

# الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Ibn Khaldoun–Tiaret  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

M<sup>r</sup>. AIT ABDELLAH Mohamed Larbi

M<sup>lle</sup>. BENMORSLI Chaimaa

M<sup>r</sup>. MAZOUNI Yassine

**Thème**

**Synthèse et caractérisation microbiologique et physicochimique  
de nouveaux matériaux polymériques à base d'une graisse animale**

Soutenu publiquement le 03/07/2022

**Jury:**

**Président:** M<sup>r</sup>. KADI S.

**Encadrant:** M<sup>r</sup>. BOUSSOUM M.O.

**Examineur:** M<sup>me</sup>. BEGUIAR R.

**Grade**

MCA, U. Tiaret

Pr, U. Tiaret

MCA, U. Tiaret

Année universitaire 2021-2022

## Remerciements

Avant tout, nous remercions **Allah** le tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la volonté, la persistance et nous a permis d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

La réalisation de ce mémoire n'aurait été possible sans l'intervention, consciente, d'un grand nombre de personnes. Nous souhaitons ici les en remercier.

Nous tenons d'abord à remercier très chaleureusement notre encadreur, Professeur **BOUSSOUM M.O** qui nous a permis de bénéficier de son encadrement. Les conseils qu'il nous a prodigué, la patience, la connaissance qu'il nous a témoigné ont été déterminants dans la réalisation de notre travail de recherche.

Nous tenons à remercier profondément Monsieur **KADLS.** pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de notre soutenance.

Aussi, nous tenons à remercier profondément Madame **BENGUIAR.R** d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nos remerciements vont également à tous nos enseignants, qui nous ont dispensé le savoir, durant nos années d'études avec patience et ardeur. Nous tenons également à remercier : Nos parents, nos frères et sœurs pour leurs encouragements et leur soutien, on ne serait pas arrivés sans vous. Nos amis et nos chers collègues, qui nous ont accompagné tout au long de cette belle épopée.



*Dédicace*

*J'ai l'honneur de dédier ce travail réalisé grâce à l'aide  
d'Allah le tout puissant  
À ma mère Khedidja  
A mon Père Mohammed  
Dont le mérite, les sacrifices et les qualités humaines  
M'ont permis de vivre ce jour  
A ma sœur  
A mon frère B.Djillali  
À tous mes frères avec qui j'ai partagé mon parcours.  
A tous mes enseignants pour m'avoir tout donné, ce qui  
est inestimable, le savoir et le savoir-faire, je vous dis  
merci beaucoup*

*Yassine*

## Dédicace

*Je dédie ce modeste travail*

*A*

*Celui qui a toujours garni mes chemins avec force et lumière, celui qui a combattu toute sa vie pour me procurer tout ce dont j'avais besoin.....*

*Mon très cher Père*

*A*

*Celle qui n'a jamais cessé de me soutenir, pour son amour, ses sacrifices, qui a toujours été une incroyable motivation psychologique pour moi, à celle qui m'a guidé vers ce succès .....*

*Ma très chère mère*

*A*

*Ma chère tante Ratiba , ma sœur Djihane et mon frère Farouk  
Je vous remercie pour tout votre appui et vos encouragements.*

*Ce travail n'aurait pas pu se réaliser sans votre aide, merci d'être toujours là  
pour moi.*

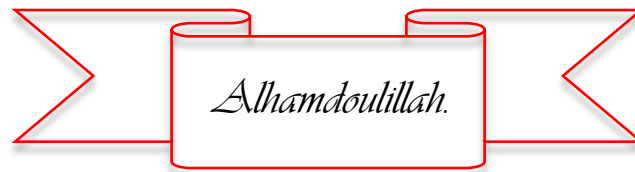
*A toute ma famille*

*A tous ce qui ont contribué dans ce modeste travail de près ou de loin*

*Merci*

*Chaimaa*

*Avant de faire mes dédicaces je dois d'abord remercier Allah pour sa bénédiction.*



*Je dédie ce travail à mes chers parents et grands-parents qui m'ont été un très grand soutien durant mon cursus, qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.*

*À mon frère et ma sœur très chers à mon cœur.*

*À mes collègues et notre encadrant à qui je dois une énorme reconnaissance pour tous leurs efforts colossaux, je vous souhaite encore plus de succès.*

*À toute ma famille maternelle et paternelle, et tous mes amis pour leurs encouragements et soutien durant toute ma période d'étude.*

*Enfin à toute personne qui nous a aidé de près ou de loin, je vous remercie pour votre soutien.*

*Ait Abdellah Mohamed Larbi*

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

**AG** : Acide Gras

**BP** : Boite Pétrie

**CCl<sub>4</sub>** : Acide tetrachloride

**CCMH** : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

**DOP** : Di-octyl-phtalate

**E. coli** : *Escherichia coli*

**FNS** : Numérotation de la formule sanguine

**H&E** : Hematoxylin-éosine

**HA** : Huile animale

**HAE** : Huile animale époxydée

**HB<sub>r</sub>** : Acide bromique

**HTE** : Huile de tournesol époxydée

**IRTF** : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

**LE** : Disque antibiotique Levofloxacin

**MH** : Mueller-Hinton

**PDA** : Potato Dextrose Agar

**PEBD** : Polyéthylène Basse densité

**PEHD** : Polyéthylène Haute densité

**PVC** : Polyvinyle chloride

**S. aureus** : *Staphylococcus aureus*

**SAB** : Sabouraud

**TAG** : Triacylglycérols

**TCMH** : Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine

**TG** : Triglycéride

**VGM** : Volume globulaire moyen

# LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Polymère linéaire (Hachani, 2017).....	5
<b>Figure 2</b> : Polymère ramifié (Hachani, 2017). ....	5
<b>Figure 3</b> : Polymère réticulé (Weiss, 2010). ....	6
<b>Figure 4</b> : Formation de triglycéride .....	9
<b>Figure 5</b> : Photos de la graisse Bovine de l'étude (prise par nous-même).....	15
<b>Figure 6</b> : Organigramme récapitulatif de la démarche expérimental .....	17
<b>Figure 7</b> : Dispositif expérimental d'extraction par soxhlet (prise par nous-même).....	19
<b>Figure 8</b> : Dispositif expérimental du test de Dibrome (prise par nous-même) .....	25
<b>Figure 9</b> : Dispositif expérimental de préparation de l'huile époxydée (prise par nous-même) .....	26
<b>Figure 10</b> : Démarches expérimentales de la toxicité aigüe de l'huile époxydée.....	29
<b>Figure 11</b> : Méthode d'administration de l'huile aux rats Wistar (prise par nous-même).....	30
<b>Figure 12</b> : Autopsie des rats Wistar (prise par nous-même) .....	31
<b>Figure 13</b> : Coloration des frottis sanguins.....	32
<b>Figure 14</b> : Zones d'inhibition de l'antibiotique et HAE pour E. coli .....	44
<b>Figure 15</b> : Zones d'inhibition de l'antibiotique et HAE pour S. aureus.....	44
<b>Figure 16</b> : Zones d'inhibition de l'HAE pour : (a) Candida albicans M3 .....	45
<b>Figure 17</b> : Zones d'inhibition du Fusarium .....	46
<b>Figure 18</b> : Observation microscopique des globules rouges .....	46
<b>Figure 19</b> : Rein d'un rat (H&E.100X).....	49
<b>Figure 20</b> : Superposition des spectres IR de l'HAE et l'HTE .....	50
<b>Figure 21</b> : Spectre infrarouge de polymère à base du PVC.....	52
<b>Figure 22</b> : Spectre infrarouge de polymère à base du PEHD .....	53
<b>Figure 23</b> : Spectre FTIR de polymère à base du PEBD .....	54
<b>Figure 24</b> : Spectre infrarouge du complexe Ca, Zn.....	55
<b>Figure 25</b> : Spectre infrarouge du DOP .....	56
<b>Figure 26</b> : Spectre infrarouge de l'acide stéarique .....	57

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1</b> : Caractéristiques des graisses étudiées .....	14
<b>Tableau 2</b> : Matériel de laboratoire et produits utilisés .....	16
<b>Tableau 3</b> : Différents procédés d'extraction .....	20
<b>Tableau 4</b> : Poids et dose administrée des rats .....	30
<b>Tableau 5</b> : Résines et additifs utilisés.....	34
<b>Tableau 6</b> : Différentes formulations réalisées dans lesquelles les additifs ont été maintenus constantes (les teneurs sont exprimées en grammes pour 100 de résine).....	35
<b>Tableau 7</b> : Caractéristiques physico-chimiques de l'huile extraite .....	37
<b>Tableau 8</b> : Aspect macroscopique des souches testée.....	41
<b>Tableau 9</b> : Aspect microscopique des souches testée .....	42
<b>Tableau 10</b> : Résultats du test de l'activité antibactérienne de l'HAE. ....	43
<b>Tableau 11</b> : Résultats du test de l'activité antifongique de l'HAE .....	44
<b>Tableau 12</b> : Résultats FNS des rats (1-5) .....	47
<b>Tableau 13</b> : Groupements fonctionnels des bandes caractéristiques de l'HTE.....	51
<b>Tableau 14</b> : Groupements fonctionnels des bandes caractéristiques.....	52
<b>Tableau 15</b> : Groupements fonctionnels des bandes caractéristiques.....	53
<b>Tableau 16</b> : Groupements fonctionnels des bandes caractéristiques.....	54
<b>Tableau 17</b> : Groupements fonctionnels caractéristiques du complexe Ca, Zn.....	55
<b>Tableau 18</b> : Groupements fonctionnels des bandes caractéristiques du DOP.....	56
<b>Tableau 19</b> : Groupements fonctionnels des bandes caractéristiques de l'acide.....	57



# **LISTS DES ANNEXES**

**Annexe I** : Séparation de l'huile du chloroforme

**Annexe II** : Extraction par le procédé en batch

**Annexe III** : Extraction liquide-liquide

**Annexe IV** : Préparation des milieux de cultures

**Annexe V** : Standardisation des souches

**Annexe VI** : Adaptation des rats

**Annexe VII** : Témoin négatif du Fusarium

**Annexe VIII** : Observation microscopie des coupes histologiques

**Annexe IX** : Films alimentaires préparés

**Annexes X** : Formules chimiques de DOP et de l'HTE

**Annexe XI** : Spectres infrarouges du monomères PVC, PEHD et PEBD

# TABLEAUX DES MATIÈRES

Liste des abréviations.....	i
Liste des figures.....	ii
Liste des tableaux.....	iii
Liste des annexes.....	iv
Introduction.....	1

## Chapitre I : Revue bibliographique

I.1. Polymères .....	4
I.1.1. Définition .....	4
I.1.2. Composition des polymères .....	4
I.1.3. Classification selon l'origine .....	4
I.1.4. Classification selon l'architecture .....	5
I.1.5. Classification selon leur nature chimique.....	6
I.1.6. Comportements thermiques .....	6
I.2. Polymérisation .....	6
I.3. Biodégradabilité.....	7
I.3.1. Biodégradation des polymères.....	7
I.3.2. Mécanisme de la biodégradation des polymères.....	8
I.4. Huiles animales .....	8
I.4.1. Epoxydation chimique de l'huile.....	9
I.4.2. Polymérisation par ouverture de cycle .....	10
I.5. Extraction de l'huile.....	10
I.5.1. Extraction par soxhlet .....	10
I.5.2. Extraction en mode en batch .....	11
I.6. Activité antimicrobienne.....	11
I.7. Etude de la toxicité.....	12
I.8. Etude de la toxicité aigue.....	12

## Chapitre II : Méthodologie expérimentale

II.1. Objectif du travail.....	14
II.2. Lieu et période de travail .....	14
II.3. Matériel.....	14
II.3.1. Matière animale.....	14

# TABLEAUX DES MATIÈRES

II.3.2. Matériel biologique .....	15
II.3.2.1. Matériel de laboratoire et produits utilisés .....	15
II.4. Méthodologie .....	16
II.4.1. Protocole expérimental .....	16
II.4.2. Préparation d'huile .....	18
II.4.2.1. Préparation de matière animale (graisses).....	18
I.4.2.1.1. Séchage .....	18
I.4.2.1.2. Réduction de la taille des particules (Découpage) .....	18
II.4.2.2. Procédés d'extraction des huiles .....	18
II.4.2.2.1. Extraction par Soxhlet.....	18
II.4.2.2.2. Extraction par méthode en batch .....	19
I.4.2.2.3. Détermination de rendement d'extraction .....	20
II.4.3. Caractérisations physicochimiques de l'huile .....	20
II.4.3.1. Indice de peroxyde.....	20
II.4.3.2. Indice acide et acidité .....	21
II.4.3.3. Indice d'iode.....	22
II.4.3.4. Indice de saponification .....	23
II.4.3.5. Densité (AFNOR T 60 214).....	23
II.4.3.6. Indice d'oxirane .....	24
II.4.4. Test au dibrome.....	24
II.4.5. Préparation de l'huile époxydée .....	26
II.4.6. Etude de l'activité antimicrobienne.....	27
II.4.6.1 Test d'activité antibactérienne .....	27
II.4.6.2. Activité antifongique .....	28
II.4.7. Test de Toxicité.....	29
II.4.7.1. Toxicité aigüe .....	29
II.4.7.2 Sacrifice et autopsie.....	31
II.4.7.3. Frottis sanguin .....	32
II.4.7.4. Analyses hématologiques .....	33
II.4.7.5 Technique histologique .....	33
II.4.8. Préparation des films par polymérisation.....	33
II.4.8.1. Produits utilisés.....	33
II.4.8.2. Préparation des films .....	34
II.4.9. Caractérisation des formulations.....	35
II.4.10. Analyses statistiques.....	35

# TABLEAUX DES MATIÈRES

## Chapitre III : Résultats et discussions

III.1. Rendement d'extraction .....	37
III.2. Propriétés physico-chimiques de l'huile bovine.....	37
III.3. Résultat du test de dibrome.....	39
III.4. Etude de l'activité antimicrobienne.....	39
III.4.1. Confirmation des souches .....	40
III.4.1.2. Evaluation de l'activité antibactérienne par diffusion .....	43
III.4.1.2.1. Antibiogramme.....	43
III.4.1.3. Evaluation de l'activité antifongique par diffusion sur disques .....	44
III.4.1.3.1. Effet d'HAE sur la souche de levure ( <i>Candida albicans</i> ).....	44
III.4.1.3.2. Effet d'HAE sur la moisissure ( <i>Fusarium redolens</i> ) .....	45
III.5. Test de la toxicité aigüe .....	46
III.5.1. Frottis sanguin .....	46
III.5.2. Analyse numérotation de la formule sanguine.....	46
III.5.3. Etude anatomopathologique .....	48
III.6. Etude de la compatibilité de l'HAE par la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier .....	49
III.6.1. Caractérisation des additifs .....	49
II.6.2. Caractérisation de l'HAE .....	49
III.6.3. Caractérisation des additifs et des résines de base .....	51
III.6.3.1. Polychlorure de vinyle (PVC) .....	52
III.6.3.2. Polyéthylène haute densité .....	53
III.6.3.3. Polyéthylène basse densité.....	54
III.6.3.4. Complexe de Zinc et de Calcium .....	55
III.6.3.5. Plastifiant (Di-octyl-phtalate) .....	56
III.6.3.6. Lubrifiant (Acide stéarique) .....	57
Conclusion .....	59
Références bibliographiques.....	61
Annexes	
Résumé	

# *Introduction*

L'utilisation des polymères ne cesse d'augmenter d'année en année dans tous les secteurs (emballage, industrie automobile, aviation, médecine, bâtiment, ...etc.). Cette utilisation intensive génère des déchets qui sont à l'origine de nuisances visuelles, d'encombrement des décharges et de pollution des sols et des milieux maritimes (**Seyni, 2008**).

Il existe plusieurs voies pour diminuer les déchets dus aux matières plastiques. D'abord, l'incinération, mais cela produit une émission importante de CO<sub>2</sub> et certains matériaux peuvent conduire au dégagement de gaz toxiques. Ensuite, le recyclage, mais il n'est malheureusement pas possible de recycler indéfiniment car les propriétés mécaniques diminuent à chaque recyclage. De plus, il y a des difficultés de collecte et de tri à cause des sources de plastiques très variées. Enfin, l'enfouissement, mais ce n'est pas une solution efficace car les plastiques issus de la pétrochimie ne sont pas biodégradables, et peuvent interagir avec le milieu au contact en relarguant les additifs qu'ils contiennent (**Gautron, 1995 ; Papaspyrides et Poulakis, 1996 ; ADEME, 2006**). De plus, le pétrole est une ressource non renouvelable dont les réserves sont en train de s'épuiser.

Les polymères naturels sont, par définition, ceux qui sont synthétisés par différentes voies dans la biosphère. Les protéines, les polysaccharides, les acides nucléides, les lipides, les caoutchoucs naturels et la lignine, parmi d'autres, sont tous des polymères biodégradables mais la vitesse de leur biodégradation peut varier de quelques heures à des années dépendant des groupements fonctionnels et du degré de complexité (**Karlsson et Albertsson, 1998**). D'où l'approche d'utiliser une matière première renouvelable issue de sources végétales et d'explorer la biodégradation des produits synthétisés industriellement en se basant sur le concept de cycle de vie désiré (**Colonna, 2006 ; Duval, 2009**). En outre, cette alternative permettrait de réduire les quantités de matières plastiques non dégradables et de les substituer par des produits biodégradables et éco-compatibles, recyclables par compostage ou par combustion, et d'interdire certains polymères de forte nuisance écologique. Les huiles végétales sont des matériaux renouvelables. Leur conversion en intermédiaires utiles (résines) pour matériaux polymères est intéressante vu leurs prix réduits, leur disponibilité et la possibilité de leur biodégradation. Les huiles végétales telles que l'huile de soja, l'huile de palme, l'huile de colza sont extraites de plantes végétales et ont une large gamme d'applications comme, produits alimentaires, lubrifiants, peintures, cosmétiques, produits pharmaceutiques, plastifiants et matériaux de construction. Elles représentent également des monomères intéressants pour la chimie macromoléculaire à cause de leur abondance naturelle et des

possibilités de réactions chimiques qu'elles offrent (**Kaplan, 1998 ; Williams et Hillmyer, 2008**).

Différentes résines biodégradables à base d'huiles époxydées de soja, de tournesol, de lin et de ricin ont été préparées (**Hodakowski, 1978 ; Petrovic et al. , 2000 ; Li et Larock, 2002 ; Javni et al., 2004**).

Une source particulièrement intéressante de biomolécule, et qui est peu utilisée, est le monde animal, qui n'a jamais été exploité dans le domaine des polymères. En effet, les graisses contiennent des milliers de biomolécules différentes qui possèdent de nombreuses activités biologiques. Il est cependant nécessaire d'effectuer des tests afin d'identifier d'autres molécules et d'étudier leurs effets. C'est dans ce contexte que nous nous intéressons à l'extraction d'une huile issue de source animale (bovine). Le présent travail s'est articulé autour de quatre parties :

- 1- Synthétiser et caractériser de nouveaux matériaux polymériques à base d'une huile animale époxydée (HAE);
- 2- Etudier l'activité microbienne de l'HAE vis-à-vis des souches bactériennes pathogènes (*Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300), les levures et moisissures, respectivement, (*Candida albicans* ATCC 10231 (CA2), *Candida albicans* ATCC 10237 (M3), *Fusarium redolens* WY5 à 99%);
- 3- Etudier la toxicité de l'HAE en réalisant des tests sur des rats Wistar ;
- 4- Tester la compatibilité de l'HAE vis-à-vis des autres polymères.

Par ailleurs, l'huile animale (HA) a d'abord été modifiée selon le procédé d'époxydation. L'étude de nouveau intermédiaire préparé a été suivie par spectroscopie infra rouge à transformée de Fourier (FTIR).

Le mémoire présent est divisé en trois chapitres: Le premier chapitre comprend une étude bibliographique sur les polymères leurs dégradations, extraction, époxydation et une étude antimicrobienne. Le deuxième chapitre englobe toute la méthodologie expérimentale et le dernier chapitre regroupe l'ensemble des résultats expérimentaux ainsi que leurs interprétations. Et enfin nous terminerons par une conclusion puis présenterons d'éventuelles perspectives proposées à la suite de ce travail.

*Chapitre I :*  
*Revue bibliographique*



## **I.1. Polymères**

Les applications des polymères ont gagné en popularité ces dernières années, avec des applications allant du technologique au médical en passant par le domestique et l'artistique. Le choix d'un polymère pour une application spécifique nécessite une compréhension approfondie de ses diverses propriétés structurelles, thermiques, mécaniques et autres (**Hachani, 2017**).

