



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET

POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE de l'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA

RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة عبد الحميد بن باديس مستغانم

UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS MOSTAGANEM

THESE DE DOCTORAT LMD 3^{ème} Cycle (Doctorat LMD)

DOMAINE : Sciences de la matière

Département : Chimie

Spécialité : Matériaux et Environnement

THEME

Synthèse et caractérisation de matériaux polymériques bio-actifs à base de polymères naturels

Présenté par **Mr BEZZEKHAMI Mohammed Amin**

Devant le jury : le 18 juin 2023

Président :	Pr.Aissa BELOUATEK	Univ.Mostaganem-A.I
Examineur :	Pr.Rachid MEGHABAR	Univ.Oran-A.B
Examineur :	Pr.Youcef BOUHADA	Univ.Mascara
Examineur :	Pr.Charef HARRATS	Univ.Mostaganem-A.I
Directeur de thèse :	Pr.Amine HARRANE	Univ.Mostaganem-A.I
Co-Directeur de thèse :	MCA.Mahmoud.BELALIA	Univ.Mostaganem-A.I

Année universitaire 2022-2023

DEDICACE

Je dédie cette thèse à :

Mes très chers parents.

Ma tante « Aïcha ».

Mon cher frère.

Mes chères sœurs.

Mes amis et mes collègues.

Bezzekhami Mohammed Amin

REMERCIEMENT

Ce travail a été réalisé au Laboratoire Structure, Elaboration et Application des Matériaux Moléculaires (SEA2M), Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem Avant tout, je loue et remercie Dieu pour les bénédictions, la bonne santé et le bien-être qui ont été nécessaires pour mener à bien ce projet et cette thèse. Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance et ma sincère gratitude aux personnes suivantes :

Je désire exprimer ma profonde et vive reconnaissance à mon encadrant et directeur de thèse, Monsieur Amine HARRANE, ainsi qu'à mon co-encadrant Monsieur Mahmoud BELALIA, pour m'avoir offert l'opportunité de travailler sur ce projet. Je leur suis reconnaissant pour leur patience, leur encouragement, leurs conseils et leur soutien au cours des quatre dernières années.

Mes sincères remerciements vont à Monsieur Aissa BELOUATEK, professeur à l'Université de Mostaganem, pour avoir accepté d'examiner mon travail de recherche et pour l'honneur qu'il me fait en présidant mon jury de thèse. Je tiens également à exprimer ma gratitude à Monsieur Rachid MEGHABAR, professeur à l'Université d'Oran 1, Monsieur Youcef BOUHADA, professeur à l'Université de Mascara, et Monsieur Charef HARRATS, professeur à l'Université de Mostaganem, pour leur précieuse contribution dans l'examen et l'évaluation de mon travail. Je souhaite exprimer toute ma reconnaissance et mes sincères remerciements à :

- Dr Fadila NEMCHI directrice de Laboratoire Structure, Elaboration et Application des Matériaux Moléculaires (SEA2M).
- Dr Djahira HAMED, ingénieur au laboratoire des micro-organismes bénéfiques, des aliments fonctionnels et de la santé (LMBAFS), Faculté des sciences naturelles et de la vie, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem.
- Pr Mohamed BOUOUDINA, Pr Toufik SAHRAOUI, Dr Houdhaifa DERDAR, Mme Sara BENDJELLOUL, Dr Asma Nourelhouda SID, Pr Charef HARRATS et Pr Ahmed BELHAKEM pour leur énorme aide tout au long de la réalisation de ce travail.
- Au Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico – Chimiques (CRAPC).
- Aux ingénieurs de laboratoires : Hasna, Rabia, Amina, Hmida et Touatiya.

Mes remerciements vont enfin à toute l'équipe du laboratoire de SEA2M, et à Badro, Mounir, Amine, Halima, Amina, Leila, sihem² et latifa que chacun parmi eux reçoit mes vifs remerciements.

Merci à tous

Liste des Tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 1.	Gamme de température de gélatinisation de l'amidon [28].....	12
Tableau 2.	Modifications chimiques représentatives de l'amidon.	13
Tableau 3.	Amidon modifié antimicrobien et ses activités.	40
Tableau 4.	Résumé des matrices d'amidon incorporant des composés bioactifs.	42
Tableau 5.	Plan d'expérience Box-Behnken et valeurs de réponse pour le degré de substitution.	50
Tableau 6.	Paramètres structuraux et nanostructuraux de la Maghnite et de la Maghnite-H ⁺ .63	
Tableau 7.	Plan d'expérience Box-Behnken et valeurs de réponse pour le degré de substitution.	65
Tableau 8.	Analyse de la variance (ANOVA) pour les éléments du paramètre de Box - Behnken.....	66
Tableau 9.	Les valeurs de zone d'inhibition des échantillons pour chaque souche bactérienne.	88

