

## EXTRACTION ET CARACTERISATION DES HEMICELLULOSES PARIETALES DU TISSU FOLIAIRE D'*Aristida pungens*: VALORISATION SOUS FORME DE BIOFILMS

CHAA Lahouari\*<sup>1,2</sup>, MOLLET Jean-Claude<sup>1,3</sup>, MORVAN Henri<sup>1</sup>,  
KAID-HARCHE Meriem<sup>2</sup>

<sup>(1)</sup>Groupe de recherche en Glycobiologie et Physiologie Végétale,  
Université d'Artois, Faculté Jean Perrin, France.

<sup>(2)</sup>Laboratoire des Productions, Valorisations Végétales et Microbiennes,  
Département de Biotechnologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie,  
Université des Sciences et de la Technologie d'Oran, Algérie

<sup>(3)</sup>Laboratoire de Glycobiologie et Matrice Extracellulaire Végétale,  
UPRES EA4358, IFRMP23, Université de Rouen, France

Email : [lahouari78@yahoo.fr](mailto:lahouari78@yahoo.fr)

**Résumé.-** Dans le but de valoriser la fraction hémicellulosique pariétale du tissu foliaire d'*Aristida pungens*, Poacée vivace des régions sub-désertiques d'Afrique du Nord, nous nous sommes intéressés en premier lieu à la caractérisation structurale de ces polysaccharides. Selon des données existantes, les Poacées présentent des fractions hémicellulosiques de type arabinoxylyanes, éventuellement substituées par des motifs glucuronosyls (GlcA) et/ou de leur dérivé 4-O-Me-GlcA. Les hémicelluloses étant généralement, solubles dans les alcalis, l'emploi de 14% KOH a permis de collecter deux fractions A et B, représentant respectivement 3,5% et 10,1% du matériel végétal de départ. Les analyses par CLG et <sup>13</sup>C-RMN montrent que le xylose est le monosaccharide majoritaire dans les deux fractions isolées, représentant respectivement 82,6% et 68,1%, avec de l'arabinose en quantité non négligeable (9,3 et 23,1%). Comme voie potentielle de valorisation, une estérification de ces polymères a permis d'obtenir des biofilms, dont les propriétés mécaniques et thermiques ont été déterminées.

**Mots clés :** *Aristida pungens*; tissu foliaire ; hémicelluloses ; arabinoxylyanes ; biofilms.

## ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF PARIETAL HEMICELLULOSES FROM *Aristida pungens* leaves: VALORIZATION AN BIOFILMS

### Introduction

Trouver une solution de remplacement aux plastiques d'origine pétrochimique est un axe de recherche très exploité car il présente un enjeu économique important et une perspective écologique cruciale. En effet, les ressources fossiles sont utilisées pour l'élaboration des millions de tonnes de plastiques et risquent, dans moins d'un siècle, d'être épuisées. Cette raréfaction créera une forte augmentation de leur coût et un manque en matériaux plastiques. De plus, moins de 40% de ces matériaux sont recyclés principalement comme combustible. Ils ne sont pas biodégradables et constituent un des déchets industriels et ménagers les plus importants.

Une voie possible de substitution des plastiques pétrochimiques peut être la modification chimique de polysaccharides pour produire des biofilms. Ces polymères

glucidiques sont présents en grande quantité chez les végétaux et représentent de ce fait une matière première abondante et renouvelable. Cette piste pourrait ouvrir de nouvelles voies stratégiques apportant des solutions originales aux problèmes écologiques en permettant de diminuer les risques de pollution. Elle laisse envisager, aussi, de nouveaux débouchés pour la filière agricole en constituant de nouvelles voies d'utilisation non alimentaires des agroressources.

Actuellement, la plupart des matières plastiques biodégradables commerciales se présentent sous forme de matériaux composites, basées sur des associations de polymères d'origines végétale et fossile. On peut trouver aussi des matériaux obtenus par synthèse chimique, tels que le polycaprolactone (PCL) ou les alcools polyviniliques (PVA). Certains de ces polymères synthétiques sont produits par polymérisation à partir de monomères naturels ou identiques aux naturels, le plus connu étant l'acide polylactique (PLA) provenant de la polymérisation de molécules d'acide lactique [1].

Bien que leurs performances soient souvent plus limitées que celles des polymères traditionnels, les polymères biodégradables commencent à pénétrer avec succès certains domaines, tels que l'emballage ménager et la restauration (films alimentaires, assiettes et couverts jetables,...), les films de paillage agricole et autres produits pour l'agriculture, les sacs poubelles,...

La production mondiale des plastiques biodégradables n'a cessé de croître depuis les années 1990, passant de l'échelle pilote à l'échelle industrielle. Cette croissance reste malgré tout en deçà du marché des plastiques issus de l'industrie pétrochimique. La capacité de production est cependant passée de 500 tonnes en 1990 à 254.000 tonnes en 2002.

La modification chimique de la cellulose constitue une autre voie stratégique dans l'obtention des plastiques biodégradables. De nombreux travaux déjà existants montrent que la cellulose peut être transformée avec succès en matériau plastique hydrophobe potentiellement biodégradable [2,3,4].

Les travaux déjà réalisés à partir de la cellulose, permettent d'envisager une nouvelle voie de valorisation pour les hémicelluloses. L'objectif de cette étude est de proposer de nouveaux matériaux plastiques par estérification des hémicelluloses du tissu foliaire d'*Aristida pungens*.

*Aristida pungens* est une Poaceae vivace, appartenant au sous-embranchement des Angiospermes, à la classe des Monocotylédones, à la sous-classe des Commelinidae, à l'ordre des Cypérales et la famille des Poacées. Cette plante pousse dans les zones arides et semi-arides d'Algérie, où elle fournit une barrière naturelle contre la désertification en immobilisant les dunes de sables [6]. Elle possède un tissu foliaire se développant en touffe dense et caractérisée par des feuilles très dures enroulées sur toute la longueur pouvant atteindre 1m de longueur. Elles sont d'ailleurs constituées de fibres d'une longueur de 1.27mm possédant des propriétés intéressantes pour l'industrie papetière [7,8].