### **I.1.1. Définition**

Un polymère est une grande molécule organique composée d'unités fondamentales appelées monomères qui sont reliées entre elles par des liaisons "covalentes". Il peut être naturel ou obtenu par modification chimique d'un polymère naturel, mais il peut aussi être entièrement synthétisé chimiquement par une réaction appelée "polymérisation". Ils peuvent être linéaires, ramifiés ou réticulés. Ils sont généralement amorphes, mais ils peuvent être partiellement cristallisés (**Weiss, 2010**).

### **I.1.2. Composition des polymères**

La grande majorité des polymères sont constitués de neuf éléments chimiques différents : hydrogène, azote, oxygène, fluor, silicium, phosphore, soufre et chlore (**Mercier et al. ,1993**).

### **I.1.3. Classification selon l'origine**

Les polymères peuvent être classés comme suit en fonction de leur origine :

- les polymères naturels : ce sont des composés organiques qui forment la matière vivante, comme les protéines, les acides nucléiques et la cellulose.
- les polymères créés par modification chimique d'un polymère naturel, comme la méthylcellulose.
- les polymères synthétiques comprennent les élastomères, les fibres et les adhésifs (**Hachani, 2017**).

#### I.1.4. Classification selon l'architecture

On peut classer les polymères selon l'architecture en deux types :

- **Polymères linéaires** : On dit qu'un polymère est linéaire lorsque les unités monomères sont toujours placées les unes à la suite des autres, quelle que soit la conformation envisagée (Hachani, 2017).

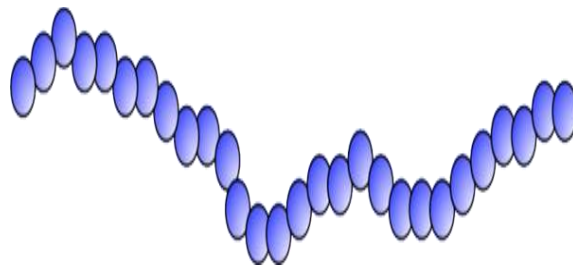


Figure 1 : Polymère linéaire (Hachani, 2017).

- **Polymère ramifié** : Lorsque les macromolécules d'un polymère peuvent se ramifier, on dit que le polymère est ramifié. Les chaînes de ces points de ramification peuvent également être ramifiées. Les différentes structures sont déterminées par la chimie de la polymérisation et/ou la méthode de synthèse (Hachani, 2017).

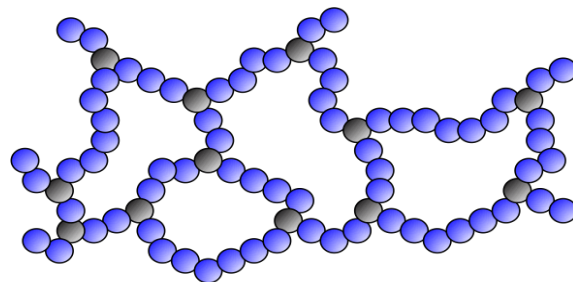


Figure 2 : Polymère ramifié (Hachani, 2017).

- **Polymère réticulé** : La réticulation se produit lorsque des liaisons chimiques se forment dans des directions spatiales différentes pendant la polymérisation, la polycondensation ou la polyaddition, ce qui entraîne la formation d'un réseau (Weiss, 2010).

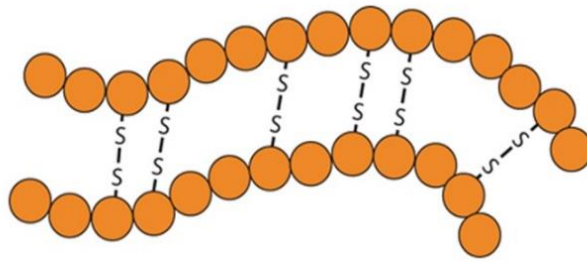


Figure 3 : Polymère réticulé (Weiss, 2010).

### I.1.5. Classification selon leur nature chimique

- **Polymères minéraux** : Sont constitués de chaînes qui ne contiennent qu'un seul corps simple, comme le diamant, le graphite, le phosphore et le soufre, ou de chaînes qui contiennent plusieurs corps hétérogènes, comme les silicates, les acides polyphosphoriques et les chlorures de polyphosphonitriles.
- **Polymères organiques** : les principaux polymères organiques de synthèse sont les polyoléfines, les polyvinylyles, les polyamides, les polyesters, les polyacryliques et les polydiènes.
- **Polymères mixtes** : sont dotés de propriétés intrigantes, comme une résistance thermique élevée (300-350°C). L'hétéroatome peut se trouver soit dans la chaîne principale, soit dans les unités latérales (Akli et al. , 2008).

### I.1.6. Comportements thermiques

- **Thermoplastiques** : Lorsqu'ils sont exposés à une augmentation modérée de la température, les polymères se ramollissent mais leurs liaisons chimiques restent inchangées (Akli et al. , 2017).
- **Thermodurcissables** : Les températures élevées déclenchent des réactions irréversibles de pontage et de réticulation, qui aboutissent à des réseaux tridimensionnels rigides (Akli et al. , 2017).
- **Thermoélastiques** : L'objectif des recherches actuelles est de créer des polymères capables de conserver leur élasticité à des températures modérément élevées, afin de surmonter la limitation thermique qui constitue une faiblesse des élastiques actuels (Akli et al. , 2017).

## I.2. Polymérisation

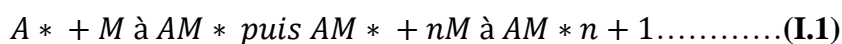
La polymérisation c'est une réaction entre les monomères pour former un produit final appelé polymère (Carreira, 2005). Cette polymérisation des monomères ne conduit pas

forcément à un seul produit, grâce à la masse molaire d'un polymère et de la valeur de « n » qui n'est pas connue (Daoud et Abdeslam, 2018).

Lorsque ce degré de polymérisation (DP) est inférieur à 30, on parle d'oligomère et s'il est supérieur à 30, on parle d'un polymère (Daoud et Abdeslam, 2018).

Deux mécanismes entièrement différents sont utilisés pour la synthèse de polymères lors de la polymérisation : Le premier type de réaction est appelé **polymérisation par étape** où la croissance des macromolécules est le résultat de réactions chimiques classiques entre les groupements fonctionnels réactifs des monomères. Une réaction de polycondensation avec libération d'un sous-produit de la réaction, (souvent de l'eau...) est une réaction de polymérisation par étape.

Le deuxième type de réaction est appelé **polymérisation en chaîne** et résulte de la formation d'un centre actif A\* qui fixe de façon successive de nombreuses molécules de monomère :



Le polymère obtenu présente un degré de polymérisation n+1.

Une réaction de polyaddition sans libération de sous-produit est une réaction de polymérisation en chaîne. Dans ce cas, le mécanisme implique généralement l'ouverture d'une double liaison (C=C, par exemple) ou l'ouverture d'un cycle (Weiss, 2010).

### ***1.3. Biodégradabilité***

La biodégradation peut être décrite comme un phénomène de dégradation, de décomposition de matières organiques par l'action des micro-organismes (bactéries, enzymes, champignons). Il s'agit d'une fragmentation avec modification chimique et perte des propriétés mécaniques.

Le matériau est converti en dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>), en eau (H<sub>2</sub>O), et/ou en méthane (CH<sub>4</sub>) et éventuellement en une nouvelle biomasse et des résidus (Pardos, 2013).

#### **1.3.1. Biodégradation des polymères**

L'étude de la biodégradation des polymères, limitée à l'action des micro-organismes, peut être envisagée sous deux aspects (Mercier *et al.*, 1993).

- Protection contre la biodégradation particulièrement active dans certaines applications (câbles haute tension enterrés ou immergés, polymères pour prothèses orthopédiques ou dentaires, peintures, revêtements, etc.).
- Fabrication de matériaux biodégradables dans le but de protéger l'environnement (rejets d'emballages) ou pour des applications chirurgicales (matériaux résorbables).

### **I.3.2. Mécanisme de la biodégradation des polymères**

Les polymères peuvent être dégradés selon divers mécanismes pouvant interagir entre eux tels que la photodégradation (catalysée par la lumière), la dégradation chimique (hydrolyse, catalysée par l'eau et oxydation, catalysée par l'oxygène) ou encore la dégradation thermique (chaleur) et mécanique. L'hydrolyse et l'oxydation peuvent être initiées par des composés chimiques ou biologiques (Li, 2006 ; Colonna, 2006 ; Amusan, 2009)

Le processus de biodégradation a lieu en deux étapes :

- **Détérioration ou biofragmentation du polymère.**

Cette première étape correspond soit à une détérioration physico-chimique du produit, soit à sa biofragmentation.

- **Bio-assimilation, minéralisation**

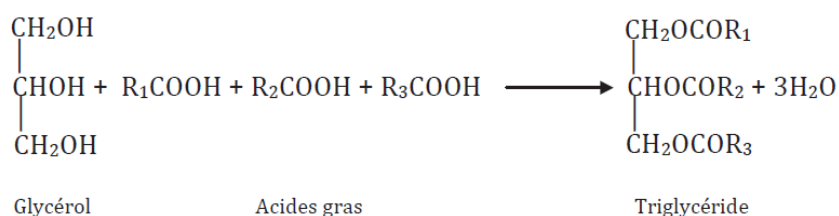
Elle correspond à l'assimilation et à la minéralisation. Lorsque les fragments oligomères formés sont suffisamment petits, ils sont transportés à l'intérieur des cellules où ils sont bioassimilés par les microorganismes puis minéralisés. Il y a alors formation de gaz (CO<sub>2</sub> et CH<sub>4</sub> principalement), d'eau, de sels, de minéraux et une nouvelle biomasse (Smith, 2005 ; Colonna ; Castelen, 2010)

### **I.4. Huiles animales**

Les huiles sont constituées essentiellement (~99%) de triacylglycérols (**TAG**) ou triglycérides qui sont des triesters constitués de trois molécules d'acides gras (AG) pour une molécule de glycérol. Les autres constituants tels que stérols, vitamines liposolubles et phospholipides sont mineurs (~1%)

Les acides gras (AG) se composent d'une chaîne hydrogénéocarbonée terminée d'un côté par un groupement méthyle (CH<sub>3</sub>) et de l'autre par un groupement carboxylate (COO<sup>-</sup>).

Les triglycérides se forment selon la réaction (Combea et Castera, 2010).



**Figure 4 :** Formation de triglycéride

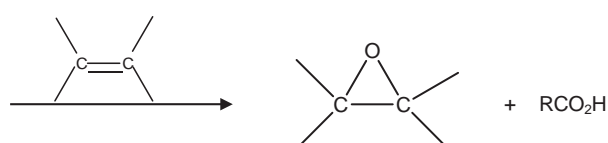
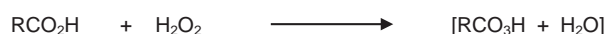
Avec R1, R2, R3 ; groupes hydrocarbonés à chaîne ouvertes.

Les graisses animales proviennent de diverses sources, notamment du poulet, des bovins, des ovins et d'autres animaux. La quantité de graisse présente sur ces animaux est fortement influencée par leur régime alimentaire ainsi que la localisation de l'animal (**Akoh et Casimir, 2002**). Certaines quantités de graisse sont également déposées dans les cavités abdominales des animaux. L'espèce animale, la race et le degré de finition ont tous un impact important sur la répartition de la graisse à ces différents endroits (**Akoh et Casimir, 2002**).

#### I.4.1. Epoxydation chimique de l'huile

L'époxydation est l'addition d'un oxygène à partir d'un peracide sur la double liaison, une réaction importante en synthèse organique car les époxydes sont des intermédiaires qui peuvent être convertis en toute variété de produit. Ils présentent un large intérêt industriel qui couvre depuis la pétrochimie de base jusqu'à la chimie finie. L'époxydation est une des plus importantes réactions d'addition sur les doubles liaisons des acides gras insaturés.

L'époxydation est probablement celle qui représente le plus d'intérêt parmi les réactions utilisées. La modification chimique des huiles est souvent nécessaire afin de permettre l'utilisation de ces matières premières dans différentes applications industrielles. Les huiles végétales et/ou animales, contenant des triglycérides, s'époxyde en utilisant l'acide formique(ou l'acide acétique) qui, en présence du peroxyde, forme le peracide. La formation du peracide facilite l'époxydation et régénère l'acide carboxylique pour la suite de la réaction comme montré dans la réaction I.2



(I.2)

### **I.4.2. Polymérisation par ouverture de cycle**

Plusieurs composés cycliques peuvent se polymériser à travers un mécanisme cationique, mais relativement peu, via un mécanisme anionique ou nucléophile.

Dans la polymérisation anionique par ouverture de cycle d'un monomère hétérocyclique, l'amorçage de la réaction est généralement une réaction de substitution bimoléculaire nucléophile par un amorceur conduisant à la formation d'un anion de l'hétéroatome. L'anion ainsi formé doit aussi avoir une grande réactivité envers le monomère pour lui permettre de se propager. Dans ce contexte, les anions des hétéroatomes tels que les alkoxides, amides et sulfides peuvent être utilisés comme amorceurs. Les amines secondaires et tertiaires sont des amorceurs utilisés dans la polymérisation anionique des oxiranes.

Dans la polymérisation cationique par ouverture de cycle, la plus importante étape dans la réaction de propagation comporte la rupture de la liaison carbénium, contrairement à la polymérisation anionique où c'est la liaison carbone-hétéroatome qui est cassée. Les acides de Lewis tels que le BF<sub>3</sub> peuvent être utilisés dans ce genre de réactions (**Smith, 2005**).

## ***I.5. Extraction de l'huile***

Les graisses animales, qu'elles proviennent d'animaux entiers, de graisses de dépôt ou de viscères, contiennent des enzymes actives. La graisse doit donc être extraite le plus rapidement possible (**Amusan, 2002**).

L'extraction solide-liquide est l'opération fondamentale qui a pour but d'extraire, de séparer ou de dissoudre, par immersion dans un liquide ou par arrosage par un liquide, un ou plusieurs composants (solide ou liquide) mélangés à un liquide. C'est une opération de transfert ou d'échange de matière entre une phase solide (la matière à extraire) et une phase liquide (le solvant d'extraction) les constituants recherchés pouvant être soit le soluté, soit le résidu (**Leybroos et Fremeaux, 1990**). Parmi la multitude de choix des méthodes d'extraction des huiles, on a choisi d'utiliser l'extraction par soxhlet et en mode batch :

### **I.5.1. Extraction par soxhlet**

L'extraction par Soxhlet est une des méthodes les plus utilisées en raison de ses performances élevées. C'est une méthode de référence contrairement aux autres techniques d'extraction solide-liquide ou les nouvelles méthodes non conventionnelles (**Swetman, 2008**).

L'échantillon à extraire est placé dans un porte-dé (cartouche en silicium) poreux à l'intérieur du soxhlet. Un ballon contenant le solvant est placé au-dessous du soxhlet, et au-dessus de ce dernier se trouve un réfrigérant. Lorsqu'une chaleur est appliquée au ballon, le solvant s'évapore, il sera ensuite condensé dans le réfrigérant et coulera dans la cartouche. Le contact entre le solvant et l'échantillon entraînera une diffusion de molécules de la phase solide vers la phase liquide. Dès que le niveau du solvant à l'intérieur du soxhlet atteint le siphon il retournera de nouveau dans le ballon et un nouveau cycle d'extraction sera amorcé.

L'extraction se fait en continue et l'extrait obtenu est plus concentré que celui des autres techniques d'extraction par solvants (Swetman, 2008).

### **I.5.2. Extraction en mode en batch**

C'est une méthode d'extraction solide-liquide à chaud. Le reflux permet la réalisation d'une extraction à une température constante égale à la température d'ébullition du solvant. Ainsi le solvant s'évapore et le réfrigérant recondense les vapeurs qui retombent dans le ballon, permettant au solvant d'être ainsi recyclé. Le chauffage, l'ébullition, agitation et le reflux permettent une extraction efficace avec un appareillage relativement simple (Handa, 2008).

## **I.6. Activité antimicrobienne**

L'activité antimicrobienne peut être définie comme un terme collectif pour tous les principes actifs (agents) qui inhibent la croissance des bactéries, empêchent la formation de colonies microbiennes et peuvent détruire les micro-organismes.

Selon (Mucha et al., 2002). De l'Institut Hohenstein, l'activité antimicrobienne désigne une situation dans laquelle un agent actif a un effet négatif sur la vitalité des micro-organismes. Si l'agent actif n'affecte que les bactéries ou les champignons, on parle d'activité antibactérienne ou antimycotique, respectivement.

Le degré de l'effet est indiqué par -cidal (ou létal) en cas d'activité germicide importante ou -statique lorsque la substance active sert à inhiber la croissance des bactéries. En conséquence, le terme bactériostatique désigne un agent qui inhibe temporairement la croissance d'une population bactérienne spécifique sans détruire cette population ou sans pouvoir se multiplier de manière significative (Mucha et al., 2002).



### ***1.7. Etude de la toxicité***

La toxicité se définit comme l'ensemble des effets néfastes qui peuvent être des lésions morphologiques et fonctionnelles dans un organisme vivant, provoquées par une substance introduite à une dose unique relativement élevée ou à des petites doses longtemps répétées (**Hodgson, 2004**). Selon la durée, la fréquence et la quantité de produits toxiques auxquelles un individu est exposé, on observe plusieurs types de toxicités (**Damien, 2002**). L'Homme est constamment exposé à une toxicité soit aiguë soit subaiguë ou encore chronique (**Bismuth, 1987**). L'un des divers types de toxicité est cité :

### ***1.8. Etude de la toxicité aigue***

C'est l'étude qualitative et quantitative des phénomènes toxiques qu'il est possible de rencontrer après administration unique de la ou des substances actives contenues dans le médicament. Cette étude décrit les symptômes observés et fournit pour autant que cela soit possible l'indication de la dose létale 50 (DL50) (**Ruckebusch, 1981**).

L'étude sur les animaux de laboratoire doit porter sur un nombre égal de mâles et de femelles. La durée de l'observation des animaux est fixée par l'expérimentateur. En général, elle n'est pas inférieure à une semaine (**Ruckebusch, 1981**).

*Chapitre II :*

*Méthodologie expérimentale*

### **II.1. Objectif du travail**

Notre étude a pour objectif la synthèse et la caractérisation de nouveaux matériaux polymériques à partir d'une graisse animale d'origine bovine en suivant deux principales expériences :

- In vitro : extraction d'huile, activité antimicrobienne de l'huile animale epoxydée (HAE), synthèse et caractérisation de polymères ;
- In vivo : test de toxicité.

### **II.2. Lieu et période de travail**

Cette étude a été réalisée au sein des laboratoires de l'écologie animale, technologie alimentaire et microbiologie de la faculté de Sciences de la Nature et de la Vie, de l'animalerie et clinique d'autopsie de l'Institut des Sciences Vétérinaires de l'université Ibn Khaldoun de Tiaret, durant une période qui s'est étalée du 01 février au 09 Juin 2022.

### **II.3. Matériel**

#### **II.3.1. Matière animale**

La graisse bovine : 1 kg de graisse a été récolté dans trois endroits différents de la région de Tiaret (tableau 1).

**Tableau 1** : Caractéristiques des graisses étudiées

<b>Echantillonnage (graisse)</b>	<b>Récolte</b>
Extrait au niveau des glandes surrénales	Abattoir De Tiaret
Extrait au niveau de l'abdomen	Boucher 1 : Cité Rousseau
Extrait au niveau des côtes	Boucher 2 : La routièrè

Après avoir trié les graisses afin d'éliminer toutes les impuretés présentes ; elles sont coupées en petits cubes, puis séchées à l'air libre et à l'abri de la lumière (Figure 5).



**Figure 5 :** Photos de la graisse Bovine de l'étude (prise par nous-même)

Le choix des différentes zones de prélèvement chez l'animal était basé sur la présence de la graisse en abondance.