*Liste des figures et des
schémas*

Figure	Titre	Page
Figure 1.	La structure semi cristalline de l'amidon.	10
Figure 2.	Structure chimique de cellulose.	11
Figure 3.	Les structures d'amylose (a) et d'amylopectine (b).	11
Figure 4.	Procédé général pour l'extraction de la rosin d'arbre de pain.	18
Figure 5.	Structure chimique de la rosin.	18
Figure 6.	Les modifications chimiques pontentielles de la rosin.	19
Figure 7.	La structure des phyllosilicates 2:1 [6].	29
Figure 8.	Structure de la Montmorillonite, adaptée de [8].	30
Figure 9.	Paroi bactéries à <i>Gram négatif</i>	38
Figure 10.	Paroi bactéries à <i>Gram positif</i>	39
Figure 11.	La forme de base des bactéries.	39
Figure 12.	Mécanismes de piégeage du DPPH par un antioxydant (R:H).	42
Figure 13.	Procédure de préparation de la Maghnite-H ⁺	48
Figure 14.	Nanoparticules d'amidon estérifiées avec de l'acide rosin catalysées par Maghnite-H ⁺ . Comme le montre la figure 13, seul l'OH en position 6 a réagi ; pendant ce temps, les deux groupes hydroxyles aux positions 2 et 3 peuvent également être mis à réagir.	49
Figure 15.	Technique d'ensemencement.	52
Figure 16.	La technique de mesure du diamètre de la zone d'inhibition de croissance.	53
Figure 17.	Spectromètre Infrarouge (Shimadzu 1240) à transformée de Fourier).	53
Figure 18.	Spectromètre RMN (Bruker advance III HD).	54
Figure 19.	Dispositif de mesure DSC et ATG (Discovery SDT650).	55
Figure 20.	Spectrophotomètre UV/Visible (Specord 210 plus).	55
Figure 21.	Diffraction des rayons X (Effort DISCOVER Bruker D4).	56
Figure 22.	Microscope Electronique à Balayage (JEOL 700F).	57
Figure 23.	Analyseur de nanoparticules (SZ-100V2).	58
Figure 24.	Spectre IRTF de Maghnite brute et Maghnite-H ⁺	62
Figure 25.	Diffractogrammes DRX d'une Maghnite brute et d'une Maghnite traitée avec acide (H ₂ SO ₄).	64
Figure 26.	L'effet du rapport molaire de substrat sur la synthèse de SNPs-Rosin.	65
Figure 27.	a) Graphiques de diagnostic du modèle quadratique utilisé pour la réponse estimée de la synthèse réelle des nanoparticules d'amidon estérifié par rapport à la réponse prédite. Surface de réponse et contours montrant l'effet de la température de réaction (X ₁), du temps de réaction	

(X ₂) et de la quantité de catalyse (X ₃) sur le degré de substitution DS. (b) Surfaces de réponse et lignes de contour de DS en fonction de X ₁ et X ₂ . (c) Surface de réponse et lignes de contour de DS en fonction de X ₁ et X ₃ . (d) Surface de réponse et lignes de contour de DS en fonction de X ₂ et X ₃	71
Figure 28. L'effet temps de réaction (a), de la température (b), et du pourcentage de Magnite-H ⁺ (m/m par rapport aux SNPs) sur la synthèse des SNP-Rosin (c).	74
Figure 29. Mécanisme de réaction de la rosin des nanoparticules d'amidon catalysée par la Magnite-H ⁺	75
Figure 30. Spectres IRTF (a) amidon natif et nanoparticules d'amidon, (b) acide rosin et (c) nanoparticules d'amidon estérifié.	77
Figure 31. Spectre RMN ¹ H de (a) nanoparticules d'amidon, (b) nanoparticules d'amidon estérifié.	79
Figure 32. Diffraction des rayons X de l'amidon natif et des nanoparticules d'amidon (SNPs) avant et après estérification	80
Figure 33. (a) Courbes d'analyse thermogravimétrique (ATG), (b) dérivée des courbes ATG, et (c) et calorimétrie à balayage différentiel (DSC) de l'amidon natif, nanoparticules d'amidon (SNPs) avant et après estérification avec de l'acide rosin.	82
Figure 34. Images de MEB et taille des particules (nm) : (a) amidon natif, (b) nanoparticules d'amidon (SNP) et (c) nanoparticules d'amidon estérifiées (DS=0.141).	86
Figure 35. (a) Mécanisme de réaction du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) avec l'antioxydant et (b) activité de piégeage du DPPH des SNPs et des SNPs estérifiés.	87
Figure 36. Activité antibactérienne des SNPs-Rosin sur diverses souches bactériennes avec différents degrés de substitution. (a) Activité antibactérienne des SNPs-Rosin contre Candida albicans, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus cereus, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus..	92
Figure 37. Mécanisme des SNPs-Rosin pour détruire la bactérie.	93

Schéma	Titre	Page
Schéma 1.	Procédure de la préparation de l'amidon nanoparticules par hydrolyse acid	16
Schéma 2.	La polycondensation de caprolactone avec polyethylene glycole par la Magnite-H ⁺	32
Schéma 3.	La synthèse de Rosin avec l'alcool polyvinylique par la Magnite-H ⁺	32
Schéma 4.	La polycondensation de D, L-lactide avec polyethylene glycole par la Magnite-H ⁺	33