## 1.- Matériel et Méthodes

### 1.1.- Matériel végétal

Les feuilles d'*Aristida pungens* ont été collectées dans la région d'El-Kheiter, située sur les hauts plateaux de l'Ouest algérien. Après la récolte, les feuilles sont séchées et fragmentées dans un broyeur à couteaux.

### 1.2.- Extraction et caractérisation de la fraction hémicellulosiques

#### 1.2.1.- Protocole d'extraction des hémicelluloses.

Sur la base de méthodes minimisant la dégradation des polymères, un protocole d'extraction fractionnée des composés hémicellulosiques a été adapté à l'espèce étudiée [9].

##### 1.2.1.1.- Préparation de la fraction pariétale.

Le feuillage broyé, sous forme de poudre, est traité par un mélange chloroforme-méthanol (vol/vol) pendant 14h à température ambiante, sous agitation. Ce malaxage est renouvelé, afin d'éliminer un maximum d'impuretés organosolubles. Après filtration, le résidu est remis en suspension dans l'éthanol 95% pendant 2h afin d'éliminer les traces de chloroforme puis incubé dans l'éthanol 95% bouillant pendant 2h. Le résidu insoluble est ensuite séché dans une étuve à 50°C pendant 48h. Il constitue la fraction pariétale brute.

##### 1.2.1.2.- Extraction des pectines.

Les polymères pectiques sont extraits à partir du résidu précédent par de l'eau chaude (80°C) pendant 2h ; puis après filtration et élimination du filtrat, par une solution à 1% d'acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA) pendant 4h à 80°C.

##### 1.2.1.3.- Délignification.

Les lignines sont extraites par un traitement au NaOH 1% préparé dans l'éthanol 75%, pendant 2h à 80 °C (10).

##### 1.2.1.4.- Extraction des hémicelluloses.

Après avoir testé une méthode de solubilisation des hémicelluloses par traitement successifs au KOH 4 % et 14 % pendant 14h à température ambiante puis à 24 % pendant 2h à température ambiante, il s'est avéré qu'un seul traitement au KOH 14% pendant 14h à température ambiante permettait d'obtenir le meilleur rendement d'extraction. Suite à ces résultats, il est adopté une extraction des hémicelluloses par un traitement unique au KOH 14% sous agitation, pendant 14h, à température ambiante. La fraction hémicellulosique dissoute est séparée des résidus insolubles par filtration. Le filtrat est acidifié jusqu'à pH 5.8 par l'ajout d'acide acétique glacial. Suite à l'acidification, une fraction va précipiter et est récupérée par centrifugation (fraction A). Les hémicelluloses qui restent en solution dans le filtrat acidifié (fraction B), sont ensuite précipitées par ajout de trois volumes d'éthanol. Les deux fractions, sont ensuite dialysées contre de l'eau distillée (3 fois 12h), avant d'être lyophilisées. Le résidu insoluble, ayant résisté à l'extraction alcaline, est

considéré comme correspondant à de la cellulose.

### 1.2.- Détermination de la composition monosaccharidique par Chromatographie Liquide-Gaz (CLG).

100 µg d'oses totaux provenant des échantillons à analyser sont mélangés avec 32.8 µg de lysine utilisée comme étalon interne et lyophilisés. La méthanolyse (méthanol/HCl anhydre 0.5 M) est effectuée sous atmosphère d'azote à 80°C pendant 20h. Après élimination du mélange sous flux d'azote, les méthylglycosides sont dérivés selon la méthode de Zanetta *et al.* (11) avec l'heptafluorobutyrate.

Un mélange témoin composé de monosaccharides commerciaux (glucose, arabinose, mannose, xylose, galactose, rhamnose, ribose, fructose, acide glucuronique, acide galacturonique) est réalisé en parallèle. L'acide 4-O-méthyle glucuronique, synthétisé par voie chimique par les soins de C. Moine, est un don du Dr. V. Gloaguen (Université de Limoges).

Les dérivés osidiques sont séparés à l'aide d'un chromatographe liquide-gaz de type Varian 3900, muni d'une colonne CP Sil 5-CB (0.53mm × 50m, fused silica, Varian) et d'un détecteur à ionisation de flamme (FID). Le gaz vecteur est l'azote sous pression (5.5 psi). Le programme de température du four démarre à 150°C pendant 10 min, il est suivi d'une augmentation de 150°C à 200°C, à raison de 0.8°C.min<sup>-1</sup>, d'un plateau de 7 min à 200°C, d'une augmentation de 200°C à 240°C à 5°C.min<sup>-1</sup> et finalement d'un dernier plateau à 240°C pendant 20 min. Les températures du détecteur et de l'injecteur sont réglées à 260°C. Les oses sont identifiés en comparant leurs temps de rétention avec l'échantillon témoin et quantifiés par rapport au témoin interne (lysine).

### 1.3.- Spectroscopie en infrarouge par transformée de Fourier (IRTF).

Les fractions hémicellulosiques obtenues ont été soumises à une analyse par spectroscopie en IRTF. Les spectres infra-rouges ont été obtenus à l'aide d'un spectromètre de type Bruker Vector 22 muni d'un système ATR (Attenuated Total Reflectance), pour une gamme de fréquences comprises entre 600 et 4000 cm<sup>-1</sup>. Les échantillons sont mis directement dans leur compartiment, sans traitement préalable.

### 1.4.- Spectroscopie par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).

Les analyses des fractions hémicellulosiques par RMN ont été réalisées à l'Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle de l'Université des Sciences de Lille (UMR CNRS 8576), sur un appareil Bruker Avance 400 à une fréquence de 100.67 MHz pour le carbone 13. Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm par rapport au standard interne, le triméthylsilane (TMS). Les échantillons sont solubilisés dans du D<sub>2</sub>O.

### 1.4.- Estérification des arabinoxylanes, synthèse et caractérisation des biofilms

Pour cette étude, la fraction hémicellulosique brute a été récupérée par précipitation du filtrat de l'extraction alcaline, après avoir été acidifiée, par ajout de trois volumes d'éthanol, sans séparer les deux fractions A et B.