### **II.3.2. Matériel biologique**

Afin d'évaluer l'activité antibactérienne de l'huile de l'étude, deux souches bactériennes de référence *Escherichia coli* (ATCC 8739) *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300), des levures *Candida albicans* (ATCC 10237) *Candida albicans* (ATCC 10231)) et de moisissure *Fusarium redolens* ont été utilisées. Ces microorganismes conservés par congélation dans le glycérol, ont été fournis par le laboratoire de microbiologie au niveau de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie -Tiaret

#### **II.3.2.1. Matériel de laboratoire et produits utilisés**

Les différentes verreries, appareillage, réactifs et milieux de culture utilisés dans notre travail sont mentionnés dans le (tableau 2)

Tableau 2 : Matériel de laboratoire et produits utilisés

<i>Appareillages</i>	<i>Verreries</i>	<i>Produits chimiques</i>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Soxhlet</li> <li>- Réfrigérant</li> <li>- Plaque chauffante</li> <li>- Bain mari</li> <li>- Rota-vapeur</li> <li>- Etuve</li> <li>- Agitateur</li> <li>- Balance analytique</li> <li>- Spectrophotomètre UV-visible</li> <li>- Barreau magnétique</li> <li>- Pycnomètre</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Béchers</li> <li>- Erlenmeyer</li> <li>- Creusets</li> <li>- Ballons</li> <li>- Entonnoirs</li> <li>- Ballon à col Rodé</li> <li>- Ballon tri-col</li> <li>- Ampoule à décantée</li> <li>- Boîtes de Petri</li> <li>- Tubes à essais</li> <li>- Eprovettes graduées</li> <li>- Cristalliseur</li> <li>- Thermomètre</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Chloroforme</li> <li>- Ethanol</li> <li>- Eau distillée</li> <li>- Acide acétique glaciale</li> <li>- Thiosulfate de sodium</li> <li>- Acide chloridrique (HCl)</li> <li>- Acide tetrachloride (CCl<sub>4</sub>)</li> <li>- Acide Formique</li> <li>- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></li> <li>- Acide acétique cristallisable.</li> <li>- Iodure de potassium</li> <li>- Solution d'hydroxyde de sodium</li> <li>- Empois d'amidon.</li> <li>- Phénolphtaléine</li> <li>- Acide sulfurique</li> <li>- HBr</li> <li>- Pastille de l'eau de javel</li> <li>- Bromure de Potassium (KBr)</li> </ul>

## II.4. Méthodologie

### II.4.1. Protocole expérimental

Les différentes étapes de l'étude d'extraction, physicochimique, époxydation et microbiologique sont résumées dans figure 6.

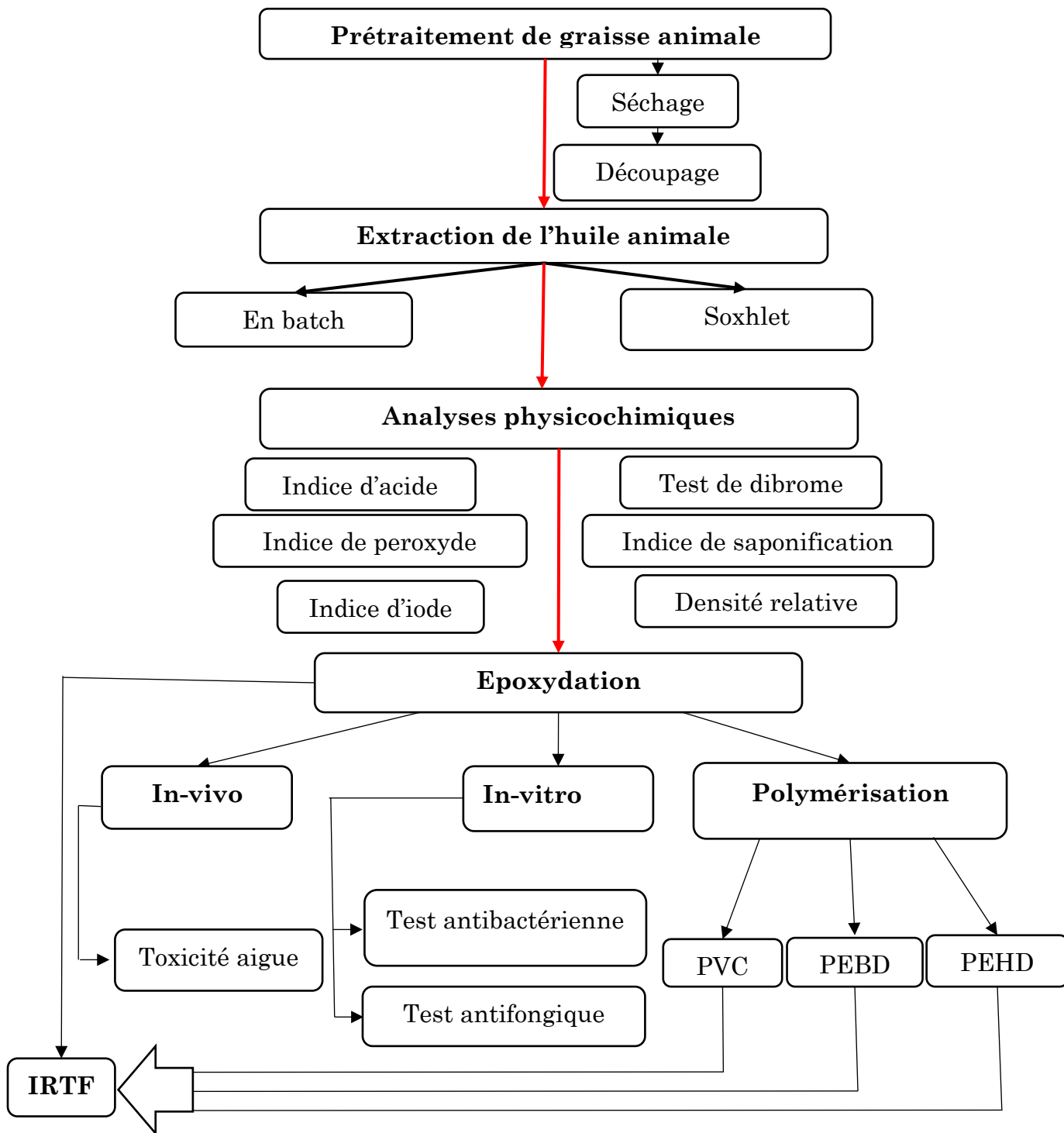


Figure 6: Organigramme récapitulatif de la démarche expérimental

## **II.4.2. Préparation d'huile**

### **II.4.2.1. Préparation de matière animale (graisses)**

Pour une extraction efficace, plusieurs prétraitements sont nécessaires (**Amusan, 2008**).

#### **I.4.2.1.1. Séchage**

Le séchage avant l'extraction est une étape très importante afin de permettre au solvant de pénétrer dans les tissus et rend l'extraction plus efficace.

#### **I.4.2.1.2. Réduction de la taille des particules (Découpage)**

La réduction de la taille des particules favorise un bon contact avec le solvant, se traduisant par un rapport surface/volume plus important, ce qui améliore l'extraction et par conséquent un rendement d'huile plus élevé.

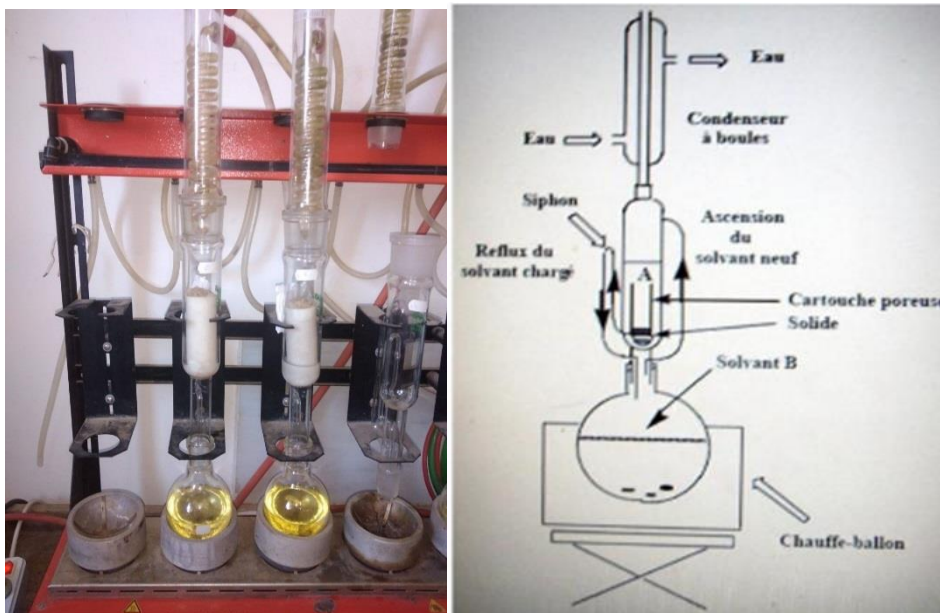
### **II.4.2.2. Procédés d'extraction des huiles**

Pour l'extraction d'huile à partir de graisse bovine deux procédés ont été employés :

#### **II.4.2.2.1. Extraction par Soxhlet**

L'extraction a été réalisée selon le mode opératoire suivant (figure 7) (**Despiau, 1978**):

- Peser environ 50 g de graisse découpée
- Introduire l'échantillon dans une cartouche en cellulose qui est perméable au solvant puis la couvrir avec du coton hydrophobe.
- Mettre la cartouche dans l'appareil extracteur de "Soxhlet".
- Verser la quantité nécessaire du solvant (190 ml de Chloroforme).
- Porter l'échantillon à ébullition à 80°C à reflux pendant 4 heures d'extraction
- Séparer la solution obtenue du solvant d'extraction par le Rota vapeur (**Annexe I**)



**Figure 7 :** Dispositif expérimental d'extraction par Soxhlet (prise par nous-même).

#### II.4.2.2.2. Extraction par méthode en batch

Il s'agit d'un dispositif composé d'un ballon de 250 mL surmonté d'un réfrigérant à reflux et un bain marie, l'agitation a été moyenne grâce à un barreau aimanté à vitesse d'agitation constante (**Annexe II**). L'avantage majeur de cette méthode est la possibilité de travailler facilement avec des mélanges de solvants et de contrôle des paramètres opératoires d'extraction, pour éviter le risque de destruction des composés thermolabiles. C'est une méthode qui exige des procédures ultérieures de filtration ou de centrifugation.

L'échantillon de la matière animale, préalablement pesé, est mis en contact avec le solvant (chloroforme). Le mélange est agité et maintenu à une température fixe, selon les conditions opératoires. Après un temps d'extraction bien déterminé, les phases solide et liquide sont séparées à l'aide d'une passoire fine.

Le tableau 3 résume les quantités de graisse animale et de solvants utilisées, ainsi que les conditions opératoires pour chaque échantillon.



Tableau 3 : Différents procédés d'extraction

Procédés d'extraction	Quantité d'échantillon	Volume de solvant	Temps d'extraction	Température
-Soxhlet	50 g de graisse	190 mL de chloroforme	4h.	80°C.
-En batch.	50 g de graisse	190 mL de chloroforme	3h 30min	80°C

#### I.4.2.2.3. Détermination de rendement d'extraction

Le nombre de répétitions, permet la détermination du rendement en huile exprimé en pourcent. Le rendement en huile est défini comme étant le rapport entre la masse obtenue et la masse de matière animale, calculé par la relation :

$$\rho(\%) = \frac{(P_2 - P_1)}{P_3} \times 100 \dots\dots\dots (II.1) \text{ Où :}$$

$\rho\%$  Rendement en huile en pourcentage ;

$P_2$  : Poids du ballon avec l'huile en g ;

$P_1$  : Poids du ballon vide en g ;

$P_3$  : Poids de prise d'essai en g.

### II.4.3. Caractérisations physicochimiques de l'huile

#### II.4.3.1. Indice de peroxyde

C'est la quantité d'oxygène actif présent dans l'échantillon exprimée en milliéquivalent d'oxygène actif par kg de corps gras. La détermination de l'indice de peroxyde (IP) est décrite selon la norme (ISO 3960).

##### ✓ Mode opératoire

Dans un ballon à fond plat, on pèse une prise d'essai de 2 g d'huile animale, ensuite on ajoute 10 mL de chloroforme sous agitation jusqu'à la dissolution du mélange. Ajouter 15 mL d'acide acétique cristallisable, puis 1 mL de solution d'iodure de sodium fraîchement préparée. Boucher le ballon, tout en agitant pendant 1 minute, puis laisser à l'abri de la lumière pendant

5 minutes. On ajoute 75 mL d'eau distillée en agitant vigoureusement et en présence de quelques gouttes d'empois d'amidon, on remarque un virement de couleur virant au foncé, Enfin, on procède au titrage par l'iode libéré avec la solution de thiosulfate de sodium à 0,01N.

En parallèle une prise d'essai a été faite en même temps.

#### ✓ Expression des résultats

L'indice de peroxyde ( $I_p$ ), exprimé en milliéquivalents d'oxygène actif par kilogramme, est déterminé par la formule :

$$I_p = \frac{V \cdot T \cdot 1000}{M} \dots\dots\dots (II.2) \text{ Où :}$$

V : nombre de millilitres de solution de thiosulfate de sodium normalisée utilisée pour l'essai.

T : facteur de normalité de la solution de thiosulfate utilisé.

M : masse (en grammes) de la prise d'essai.

#### II.4.3.2. Indice acide et acidité

L'indice d'acide est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de sodium nécessaires pour neutraliser l'acidité libre d'un gramme de ce corps gras. L'acidité quant à elle représente le pourcentage d'acides gras libres exprimé conventionnellement selon la nature du corps gras, en acides oléiques de poids moléculaire (282), ou en acides palmitique (256), érucique (338), laurique (200). La détermination de l'indice d'acide ( $I_A$ ) et l'acidité A% sont effectuées expérimentalement de la même manière, seul le mode d'expression est différent. La détermination de l'indice d'acide est donnée selon la norme (ISO-660).

#### ✓ Mode opératoire :

Dans un ballon à fond plat, on pèse une prise d'essai de 2 g d'huile, on ajoute 15 ml d'éthanol préalablement neutralisé par la soude N/10 en présence de phénolphtaléine comme indicateur coloré et porter au voisinage de l'ébullition. Le titrage se fait avec la solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N jusqu'au virage de la solution (la coloration rose de la phénolphtaléine persiste durant au moins 10s)

En parallèle une prise d'essai a été faite en même temps.

✓ **Expression des résultats**

L'indice d'acide est donné par la relation :

$$IA = \frac{V*40*N}{P} \dots\dots\dots(II.3) \text{ O\`u :}$$

V : désigne le volume d'hydroxyde de sodium employé.

N : la normalité de la solution.

P : la masse de la prise d'essai.

**II.4.3.3. Indice d'iode**

C'est la quantité de mono-bromure d'iode, exprimée en gramme d'iode, absorbée par 10 g de corps gras. La détermination de l'indice d'iode (II), selon la norme **(ISO-3961)**.

✓ **Mode opératoire**

- 1- Peser une prise d'essai de 1,8g de corps gras ;
- 2- Ajouter 15 ml de CCl<sub>4</sub> pour dissoudre la matière grasse ;
- 3- Ajouter 25 ml de KI, boucher le ballon, agiter doucement et placer le flacon à l'abri de la lumière durant une heure.
- 4- Ajouter 15mL de HCl puis 20 ml de la solution de KI à 10 % et 150 ml d'eau distillée. Ajouter quelques gouttes d'empois d'amidon, titrer avec la solution de thiosulfate de sodium à 0,1N jusqu'au moment où la couleur brune disparaît après avoir agité vigoureusement.
- 5- Parallèlement à la prise d'essai, effectuer un essai à blanc.

✓ **Expression des résultats**

L'indice d'iode est donné comme suit :

$$Ii = \frac{12.96*C(V1-V2)}{M} \dots\dots\dots(II.4) \text{ O\`u :}$$

C : concentration, en moles par litre, de la solution de thiosulfate de sodium utilisée.

V1 : volume, en millilitres, de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc.

V2 : volume, en millilitres, de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour la détermination.

M : masse, en gramme, de la prise d'essai.

#### II.4.3.4. Indice de saponification

C'est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaires pour saponifier un gramme de corps gras. La détermination de l'indice de saponification (IS), selon la norme (ISO3657).

✓ **Mode opératoire :**

Pour 2 g d'huile animale, ajouter 25 ml de solution éthanoïque titrée d'hydroxyde de potassium 0,5N, adapter le ballon au réfrigérant, faire bouillir doucement durant au moins une heure, en agitant très légèrement. Après 60 minutes, arrêter le chauffage, ajouter 4 à 5 gouttes de phénolphaléine et titrer la solution savonneuse avec l'acide sulfurique jusqu'à ce que la couleur rose de l'indicateur disparaisse.

Parallèlement à la prise d'essai, effectuer un essai à blanc

✓ **Expression des résultats**

L'indice de saponification est donné par la formule suivante :

$$IS = \frac{(V1-V2)*N*56.1}{M} \dots\dots\dots (II.5) \text{ Où :}$$

M : la masse en gramme de la prise d'essai.

N : Normalité de l'acide sulfurique.

V1 : le nombre de millilitres d'acide sulfurique utilisé dans l'essai à blanc.

V2 : le nombre de millilitres d'acide sulfurique utilisé dans l'essai avec l'huile.

#### II.4.3.5. Densité (AFNOR T 60 214)

On appelle densité (ou poids spécifique, masse volumique) le rapport du poids d'un certain volume du corps gras à la température T, au poids d'un même volume d'eau à une température de 4°C pour notre échantillon. La masse volumique renseigne sur le groupe auquel appartient une huile.

Le principe est basé sur la mesure de la masse, à température ambiante, d'un volume de corps gras contenu dans le pycnomètre préalablement étalonné à la même température.

✓ **Expression des résultats**

La densité est donnée par la formule suivante :

$$D = \frac{P_3 - P_1}{P_2 - P_1} \dots\dots\dots(\text{II.6}) \text{ Où :}$$

P1 : poids en gramme du pycnomètre vide.

P2 : poids en gramme du pycnomètre rempli d'eau distillée.

P3 : poids en gramme du pycnomètre rempli d'huile.

**II.4.3.6. Indice d'oxirane**

C'est le nombre de grammes d'oxygène sous forme d'oxirane fixé par 100g d'huile époxydée.

L'indice d'oxirane de l'huile époxydée a été mesuré selon la norme

**(AOCS Cd 9-57).**

✓ **Mode opératoire**

Dans une burette graduée, mettant le HBrO<sub>3</sub> et dans un erlenmeyer fermé mettant 10 ml d'acide acétique et 0,3 - 0,4 g (HAE), et on ajoute 3 gouttes de l'indicateur violet, puis on le titre par l'HBrO<sub>3</sub> goutte à goutte en agitant le mélange jusqu'à l'obtention d'une couleur bleu verte, ensuite on mesure le volume consommé.

➤ **Calcul de l'indice d'oxirane**

Avec la relation suivante on calcule l'indice d'oxirane :

$$IO = \frac{N \cdot 1.6 \cdot V}{M} \dots\dots\dots(\text{II.7}) \text{ Où :}$$

N : normalité 0,15N.

V : volume du HBrO<sub>3</sub> utilisé dans l'essai.

M : la masse d'HAE utilisée.

**II.4.4. Test au dibrome**

Le test au dibrome est un test chimique servant à caractériser les composés organiques insaturés, nommés alcènes avec eau de dibrome (figure 8).

➤ **Mode opératoire**

- Introduire un mélange de 18 pastilles dans le premier ballon ;
- Introduire un volume de HCl dans une ampoule à décanter et le verser goutte à goutte dans le ballon contenant les pastilles (une réaction exothermique aura lieu et un dégagement de  $\text{Cl}_2$  passera dans le deuxième ballon);
- Introduire une solution saturée de KBr dans le deuxième ballon (dégagement de  $\text{Br}_2$ ) ;
- Récupération de l'eau de brome après condensation dans l'erlenmeyer
- Titrer l'huile extraite par la solution eau bromée



**Figure 8 :** Dispositif expérimental du test de Dibrome (prise par nous-même)

1-Ballon Bicol (1)

2- Ballon Bicol (2)

3- Ampoule à décanter

4- Tuyau

5- Colone de Vigreux

6- Allonge coudée

7- Réfrigérant

8- Erlenmeyer

9- Support élévateurs

10- Cristallisateur

Il est à noter qu'une décoloration d'huile apparaît, ce qui indique l'insaturation de notre huile et dans le cas contraire, l'huile est saturée.

#### II.4.5. Préparation de l'huile époxydée

L'époxydation a été effectuée en faisant réagir l'huile extraite avec du peroxyde de dihydrogène  $H_2O_2$ , en présence de l'acide formique  $HCOOH$  (comme catalyseur) à  $50^\circ C$  (Rouan, 2008).

Le réacteur, constitué d'un ballon tri-cols muni d'un réfrigérant et d'un thermomètre, est soumis à une agitation magnétique et un contrôle continu de la température à l'aide d'un thermocouple (Figure 9).