Schéma 5. La polycondensation de acide D, L-lactique par la Maghnite-H⁺ 33

Liste des abréviations

Liste des abréviations

SNPs : Amidon nanoparticules

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

AGU : Unité d'anhydroglucose

DS: Degré de substitution

Nano: Nanocomposite

CFU: Unités formant des colonies

ATCC: American Type Culture Collection

IRTF: Infrarouge à Transformée de Fourier

RMN ¹H : Résonance Magnétique Nucléaire du proton

TMS : Tetramethylsilane

ppm : Partie par million

CuKa : (radiation) Type de rayons X

DRX : Diffractomètre à rayons X

ATG : Analyse Thermogravimétrique

DSC : Calorimétrie différentielle à balayage

UV: ultraviolet

RSM : Méthodologie de surface de réponse

USA: United States of America

T_f: Température de fusion

MEB : Microscope Electronique à Balayage

DLS : Diffusion dynamique de la lumière

JCPDS : Joint Committee on Powder Diffraction Standards

ANOVA : Analyse de la variance

R²: Coefficient de corrélation

R²_{adj}: Coefficient de corrélation ajusté

P-valeur : Valeur de probabilité

F-valeur : Valeur critique

CV : Coefficient de variance

IC₅₀: Concentration inhibitrice demi-maximale

±SD : Ecart type

CNF: Cellulose nanofibre

PVA: Polyvinyl alcohol

TPP : Tripolyphosphate

Table des matières

DEDICACE.....	iii
REMERCIEMENT.....	iv
Liste des Tableaux.....	v
Liste des figures et des schémas.....	vi
Liste des abréviations	vii
Introduction Générale.....	1
Références bibliographiques.....	5
Chapitre I Matériaux biosourcés (Amidon et Rosin).....	7
I.Introduction.....	8
II.Polymères.....	8
III.L'amidon natif et ses propriétés.....	9
III.1. Généralités sur l'amidon.....	9
III.2. Structure moléculaire de l'amidon.....	9
III.3. Structure chimique de l'amidon.....	10
IV. Modification chimique de l'amidon.....	12
IV.1 Ethérification.....	14
IV.2 Estérification.....	14
IV.3 Réticulation.....	14
IV.4 Hydrolyse acide.....	15
V. Nanocristaux d'amidon et nanoparticules d'amidon.....	15
V.1 Préparation et applications des nanoparticules d'amidon.....	16
V.2 Applications des nanoparticules d'amidon.....	17
VI. Généralités sur la Rosin.....	17
VI.1. Définition et structure chimique.....	17
VI.2. Applications et propriétés physico-chimiques.....	19
VI.3. Les modifications chimiques sur la rosin.....	19

Références bibliographiques.....	20
Chapitre II Propriétés catalytiques de la Maghnite-H ⁺	27
I. Introduction.....	28
II. Généralités sur les argiles.....	28
II.1. Structure et propriétés des phyllosilicates.....	28
II.2. Structure montmorillonitique.....	29
II.3. Propriétés des argiles.....	30
II.3.1 Capacité d'échange cationique.....	30
II.3.2 Taux de gonflement.....	30
II.3.3 La surface spécifique.....	30
III. Identification et activation de la Maghnite.....	30
IV. Activation de la Maghnite.....	31
V. Quelques réactions catalysées par Maghnite-H ⁺	31
Références bibliographiques.....	34
Chapitre III Activité antimicrobienne et antioxydante.....	36
I. Introduction.....	37
II. Activité antimicrobienne.....	37
II.1 La classification des bactéries.....	37
II.1.1 Bactéries à Gram négatif.....	37
II.1.2 Les Bactéries à Gram Positif.....	38
II.2 Morphologie microbienne.....	39
II.3 Agents antimicrobiens chimiques.....	40
II.4 Amidon modifié antimicrobien et ses activités.....	40
III. Activité antioxydant.....	41
III.1 Les antioxydants végétaux.....	41
III.2 La capacité antioxydante.....	41
III.3 Essai DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).....	42

III.4 Amidon modifié antioxydant et ses activités.....	42
Références bibliographiques.....	43
Chapitre IV Matériel et Méthodes.....	46
I. Les réactifs et matériaux utilisés.....	47
II. Préparation de la maghnite-H ⁺	47
III. Préparation de nanoparticules d'amidon SNPs par hydrolyse acide.....	48
IV. Estérification des nanoparticules d'amidon avec l'acide rosin.....	48
IV.1 La synthèse d'estérification.....	48
IV.2 Détermination du degré de substitution (DS).....	49
IV.3 Conception expérimentale et analyse statistique.....	50
V. Essai d'activité antioxydante (activité de piégeage des radicaux DPPH).....	51
VI. Etude de l'activité antimicrobienne des SNP – rosin.....	51
VI.1 Revivification des souches bactériennes.....	51
VI.2 Préparation de l'inoculum.....	51
VI.3 Préparation des milieux de culture avec des suspensions bactériennes.....	52
VI.4 Technique de l'aromatogramme (méthode de Vincent).....	52
VI.5 Lecture des résultats.....	52
VII. Caractérisation physicochimique.....	53
VII.1 Infra Rouge à Transformée de Fourier (IRTF).....	53
VII.2 Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).....	54
VII.3 Analyse Thermogravimétrique (ATG).....	54
VII.4 Spectrophotomètre UV/Visible.....	55
VII.5 Analyse par diffraction des rayons X.....	56
VII.6 Microscope Electronique à Balayage (MEB).....	56
VII.7 Analyseur de nanoparticules.....	57
Références bibliographiques.....	59
Chapitre V Résultats et Discussions.....	61

I. Caractérisations de Maghnite-H ⁺	62
I.1. Analyse spectroscopie Infra Rouge à Transformée de Fourier (IRTF).....	62
I.2. Analyse diffraction des rayons X (DRX).....	63
II. Optimisation de la synthèse d'amidon nanoparticules estérifiées avec la Rosin.....	64
II.1. Le rapport molaire (rosin : SNPs).....	64
II.2. Analyse statistique des données expérimentales ANOVA par le logiciel Design-Expert.	66
III. Le mécanisme probable de la réaction.....	74
IV. Propriétés structurales et morphologiques.....	76
IV.1. Analyse IRTF.....	76
IV.2. Analyse RMN.....	78
IV.3. Analyse DRX.....	79
IV.4. Analyse de la stabilité thermique (ATG-DSC).....	80
IV.5. Observations du MEB.....	83
VI. Activités biologiques.....	86
VI.1. Activité antioxydante.....	86
VI.2. Activité antimicrobienne.....	88
Conclusion.....	93
Références bibliographiques.....	94
Conclusion Générale.....	98