### 1.4.1. Obtention des films

#### 1.4.1.1. Dissolution des arabinoxylyanes dans le système LiCl / DMA.

32 g de LiCl sont dissous dans 400 ml de DMA à 50°C, pendant 1 h. Ensuite, 8 g d'arabinoxylyanes sont introduits dans le mélange et le tout est mis sous agitation pendant 1 h à 70°C.

#### 1.4.1.2. Acylation des hémicelluloses et purification des esters formés.

Le DMAP (2 éq ; 15.6 nmol ; 1.9 g) est dissout dans 50 ml de solution d'arabinoxylyanes (7.8 nmol ; 1 g). Le chlorure d'acide laurique (2 à 10 éq ; 15.6 à 78 nmol ; 3.7 à 18.5 ml) est alors ajouté. Après 1 h d'agitation à 90 °C, l'ester est précipité dans 3 volumes de méthanol. Les esters ainsi obtenus sont ensuite purifiés par dissolution-précipitation [12,6]. Pour cela, l'ester gras est dissous dans du chloroforme, puis précipité à nouveau par trois volumes de méthanol.

#### 1.4.1.3. Casting.

Les esters obtenus sont solubilisés dans le chloroforme et les films plastiques sont obtenus par coulage dans une boîte de pétri en verre et évaporation du solvant (casting) à l'air libre et à température ambiante.

### 1.4.2. Caractérisation physico-chimique des biofilms.

#### 1.4.2.1. Spectroscopie infrarouge.

L'estérification est contrôlée par spectroscopie infrarouge. Les spectres infrarouge ont été réalisés à l'aide d'un spectromètre Bruker Vector 22 pour une gamme de fréquences comprises entre 400 et 4000  $\text{cm}^{-1}$ , à partir d'échantillons conditionnés en pastilles de KBr. Les nombres d'ondes sont exprimés en  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 1.4.2.2. Détermination du Degré de Substitution (DS) des films par spectroscopie RMN 1H.

Les analyses RMN du proton ont été réalisées sur un appareil Bruker DPX-300 à une fréquence de 75.5 MHz. Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm par rapport au triméthylsilane (TMS).

#### 1.4.2.3. Tests mécaniques.

Les tests de tension uniaxiale ont été réalisés à l'IUT de Béthune sur 13 échantillons en forme d'éprouvettes, d'une épaisseur variant de 0.31 à 0.41 mm. L'appareillage est un dispositif composé de deux mors, l'un fixe, l'autre mobile dont le mouvement vertical s'effectue à une vitesse de traction constante de 1  $\text{mm}\cdot\text{min}^{-1}$ . Il est relevé les 3 paramètres caractéristiques que sont : la contrainte à la rupture (MPa), la déformation à la rupture (%) et le module d'élasticité (MPa).

#### 1.4.4. Analyse thermogravimétrique.

Les analyses thermogravimétriques (TGA) ont été effectuées à l'IUT de Béthune avec un appareil de type Setaram TG/DTA 92. La masse initiale de l'échantillon varie de 15 à 20 mg. La vitesse de chauffe a été ajustée à  $5^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , avec une température qui varie de 20 à 400 °C.

## 2.- Résultats et discussion

### 2.1.- Extraction des hémicelluloses

Le protocole utilisé permet d'extraire, en trois étapes, la fraction hémicellulosique à partir du résidu pariétal du tissu foliaire d'*Aristida pungens*. La première a pour fonction d'éliminer les pectines par traitements à l'eau froide (2h), à l'eau chaude (2h) et à l'EDTA (80°C ; 4h), successivement. La délignification est réalisée par du NaOH 1% dans de l'éthanol 70%, selon GABRIELII *et al.* [10]. Cette étape permet, non seulement d'éliminer les lignines mais également de déstructurer le réseau polysaccharidique, par gonflement des fibres de cellulose. Ceci aboutit à un meilleur rendement d'extraction des hémicelluloses.

La phase d'extraction des hémicelluloses est réalisée en présence d'hydroxyde de potassium à 14%, pendant 14h à température ambiante. L'acidification de l'extrait alcalino-soluble jusqu'à pH 5-6, provoque la précipitation spontanée d'une partie des polymères extraits (fraction hémicellulosique A), insolubles à pH<10. Ensuite, l'ajout de 3 volumes d'éthanol au surnageant permet de précipiter les autres polysaccharides (fraction hémicellulosique B).

### 2.2.- Analyse quantitative et qualitative des différents produits d'extraction

La proportion des polysaccharides contenus dans chacun des extraits récupérés au cours de l'extraction des hémicelluloses, exprimé par rapport à la masse de la poudre végétale de départ, ainsi que la composition monosaccharidique de chacun d'entre eux, sont regroupés dans le tableau I.

Par rapport à la masse de la poudre végétale de départ et suite au traitement par les solvants organiques (chloroforme/méthanol), le résidu pariétal obtenu, ne représente que 67% de la masse de départ. Les polysaccharides extraits par les différents traitements de dépectinisation (eau froide, eau chaude et EDTA), constituent 4,1% de la masse de la poudre végétale de départ. L'analyse de la composition monosaccharidique de ces extraits montre la présence de motifs GalA (15 à 39%), ce qui confirme l'extraction de fractions pectiques relativement riches en GalA. Cependant, la présence dans ces extraits de xylose (35-47%) et d'arabinose (11-19%), semble indiquer que des polymères hémicellulosiques ont été co-extraits au cours de cette étape de dépectinisation puisque, selon HATFIELD (1989), la majorité du xylose et de l'arabinose provient des hémicelluloses, chez les Poacées. D'ailleurs, DARVILL *et al.* [13], ont noté dans l'étude des polysaccharides d'une suspension cellulaire de l'érable sycomore, que les oses neutres et acides des pectines étaient liés de façon covalente aux hémicelluloses et pouvaient donc potentiellement être extraites avec elles.