**Figure 9 :** Dispositif expérimental de préparation de l'huile époxydée (prise par nous-même)

Les produits de synthèse qui forment un mélange hétérogène d'huile époxydée et d'une solution acide sont séparés par extraction liquide-liquide au moyen d'une ampoule à décanter (Annexe III) L'huile ainsi obtenue est lavée avec de l'eau distillée jusqu'au  $pH = 7$  de la dernière eau de rinçage, et ce, pour la débarrasser des traces d'acide.

#### II.4.6. Etude de l'activité antimicrobienne

La méthode de diffusion est l'une des plus anciennes approches de détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et demeure l'une des méthodes les plus utilisées en routine. Elle convient pour la majorité des bactéries pathogènes incluant les bactéries à croissance lente ; elle permet une variété dans le choix des antibiotiques et ne requiert aucun matériel particulier. Comme la plupart des techniques de diffusion en gélose, la méthode de l'EUCAST est standardisée, se fonde sur les principes définis dans le rapport de comité de l'antibiogramme de la société Française de microbiologie (CASFM, 2018).

Le but de cette manipulation est d'évaluer l'activité antibactérienne de l'huile animale époxydée vis-à-vis des germes pathogènes (*Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300) contaminant les denrées alimentaires et responsables de certaines infections.

##### II.4.6.1 Test d'activité antibactérienne

Des tests de confirmation pour chaque espèce a été réalisé afin de confirmer qu'il s'agit d'une espèce de référence. Nous avons réalisé un antibiogramme standard selon la technique suivante (Djadar, 2016):

- Mettre la gélose nutritive au bain-marie à 100°C (**Annexe IV**); une fois fondue la maintenir dans l'étuve jusqu'à ce que la température atteigne environ 45 °C,
- Couler dans les boîtes de pétri une quantité de gélose nutritive équivalente à 18 mL ;
- Laisser les boîtes entrouvertes devant la flamme jusqu'à complète solidification (15minutes),
- Standardiser les inocula a 0.5 MacFarland dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 625 nm (**Annexe V**).
- Ouvrir le tube contenant l'inoculum devant le bec bunsen et étaler les bactéries sur toute la surface de la gélose à l'aide d'un écouvillon stérile ;
- Déposer les disques wattman d'antibiotique (LE) stérile sur la surface de gélose
- Ajouter 20 µL d'huile animal époxydée dans chaque puits des BP (les tests sont répétés trois fois).
- Mettre les boîtes dans un incubateur à 37 °C pendant 24 h.



#### II.4.6.2. Activité antifongique

##### ➤ Levures

A noter que les mêmes étapes ont été faites avec un changement de germes utilisés par des levures (*Candida albicans* ATCC 10231 (CA2), *Candida albicans* ATCC 10237 (M3)), et de milieu de culture par Sabouraud gélose (SAB) en ajoutant de deux disques de papier wattman N°1 qui contient l'huile animale époxydée et l'autre contient 8µL de l'antifongique fluconazole dans chaque milieu.

##### ➤ Moisissure

Dans notre travail, l'étude de l'activité antifongique de l'huile animale époxydée vis-à-vis de la souche fongique (*Fusarium redolens* WY5 à 99%) a été réalisée par la méthode de dilution en milieu solide, appelé aussi méthode de contact direct. Cette dernière est rapportée par plusieurs auteurs notamment (**Cheng et al., 2011**).

Le principe de cette méthode est basé sur le fait que, l'huile animale époxydée ainsi préparée est mélangée avec le milieu de culture afin d'obtenir les concentrations désirées. Par la suite un disque de souche fongique est prélevé d'une culture âgée en général de sept (7) jours et transféré au centre de chaque BP. Les boîtes ainsi inoculées sont incubées à 27°C.

##### ➤ Préparation des dilutions

15 mL de PDA fondus ont été mis dans un bécher en lui rajoutant à chaque fois, la quantité appropriée de l'huile animale époxydée (100, 150, 200, 250 et 300)µL. Chaque mélange est homogénéisé par agitation manuelle puis son contenu est versé dans une boîte de Pétri de 90mm de diamètre. Le mélange ainsi versé et laissé à l'air libre jusqu'à refroidissement et solidification. En parallèle, nous avons utilisé des témoins négatifs (PDA sans ajout d'huile animale époxydée) afin de vérifier la bonne croissance des deux souches et des témoins positifs pour prouver la sensibilité des souches et pour pouvoir effectuer une étude comparative entre l'activité de notre extrait et celui de l'antifongique classique. Pour cela, on a utilisé le fluconazole incorporé dans le milieu PDA de la même façon que l'huile animale époxydée, avec une concentration de 10µL/15mL.

Après solidification du milieu, l'ensemencement est fait par dépôt des morceaux d'environ 5mm de diamètre de souches fongiques, enlevées des cultures précédentes âgée de 7 jours, et ont été déposés au centre de chaque boîte de Pétri. Ces derniers ont été incubés à 27°C pendant 7 jours (CASFM, 2018) jusqu'à ce que la croissance dans les boîtes de contrôle atteigne les bords des BP.

#### II.4.7. Test de Toxicité

L'essai de toxicité a été mené suivant la méthode de « l'ajustement des doses » en fonction des poids des rats selon la méthode de la ligne 425 de l'OCDE (OCDE, 2022).

##### II.4.7.1. Toxicité aigüe

###### ➤ Matériel animal

Des rats de l'espèce Wistar ont été utilisés pour réaliser la toxicité aigüe. Leurs masses moyennes varient entre 200g et 240g. Ils sont hébergés à l'animalerie du laboratoire de l'institut vétérinaire de Tiaret.

Ces animaux ont été dans des conditions réelles de température et de pression pour leurs croissances (Annexe VI) afin de s'adapter au régime alimentaire préconisé, et cela aux termes de deux mois où nous avons procédé à leurs pesées et leurs identifications. L'aliment utilisé dans nos expériences est commercialisé sous le nom d'El ALF, la ration a été fixée à 20g/jour/individu pendant 1 semaine avant l'expérimentation.

###### ➤ Mode opératoire

Le mode opératoire est décrit selon les différentes étapes résumées dans figure 10.

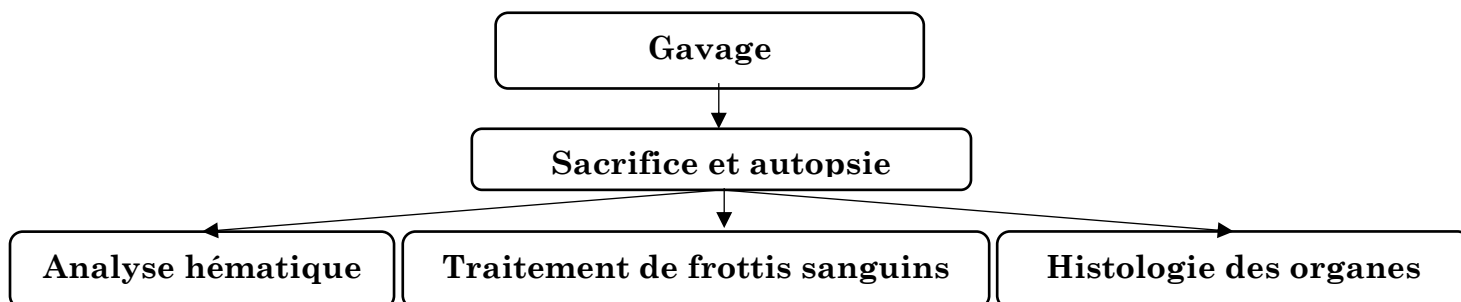


Figure 10 : Démarches expérimentales de la toxicité aigüe de l'huile époxydée.

➤ **Mode d'administration**

La toxicité aiguë de l'huile époxydée a été évaluée avec 5 rats femelles selon le protocole décrit par (Clavel *et al.*, 1994). La voie orale d'administration a été utilisée. Une dose bien précise de l'HAE a été ingérée selon le poids du rat (tableau 4).

**Tableau 4 :** Poids et dose administrée des rats

Rats	Rat 01	Rat 02	Rat 03	Rat 04	Rat 05
Poids	238g	225g	223g	225g	205g
Dose ingérée	50mg/kg	100mg/kg	200mg/kg	150mg/kg	250mg/kg

L'administration de l'huile époxydée a été pratiquée par un docteur vétérinaire expert selon la technique suivante :

- Le rat est tenu par la nuque afin de l'immobiliser
- La quantité de l'huile époxydée est prise dans une micropipette qui sera par la suite introduite directement par voie orale tout en s'assurant de l'ingestion totale de l'huile par le rat.



**Figure 11 :** Méthode d'administration de l'huile aux rats Wistar (prise par nous-même)

Les rats ont été suivis périodiquement durant 48 heures après l'administration de l'huile, puis une fois tous les 3 jours durant 14 jours. Les signes de toxicité et la mort des rats ont été enregistrés.

#### II.4.7.2 Sacrifice et autopsie

Au 14ème jour, le gavage a été réalisé par des doses allant de **50 mg/kg p.c** à **250 mg/kg p.c**. Et 2 heures après de cette opération, les rats ont été sacrifiés selon le mode opératoire suivant :

- Préparer le dessiccateur pour la sédation des rats en mettant du coton trempé en éther et fermer le couvercle.
- Enfermer le rat dans le récipient jusqu'à ce qu'il perde connaissance et l'égorger à l'aide du bistouri.
- Récupérer le sang dans un tube aux fins des analyses sanguines, sur quelques gouttes réaliser des frottis sanguins. Le processus est répété pour le reste des rats.

L'autopsie est pratiquée après ouverture du thorax et de l'abdomen. Les reins, le foie, la rate, les poumons, et le cœur, ont été récupérés et destinés à l'étude macroscopique et microscopique figure 12. Les cadavres sont débarrassés dans des sachets et des compartiments spécifiques pour ensuite être incinérés.



**Figure 12 :** Autopsie des rats Wistar (prise par nous-même)

### II.4.7.3. Frottis sanguin

Afin de réaliser un frottis sanguin, il suffit de déposer une goutte de sang frais dans l'extrémité d'une lame propre, On utilise ensuite une autre lame ou une lamelle, qu'on approche juste devant la goutte, en respectant un angle d'inclinaison de 30 degrés avec la première lame. La goutte va alors se répandre le long de la jonction entre les deux lames, on étale la goutte de sang vers l'autre extrémité de la lame support. Le frottis doit être ensuite rapidement séché à l'air pendant une demi-heure au moins (**Harmouchi, 2020**), et lacer la lame du frottis sur un support horizontal au-dessus d'un bac de coloration figure 13.

➤ **Coloration au May-Grünwald**

- Verser sur la lame 15 gouttes de colorant May-Grünwald pur et d'eau neutre de façon à recouvrir complètement le frottis.
- Laisser agir 3 minutes.
- Rincer à l'eau neutre.

➤ **Coloration au Giemsa**

- Préparer la dilution au 1/10 du colorant de Giemsa pendant 2 minutes.
- Ajouter le colorant Giemsa (1/10) sur la lame.
- Laisser agir 20 minutes (coloration lente).
- Rincer sous un jet d'eau neutre.
- Laisser sécher à l'air libre et faire une observation microscopique



**Figure 13** : Coloration des frottis sanguins

#### **II.4.7.4. Analyses hématologiques**

Les dosages hématologiques (FNS) ont été réalisés au niveau du laboratoire GHLAMALLAH-TIARET qui comprend (Fleur, 2002) :

- Lignée Erythrocytaire : Hématies, Hémoglobine, Hématocrite, VGM, CCMH, TCMH
- Lignée Leucocytaire : Leucocytes, Polynucléaires Neutro, Eosino et basophile, Lymphocytes et Monocytes
- Plaquettes.

#### **II.4.7.5 Technique histologique**

La réalisation des coupes histologiques a été effectuée au niveau du laboratoire central d'anatomie pathologique de l'institut vétérinaire-Tiaret après avoir fixé les reins et le foie dans du formol 10 %, sont déposés dans des cassettes en plastique, puis sont déshydratés par immersion dans des bains successifs d'alcools, l'alcool est éliminé par des solvants (xylène) avant d'être coulé dans des moules contenant de la paraffine fondue par chauffage (paraffine liquide). Après refroidissement le bloc solide de paraffine contenant le tissu est coupé à l'aide d'un microtome permettant de réaliser des coupes de 5 µm d'épaisseur. Les coupes obtenues sont étalées et collées sur des lames, puis séchées dans une étuve pendant une 12 heures. Elles sont ensuite colorées par une solution d'hématoxyline-éosine. et observée au microscope (Guergour, 2011).

#### **II.4.8. Préparation des films par polymérisation**

##### **II.4.8.1. Produits utilisés**

Les polymères utilisés dans le cadre de cette étude sont présentés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Résines et additifs utilisés

Produit	Nature	Formule chimique	Aspect	Fournisseur	Nom commercial
Résine	Polychlorure de vinyle	$-(CH_2-CHCl)_n-$	Poudre blanche	CIRES du Portugal	PVC
Résine	Polyéthylène haute densité	$-(CH_2-CH_2)_n-$	Ecailles blanches	CIRES du Portugal	PEHD
Résine	Polyéthylène basse densité	$-(CH_2-CH_2)_n-$	Ecailles blanches	CIRES du Portugal	PEBD
Plastifiant	Di-octyl phtalate	$C_6H_4[COO(CH_2)_7CH_3]_2$	Liquide huileux limpide	Société Générale des Plastifiants de Tunisie (SGP)	DOP
Lubrifiant	Acide stéarique	$CH_3(CH)_{16}COOH$	Ecailles blanches	SO.G.I.S.SPA (Italie)	Stéarine J05
Stabilisants thermiques	Complexe Ca, Zn	-----	Poudre Blanche	IACN (Italie)	REAPAK BCV/3037

#### II.4.8.2. Préparation des films

Les formulations (polymère + additifs) ont été préparés par dissolution. 100g de chaque polymère, sont dissous à 170°C et sous agitation magnétique, respectivement, dans le tétrahydrofurane (THF) et/ou dans le xylène, pendant 1h. Ensuite sont ajoutés 20g d'huile animale époxydée (HAE), 2g de stabilisant thermique (Complexe Ca/Zn), 1g de lubrifiant (Acide stéarique) et 40g de plastifiant (DOP). Après dissolution complète de chaque résine et l'ensemble des additifs, parfaitement homogène, on prélève quelques gouttes sur un support en verre. Les feuilles de 0,5 mm d'épaisseur sont prélevées après 30 minutes à l'air ambiant. Dans tableau 6 sont indiquées les différentes formulations (Atek et Bensemra, 2005).

**Tableau 6 :** Différentes formulations réalisées (les teneurs sont exprimées en grammes pour 100 de résine).

Films préparés	PVC	PEHD	PEBD
Résine	100	100	100
Complexe Ca, Zn	02	02	02
Acide stéarique	01	01	01
Di-octyl-phtalate (DOP)	40	40	40
Huile animale époxydée (HAE)	20	20	20

#### II.4.9. Caractérisation des formulations

La caractérisation des formulations a été réalisée par Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF).

L'IRTF a été appliquée aux films plastiques (souples, rigides et résine de base) et aux trois additifs (complexe Zn/Ca, acide stéarique et le DOP). L'appareil est un spectrophotomètre de marque SHIMADZU de type FTIR 8400. Le traitement des données a été effectué par le logiciel Hyper IR (**Silverstein 1998**).

Des pastilles de KBr ont été utilisées pour l'analyse des additifs utilisés dans les conditions opératoires suivantes :

- ✓ Résolution : 2 cm<sup>-1</sup>.
- ✓ Nombre de scans : 16
- ✓ Domaine de fréquence : 4000-400 cm<sup>-1</sup>.

#### II.4.10. Analyses statistiques

L'analyse des données est faite grâce au logiciel Excell 2021. Les résultats sont donnés sous forme de moyenne avec Ecart type (Moy. ± SD). La signification est retenue pour p < 0,05.



*Chapitre III :*  
*Résultats et discussions*

Etant donné que très peu de données sont disponibles en ce qui concerne l'étude sur les huiles d'origine animale bovine d'une part et d'autre part son intégration en tant que plastifiant, lubrifiant et stabilisant thermique ; pour la comparaison de nos résultats, ce qui a constitué une limite considérable pour mener notre discussion.

### **III.1. Rendement d'extraction**

Le rendement en huile de graisse bovine à partir l'extraction en batch, était plus élevé que celui obtenu par soxhlet  $102\% \pm 3.06$ , et  $96\% \pm 0.02$  respectivement ; cette augmentation pourrait être le résultat du mélange de l'huile avec de la graisse animale ; ce qui se traduit par la non-adaptation de cette méthode dans le cas de notre étude. Pour mener à bien ce travail nous avons retenu l'huile extraite à partir de soxhlet pour les différentes expériences, qui s'avère une valeur très intéressante sur le plan économique.

### **III.2. Propriétés physico-chimiques de l'huile bovine**

Les propriétés physico-chimiques de l'huile bovine après l'extraction, l'indice de peroxyde, l'indice acide et acidité, l'indice d'iode, l'indice de saponification et la densité résumés dans le tableau 7, ont été étudiés. Etant donné que l'huile bovine de l'étude sera utilisée dans les emballages des denrées alimentaires les paramètres physico-chimiques sont déterminants.

**Tableau 7 :** Caractéristiques physico-chimiques de l'huile extraite

<b>Paramètres mesurés</b>	<b>Valeurs déterminées</b>	<b>Valeurs requises</b>
<b>Indice d'acide (mg KOH/g d'huile)</b>	0.67±0.12	2.5
<b>Acidité (% acide oléique)</b>	0.42±0.12	1
<b>Indice de saponification (mg KOH / g d'huile)</b>	151.94±1.42	190-202
<b>Indice de peroxyde (meq d'O<sub>2</sub> actif / kg d'huile)</b>	1.17±0.29	1-2
<b>Indice d'iode (meq d'O<sub>2</sub> / kg d'huile)</b>	32.33±0.58	33-50
<b>Densité relative (20°C/eau à 20°C)</b>	0.96	/

#### ✓ *Indice de peroxyde*

Ce test est utilisé pour déterminer l'oxydation de l'huile. L'échantillon d'huile bovine extraite dans cette étude présentait un indice de peroxyde  $1.17 \pm 0.29$  mEq O<sub>2</sub> par kg d'huile, cette valeur est faible comparée à la valeur maximale autorisée pour les suifs de bovins comestibles qui est de 10 mEq O<sub>2</sub> par kg d'huile (CODEX ,1999) ; elle est comprise dans l'intervalle qui varie de 1 à 2 pour les graisses fraîches (Sharma et al.,2013). Ce résultat indique que l'huile de l'étude n'a pas subi d'oxydation ceci lui confère une bonne stabilité à température ambiante et une qualité organoleptique satisfaisante qui est liée à une couleur jaune clair de l'huile, attrayante pour le consommateur (Palanisamy, 2015), ce qui pourrait être intéressant pour son utilisation dans la formulation des emballages des denrées alimentaires. Par sa faible teneur en peroxydes, l'huile de bovin pourrait être une alternative aux additifs chimiques qui ont tendance à migrer des matériaux d'emballage alimentaire vers les aliments (Arvanitoyannis et Bosnea,2004 ; Bhunia et al.,2013; Hahladakis et al.,2018) et également une limite du risque de contamination des aliments par les radicaux libres, car ces derniers sont impliqués dans les processus physiologiques qui peuvent provoquer le vieillissement, le cancer et la maladies dégénératives (Ames ,1983 ; Lim et al.,2005)

#### ✓ *Indice d'acide et l'acidité*

La quantité d'acides gras libres dans l'huile bovine est une indication du degré de détérioration qui a eu lieu. Les valeurs obtenues pour indice d'acide et l'acidité de l'huile de l'étude sont respectivement  $0.67 \pm 0.12$  mg.KOH/g d'huile et  $0.42\% \pm 0.12$ , ces valeurs sont largement inférieures aux valeurs 2,5 pour les corps gras d'origine animale et 1 préconisées respectivement par ISO 660:2020 et CODEX ,(1999) sachant qu'une faible valeur d'acidité caractérise la pureté et la stabilité d'une huile à la température ambiante (Meguéni, 2003)., par ailleurs elles sont conformes aux résultats trouvés par (Sharma et al.,2013) qui rapportent que le contenu en acides gras libres ne doit pas être supérieur à 2 % pour les suifs .

