- [9] Dou, L., Li, B., Zhang, K., Chu, X., & Hou, H. (2018). Physical properties and antioxidant activity of gelatin-sodium alginate edible films with tea polyphenols. *International Journal of Biological Macromolecules*, 118, 1377–1383.
- [10] Hazaveh, P., Mohammadi Nafchi, A., & Abbaspour, H. 2015: The effects of sugars on moisture sorption isotherm and functional properties of cold water fish gelatinfilms. *International Journal of Biological Macromolecules*, 79(Supplement C), 370e376.
- [11] Lou, Y., Liu, H., Yang, S., Zeng, J., & Wu, Z. (2019). Sodium Alginate-Based Green Packaging Films Functionalized by Guava Leaf Extracts and Their Bioactivities. *Materials*, 12(18), 2923. <https://doi.org/10.3390/ma12182923>.

- [12] Vejdani, A., Ojagh, S. M., Adeli, A., & Abdollahi, M. (2016). Effect of TiO₂ nanoparticles on the physico-mechanical and ultraviolet light barrier properties of fish gelatin/ agar bilayer film. *LWT-Food Science and Technology*, 71, 88–95.
- [13] Naghraoui M., (2012). Activités antioxydantes et antimicrobiennes de l'extrait brut et ses fractions de l'algue rouge *Coraiinaofficialis*, récoltée sur la côte ouest algérienne (plage de Madrid), Mémoire de fin d'études. 30.
- [14] Marcel K. K., Janat Akhanovna M.-B., Yves-Alain B., Gabin D. and Jérôme Z., In vitro antioxidant activities of total flavonoids extracts from leaves and stems of *Adenia lobata* (Jacq.) Engl. (Passifloraceae), *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, V. 3, N°. 1, January (2011), 8-12.
- [15] Troncoso, N. Sierra, H. Carvajal, L., Delpiano, P. & Gunther, G. (2005), Fast high performance liquid chromatography and ultraviolet-visible quantification of principale phenolic antioxydants in fresh rosemary. *Journal of Chromatography A* 1100, 20-25.
- [16] Bidie, A., N'guessan, B., Yapo, A., N'guessan, J., Djaman, A., 2013. Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Sciences & Nature* 8, 1-12.
- [17] Hrenovic, J., Milenkovic, J., Daneu, N., Kepcija, R.M., Rajic, N., 2012. Antimicrobial activity of metal oxide nanoparticles supported onto natural clinoptilolite. *Chemosphere* 88, 1103-1107.
- [18] Fenoradosoa T. A., Ali G., Delattre C., Laroche C., Petit E., Wadouachi A., Michaud P. (2010). *J. App. Phycol.* 22 131.
- [19] Pranoto, Y., S.K. Rakshit, V.M. Salokhe, (2005) Mechanical, physical and antimicrobial characterization of edible films based on alginate and chitosan containing garlic oil, *Dev. Chem. Eng. Miner. Process.* 13 (5–6) 617–626.
- [20] Meddeb V. (2008). Etude des effets des rayonnements ionisants sur les propriétés biochimiques et biologiques de l'ail (*Allium sativum*). Mémoire de Master, université 7 novembre. Carthage.

Conclusion

Générale

Conclusion générale

Dans cette étude nous avons incorporé un extrait des cosses de petit pois dans la matrice alginate de sodium dans le but de la renforcer et d'avoir un biofilm alimentaire antimicrobien.

Les résultats ont montré que la préparation des films a été réussie et qu'ils ont de bonnes caractéristiques.

- Le test d'humidité a révélé que la qualité de ce film est améliorée car ce dernier diminue, passant de la plus grande valeur qui correspond au film témoin (F0) à la plus basse valeur qui correspond au F5 avec la plus grande concentration en extrait.
- Le changement de caractère lors d'absorption vis-à-vis l'eau est probablement dû à la nature chimique hydrophile des différents constituants d'EECP, cette dernière forme avec les molécules d'eau des liaisons hydrogènes, donc plus le taux de l'extrait est élevé, plus la concentration en OH⁻ s'accroît et par conséquent le taux d'absorption devient plus important.
- La caractérisation par spectroscopie (IRTF) est bien mise en évidence la présence de DPPE dans les films composites.
- D'après les résultats de l'activité antibactérienne et antioxydante a montré que l'extrait éthanolique de cosse de petit pois possède un effet antibactérien et antioxydant vis-à-vis les souches bactériennes testées.

Ces films ont le potentiel d'être utilisés comme emballages alimentaires pour prolonger la durée de conservation des aliments et améliorer leur qualité.

En terme de perspective au travail réalisé, nous proposons :

- Essai de traction, pour évaluer les caractères mécaniques des différentes formulations.
- Etude de l'angle de contact pour évaluer le caractère hydrophile et hydrophobe des différentes formulations.
- Etude de la biodégradabilité, pour minimiser les risques vis-à-vis l'environnement.