**Tableau I.-** Rendement (% par rapport à la masse de départ) et composition monosaccharidique (% molaire) des différentes fractions extraites

Fraction	Rendement <sup>a</sup>	Composition monosaccharidique (% molaire)								
		Rha	Ara	Xyl	Glc	Gal	Man	GalA	GlcA	MeGlcA
<b>RTW-SP</b>	2,9	4,3	18,9	47,2	6,8	7,2	nd	15,6	nd	nd
<b>HW-SP</b>	0,7	2,6	15,1	37,3	7	5,4	nd	32,6	nd	nd
<b>EDTA-SP</b>	0,5	1,9	11,2	34,9	6,9	5,9	nd	39,2	nd	nd
<b>NaOH/EtOH-SP</b>	0,9	4,0	17,0	56,5	3,7	2,1	nd	16,7	nd	nd
<b>Hemicellulose A</b>	10,1	1,8	9,3	82,6	2,9	nd	tr	3,4	nd	tr
<b>Hemicellulose B</b>	3,5	4,1	23,1	68,1	1,8	2,5	tr	0,3	nd	tr

RTW-SP: Polysaccharides solubles dans l'eau à température ambiante; HW-SP: Polysaccharides solubles dans l'eau chaude; EDTA-SP: Polysaccharides solubles dans l'EDTA; NaOH/EtOH-SP: Polysaccharides solubilisés au cours du traitement de délignification; a. exprimé en % par rapport à la masse de la poudre végétale de départ; tr: Traces (< 0,5 %); nd.: non détecté; Rha: rhamnose; Ara: arabinose; Xyl: xylose; Glc: glucose; Gal: galactose; Man: mannose; GalA: acide galacturonique; GlcA: acide glucuronique; MeGlcA: acide 4-O-méthyl-glucuronique.

Pour leurs parts, XU *et al.* [14], ont constaté que le traitement de dépectinisation à l'eau chaude solubilise, en plus des pectines, des polysaccharides de faible poids moléculaire tels que des galactoarabinoxylanes. Ces mêmes auteurs ont enregistré des pertes de poids de l'ordre de 24% par rapport à la masse de départ, suite au traitement à l'eau chaude, contre 35% d'hémicelluloses extraites et 10.4% de lignine solubilisées. Enfin, le glucose détecté pourrait provenir de  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 4) glucanes, caractéristiques des tissus jeunes des Poacées (BUCKERIDJE *et al.*, 2004).

Le traitement de délignification (1% NaOH dans 70% éthanol) a solubilisé une fraction polysaccharidique dont la quantité est de l'ordre de 0.9% par rapport à la masse de la poudre végétale de départ. L'analyse de la composition monosaccharidique montre la présence en mélange dans cet extrait de Xyl (56.5%) et d'Ara (17%) qui proviennent des hémicelluloses et de GalA (16.7%) et de Rha (4.0%) qui proviennent des pectines (RGI), ce qui indique que des hémicelluloses et des pectines ont été co-extraites au cours du traitement de délignification. BOUVENG et MEIER (1959), signalent que plus de 10% des polysaccharides du bois d'épicéa (*Picea abies* L.) sont solubilisés au cours du traitement de délignification par du chlorite de sodium. Ces polysaccharides sont majoritairement des galactanes, mais aussi des xylanes et des glucomannanes. Chez les Poacées, il a été signalé que plus de 8% de la fraction hémicellulosique des différents tissus d'avoine, est perdue au cours d'un traitement de délignification par du chlorite de sodium [15]. En délignifiant la paille du blé, NORDKVIST *et al.*, ont obtenu un complexe polysaccharides-lignine, dont la partie polysaccharidique représente 1,9% de la masse de la poudre de départ [16]. Ceci est en accord avec DAS *et al.* [17], FORD [18] et DUSTERHOFT *et al.* [19] qui, en étudiant le jute (*Corchorus capsularis* L.), le tournesol (*Helianthus annuus* L.) et le palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.), ont constaté que des arabinoxylanes étaient impliqués dans la liaison entre les polysaccharides et les lignines.

Des essais préliminaires ont été conduits pour déterminer le compromis d'extraction le mieux adapté au matériel biologique. Il s'est agi d'extractions successives par des solutions de KOH en concentrations croissantes (4, 14 et 24%) ce qui permet de

solubiliser 53,9, 31,2 et 14,9% de la totalité des hémicelluloses recueillies, respectivement. A partir de ces rendements obtenus et dans le but de minimiser les étapes et les pertes éventuelles, il a été décidé de procéder en une seule étape d'extraction, par du KOH 14% pendant 16h à température ambiante. Suite à ce traitement au KOH 14%, deux fractions hémicellulosiques ont pu être isolées: Les hémicelluloses A qui ont précipité après l'acidification de l'extrait KOH car insolubles à  $\text{pH} < 10$  et les hémicelluloses B, solubles après acidification mais précipitées à partir de l'extrait acidifié, par ajout de 3 volumes d'éthanol. Ces deux fractions représentent respectivement 3,5 et 10,1 % de la masse de la poudre végétale de départ (tab. I).

## 2.3.- Caractérisation des fractions hémicellulosiques

### 2.3.1.- Analyse de la composition monosaccharidique

L'analyse de la composition monosaccharidique (tab. I), montre que dans les fractions A et B, le xylose est l'ose majoritaire avec des teneurs respectives de 82,6 et 68,1 %, suivi de l'arabinose avec respectivement 9,3 et 23,1 %. Le rapport Ara/Xyl peut aussi être intéressant car permet de comparer les degrés de substitution du polymère. Dans la fraction A, le rapport Ara / Xyl est de 0,11, celui de la fraction B est de 0,34. Ceci suggère que la chaîne principale de xylane de la fraction B est plus substituée que celle de la fraction A. Nos résultats concordent avec ceux de CHAIKUMPOLLERT *et al.* [20], qui ont remarqué que suite à l'extraction des hémicelluloses de vétiver, le rapport Ara / Xyl était de 0,4 dans la fraction soluble dans l'eau, contre 0,2 dans la fraction insoluble. Il convient aussi de noter que EBRINGEROVA *et al.* [21], et XU *et al.* [14], indiquent tous que dans le cas des arabinoxylanes, un faible rapport Ara / Xyl, correspond à un faible degré de branchement du polymère, ce qui le rend moins hydrosoluble tandis que les arabinoxylanes solubles dans l'eau se caractérisent par un rapport Ara / Xyl plus élevé.