#### ✓ *Indice d'iode et l'indice de saponification*

Les valeurs de l'indice d'iode et de l'indice de saponification obtenues dans cette étude  $32.33 \pm 0.58$  et  $151.94 \pm 1.42$  respectivement se montrent conformes au minimum pour le premier et légèrement inférieures pour le deuxième comparé aux valeurs qui varient de 33–

50 pour l'indice d'iode et 190–202 pour l'indice de saponification préconisées par **CODEX**, (1999) pour le suif de bovin ; ce qui suggère que l'huile contient des acides gras faiblement insaturés et à longue chaîne. Deux caractéristiques chimiques des huiles susceptibles d'être un bon plastifiant sont la chaîne des acides gras les groupements esters ; les premiers peuvent s'intercaler entre les chaînes polymères et ainsi augmenter l'espacement intermoléculaire et apporter la mobilité, par conséquent la souplesse au matériau polymérique pour l'emballage alimentaire, les seconds peuvent interagir avec les chaînes polymères et apporter la compatibilité. En raison de la présence des doubles liaisons, des modifications chimiques peuvent être apportées par époxydation pour augmenter la compatibilité avec le polymère (**Güner et al.,2006**).

#### ✓ *Densité*

La valeur de densité trouvée est de 0,96, ce qui est supérieur à la celle des suif 0,905 donnée par **CODEX**, (1999) et à la plupart des huiles végétales, mais assez proche de la valeur de densité de l'huile de ricin (0,955 à 0,968) (**Véronique et al, 2015**).

### **III.3. Résultat du test de dibrome**

Ce test est considéré comme une analyse préliminaire basée sur l'ajout d'une aliquote d'huile dans la solution d'eau de brome ; l'huile a été décolorée, ceci s'explique par l'insaturation traduite par la présence dans sa structure des doubles liaisons ainsi la fonction ester.

### **III.4. Etude de l'activité antimicrobienne**

Notre étude a porté sur l'évaluation de l'effet antibactérien de l'huile animale époxydée. Le test de sensibilité a été effectué par la méthode de diffusion des disques et puits (méthode de Kirby-Bauer) et les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés.

Au terme de ces tests nous allons évaluer notre huile suivant sa richesse en biomolécules autant qu'agents antibactériens selon la sensibilité des différentes souches bactériennes.

Afin de minimiser les erreurs expérimentales et de se rapprocher beaucoup plus de valeurs significatives, nous avons examiné, trois fois, la sensibilité de chaque souche vis-à-vis de l'HAE issus de graisse bovine. La moyenne des trois diamètres d'inhibition obtenus lors des 3 essais et l'écart type de chaque série de mesure ont été calculés en vue d'évaluer la dispersion des valeurs expérimentales.


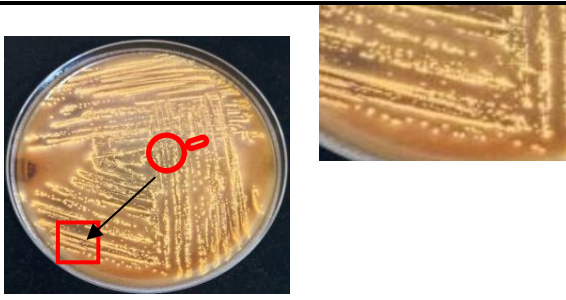
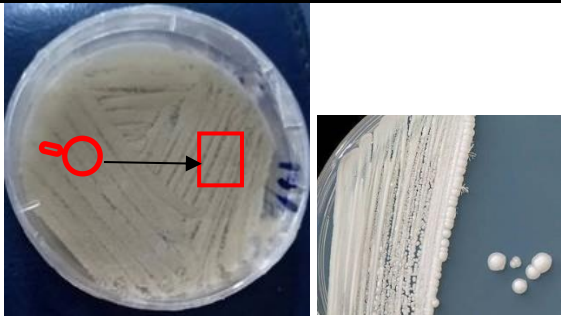

### III.4.1. Confirmation des souches

#### ✓ Aspect macroscopique des colonies

Après un ensemencement par épuisement sur les milieux sélectifs de chaque souche testée, et incubation pendant 48h, l'observation est dans tableau 8.

Les caractéristiques macroscopiques trouvées pour les colonies de *S. aureus* soutiennent les données rapportées par (**Hart et Shears, 1997**). Les cellules testées sont des coques à Gram positif, isolées ou groupées en amas, immobiles, catalase positives et oxydase négative. Selon le même auteur *E. coli*, ce sont des arrondies, brillantes, à bords réguliers, bombées, jaunes orangés. Le *Fusarium redolens* selon (**Boutaba et Chaouche, 2019**) ont une croissance relativement lente d'un diamètre de 38 mm d'un aspect cotonneux et des reliefs bombé.

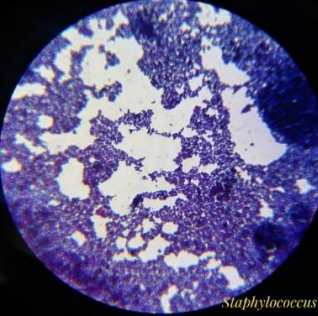



Tableau 8 : Aspect macroscopique des souches testée

Souches	Aspect macroscopique	Observation
<i>Staphylococcus aureus</i>		<p>Brillantes, à bords réguliers, bombées, jaunes dorés sur le milieu Chapman.</p>
<i>E. coli</i>		<p>Arrondies, brillantes, à bords réguliers, bombées, jaunes orangés sur le milieu Hektoen.</p>
<i>Candida albicans</i>		<p>Rondes ou ovoïdes de tailles variables de 2 à 12 <math>\mu\text{m}</math> de diamètre, bourgeonnante</p>
<i>Fusarium redolens</i>		<p>Couleur violette avec un aspect cotonneux bombés ; téléomorphes, filamenteux</p>

## ✓ Aspect macroscopique des colonies

Les résultats des souches utilisées observé par microscope sont présentés dans tableau 9.

**Tableau 9 :** Aspect microscopique des souches testée

Souches	Aspect microscopique	Observation
<i>Staphylococcus aureus</i>		Gram positif en forme de coques groupées en amas sous formes de grappe de raisin, colonies arrondies, brillantes, bombées à bord régulier
<i>E. coli</i>		Coccobacilles à Gram négatif, avec des colonies arrondies, brillantes, bombées à bord régulier.
<i>Candida albicans</i>		Cellules arrondies ou ovalaires, de 4 à 8 $\mu\text{m}$ de diamètre, éventuellement bourgeonnantes. La présence de filaments oriente vers les espèces capables de filamenter.
<i>Fusarium redolens</i>		Présence des hyphes fins septés, Conidiophores simples ou verticillés, courts, pluri-septés

### III.4.1.2. Evaluation de l'activité antibactérienne par diffusion

#### III.4.1.2.1. AntibioGramme

L'antibiogramme consiste à chercher la sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques. L'activité antibactérienne dans le milieu de culture MH se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibition de la croissance microbienne autour du disque (**Bouredjioua et al., 2015**) contenant l'HAE à tester, cette activité est exprimée par le diamètre de la zone d'inhibition calculée à l'aide d'une règle en (mm). Les résultats du test de l'activité antibactérienne de l'HAE sont présentés dans le tableau 10.

**Tableau 10** : Résultats du test de l'activité antibactérienne de l'HAE.

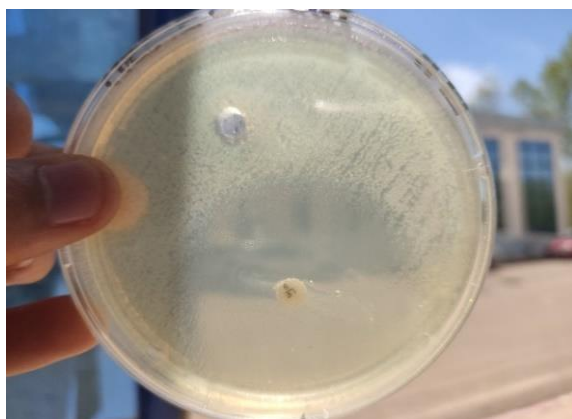
Souches	Diamètre d'inhibition de l'HAE (mm) Moy ± écart type	% d'Inhibition	Diamètre d'inhibition d'antibiotique (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i>	11±0.26	12.94	40
<i>Escherichia coli</i>	0	0	37.5

Les résultats de notre étude révèlent que l'HAE a montré un effet inhibiteur, ces résultats s'avèrent en accord avec les travaux de (**Luciano et al., 2011**) qui ont révélé que l'huile d'origine animale a une activité antimicrobienne modérée via les Gram+ et inexistante via les Gram-, et dans la même optique ils sont conformes aux travaux (**Kabara et al., 1972**).

Il est connu que les bactéries à Gram+ sont plus sensibles à l'huile que les bactéries à Gram- ceci peut être dû à la nature de la composition de la paroi des Gram- qui possèdent une membrane à perméabilité sélective qui empêche la diffusion des molécules hydrophobes, et des porines qui bloquent le passage des molécules à haut poids moléculaire comme les composants antimicrobiens (**Malheiro et al., 2012**).

Concernant les disques d'antibiotique utilisé (LE) ont montré, que la zone d'inhibition de *S. aureus* est presque identique que celle de *E. coli*, ce qui montre l'efficacité de cet antibiotique contre les deux souches (Figure 14 et 15).





**Figure 14 :** Zones d'inhibition de l'antibiotique et HAE pour *E. coli*



**Figure 15 :** Zones d'inhibition de l'antibiotique et HAE pour *S. aureus*

### III.4.1.3. Evaluation de l'activité antifongique par diffusion sur disques

#### III.4.1.3.1. Effet d'HAE sur la souche de levure (*Candida albicans*)

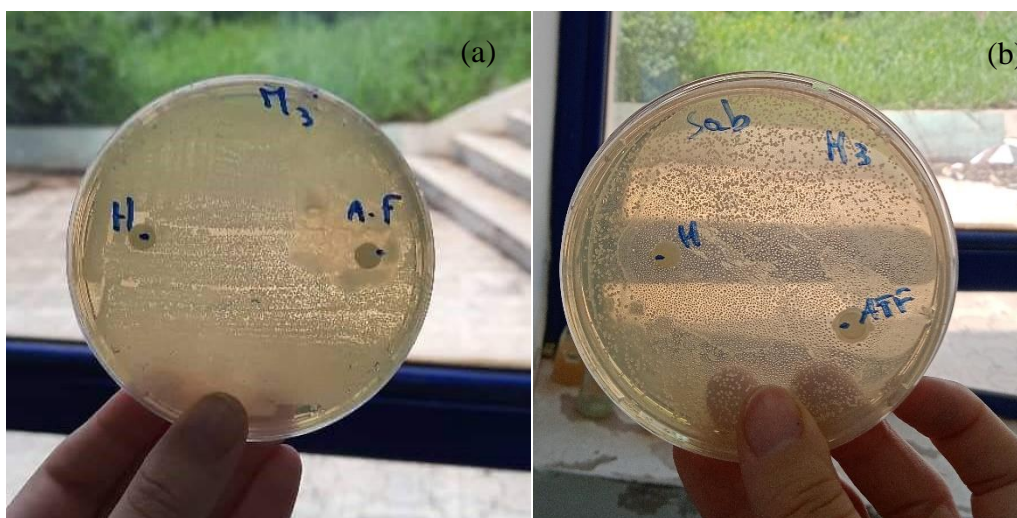
*Candida albicans* et les autres espèces de *Candida* sont des champignons pathogènes qui se développent à la fois comme une infection topique et une infection disséminée (Helmerhorst et al, 1999). Le tableau 11 présente les diamètres des zones d'inhibition de l'HAE ainsi que celui de l'antifongique (fluconazole).

**Tableau 11 :** Résultats du test de l'activité antifongique de l'HAE

Souches	Diamètre d'inhibition de l'HAE (mm)	Diamètre d'inhibition d'antifongique (mm)
<i>Candidats Albicans M3</i>	8.2 ± 0.53	20
<i>Candidats Albicans CA2</i>	8 ± 0.26	25

Cette évaluation a été basée sur le même principe que celui de l'activité antibactérienne après l'incubation et l'observation macroscopique dans le milieu de culture SB, on a pu constater que l'HAE a une activité antifongique avec un diamètre de (8mm) pour la souche CA2 et un diamètre de (8.2mm) pour la souche M3. Le fluconazole a donné des zones d'inhibition presque deux fois plus grand que nos extraits. Ceci se traduit par une efficacité modérée de l'effet antifongique de l'HAE. Nos valeurs sont proches à celle rapporté par (Kabara et al., 1972) ; selon le même auteur la faible zone d'inhibition obtenue dans notre

résultat pourrait s'expliquer par la présence des acides libres dans l'HAE dans la composition des huiles animales (Kabara *et al.*, 1972).



**Figure 16** : Zones d'inhibition de l'HAE pour : (a) *Candida albicans* M3

(b) *Candida albicans* CA2

#### III.4.1.3.2. Effet d'HAE sur la moisissure (*Fusarium redolens*)

Les résultats obtenus ont montré que le *Fusarium redolens* s'est développé uniquement dans la surface où le milieu de culture est positionné, cette dernière a diminué avec l'augmentation de la concentration de l'HAE, le milieu est hétérogène ce qui nous a posé une contrainte de la détermination des zones d'inhibitions.

Le témoin négatif est présenté dans (Annexe VII).

Même si nous n'avons pas pu calculer les diamètres d'inhibition, toute fois, nous avons constaté une inhibition des mycètes en présence de notre extrait ce qui confirme l'effet antifongique.



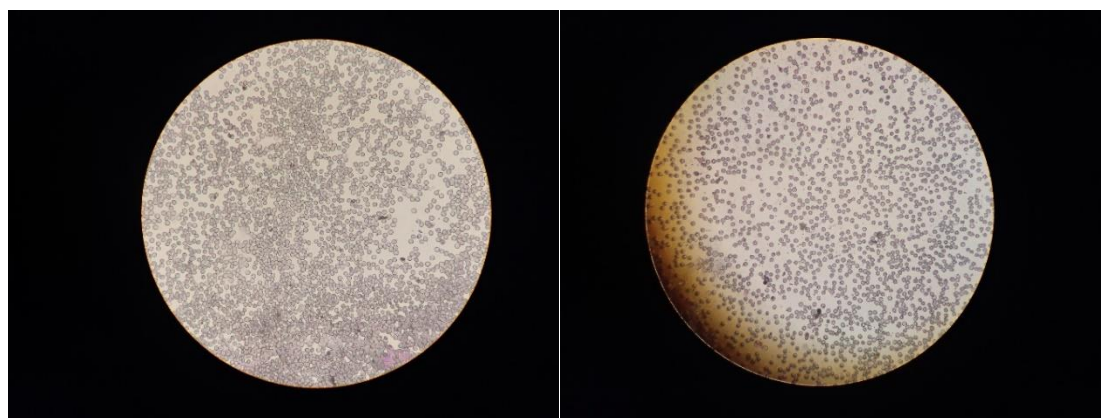
**Figure 17 :** Zones d'inhibition du *Fusarium*

### **III.5. Test de la toxicité aigüe**

Aucune mortalité des rats n'a été marquée durant l'expérimentation.

#### **III.5.1. Frottis sanguin**

Après observation microscopique (figure 18), les globules rouges se sont avérés uniformes, ronds, plats et creux en surface. Ces globules apparaissent roses et ont un centre clair, on constate alors que les résultats sont normaux ce qui nous mène à dire que l'HAE n'a eu aucun effet sur les globules et n'a montré aucune altération.



**Figure 18 :** Observation microscopique des globules rouges

#### **III.5.2. Analyse numérotation de la formule sanguine**

Afin de confirmer les résultats précédents, on a fait des analyses de numérotation de formule sanguine (FNS), en comparant avec celles des normes requises décrite par (**Charles Rivers Laboratories, 1998**) sont mentionnées dans le tableau 12.

Tableau 12 : Résultats FNS des rats (1-5)

	Rat 01	Rat 02	Rat 03	Rat04	Rat 05	Normes requises
<b>Lignée Erythrocytaire</b>						
<b>Hématies (M)</b>	8.04	6.3	7.04	4.87	7.5	6.86-8.75
<b>Hémoglobine (g/dl)</b>	15.2	13.1	14.1	10.7	14.4	14.1-17.1
<b>Hématocrite (%)</b>	43	34	37	26	40	35-44
<b>VGM (M)</b>	53.4	53.7	52	54.2	53.1	49-56
<b>CCMH (g/dl)</b>	35	39	38	41	36	34/42
<b>TCMH (pg)</b>	18.91	20.79	20.03	21.97	19.2	18-22
<b>Lignée leucocytaire</b>						
<b>Leucocytes(/mm<sup>3</sup>)</b>	5670	6600	6900	5000	6980	4770-1208
<b>Polynucléaires Neutrophiles (%)</b>	12.50	2.1	2.1	1.3	6.9	1-32
<b>Soit</b>	709	139	145	65	482	
<b>Polynucléaires Eosinophiles (%)</b>	0.80	0.1	0.5	2.4	0.2	0.-3
<b>Soit</b>	45	7	35	120	14	
<b>Polynucléaires Basophiles (%)</b>	0.40	0.3	0.2	0.2	0.5	0-0.8
<b>Soit</b>	23	20	14	10	35	
<b>Lymphocytes (%)</b>	82.00	97.1	96.80	95.8	79.4	67-98
<b>Soit</b>	4649	6409	6679	4790	5542	
<b>Monocytes (%)</b>	4.30	0.4	0.4	0.3	13	0-6
<b>Soit</b>	244	26	28	15	907	
<b>Plaquettes</b>	954	607	718	639	1393	680-1200

Les rats traités avec l'HAE ont montré des résultats conformes à la norme ce qui nous laisse déduire que ces derniers, n'ont marqué aucun dysfonctionnement mis à part le rat numéro 04 qui a présenté une anémie modérée 10.7g/dl normochrome normocytaire prouvée avec le frottis sanguin,

A noter que ce dernier avait un comportement anormal avant de commencer le gavage ce qui explique ce diagnostic

Le Rat numéro 05 a eu une augmentation des monocytes deux fois la normale probablement due à un syndrome néoplasique d'origine hématologique ou à une réaction individuelle de la dose prise, afin de confirmer ce diagnostic on doit procéder à une analyse de la moelle osseuse du rat.

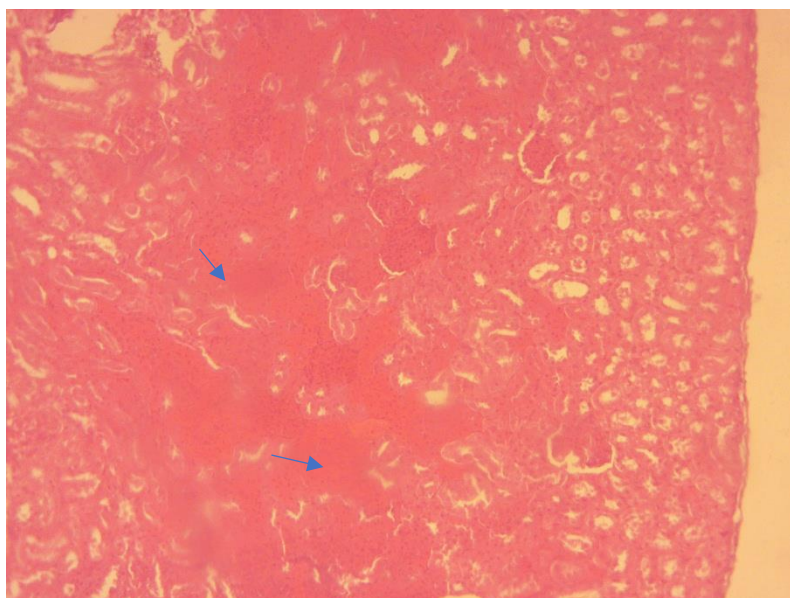
De plus ces résultats ne sont pas bien détaillés à cause du manque de plateau technique, la disponibilité en nombre des rats, la difficulté de les manipuler (prise sanguine chez les rats) ainsi que le facteur temps.

### **III.5.3. Etude anatomopathologique**

Aucun signe clinique n'a été observé chez les rats durant la période expérimentale. Au sacrifice, aucun changement macroscopique n'a pu être détecté chez les animaux sauf une légère hypertrophie du foie du rat 04.

#### **✓ Histologie**

L'examen microscopique du foie, rate et cœur n'a révélé aucune lésion spécifique en relation avec le traitement (**Annexe VIII**). Cependant, les lésions les plus importantes ont été observées au niveau des reins de tous les animaux, d'une manière dose-dépendante. Ces lésions étaient caractérisées par une diminution de la lumière tubulaire associée à une hypertrophie des cellules tubulaires (figure 19) ceci peut être expliqué par la non-filtration du produit chez ces animaux. Une investigation ultérieure est recommandée afin de confirmer cette hypothèse.