Annexe

Introduction Générale

Introduction Générale

Dans le cadre de la valorisation de la biomasse et du développement de nouveaux matériaux biodégradables, de nombreuses études ont été menées sur l'amidon, un polymère polysaccharidique naturel et abondant. Ce dernier constitue un matériau renouvelable, biodégradable, non toxique et peu coûteux, pouvant être utilisé pour la fabrication de produits alimentaires [1, 2]. L'amidon représente l'organe de réserve énergétique des plantes supérieures et se présente sous forme de grains micrométriques de poudre blanche [3]. Des procédures telles que l'hydrolyse acide/enzymatique, l'irradiation gamma, la nanoprecipitation simple, l'ultrasonification et l'homogénéisation sont souvent utilisées pour synthétiser des nanoparticules d'amidon (SNPs) [4], présentant des propriétés physicochimiques et biologiques différentes de celles de l'amidon natif, notamment une solubilité et une surface de réaction plus élevées [5].

Dans cette étude, l'hydrolyse à l'acide HCl a été adoptée pour synthétiser des nanoparticules d'amidon de pomme de terre. Les propriétés des SNPs ainsi préparées, telles que la teneur en amylose, la rhéologie, la forme des particules et la distribution des tailles, ont été améliorées par rapport à leurs homologues en vrac. Les nanoparticules d'amidon sont généralement utilisées pour la formation de nanoémulsions, de films composites à base d'amidon, pour l'encapsulation et l'administration de médicaments [6].

L'amidon possède trois groupes hydroxyle à l'intérieur de l'unité α -D-glucopyranose, offrant ainsi de nombreuses possibilités de réactions de couplage. Les réactions d'oxydation, d'estérification et d'éthérification ont été développées depuis plus de 50 ans [7]. Dans ce travail, la modification chimique consistait à transformer les groupes hydroxyles polaires présents à la surface des nanoparticules d'amidon en groupes esters. L'estérification de l'amidon implique des réactions en chaîne avec des acides, des chlorures d'acides organiques, des sels d'acides inorganiques et des anhydrides [8]. Pour cette synthèse, l'acide colophanique a été utilisé comme acide naturel estérifié avec les nanoparticules d'amidon de pomme de terre. Ainsi, le diméthylsulfoxyde (DMSO) a réussi à remplacer les solvants toxiques en plus des nanoparticules d'amidon, l'acide colophanique étant complètement soluble dans le DMSO [9].

Dans notre recherche, nous avons étudié la synthèse de nanoparticules d'amidon estérifiées avec de l'acide colophanique en utilisant un catalyseur solide cationique appelé "Maghnite-H⁺".

Introduction Générale

La Maghnite-H⁺ est un catalyseur respectueux de l'environnement qui peut être utilisé en présence de solvant ou dans des conditions de masse pour respecter les principes de la chimie verte. La maghnite est une argile aluminosilicate montmorillonite, une substance d'origine naturelle qui peut être considérée comme une source de protons à faible coût et à long terme. Les montmorillonites sont des argiles qui possèdent des sites acides de Bronsted et de Lewis. Sous des conditions acides, ces argiles peuvent fournir des catalyseurs extrêmement actifs pour les réactions catalysées par les acides, ainsi que des substrats solides pour divers réactifs inorganiques et organiques [10].

Les recherches actuelles ont renouvelé l'intérêt pour l'encapsulation et le conditionnement des polymères antimicrobiens, notamment dans les domaines de la santé, de la médecine et de l'alimentation [11]. Les biopolymères antimicrobiens sont parmi les matériaux actifs avancés les plus attrayants pour protéger les surfaces contre les micro-organismes tels que les bactéries, les germes, les champignons et les parasites [12]. Ces dernières années, la création de matériaux antimicrobiens à base d'amidon a suscité un grand intérêt, tout comme leur utilisation potentielle dans d'autres domaines. Pour modifier la surface de l'amidon et lui conférer des propriétés antimicrobiennes, diverses approches ont été proposées [13]. Zhao et al. ont décrit la modification de l'amidon à l'aide de polycaprolactone (PCL) pour obtenir une activité antimicrobienne par un procédé de modélisation de dépôt par fusion [14]. Une autre étude a décrit l'amélioration de l'activité antimicrobienne des nanoparticules d'argent bioactives (AgNPs) encapsulées dans l'amidon. Cependant, bien que les AgNPs aient un potentiel antibactérien, leur utilisation est limitée en raison de leur faible stabilité ou de leur toxicité excessive [15]. Par conséquent, il est essentiel d'améliorer les propriétés antimicrobiennes des AgNPs en incorporant un biopolymère. Dans notre travail, nous proposons une méthode facile et écologique pour produire des SNP modifiées avec de la colophane, un composé antimicrobien naturel.

De plus, les antioxydants sont des substances qui inhibent la formation d'espèces réactives de l'oxygène, minimisant ainsi le stress oxydatif dans les cellules, ce qui les rend efficaces dans le traitement de divers troubles humains tels que le cancer, les maladies inflammatoires et les maladies cardiovasculaires [16, 17]. Dans cette étude, les nanoparticules d'amidon synthétisées par estérification avec de l'acide rosin ont été examinées pour leur activité antioxydante à l'aide de la méthode de piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

Cette thèse est divisée en cinq chapitres :

Introduction Générale

Le premier chapitre est consacré aux études bibliographiques sur l'amidon et ses modifications chimiques, ainsi que sur l'acide colophanique (Rosin).