Le glucose détecté en CLG provenait essentiellement des fractions  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-(1 $\rightarrow$ 4)-glucanes tout en n'excluant pas la présence d'éventuelles contaminations par de la cellulose. Ces polymères hémicellulosiques sont caractéristiques des parois des tissus jeunes, en cours de développement chez les Poacées [22,23].

Le galactose détecté dans la fraction hémicellulosique B, pourrait provenir de contaminations par des pectines de type RGI. Cependant, SUN *et al.* [22] ont signalé la présence de ce monosaccharide, dans l'étude des hémicelluloses de la paille du blé, sous forme de résidus terminaux au niveau de certaines chaînes latérales d'arabinose. Ce qui n'a pas été détecté, dans notre cas, suite à la perméthylation. Notons aussi la présence dans les deux fractions de résidus rhamnose et acide galacturonique en faible proportion dont l'origine pectique et plus précisément RGI peut être émise.

### 2.3.2.- Analyse par spectrométrie RMN

L'analyse des fractions hémicellulosiques A et B par RMN  $^{13}\text{C}$ , donne des spectres identiques (Figure 1. A. B.), caractéristiques des arabinoxylanes, avec deux types de signaux : certains, de forte intensité, à 102,2, 76,1, 74,5, 73,1, et à 63,8 ppm correspondent respectivement au C1, C4, C3, C2 et au C5 des résidus de xylose, les autres, de faible intensité, à 107,8, 86,5, 81,0, 78,4 et à 62,4 ppm sont assignés respectivement au C1, C4, C2, C3 et au C5 des résidus d'arabinose [24].



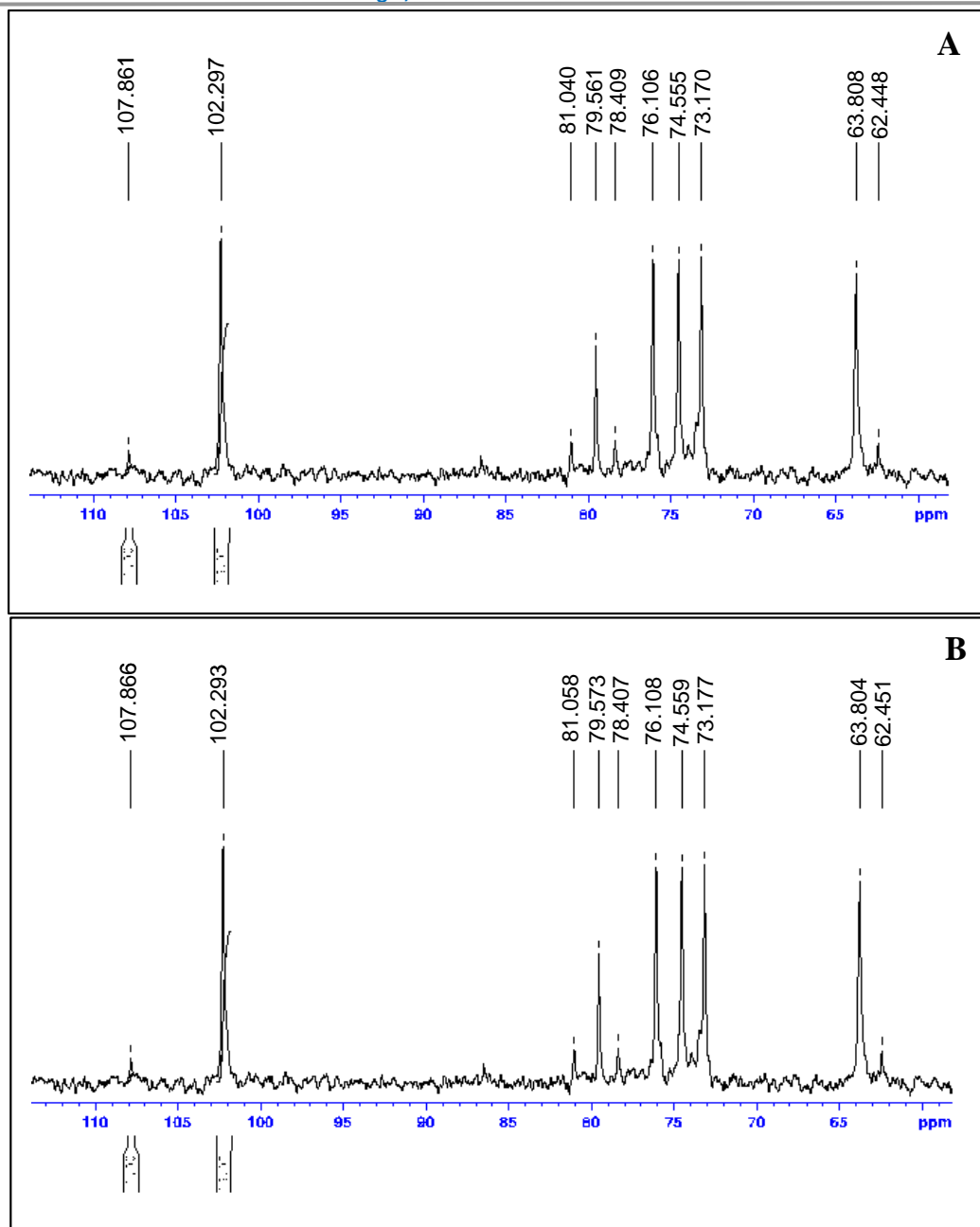


Figure 1 (A et B).- Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  des fractions hémicellulosiques A (A) et B (B).