**Figure 19 :** Rein d'un rat (H&E.100X)

Cette figure montre la diminution de la lumière tubulaire indiquée par les flèches, associée à une hypertrophie des cellules tubulaires.

### ***III.6. Etude de la compatibilité de l'HAE par la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier***

#### **III.6.1. Caractérisation des additifs**

La spectroscopie IRTF a été utilisée pour la caractérisation des additifs, Ainsi, on a pu identifier les groupements fonctionnels constituant les espèces étudiées, d'une part, et étudier la compatibilité spectrale de l'HAE par rapport aux autres polymères tels que le PVC, le PEHD et le PHBD, d'autre part. (**Annexe IX**).

#### **II.6.2. Caractérisation de l'HAE**

L'huile animale époxydée est une substance transparente possédant une viscosité cinématique de 298 cSt et une densité de 0,95. L'indice d'oxirane n'a pas été déterminé à cause de manque de réactif phtalate.

Afin de tester la stabilité thermique de l'HAE, nous avons effectué des essais de vieillissement dans l'étuve à différentes températures durant 35 minutes pour chaque essai.

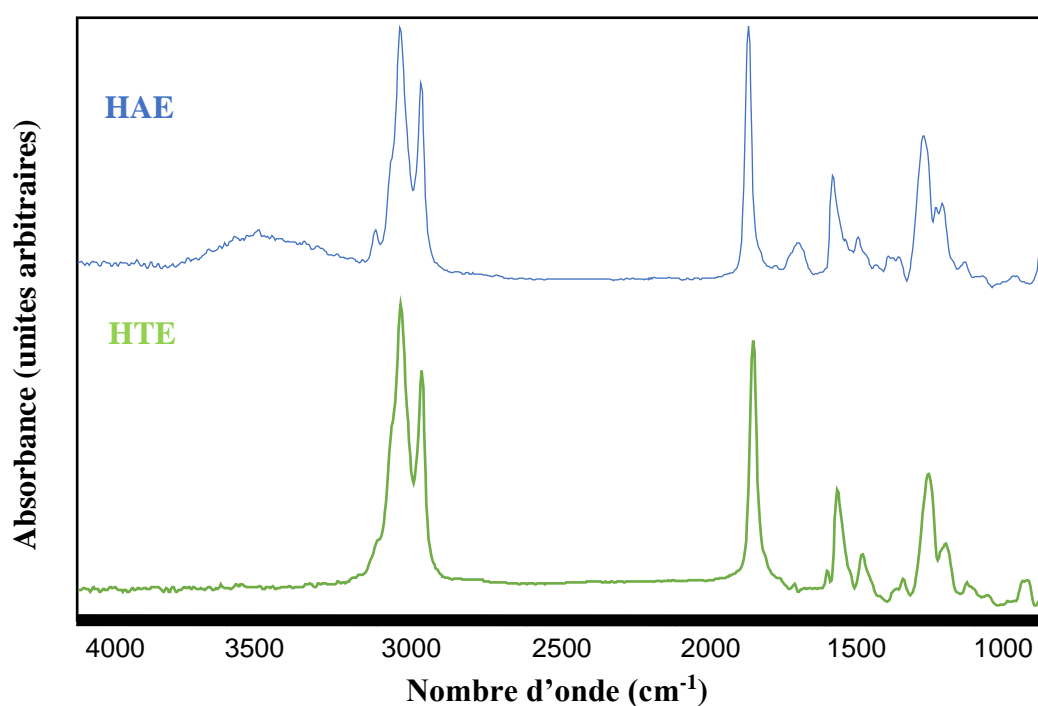
Dans la fourchette de 20°C à 255°C, l'HAE n'a subi aucune dégradation thermique, ce qui montre la stabilité de ce dernier. Nous tenons à signaler que la dégradation thermique a lieu dans la fourchette de 256°C à 260°C, elle est gouvernée par changement de couleur de notre



matériau. A la lumière de ce résultat, l'HAE peut être considéré comme un excellent stabilisant thermique.

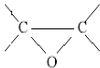
Pour mieux renforcer et approuver nos résultats, une comparaison avec l'huile de tournesol époxydée (HTE) (**Annexe X**) a été réalisée. La superposition des deux spectres IRTF, respectivement, de l'HAE et l'HTE sont représentés dans figure 20.

En comparant le spectre de l'HAE seul avec celui de l'huile de tournesol époxydée (HTE) ,des bandes caractéristiques identiques ont été identifiées ; ce qui prouve que notre démarche expérimentale est efficace et valable à 100%.



**Figure 20** : Superposition des spectres IR de l'HAE et l'HTE

**Tableau 13 :** Groupements fonctionnels des bandes caractéristiques de l'HTE

N°	Nombre d'onde (cm <sup>-1</sup> )	Mode de vibration
1	3468	-C=O (ester)
2	3008	-CH époxyde, = C-H (cis)
3	2919	-CH-
4	2855	-CH-
5	1735	C=O (ester)
6	1461	-CH <sub>2</sub> - (méthylène)
7	1378	-CH <sub>3</sub> (méthyle)
8	1238	-C-O (époxyde), - CH <sub>2</sub> -
9	1163	-C-O (ester), - CH <sub>2</sub> -
10	1101	-C-O
11	726	(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> , -HC=CH-(cis), 

La vibration d'élongation des liaisons C-O-C du groupe époxy apparaît à 837 cm<sup>-1</sup>. Les bandes d'absorption entre 3095-3075 cm<sup>-1</sup> correspondent à la vibration d'élongation de la liaison C-H du groupe -CH=CH<sub>2</sub>, les signaux à 3635-3620 cm<sup>-1</sup> correspondent à l'élongation de -OH (forme libre de -OH), l'absorption à 1620-1650 cm<sup>-1</sup> correspond à l'élongation de C=O des carbonyles et, finalement, on peut noter l'élongation de C-O des esters aliphatiques à 1440-1395 cm<sup>-1</sup> (Socrates, 1980 ; Allinger et al., 1976). L'identification de ces signaux est une évidence que la modification a eu lieu.

### III.6.3. Caractérisation des additifs et des résines de base

Les figures 21 à 26 représentent les spectres infrarouges du PVC, de PEHD, de PEBD et des additifs utilisés. Les tableaux 14 à 19 regroupent quant à eux les principales bandes caractéristiques de ces derniers d'après la littérature (Silverstein et Webster, 1998). Les spectres de chaque monomère sont donnés dans (Annexe XI).



## III.6.3.1. Polychlorure de vinyle (PVC)

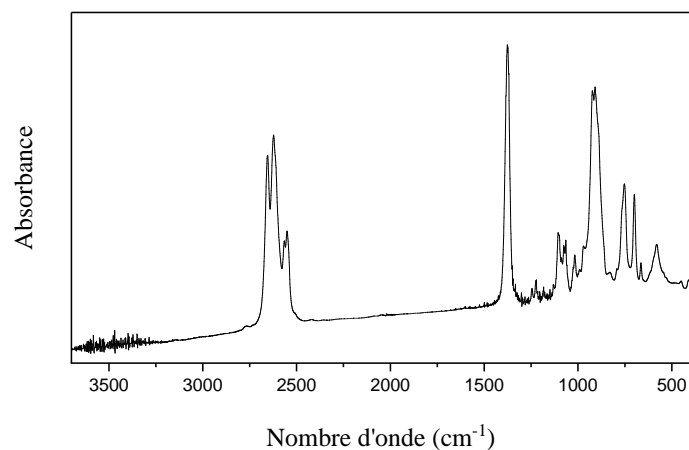



Figure 21 : Spectre infrarouge de polymère à base du PVC.

Tableau 14 : Groupements fonctionnels des bandes caractéristiques

N°	Nombre d'onde (cm <sup>-1</sup> )	Mode de vibration
1	2970	Elongation des -CH-
2	2935-2850	Elongation des CH <sub>2</sub>
3	1427	Déformation des CH <sub>2</sub>
4	1350-1297	Déformation des CH <sub>2</sub>
5	1260-1200	Déformation des C-H
6	970-830	Déformation des CH <sub>2</sub>
7	837	
8	770-540	Elongation des C-Cl

## III.6.3.2. Polyéthylène haute densité

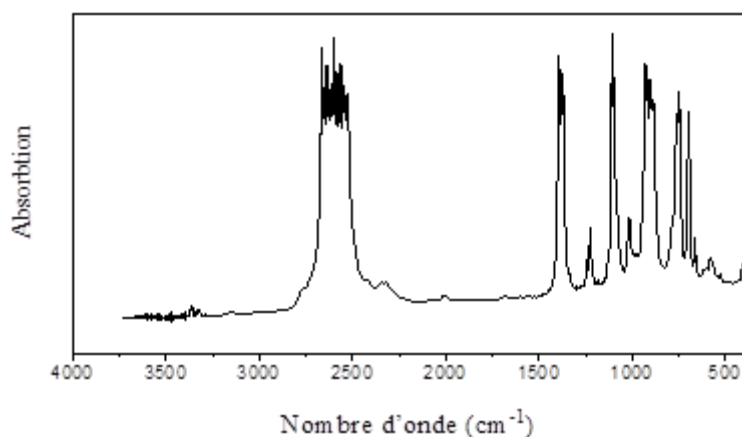



Figure 22 : Spectre infrarouge de polymère à base du PEHD

Tableau 15 : Groupements fonctionnels des bandes caractéristiques.

Nombre d'onde (cm <sup>-1</sup> )	Mode de vibration
3070–3085	Aromatique C–H
2915–2940	Aliphatique C–H
2845–2860	Symétrique méthyl
2345–2370	Aliphatique C–C
1812–1820	Carbonyle C=O
1640–1650	Aromatique C=C
1370–1380	Acide carboxylique
3250–3580	Hydroxyle OH
1455-1465 725-910	CH <sub>2</sub>
837	

## III.6.3.3. Polyéthylène basse densité

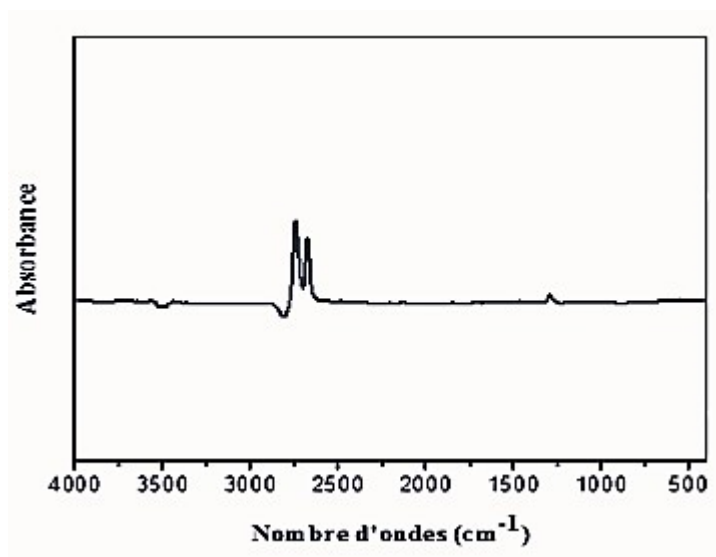



Figure 23 : Spectre FTIR de polymère à base du PEBD

Tableau 16 : Groupements fonctionnels des bandes caractéristiques

Nombre d'onde (cm <sup>-1</sup> )	Mode de vibration
2914-2842	Vibration d'élongation (C-H) de CH <sub>2</sub>
1472-1460	Vibration de déformation (C-H) de CH <sub>2</sub>
837	
730-720	Vibration de rotation (CH <sub>2</sub> )

## III.6.3.4. Complexe de Zinc et de Calcium

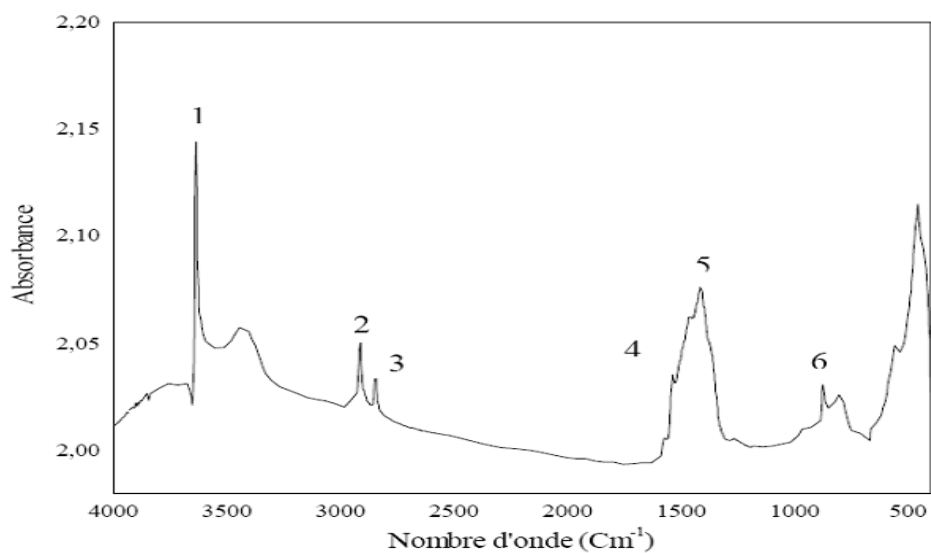


Figure 24 : Spectre infrarouge du complexe Ca, Zn

Tableau 17 : Groupements fonctionnels caractéristiques du complexe Ca, Zn.

N°	Nombre d'onde (cm <sup>-1</sup> )	Mode de vibration
1	3640,71	Elongation de (O-H)
2	2916,5	CH (méthyle, méthylène)
3	2847,93	O-CH <sub>2</sub>
4	1538,01	Vibration de déformation de COO (ester)
5	1414,87	Vibration de déformation de (C - O ; O-H)
6	874,06	(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> , n > 3

### III.6.3.5. Plastifiant (Di-octyl-phtalate)

La formule chimique de DOP dans (Annexe X).

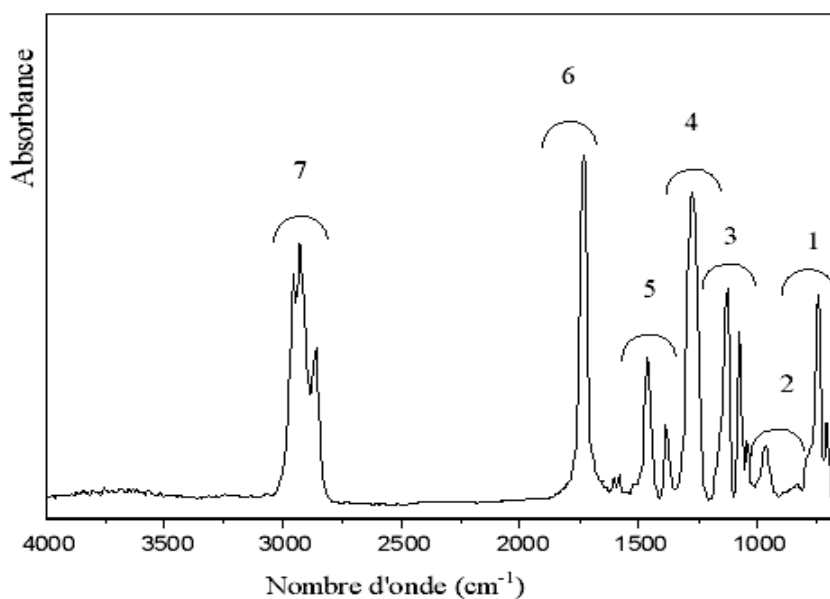


Figure 25 : Spectre infrarouge du DOP

Tableau 18 : Groupements fonctionnels des bandes caractéristiques du DOP

N°	Nombre d'onde (cm <sup>-1</sup> )	Mode de vibration
1	741	Vibration de déformation (CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> , n>4, -CH=CH-(cis)
2	962	Vibration de déformation CH= CH <sub>2</sub>
3	1126	Vibration d'élongation C-O (acide secondaire)
4	1271	Vibration d'élongation C-O (fonction acide)
5	1461-1380	Vibration de déformation C-H et O-H
6	1725	Vibration C=O
7	2926-2859	Vibration d'élongation C-H et O-H

## III.6.3.6. Lubrifiant (Acide stéarique)

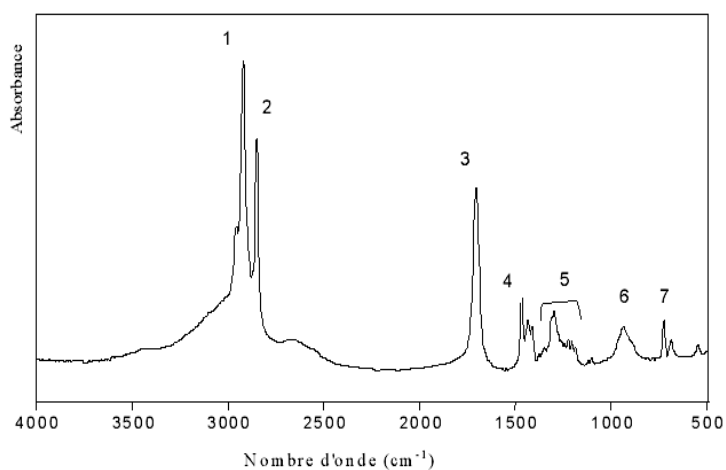


Figure 26 : Spectre infrarouge de l'acide stéarique

Tableau 19 : Groupements fonctionnels des bandes caractéristiques de l'acide

N°	Nombre d'onde (cm <sup>-1</sup> )	Mode de vibration
1	2956	OH
2	2919	C-H
3	1706	C=O (acide dimère)
4	1468	C-O, O-H
5	1432	C- H <sub>2</sub> (chaîne aliphatique)
6	936	O-H
7	724	(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> , n>3

# *Conclusion*

Il est primordial de rappeler que ce mémoire a porté sur l'extraction de l'huile animale à partir de la graisse bovine dans le but de synthétiser de nouveaux matériaux polymériques.

Cette dernière a été caractérisée en termes de viscosité et les différents indices tels que l'indice d'acide, d'iode, de saponification, de peroxyde, de résistance thermique puis elle a subi une époxydation, afin d'évaluer son activité antimicrobienne et un test de toxicité.

Cette extraction a été réalisée par: soxhlet avec l'utilisation de chloroforme comme solvant, qui apporté ses preuves en réunissant les conditions opératoires optimales, ce qui nous a emmené à procéder à une époxydation et de là, à l'étude de son activité antimicrobienne sur quelques souches pathogènes particulièrement (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* et *Fusarium redolens*) puis complétée par un test de toxicité sur les rats Wistar et une polymérisation suivie par des analyses IRTF.

A la lumière de tous les résultats que nous avons obtenus, nous pouvons formuler les conclusions suivantes :

- ✓ Le meilleur rendement est celui du soxhlet avec un taux de 96%  $\pm 0.02$  ; le mode en batch a montré ses limites à cause d'un défaut de solubilisation dû à la graisse ;
- ✓ Les propriétés physicochimiques de l'huile animale ont présenté des caractéristiques conformes aux normes.
- ✓ La meilleure résistance en termes de stabilisation de l'HAE a été trouvée aux environs de 255°C ;
- ✓ L'HAE a une activité sur les Gram+ (*S. aureus*) avec une moyenne de zone d'inhibition de  $(11 \pm 0.26)$ , tout comme les *Candida albicans* (M3) de  $(8.2 \pm 0.53)$  et (CA2)  $8 \pm 0.26$  et une inhibition du *Fusarium* qui n'a pu croître dans les zones où l'HAE est positionnée, contrairement à *E. coli*, qui a été résistante. On peut déduire que ce biopolymère peut être utilisé dans le domaine agro-alimentaire ;
- ✓ Le test de toxicité in-vivo a donné des résultats de FNS conformes aux normes et une légère anomalie histologique dose-dépendant au niveau des reins, ce qui signifie que notre l'huile est alimentaire ;
- ✓ La polymérisation a été complétée par des analyses IRTF ce qui nous a permis de :
  - Caractériser tous les additifs entrant dans les trois films dans un premier temps ;
  - Montrer l'existence du groupement époxy dans le biomatériau synthétisé ;
  - Confirmer la compatibilité de l'HAE avec les résines de PVC, de PEHD et de PEBD.



D'une manière globale, le travail réalisé a montré que l'huile animale extraite de la graisse bovine ne diffère pas des autres huiles végétales du point de vue réactivité, et, qu'à travers son époxydation, elle peut générer différents types de polymères tels que : lubrifiant, stabilisant thermique et plastifiant ainsi biopolymère servant à la fabrication des emballages alimentaires.