Le deuxième chapitre est consacré à l'étude de la maghnite et de son activité catalytique dans les réactions chimiques.

Le troisième chapitre aborde les principes fondamentaux des bactéries, les différentes variétés bactériennes, l'action antibactérienne et les antioxydants, afin de présenter les utilisations potentielles de l'amidon chimiquement modifié.

Dans le quatrième chapitre, nous discutons des procédures et des approches expérimentales utilisées tout au long de ce travail.

Enfin, dans la dernière section (chapitre V), les résultats de plusieurs expériences sont fournis, notamment la synthèse et la caractérisation physico-chimique de l'amidon chimiquement modifié, suivies d'une étude des activités antioxydantes et antibactériennes (in vitro) du produit synthétisé.

Le manuscrit se termine par une conclusion générale et la présentation de concepts importants inspirés des avancées futures découlant des résultats de ce travail.

Références bibliographiques

- [1] A. Hulwani and M. Zain, “Biodegradation Behaviour of Thermoplastic Starch : The Roles of Carboxylic Biodegradation Behaviour of Thermoplastic Starch: The Roles of Carboxylic Acids on Cassava Starch,” *J. Polym. Environ.*, vol. 0, no. 0, p. 0, 2018, doi: 10.1007/s10924-017-0978-5.
- [2] Odian, G.: Principles of Polymerization. Wiley, Hoboken, vol. 4, p. 350, 2004.
- [3] F. Zhu, “Encapsulation and delivery of food ingredients using starch based systems,” *Food Chem.*, no. February, 2017, doi: 10.1016/j.foodchem.2017.02.101.
- [4] J. Bras and A. Dufresne, “Starch Nanoparticles : A Review,” pp. 1139–1153, 2010.
- [5] P. H. Campelo, A. S. Sant’Ana, and M. T. Pedrosa Silva Clerici, “Starch nanoparticles: production methods, structure, and properties for food applications,” *Curr. Opin. Food Sci.*, vol. 33, no. i, pp. 136–140, 2020, doi: 10.1016/j.cofs.2020.04.007.
- [6] A. Rodrigues and M. Emeje, “Recent applications of starch derivatives in nanodrug delivery,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 87, no. 2, pp. 987–994, 2012, doi: 10.1016/j.carbpol.2011.09.044.
- [7] Q. Chen *et al.*, “Recent progress in chemical modification of starch and its applications,” *RSC Adv.*, vol. 5, no. 83, pp. 67459–67474, 2015, doi: 10.1039/c5ra10849g.
- [8] A. O. Ashogbon and E. T. Akintayo, “Recent trend in the physical and chemical modification of starches from different botanical sources : A review,” pp. 41–57, 2014, doi: 10.1002/star.201300106.
- [9] Z. A. Syahariza, E. Li, and J. Hasjim, “Extraction and dissolution of starch from rice and sorghum grains for accurate structural analysis,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 82, no. 1, pp. 14–20, 2010, doi: 10.1016/j.carbpol.2010.04.014.
- [10] S. Lycourghiotis, D. Makarouni, E. Kordouli, K. Bourikas, C. Kordulis, and V. Dourtoglou, “Transformation of limonene into high added value products over acid activated natural montmorillonite,” *Catal. Today*, vol. 355, pp. 757–767, 2020, doi: 10.1016/j.cattod.2019.04.036.
- [11] Y. Zhang *et al.*, “Engineering of hollow polymeric nanosphere-supported imidazolium-based ionic liquids with enhanced antimicrobial,” vol. 15, no. 6, pp. 5556–5568, 2022.

- [12] M. Balouiri, M. Sadiki, and S. K. Ibnsouda, “Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review \$,” *J. Pharm. Anal.*, vol. 6, no. 2, pp. 71–79, 2016, doi: 10.1016/j.jpha.2015.11.005.
- [13] R. Syafiq, S. M. Sapuan, M. Y. M. Zuhri, R. A. Ilyas, A. Nazrin, and S. F. K. Sherwani, “Antimicrobial Activities of Starch-Based Biopolymers and Biocomposites Incorporated with Plant Essential Oils : A Review,” 2020.
- [14] Y. Zhao, J. Yang, X. Ding, X. Ding, S. Duan, and F. Xu, “Bioactive Materials Polycaprolactone / polysaccharide functional composites for low- temperature fused deposition modelling,” *Bioact. Mater.*, vol. 5, no. 2, pp. 185–191, 2020, doi: 10.1016/j.bioactmat.2020.02.006.
- [15] K. Saravanakumar *et al.*, “International Journal of Biological Macromolecules Synthesis , characterization , and cytotoxicity of starch-encapsulated biogenic silver nanoparticle and its improved anti-bacterial activity,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 182, pp. 1409–1418, 2021, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.05.036.
- [16] R. Article, “Antioxidant activity of food constituents : an overview,” pp. 345–391, 2012, doi: 10.1007/s00204-011-0774-2.
- [17] J. Dai and R. J. Mumper, “Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties,” pp. 7313–7352, 2010, doi: 10.3390/molecules15107313.

CHAPITRE I

Matériaux biosourcés (Amidon et Rosin)

I. Introduction

Les matériaux biosourcés reçoivent beaucoup d'attention en tant qu'alternative pour remplacer les produits synthétiques dérivés du pétrole dans la formation de plusieurs produits à valeur ajoutée.