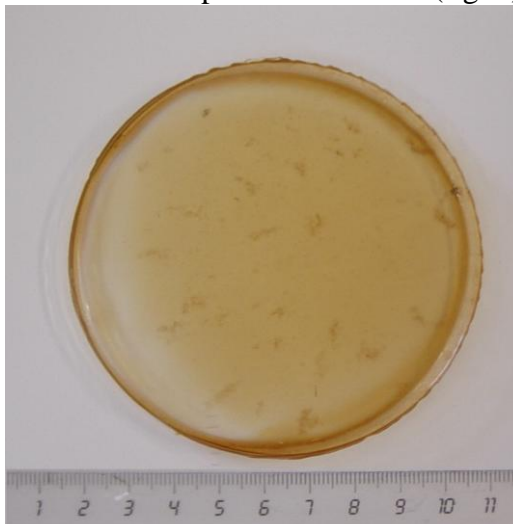
## 2.4.- Valorisation sous forme de biofilms

### 2.4.1.- Obtention d'esters d'arabinoxylanes

Dans un premier temps, des tests d'estérification ont été réalisés à partir de la fraction hémicellulosique brute (A + B) en solution dans le DMA, en additionnant 6 équivalents (eq) d'acide laurique (0.143 mole, 30.9 ml) et 2 eq de DMAP (0.046 mole, 5.6 g).

Les esters obtenus se présentent sous forme de films lisses et colorés qui ne sont pas totalement homogènes parce que la fraction brute utilisée pour leur fabrication

comprend une partie qui ne se solubilise pas dans le DMA (fig. 2).



**Figure 2.-** Photographie d'un ester d'arabinoxylane

## 2.4.2.- Caractérisation des esters d'arabinoxylanes

### 2.4.2.1.- Caractérisation par IR-TF

L'analyse par spectrométrie en IR-TF permet de vérifier l'estérification des arabinoxylanes par l'apparition de bandes caractéristiques (fig. 3b). Ainsi, par comparaison avec le spectre du polymère, une diminution, voire même une disparition de la bande d'absorbance dans la région entre  $2900$  et  $3500\text{ cm}^{-1}$ , caractéristique des vibrations de valence des groupements hydroxyles, est observée (fig. 3a). Ceci montre que sinon la totalité, une grande partie des OH libres du polymère a été modifiée. La diminution de l'intensité de cette bande est corrélée avec l'apparition d'une bande d'absorption à  $1743\text{ cm}^{-1}$  caractéristique des fonctions esters. Il est noté également l'augmentation de l'intensité des bandes alkyles vers  $2900\text{ cm}^{-1}$  et l'apparition d'une bande d'absorption à  $720\text{ cm}^{-1}$ , caractéristique d'un enchaînement d'au moins 4 groupements  $\text{CH}_2$ - consécutifs, spécifiques des chaînes grasses [4]. Finalement, les bandes caractéristiques du polymère (entre  $800$  et  $1400\text{ cm}^{-1}$ ) sont beaucoup moins nettes après estérification.

### 2.4.2.2.- Calcul du degré de substitution (DS)

L'appréciation de l'efficacité de la réaction d'estérification est exprimée notamment par le degré de substitution (DS) qui définit le nombre moyen de chaînes alkyles greffées par unité de répétition du polymère.

Le DS est à partir du spectre obtenu par RMN  $^1\text{H}$ . Le rapport d'intégration des deux types de protons (protons glucidiques et les protons portés par les chaînes d'acides gras) permet de calculer le DS selon la formule suivante :

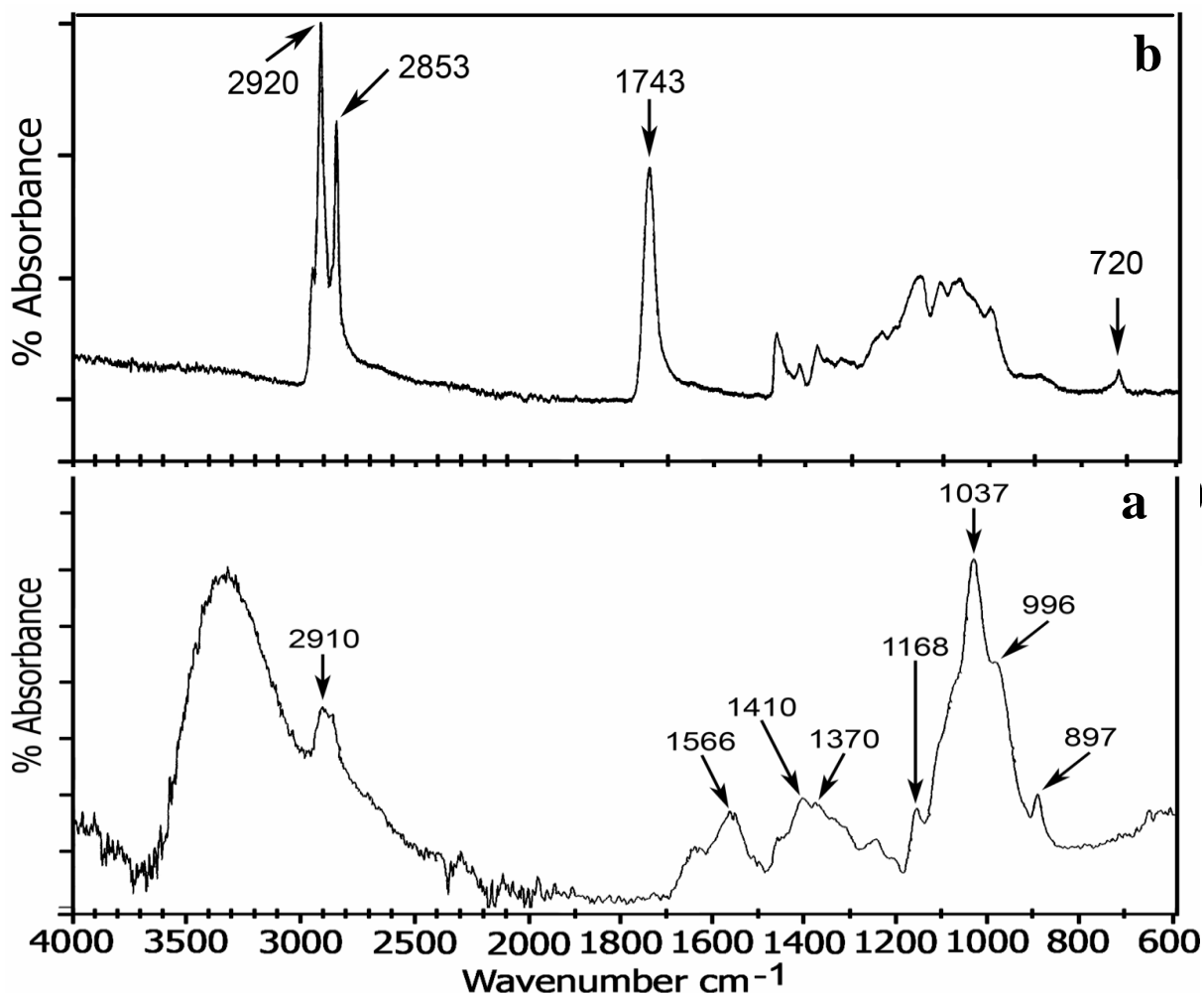
$$\text{DS} = 10 \times (\text{I}_{\text{CH}_3}) / (3 \times \text{I}_{\text{C}}) + \text{I}_{\text{CH}_3}$$