Néanmoins, ces travaux restent une approche qui seraient fort bénéfique sur notre environnement (réduction de la pollution) et constitue un apport économique considérable qui pourrait booster l'industrie, à condition de mener des études plus approfondies, et en élargissant son champ d'action sur plusieurs plans, approuvant son utilisation. Afin de valider et consolider ces résultats, des perspectives de cette présente étude visent à :

- Une étude de toxicité plus approfondie.
- Une étude d'activité antimicrobienne contre d'autres souches pathogènes.
- Une analyse du temps d'induction à l'oxydation à partir de laquelle on pourra juger du commencement de la biodégradation après la durée de vie utile de ces polymères (c'est-à-dire une fois jetés dans la nature).
- Une caractérisation des propriétés mécaniques, rhéologiques et thermiques des films préparés.

*Références  
bibliographiques*

- **A. Amusan.(2009).** Optimization of Oil Extraction Procedures from Animal Tissue, McGill University.
- **A. Damien.(2002).** Guide du traitement des déchets.3ème édition. Dunod. Paris
- **A. R. Amusan.(2008).** Optimization of procedures for oil extraction from animal, Montreal.
- **A.Seyni.(2008).** “Propriétés physico-chimiques et d'usage de matériaux composites à charge dégradable produits par Co-broyage”. Thèse de doctorat, INP, Toulouse.
- **ADEME.(2006).** Direction des Energies Renouvelables, des Réseaux et des Marchés Energétiques Hilaire BEWA, “Matériaux polymères biodégradables et applications”. Note de synthèse II, p 1.
- **Ames B. N.(1983).** Dietary Carcinogens and Anticarcinogens. Oxygen Radicals and Degenerative Diseases. Science, 221(4617), 1256–1264.
- **Arvanitoyannis I. S., et Bosnea L.(2004).** Migration of Substances from Food Packaging Materials to Foods. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 44(2), 63–76.
- **Bhunia, K ; Sablani, S. S., Tang, J., & Amp; Rasco, B.(2013).** Migration of Chemical Compounds from Packaging Polymers during Microwave, Conventional Heat Treatment, and Storage. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 12(5), 523–545.
- **Bismuth. C, Baud. F, Conse. F, Fréjaville. P.P, Garnier. R.(1987).** Toxicologie clinique. Flammarion Médecine Sciences, Paris, 956p.
- **Bouredjioua, Siham; Khitmene, Sonia; Merdjane, Firdousse.(2015).** Evaluation de l'activité antimicrobienne des différentes variétés d'huiles d'olive Algérienne et leurs extraits et leur extrait phénolique, Bejaia: Université A. MIRA - Bejaia.
- **Boutaba Amira, Chaouche Khadidja.(2019).**“Identification des espèces ppytopathogènes appartenant au genre *Fusarium*”.
- **C. Duval. (2009).** “Matières plastiques et environnement 2e ed. Recyclage. Valorisation. Biodégradabilité. Écoconception”. Dunod, Paris
- **C. K. Williams, M. A. Hillmyer.(2008).** “Polymers from renewable resources: A perspective for a special issue of polymer reviews”. Polym. Rev.48:1-10.
- **Tchiégang-Meguéni C .(2003).**«Variabilité des caractéristiques physico-chimiques des huiles de extraites des amandes *Balanites aegyptiaca* L. Del. en provenance du Cameroun et du Tchad.,» Procédé Biologiques alimentaires, vol. 1, n° %11, p. 11.

- **Charles Rivers Laboratories.(1998).** Baseline Hematology and Clinical Chemistry Values for Charles River Wistar Rats [CrWIWR] as a Function of Sex and Age Spring.
- **Cheng. Zhi.-hui. ,. Muhammad. Azam. Kan and Han. Ling. , Wei Ting-Ting.(2011).** «THE INHIBITIVE EFFECTS OF GARLIC BULB CRUDE EXTRACT ON *FULVIA FULVA* OF TOMATO,» College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, 712100, China, p. 6.
- **CODEX alimentarius commission.(1999).** Food and Agriculture Organization, ALINORM 99/17.
- **Comité de l'antibiogramme de la société française de. Microbiologie.(2018).** «Recommandations» Société française de microbiologie, paris.
- **D. Atek, N. Belhaneche-Bensemra.(2005).** FTIR investigation of the specific migration of additives
- **D. L. Kaplan,.(1998).** “Biopolymers from renewable resources”. Springer-Verlag, Germany.
- **D. Papaspyrides, j. Poulakis.(1996)** “Recycling plastics”. CD ROM Polymeric Materials Encyclopaedia, CRC Press.
- **Delarras, C. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Paris: Lavoisier-Tec & Doc.
- **Descat, Fleur.(2002)** HEMATOLOGIE DU RAT : HEMOGRAMME ET MYELOGRAMME, TOULOUSE.
- **Despiau C.(1978).** Les solvants d'extraction : Deux aspects technologiques et économiques. Incidences sur le choix du solvant., vol. 25, paris, pp. 7-9.
- **Djadar. Imen. Rebbouh Fatima.(2016).** Evaluation de l'effet antibactérien des extraits des graines de *Peganum harmala* L, Tiaret: Université de Tiaret campus KARMAN.
- **E. J. Helmerhorst, I. M. Reijnders, W. van't Hof, I. Simoons-Smit, E. C. Veerman et A. V. Amerongen.(1999).** «Amphotericin B- and fluconazole-resistant *Candida* spp., *Aspergillus fumigatus*, and other newly emerging pathogenic fungi are susceptible to basic antifungal peptides,» Antimicrobial agents and chemotherapy, vol. 43, n° 13, pp. 207-204.
- **F. Li, R.C. Larock.(2002).** “New Soybean Oil-Styrene-Divinylbenzene thermosetting copolymers. V. shape memory effect”. J. Appl. Polym. Sci. 84: 1533-1543.
- **F. Pardos.(2013)** "polyméthacrylate de méthyle(PMMA)- Aspects économiques" .

- **G. Castelen.(2010).** "Polymères biodégradables". Techniques de l'ingénieur," BIO, vol. 4150, pp. 2-15.
- **G. Hassina.(2011).** Etude de la toxicité d'huile de Ricinus communis L sur les animaux de laboratoire, Setif: Universite farhat abbas –setif.
- **G.Socrates.(1980).** "Infrared characteristic group frequencies". New York: John Wiley & Sons.
- **Güner S., Yagci F. Y. et Tuncer Erciyes A.(2006).** Polymers from Triglyceride Oils. Progress in Polymer Science, 31, 633-670.
- **H. Daoud , I. Abdeslam.(2018).** Elaboration et caractérisation d'un composite à renfort biodégradable".Faculte du genie de la construction departement de geniemechanique universite mouloud mammeri de tizi ousou.
- **H. Mucha, D. Hofer, S. Assfalg and M. Swerev.(2002)** "Antimicrobial finishes and modifications," Melliand textilberichte international textile reports, vol. 83, no. 4, pp. 238-243.
- **Hahladakis J. N., Velis C. A., Weber R., Iacovidou E. et Purnell P. (2018).** An Overview of Chemical Additives Present in Plastics: Migration, Release, Fate and Environmental Impact during Their Use, Disposal and Recycling. J. Hazard. Mater. 344, 179–199.
- **Harmouchi . Ichrak.(2020).** Hémogramme : Etude de la fiabilité des alarmes données par l'automate, MARAKKECH.
- **Hart, T. et Shears, P. (1997).** Atlas de poche de microbiologie. Paris: Flammarion Medecine -Sciences.
- **Hodakowski.(1978).** "Polymerisable epoxide-modified compositions". US Patent 4, 119, 640 (1978).
- **Hodgson E.(2004).** A textbook of modern toxicology. 3rd edition. USA: Wiley Interscience. Pp. 525-541.
- **J. Leybroos and P. Fremeaux.(1990).** « Extraction solide-liquide ». Technique de l'ingénieur, vol. 2780.
- **J. P. Mercier and E. Marechal.(1993).**Traité des matériaux, CHIMIE DES POLYMERES, synthèses, réactions, dégradations". Presses polytechniques et universitaires romandes, Suisse.
- **Javni, W. Zhang, Z.S. Petrovic.(2004).** "Soybean-Oil-based Polyisocyanurate rigid foams". J. Polym. Environ. 12(3):123-129.

- **Kabara, J. J., Swieczkowski, D. M., Conley, A. J., & Truant, J. P.(1972).** «Fatty Acids and Derivatives as Antimicrobial Agents,» *Antimicrobial agents and chemotherapy*, vol. 2, n° 11, pp. 23-28.
- **Lim, S. D.; Sun, C.; Lambeth, J. D.; Marshall, F.; Amin, M.; Chung, L.; Petros, J. A.; Arnold, R. S. (2005).** Increased Nox1 and Hydrogen Peroxide in Prostate Cancer. *The Prostate.*, 62(2), 200–207
- **Luciano P. Silvaa, b,\* , Graziella A. Joanittia, José Roberto S. A. Leitec,d and Ricardo B. Azevedoa.(2011).** «Comparative Study of the Antimicrobial Activities and Mammalian Cytotoxicity of 10 Fatty Acid-Rich Oils and Fats from Animal and Vegetable,» *The Natural Products Journal* , pp. 40-46.
- **M. Akli et R. M. Amine.(2008).** « étude de la diffusion de l’irganox 1076 dans un polymère recyclé à base, » Université abderrahmane mira /faculte de technologie departement de genie des procedes, BEJAIA.
- **M. D. B. Akoh Casimir C.(2002).** "Food Lipids Chemistry, Nutrition, and Biochemistry.," *Food Science and Technology*, no. 117.
- **Malheiro, R., Sá, O., Pereira, E., Aguiar, C., Baptista, P., Pereira, J.A. (2012).** Arbutus unedo L. leaves as source of phytochemicals with bioactive properties, *Ind Crop Prod*, 37: 473–478
- **N. Combea, a. Rossignol-castera.(2010).** “Vegetable oils and frying”. Edts Elsevier Masson, Paris, 44-51.
- **N. L. Allinger, m. P. Cava, d. C. De jongh, c. R. Johnson, n. A. Lebel, c. L. Stevens.(1976).** “Chimie Organique. Volume I: Structure des molecules”. McGRAW-HILL, Paris.
- **OCDE. (2022).** Essai n° 425: Toxicité aiguë par voie orale: méthode de l’ajustement des doses. OECD.
- **P. Colonna.(2006).** *La chimie verte*, Paris, Lavoisier, pp. 487-496.
- **P. Gautron.(1995).** “Valorisation et recyclage des déchets”. *Techniques de l’Ingénieur*, traité matériaux non métalliques, A3830, pp1-18.
- **P. Weiss.(2009-2010).**"La chimie des polymères," Société Francophone de Biomateriaux Dentaires umvf. univnantes. fr/odontologie/enseignement.
- **Palanisamy U. D. (2015).** Refining Ostrich Oil and Its Stabilization with Curcumin. *J. Nutr. Health Food Eng.*, 2 (2), 00051.
- **R. Smith.(2005).** *Biodegradable polymers for industrial applications*”, Woodhead Publishing Limited.

- **R.M-Silverstein, Fx.Webster.(1998).**« Spectrometric identification of organic compounds », 6 ème édition/P.Cm, New York.
- **R.P. Carreira.(2005).** Les matériaux composites dans l'industrie des sports et loisirs. In 2nd congrès du Réseau Français d'Ingénierie du Sport.
- **Rouane.Azzedine.(2008).** « Etude de l'huile de tournesol epoxydee,» Mémoire de magister en génie de polymères.
- **Ruckebusch Yves.(1981).** Physiologie, pharmacologie, thérapeutiques animales. 2e Edit.
- **S. E. Hachani.(2017).** "Synthèse et caractérisation d'un nouveau matériau composite à base de polystyrène," Biskra.
- **S. Karlsson, a.c. Albertsson.(1998).**“Biodegradable polymers and environmental interaction”. Polym. Eng. Sci. 38 (8): 1251- 1253.
- **S. Li.(2006).** "Degradation of Biodegradable Aliphatic Polyesters," Taylor & Francis Group, pp. 335-352.
- **S. S. Handa, S. Khanuja, G. Longo, and D. D. R. Rakesh.(2008).** Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants., International Centre for Science and High Technology.
- **Sharma, H., Giriprasad, R.et Goswami, M.(2013).** Animal fat-Processing and Its Quality Control. Food Processing and Technology,vol. 4 (8) : 1-5.
- **T. Clavel, M.Falcy, A.hesbert, D.Jargot, J.C. Protois, M.Reynier, O. Scheider.(1994).** phthalate de bis (2-éthylhexyle). INRS, France
- **T. Swetman.(2008).**« Extraction de l'huile, Bourton - Dunsmore Rugby,Warwickshire,CV23 9QZ Royaume-Uni.
- **Véronique.O, Denis.O, Jacques.A.(2015).** «Analyse des lipides - Extraction. Paramètresphysico-chimiques. Constituants majeurs,» TECHNIQUES DE L'INGENIEUR.
- **Z.S. Petrovic, A. Guo, W. Zhang.(2000).** “Structure and properties of polyurethanes based on halogenated and non-halogenated Soy-Polyols”. J. Polym. Sci.: Part A: Polym. Chem. 38: 4062-4069.

# *Annexes*

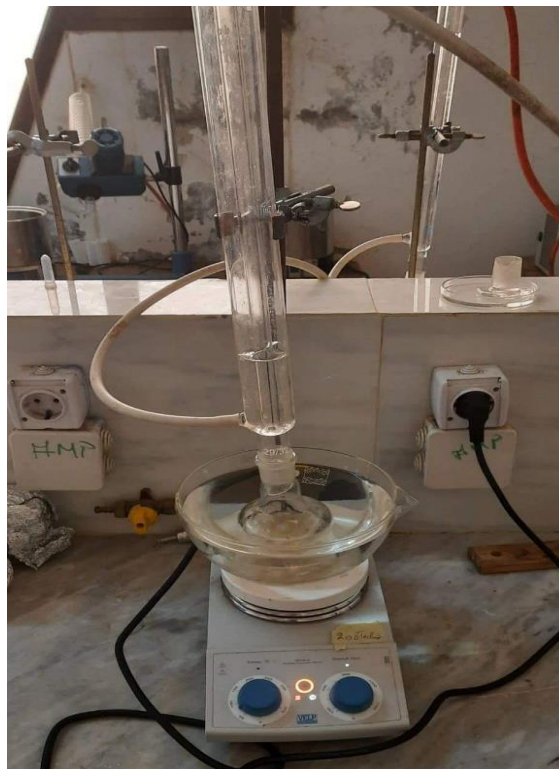


**Annexe I : Séparation de l'huile du chloroforme**



Rota-vapeur (prise par nous-même)

**Annexe II : Extraction par le procédé en batch**



Dispositif expérimental d'extraction en mode Batch  
(Prise par nous-même).

### Annexe III : Extraction liquide-liquide



Séparation de l'HAE de l'eau distillé (Prise par nous-même).

### Annexe IV : Préparation des milieux de cultures (Delarras, 2007)

#### Composition des milieux de cultures utilisés

##### 1-Gélose de Mueller-Hinton

Pour 1 litre de milieu :

Infusion de viande de bœuf (300g)

Hydrolysate de caséine (17,0g)

Amidon (1,5g)

Gélose (17g)

Stérilisation à 121°C/20min

##### 2-Milieu de culture Sabouraud gélose (SAB)

Composition pour 1L :

Peptone de caséine(5g)

Peptone de viande(5g).

Glucose monohydraté (40) g.

Chloramphénicol (0,50) g.

Agar(15g).

Stérilisation à 121°C/20min

**3-Milieu de culture Potato Dextrose Agar (PDA) :**

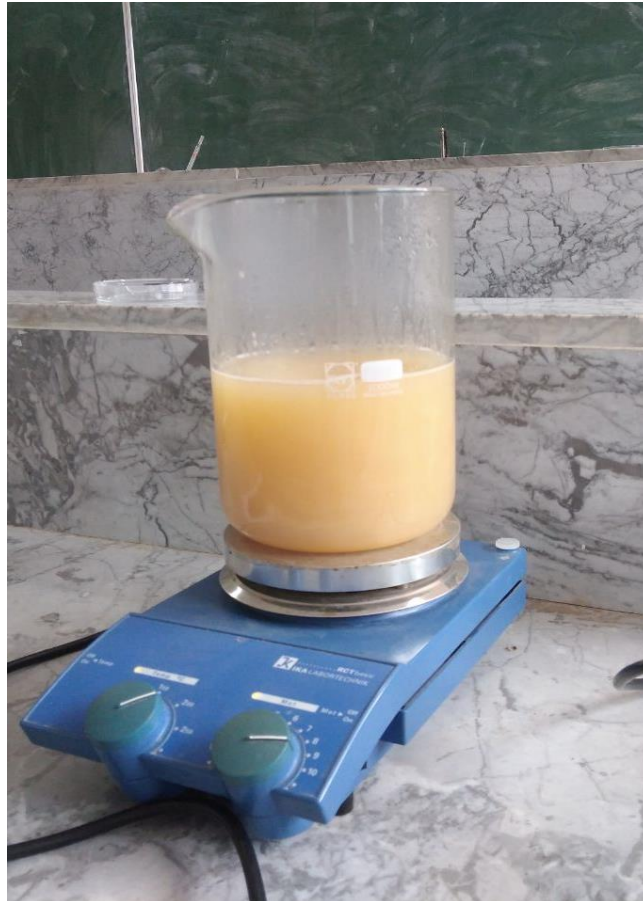
Composition pour 1L :

Pommes de terre (200g)

Agar-agar (20g)

Saccharose (20g)

Stérilisation à 121°C/20min



Préparation de milieux de cultures (Prise par nous-même)

**Annexe V : Standardisation des souches**

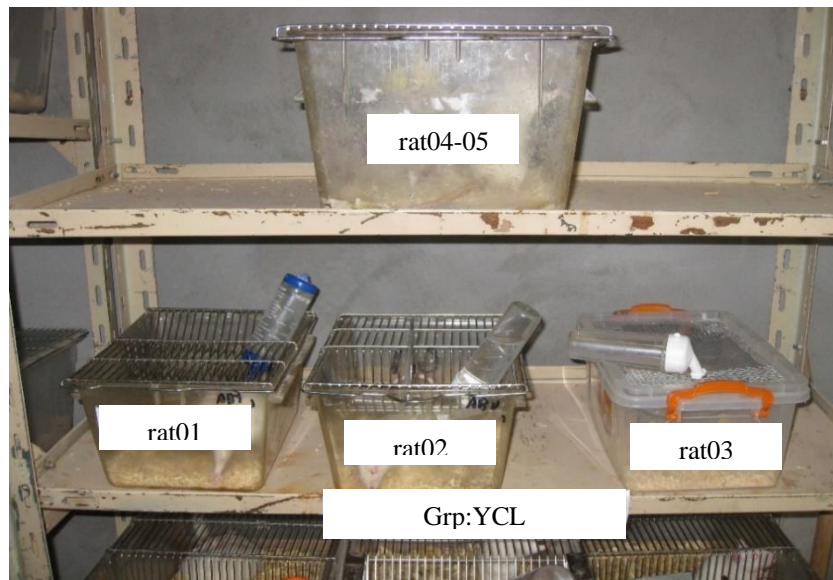


Eau Physiologique (Prise par nous-même).



Spectrophotomètre UV-visible (Prise par nous-même).

**Annexe VI : Adaptation des rats au lieu**



Adaptation des rats (Prise par nous-même).