Dans le chapitre I intitulé "Les matériaux biosourcés (Amidon et Rosin)", nous commençons par définir la notion de "polymère". Ensuite, nous abordons l'amidon natif et ses propriétés physico-chimiques ainsi que la modification chimique de l'amidon. Nous examinons également le procédé de préparation de nanoparticules d'amidon par hydrolyse acide et ses applications. Enfin, nous présentons une vue d'ensemble de la rosin, ses applications et ses propriétés physico-chimiques, ainsi que sa modification chimique.

II. Polymères

Le mot polymère est dérivé du grec "poly", qui signifie "nombreux", et "meros", qui signifie "parties" [1]. Le terme "macromolécule" peut également être utilisé pour décrire un polymère composé d'unités structurales répétitives liées par des liaisons covalentes [1, 2].

La science des polymères a connu ses développements les plus importants dans les années 1930, lorsque les premiers polymères naturels ont été produits [3]. Aujourd'hui, la science des polymères est un domaine de recherche très important et la production de matériaux polymères est l'une des plus grandes activités industrielles, médicales, alimentaires et pharmaceutiques [4].

Les polymères naturels ou biopolymères sont ceux qui se forment dans l'environnement naturel par des organismes vivants. Ils sont généralement extraits de plantes ou d'animaux [5, 6]. Les protéines, le caoutchouc naturel et les polysaccharides sont tous des exemples de polymères naturels largement utilisés dans la vie moderne [7]. Les biopolymères suscitent actuellement un intérêt considérable en tant qu'alternative aux plastiques à base de pétrole dans certaines applications [8, 9]. Les avantages les plus importants de l'utilisation de polymères naturels, en particulier ceux basés sur les protéines et les polysaccharides, sont qu'ils se dégradent plus facilement dans l'environnement que les polymères à base de pétrole et qu'ils sont également renouvelables [6, 10, 11]. L'humanité utilise des biopolymères naturels depuis des millénaires, tels que le bois, le cuir, la laine, le coton et la soie.

III. L'amidon natif et ses propriétés

III.1. Généralités sur l'amidon

L'amidon est le polysaccharide de réserve le plus abondant chez les plantes. Les principales sources d'extraction de l'amidon aujourd'hui sont les tubercules, les racines et les graines, principalement du maïs, du tapioca, de la pomme de terre, du blé et du riz. L'amidon peut facilement être extrait avec une grande pureté, ce qui donne une poudre blanche, insipide et inodore. Ces bonnes propriétés organoleptiques en font une ressource intéressante pour de multiples applications, non seulement dans l'alimentation humaine et animale, mais aussi comme matière première pour des applications non alimentaires telles que la fabrication de pâte et de papier, d'adhésifs et de bioéthanol. De plus, l'amidon est biodégradable et peut présenter un comportement thermoplastique [12].

III.2. Structure moléculaire de l'amidon

Les granules d'amidon sont semi-cristallins et se composent d'amorphes et des lamelles cristallines. Les chaînes d'amylopectine sont regroupées en grappes, ce qui contribue à la formation de ces lamelles amorphes et cristallines [13]. La figure 1 présente la structure semi-cristalline de l'amidon décrite ci-dessus.

Le polymorphisme de l'amidon est déterminé par le mode de l'amylopectine et l'emballage d'eau. L'amidon de type A a une double hélice d'amylopectine relativement compacte avec une faible teneur en eau, tandis que les doubles hélices de l'amidon de type B ont une structure plus lâche et une teneur en eau plus élevée [14]. Le polymorphe de type C, qui consiste en une combinaison de types A et B, a également été observé dans de nombreuses études [15,16]. Le polymorphe de type C est encore divisé en C_a, C_c et C_b selon que le polymorphe de type C est similaire au polymorphe de type A ou B [17]. Il a été rapporté par de nombreux chercheurs que les amidons de patate douce possèdent les polymorphes A, C_a et C_b [15-17].