$\text{I}_{\text{CH}_3}$  : intégration des protons méthyles des chaînes d'acides gras ;

$\text{I}_{\text{C}}$  : intégration des protons glucidiques.

Les esters d'arabinoxylanes fabriqués au cours de cette série présentent des DS

égaux à 1,9.



**Figure 3.-** Comparaison des spectres infrarouge d'un arabinoxylane avant (a) et après (b) estérification

#### 2.4.2.3.- Propriétés mécaniques

Si on compare les propriétés observées sur les esters d'arabinoxylanes avec celles des plastiques commerciaux, citées dans la littérature, (tab. II), il apparaît, d'une manière générale, qu'ils se caractérisent par une très faible valeur du module d'élasticité (0,1 MPa). Comparées à celles des plastiques commerciaux, les valeurs obtenues pour la contrainte (6 MPa) et l'élongation à la rupture (29 %), sont également faibles, sauf dans le cas du polyéthylène basse densité qui présente une contrainte équivalente (de 0.1 à 0.3 MPa) et le polystyrène dont l'élongation n'atteint que 1,6 %. Ceci indique que les esters d'arabinoxylanes sont malheureusement moins rigides (E faible), moins résistants ( $\sigma_R$  faible) et plus fragiles ( $\epsilon_R$  faible) que la plupart des plastiques commerciaux.

Ces propriétés mécaniques peuvent varier essentiellement en fonction du DS. Ainsi dans le cas des esters de cellulose, SATGE *et al.* [6] ont constaté qu'une augmentation des valeurs du DS (de 1,7 à 2,4) (tab. 9) provoquait une diminution des valeurs du module de

Young (de 19 à 9 MPa). De ce fait, l'ester de cellulose est plus déformable si le polymère est fortement greffé. Ces mêmes auteurs ont aussi constaté que l'élongation à la rupture augmentait largement (de 90 à 360 %) lorsque le DS passe de 1,7 à 2,4.

**Tableau II.-** Propriétés mécaniques de quelques plastiques commerciaux (Source : [www.goodfellow.com](http://www.goodfellow.com))

Nature du film	Module d'Young E (GPa)	Contrainte à la rupture $\sigma_R$ (MPa)	Elongation à la rupture $\epsilon_R$ (%)
Polystyrène (PS)	2.3 – 4.1	30 - 100	1.6
Polyéthylène naphthalate (PEN)	5 – 5.5	200	60
Polyéthylène basse densité (PEFD)	0.1 – 0.3	5 - 25	400
Polyéthylène haute densité (PEHD)	0.5 – 1.2	15 - 40	-

#### 2.4.2.4.- Analyse thermogravimétrique

La température de dégradation a été mesurée par analyse thermogravimétrique. Elle permet de déterminer le domaine de stabilité thermique des esters d'arabinoxylanes. Cette analyse montre une dégradation, correspondant à une perte de masse de  $0.5 \text{ mg.min}^{-1}$ , qui commence à une température de  $185^\circ\text{C}$ , contre  $250^\circ\text{C}$  pour les arabinoxylanes non estérifiés. Ce résultat indique que le polymère non estérifié a une stabilité thermique plus importante que celle des esters. Une plus faible différence a été enregistrée par REN *et al.* [25] en comparant la température du début de dégradation des hémicelluloses de la paille de blé avant et après (DS. 0,78) estérification où ils ont obtenus des températures respectives de  $208$  et  $203^\circ\text{C}$ . Cette diminution de la stabilité thermique des esters pourrait être due à la désintégration des interactions intramoléculaires, telles que les liaisons hydrogènes entre les chaînes de polymères, en raison du chauffage subit pendant la réaction d'estérification. Ces mêmes auteurs ont aussi constaté en analysant deux esters d'hémicelluloses de DS respectifs de 0,78 et 1,56, que la température du début de dégradation passe de  $203$  à  $218^\circ\text{C}$ , respectivement. Ceci pourrait être dû à la différence de la masse moléculaire entre les deux esters.

#### Conclusion

L'objectif qui avait été fixé à l'origine de ce travail était de valoriser le tissu foliaire d'*Aristida pungens*, Poacée vivace très abondante dans les régions sub-désertiques d'Afrique du nord. Dans cet esprit, la fraction hémicellulosique pariétale a été choisie comme cible principale.

Traditionnellement, toute étude de valorisation commence par l'extraction, la purification et la caractérisation du polymère d'intérêt, à savoir les hémicelluloses. Le protocole expérimental mis en place, basé sur une extraction fractionnée des différents polymères pariétaux et une solubilisation des hémicelluloses par traitement alcalin (KOH 14 %), a permis de récupérer deux fractions hémicellulosiques : les Hémicelluloses A

précipitées suite à l'acidification de l'extrait KOH et les hémicelluloses B restant soluble après acidification et précipitée par ajout de 3 vol d'éthanol. Ces deux fractions représentent respectivement 3,5 et 10,1 % de la masse de la poudre végétale (broyat de feuilles) de départ.

Les analyses réalisées par CLG et par RMN permettent de conclure, que ces hémicelluloses sont constituées d'une chaîne principale de xylopyranoses liées en  $\beta$ -(1,4) et substitués en position 3 des unités xyloses, par des résidus arabinose terminaux, avec un rapport Ara / Xyl de 0,11 et de 0,34 pour A et pour B, respectivement.