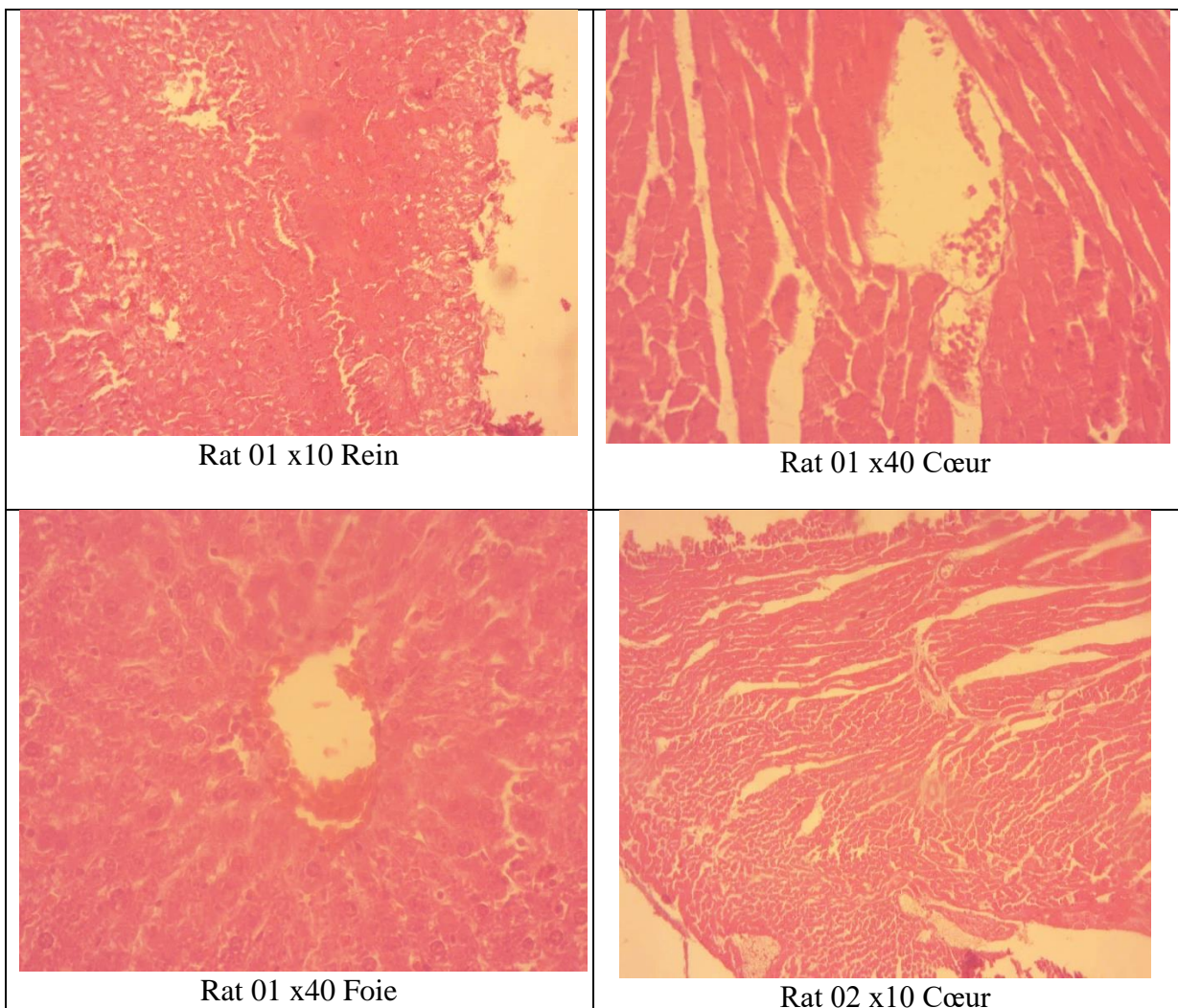


**Annexe VII : Témoin négatif du *Fusarium***



Témoin négatif du *Fusarium* (Prise par nous-même).

**Annexe VIII : Observation microscopie des coupes histologique**

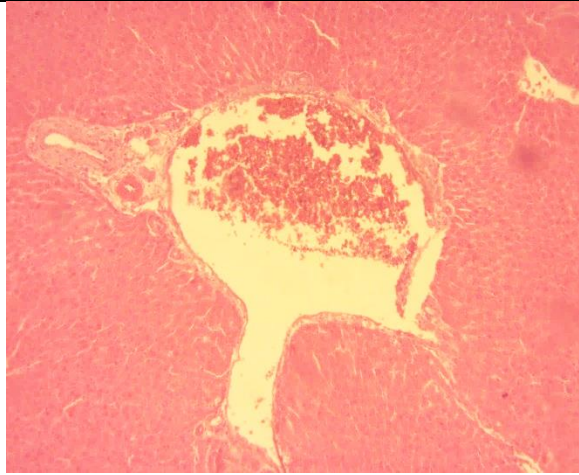


Rat 01 x10 Rein

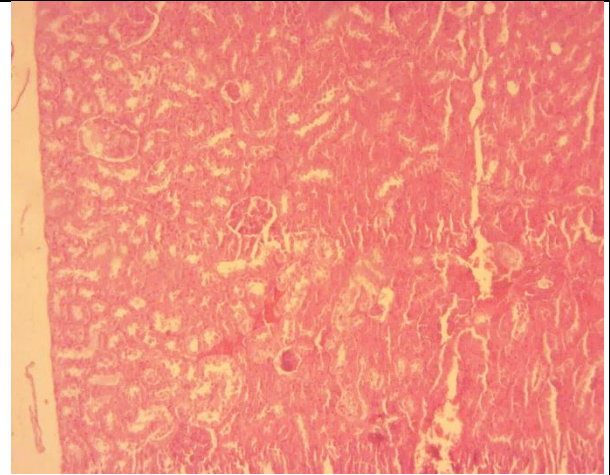
Rat 01 x40 Cœur

Rat 01 x40 Foie

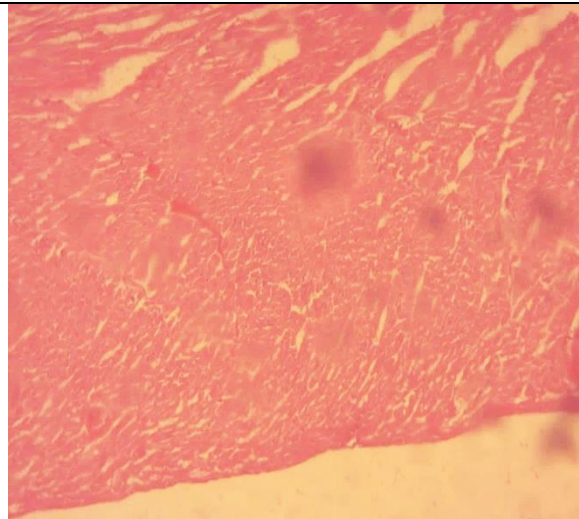
Rat 02 x10 Cœur



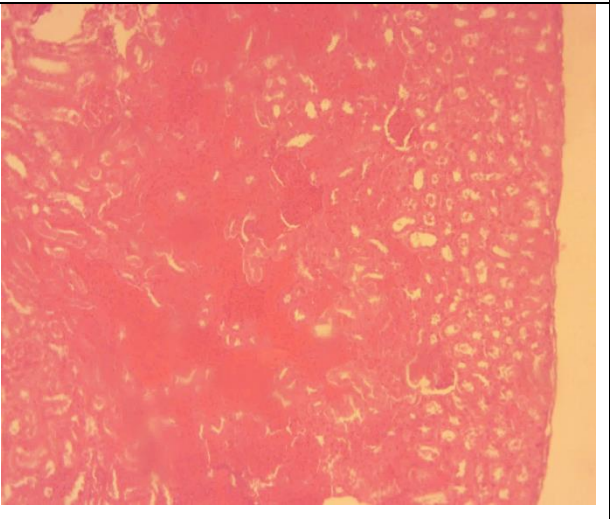
Rat 02 x10 Foie



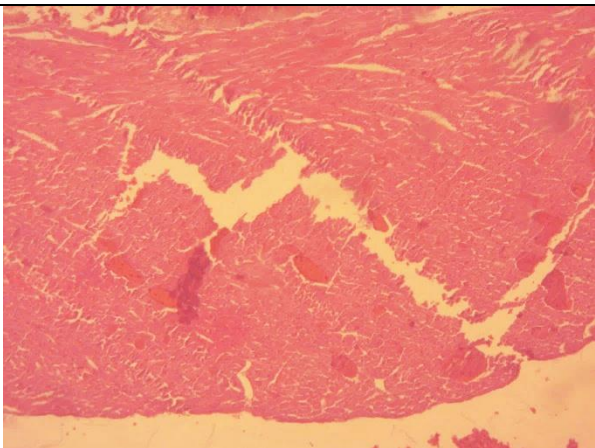
Rat 02 x40 Rein



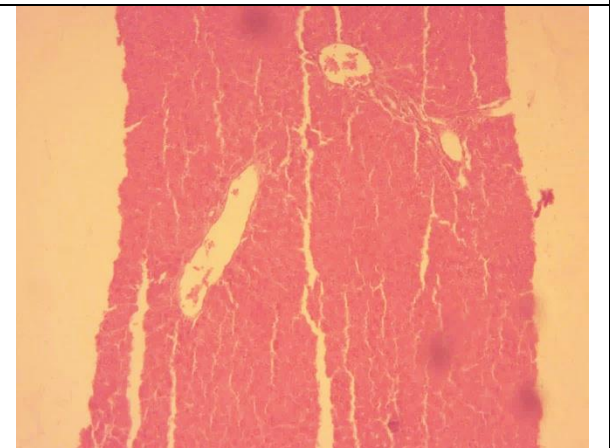
Rat 03 x10 Cœur



Rat 03 x10 Rein

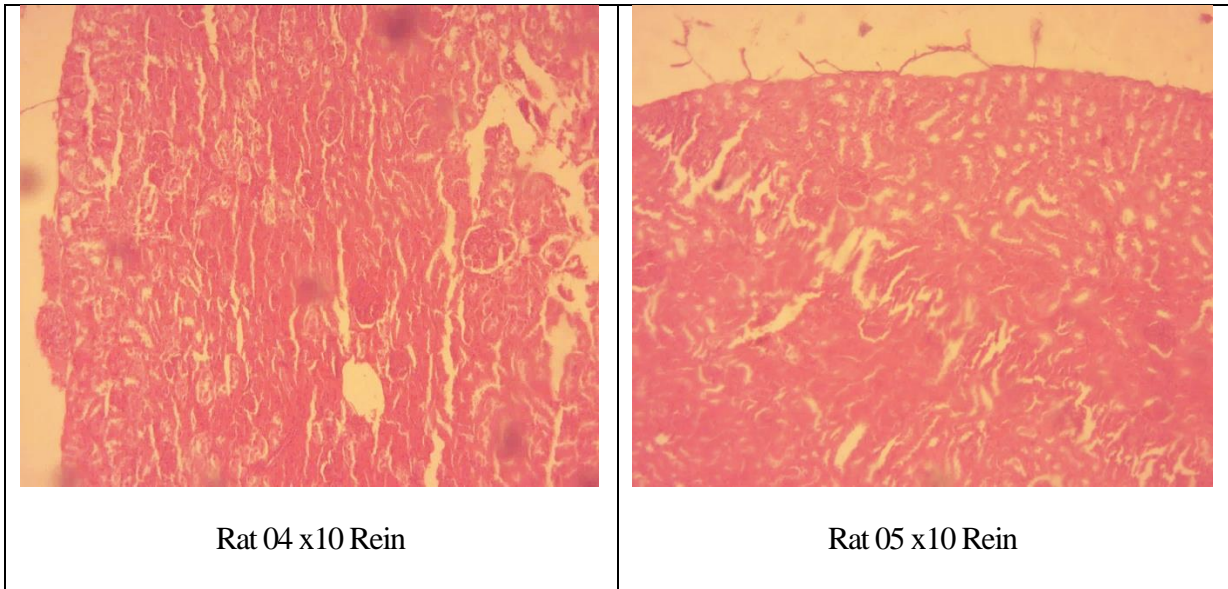


Rat 04 x10 Cœur



Rat 04 x10 Foie





**Annexe IX : Films alimentaires préparés**



Film alimentaire préparé  
(Compatibilité avec la résine de PEHD)

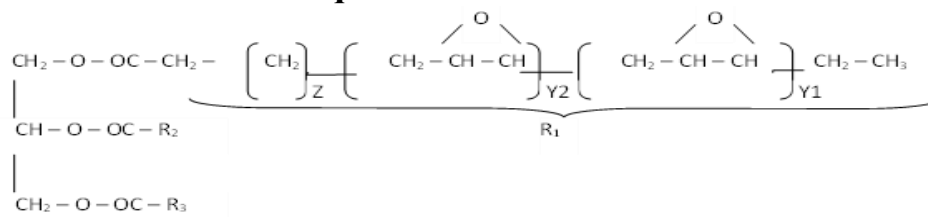


Film alimentaire préparé (Compatibilité  
avec la résine de PEBD)

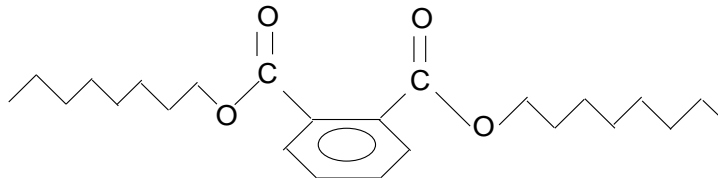


Film alimentaire préparé (compatibilité avec la résine de PVC)

## Annexes X : Formules chimiques de DOP et de l'HTE

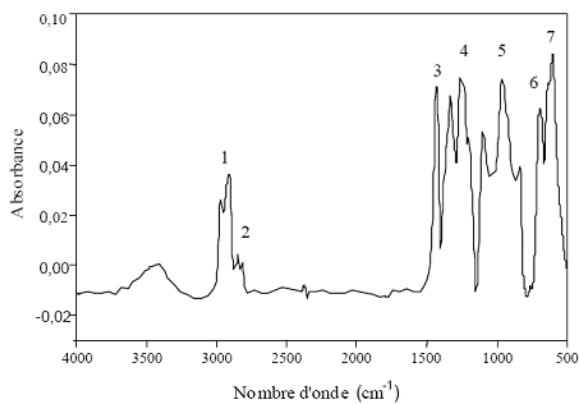


Formule chimique de l'HTE

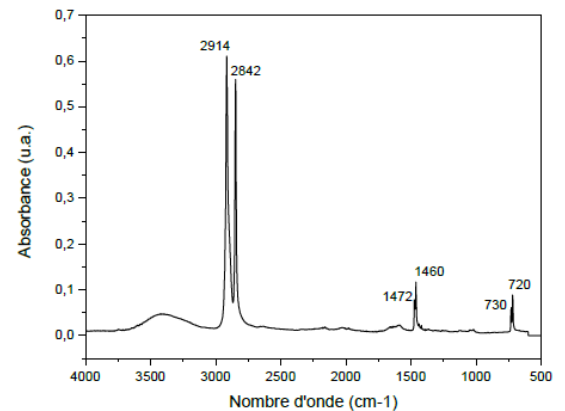


Formule chimique de DOP

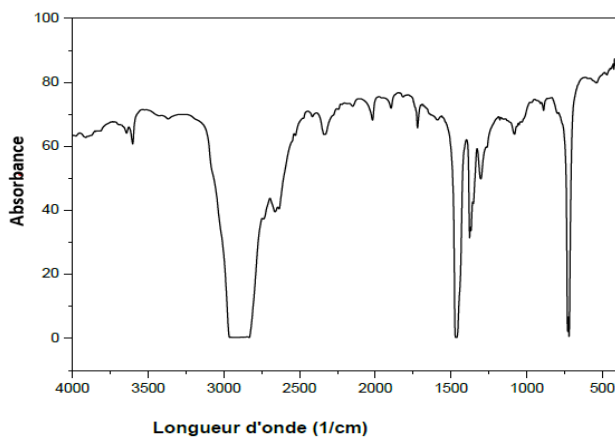
## Annexe XI : Spectres infrarouge du monomères PVC, PEHD et PEBD



Spectre infrarouge du polychlorure de vinyle (PVC)



Spectre infrarouge du polyéthylène haute densité PEHD



Spectre infrarouge du polyéthylène basse densité PEBD



## Résumé

Le travail réalisé dans le cadre de ce mémoire se divise en deux grandes parties. La première a consisté à synthétiser de nouveaux polymères dérivés de l'huile animale d'origine bovine. Pour cela, elle a, d'abord, été modifiée par époxydation. L'huile animale époxydée (HAE) a été, ensuite, caractérisée et utilisée pour réaliser trois films alimentaires à base de PVC, de PEHD et de PEBD.

Dans la seconde partie du travail, la toxicité aiguë d'une durée de 14 jours de l'HAE a été testée sur des rats Wistar et en étudiant l'activité microbienne de l'HAE vis-à-vis des souches bactériennes pathogènes (*Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300), les levures et moisissures, respectivement, (*Candida albicans* ATCC 10231 (CA2), *Candida albicans* ATCC 10237 (M3), *Fusarium redolens* WY5 à 99%). Par ailleurs, l'étude de nouveau intermédiaire préparé a été suivie par spectroscopie infra rouge à transformée de Fourier (IRTF).

Les résultats obtenus révèlent que l'HAE a une activité sur les Gram+ *S.aureus* avec une moyenne de zone d'inhibition de  $(11 \pm 0.26)$ , tout comme *Candida albicans* (M3) avec une moyenne de zone d'inhibition de  $(8.2 \pm 0.53)$  et (CA2)  $8 \pm 0.26$  et une inhibition du *Fusarium* qui n'a pu croître dans les zones où l'HAE est positionnée, contrairement à *E. coli*, qui a été résistante. L'analyse FNS et l'histologie ont révélés que l'HAE n'a donnée aucun effet néfaste sauf une légère anomalie au niveau des reins.

**Mots clés :** Synthèse, extraction, Huile animale époxydée, activité antimicrobienne, toxicité, IRTF.

## ملخص

ينقسم عمل هذا الموجز إلى جزأين رئيسيين. الأول هو تصنيع بوليمرات جديدة مشتقة من زيت الحيوانات البقري. لهذا، تم تعديله لأول مرة عن طريق الأكسدة الجسرية. ثم تم توصيف الزيت الحيواني المؤكسد جسرياً (HAE) واستخدمه في إنتاج ثلاثة أفلام غذائية تستند إلى PVC وPEHD وPEBD.

في الجزء الثاني من العمل، تم انجاز اختبار السمية الحادة لمدة 14 يوماً لـ HAE في جرذان ويستار ومن خلال دراسة النشاط الميكروبي لـ HAE فيما يتعلق بالسلالات البكتيرية المسببة للأمراض (*Escherichia coli* ATCC 8739)، (*Staphylococcus aureus* ATCC 43300)، (*Candida albicans* ATCC 10231 (CA2)، (*Candida albicans* ATCC 10237 (M3)، (*Fusarium redolens* WY5) إلى ذلك، تم دراسة الوسيط الذي تم إعداده حديثاً عن طريق التحليل الطيفي لتحويل الأشعة تحت الحمراء (FTIR).

تكشف النتائج التي تم الحصول عليها أن HAE لديها نشاط على بكتيريا *S. aureus* + Gram مع منطقة متوسطة من الانحراف المعياري للتثبيط  $(11 \pm 0.26)$ ، تماماً مثل خمائر المبيضات البيضاء (M3) بمتوسط انحراف معياري للتثبيط  $(8.2 \pm 0.53)$  و  $(8 \pm 0.26)$  (CA2) وتثبيط للفوساريوم الذي لا يمكن أن ينمو في المناطق التي يوجد فيها HAE، على عكس *E. coli*، التي كانت مقاومة، كشفت تحليلات الأنسجة FNS أن HAE لم تعط أي آثار ضارة باستثناء خلل طفيف في الكلى.

**الكلمات الدالة:** تصنيع، استخلاص، زيت الحيوانات المؤكسدة جسرياً، النشاط المضاد للميكروبات، اختبار السمية IRTF.

## Abstract

The work carried out in this thesis is divided into two main parts. The first part consisted in the synthesis of new polymers derived from animal oil of bovine origin. For that, it was, initially, modified by epoxidation. The epoxidized animal oil (EAO) was then characterized and used to produce three food films based on PVC, HDPE, and LDPE.

In the second part of the work, the acute toxicity of 14 days duration of the EAO was tested on Wistar rats and by studying the microbial activity of the EAO towards pathogenic bacterial strains (*Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300), yeasts and mold, respectively (*Candida albicans* ATCC 10231 (CA2), *Candida albicans* ATCC 10237 (M3), *Fusarium redolens* WY5 at 99%). Furthermore, the study of newly prepared intermediate was followed by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR).

The results obtained reveal that HAE has an activity on Gram+ *S. aureus* with an average inhibition zone of  $(11 \pm 0.26)$ , as well as *Candida albicans* (M3) with an average inhibition zone of  $(8.2 \pm 0.53)$  and (CA2)  $8 \pm 0.26$  and an inhibition of *Fusarium* which could not grow in the zones where HAE is positioned, contrary to *E.coli* which was resistant. FNS analysis and histology revealed that HAE gave no adverse effect except a slight abnormality in the kidneys.

**Key words:** Synthesis, extraction, epoxidized animal oil, antimicrobial activity, toxicity, FTIR.