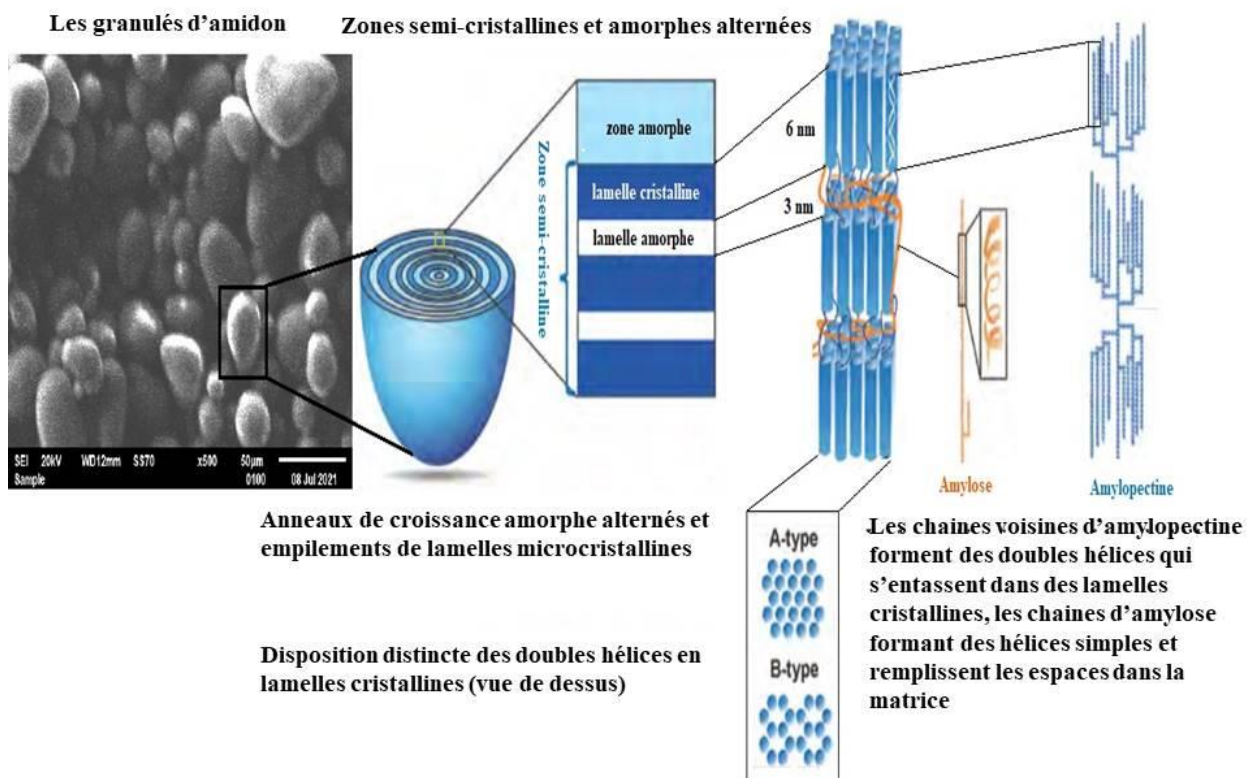


Figure 1. La structure semi cristalline de l'amidon.

III.3. Structure chimique de l'amidon

L'amidon et la cellulose sont deux des polysaccharides les plus abondants et sont tous deux des polymères d'homoglycanes [18, 19]. Le D-glucose est l'unité monomérique dans l'amidon et la cellulose. Cependant, ils présentent des propriétés mécaniques et chimiques très différentes en raison de petites différences dans leur structure [20]. Dans la cellulose, le D-glucose du monomère est lié à la position (1-4), comme indiqué dans la Figure 02. L'autre monomère de glucose tourne de 180° autour de l'axe de la chaîne polymérique en raison du signe qui indique que l'oxygène de liaison est en position équatoriale [21]. Par la suite, la branche alcool alkyl provoque une interaction entre les chaînes cellulosiques par forte liaison hydrogène, ce qui donne une structure mécanique solide.

L'amidon est principalement composé d'amylose et d'amylopectine. Dans l'amylose, l'atome d'oxygène de liaison est en position axiale, ce qui aide les unités de glucose monomère à s'orienter les unes par rapport aux autres, indiquant que le polysaccharide d'amidon est relié par une liaison glycosidique (1-4). Par conséquent, les chaînes d'amidon interagissent en formant une hélice. L'amylopectine est une version ramifiée de l'amylose, où la liaison glycosidique (1-6)

forme une branche [22, 23]. Les rapports et les distributions d'amylose et d'amylopectine varient dans chaque amidon en fonction de sa source [24, 25]. Le rapport d'amylose et d'amylopectine de différentes plantes affecte les propriétés de l'amidon [26]. En revanche, contrairement à l'amylose, la cellulose ne peut pas être ramifiée en raison de la forte structure qui bénéficie d'une forte liaison hydrogène.

Les structures de l'amylose et de l'amylopectine sont illustrées respectivement dans les figures 3 (a) et (b). Ces structures peuvent être décomposées par une enzyme spécifique qui dégrade le polymère. Certains organismes digèrent l'amidon en utilisant les enzymes amylase et maltase pour le convertir en glucose, afin de produire de l'énergie. En revanche, l'ordre interne de l'amidon peut être perdu par chauffage en présence d'eau, ce qui peut détruire la structure et disperser les chaînes polymères dans l'eau.

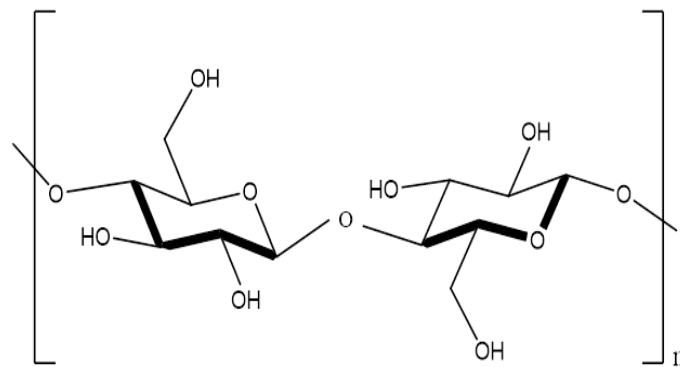


Figure 2. Structure chimique de cellulose.