Par rapport à la voie possible de valorisation, il a été démontré, que ces arabinoxylanes pourraient être utilisés comme substrat, pour la synthèse de plastiques après estérification par du chlorure d'acide laurique. Les propriétés physiques et thermiques de ces plastiques, bien qu'elles soient moins performantes que celles des plastiques d'origine pétrochimique, sont comparables à celle d'autres d'esters de polymères naturels, tels que les esters de cellulose.

### Références bibliographiques

- [1].- Gregross H. et Slater S., 2000.- Des plastiques extraits des plantes. *Pour la science*, 276: 66-71.
- [4].- Joly N., Martin P., Lienard L., Rutot D., Stassin F., Granet R., Krausz P. et Cavrot J.P., 2006.- Effect of degree of substitution on the mechanical and thermomechanical properties of lauroyl cellulose ester films. *e-Polym.*, 70: 1-9.
- [5].- Satgé C., Verneuil B., Branland P., Granet R., Krausz P., Rozier J. et Petit C., 2002.- Rapid homogeneous esterification of cellulose induced by microwave irradiation, *Carbohydr. Polym.*, 49: 373-376.
- [6].- Djebaili S., 1990.- Syntaxonomie des groupements préforestiers et steppiques de l'Algérie aride. *Ecologia Mediterranea*, 16: 231-244
- [7].- Harche M. et Meguedad N., 1989.- Valorisation des graminées vivaces à fibres: cas des graminées à usage papetier. Séminaire international de biologie et de développement. 26-27 Mai Constantine, Algérie.
- [8].- Mekhaldi A., 1994.- Contribution à l'étude de l'*Aristida pungens* L.: Germination, structure et ultrastructure du tissu fibreux, obtention de pâte papetière à partir des tissus fibreux foliaires et caulinaires. Thèse de Magister, institut des sciences naturels, Oran, Algérie, 97p.
- [9].- Chaa L., 2004.- Etude prospective des voies de valorisation des hémicelluloses de poacées. Rapport D.U.E.R.A.S., Univ. Artois, 40p.
- [10].- Gabriellii I, Gatenholm P. Glasser W.G., Jain R. K. et Kenne L., 2000.- Separation, characterization and hydrogel formation of hemicellulose from aspen wood. *Carbohydr. Polym.*, 43: 367- 374.

- [11].- Zanetta J.P., Timmerman P., Leroy Y., 1999.- Gas-liquid chromatography of the heptafluorobutyrate derivatives of the O-methyl-glycosides on capillary columns: method for the quantitative determination of the monosaccharide composition of glycoproteins and glycolipids. *Glycobiol.*, 9: 255-266.
- [12].- Gourson C., Benhaddou R., Granet R., Krausz P., Verneuil B., Branland P., Chauvelon G., Thibault J.F. et Saulnier L., 1999.- Valorization of maize bran to obtain biodegradable plastic films. *J. Appl. Polym. Sci.*, 74: 3040-3045.
- [13].- Darvill A. G., Mc Neil M., Albersheim P. Et Delmer D. P., 1980.- The primary cell walls of flowering plants. In "The Biochemistry of plants", vol 1, Tolbert N. E., ed, Academic Press, New York: 91-162.
- [14].- Xu F., Sun J.X., Geng Z.C., Liu C.F., Ren J.L., Sun R.C., Fowler P. et Baird M.S., 2007.- Comparative study of water soluble and alkali soluble hemicelluloses from perennial ryegrass leaves (*Lolium perenne*). *Carbohydr. Polym.*, 67: 56-65.
- [15].- Buchala A.J., Fraser C.G. et Wilkie K.C.B., 1972.- Extraction of hemicellulose from oat tissues during the process of delignification. *Phytochemistry*, 11: 1249-1254.
- [16].- Nordkvist E., Graham H. et Aman P., 1987.- Lignin-carbohydrate complexes isolated from wheat straw and red clover stems by in vitro method. The Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.
- [17].- Das N.N., Das S.C., Dut A.S. et Roy A., 1981.- Lignin-xylan ester linkage in jute fiber (*Corchorus capsularis*). *Carbohydr. Res.*, 94: 73-82
- [18].- Ford C.W., 1986.- Comparative structural studies of lignin-carbohydrate complexes from *Digitaria decumbens* (panolagrass) before and after chlorite delignification. *Carbohydr. Res.*, 147: 101-107.
- [19].- Dusterhoft *et al.*, 1992.- Dusterhoft E.-M., Posthumus M.A. et Voragen A.G.J., 1992. Non-starch polysaccharide from sunflower (*Helianthus annuus*) meal and palm-kernal (*Elaeis guineensis*) meal – Investigation of the structure of major polysaccharides. *J. Sci. Food Agric.*, 22 : 151-160.
- [20].- Chaikumpollaert O., Methacanon P. et Suchiva K., 2004.- Structural elucidation of hemicellulose from Vetiver grass. *Carbohydr. Polym.*, 57: 191-196.
- [21].- Ebringerova *et al.* (1990), Ebringerova A., Hromadkova Z., Petrakova E. et Hricovini M., 1990.- Structural features of a water-soluble L-arabino-D-xylan from rye bran. *Carbohydr. Res.*, 198: 57-66.
- [22].- Sun R.C., Sun X.F., Fowler P. et Tomkinson J., 2002.- Structural and physico-chemical characterization of lignins solubilized during alkaline peroxide treatment of barley straw. *Eur. Polym. J.*, 38: 1399-1407
- [23].- Lazaridou A., Biliaderis C.G., Micha-Screttas M. et Steele B.R., 2004.- A comparative study on structure-function relations of mixed-linkage (1→3),(1→4)

linear  $\beta$ -D-glucans. *Food Hydrocoll.*, 18: 837-855.

- [24].- Hollmann J. et Lindhauer M.G., 2005.- Pilot-scale isolation of glucuronoarabinoxylans from wheat bran. *Carbohydr. Polym.*, 59: 225-230.
- [25].- Ren J.L., Xu F., Sun R.C., Peng B. et Sun J.X., 2008. Studies of the lauroylation of wheat straw hemicelluloses under heating. *J. Agric. Food Chem.*, 56: 1251-1258.