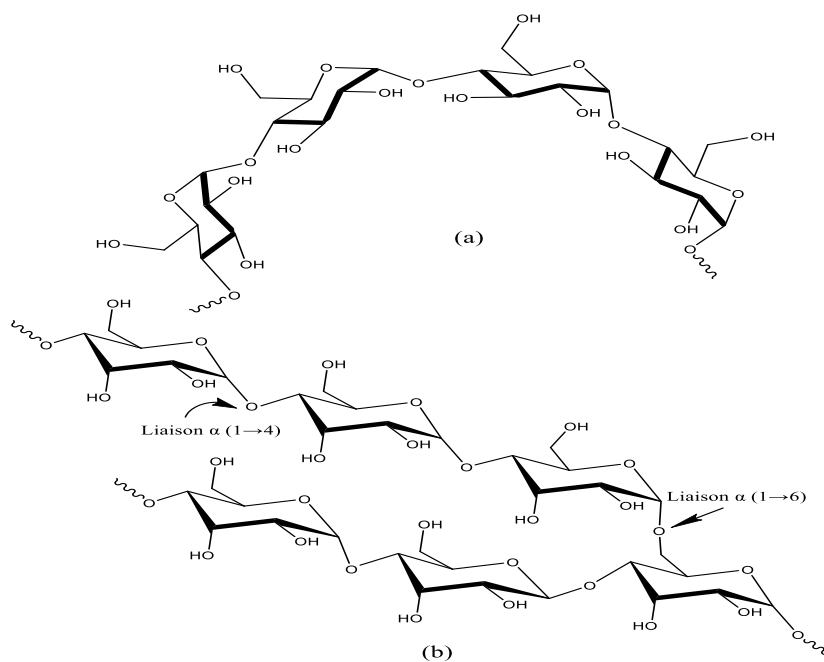


Figure 3. Les structures d'amylose (a) et d'amylopectine (b).

L'amidon est insoluble dans l'eau froide, mais il est très hygroscopique et lie l'eau de manière réversible. Le chauffage d'une solution d'amidon entraîne une perte de liaison hydrogène à l'intérieur du granule d'amidon et l'amidon commence à se gélatiser. Les granules d'amidon gonflent rapidement et atteignent plusieurs fois leur volume initial. Les molécules d'amylose linéaire sont lessivées des granules dans la solution. La suspension résultante contient un mélange de molécules d'amylose linéaires, de granules gonflés et de fragments de granules et, selon la quantité d'eau présente, formera une pâte épaisse ou un gel. La gamme de température de gélatinisation peut être définie comme la température à laquelle le gonflement des granules commence et s'étend jusqu'à la température à laquelle presque tous les granules sont gélatinisés [28]. La gamme de température de gélatinisation de diverses sources d'amidon est indiquée dans le tableau 1.

Tableau 1. Gamme de température de gélatinisation de l'amidon [28].

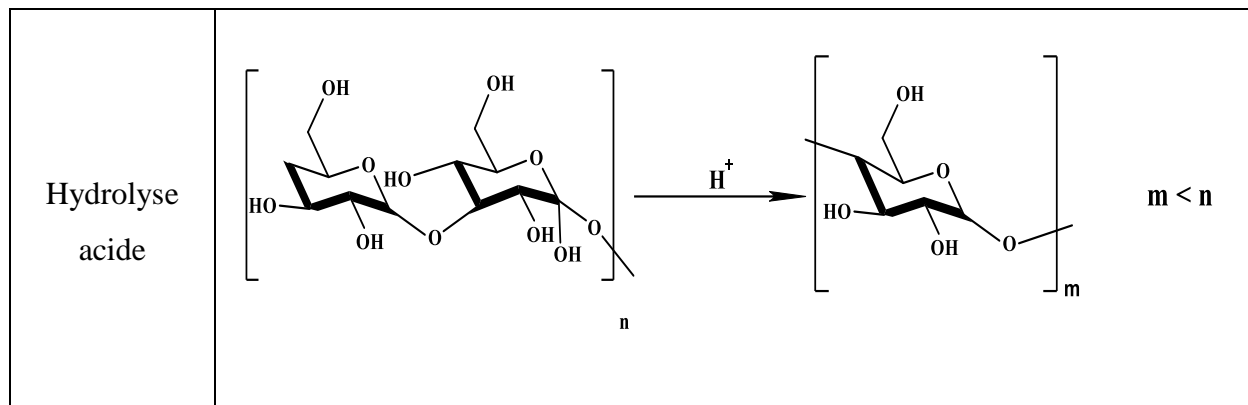
Amidon	Gélatinisation Gamme de température [°C]
Pomme de terre	59-68
Tapioca	58,5-70
Maïs	62-72
Maïs cireux	63-72
Blé	58-64

IV. Modification chimique de l'amidon

Les changements chimiques et fonctionnels par substitution chimique de l'amidon dépendent de la source d'amidon, les conditions de réaction (concentration en réactif, temps de réaction, pH, et présence de catalyseur), types de substituants, degré de substitution et distribution de substituant dans les molécules d'amidon [29]. Certaines réactions de modification chimique de l'amidon sont présentées dans le tableau 2.

Tableau 2. Modifications chimiques représentatives de l'amidon.

Type de modification	Schéma de réaction
Ethérisation	
Estérification	
Réticulation	



IV.1 Éthérisation

Les amidons hydroxypropylés (HPS) sont généralement préparés par éthérisation de l'amidon natif avec de l'oxyde de propylène en présence d'un catalyseur alcalin [30]. L'introduction des groupes hydroxypropyle dans les chaînes d'amidon détruit les liaisons hydrogène inter- et intramoléculaires, affaiblissant ainsi la structure granulaire de l'amidon et entraînant une augmentation de la liberté de mouvement des chaînes d'amidon dans les régions amorphes [30].

IV.2 Estérification

L'estérification de l'amidon implique la conversion des trois groupes hydroxyle disponibles des résidus glucosyle en dérivés alkyle ou aryle. L'acétylation est l'une des méthodes chimiques d'estérification de l'amidon, qui est réalisée avec de l'anhydride acétique ou de l'acétate de vinyle en présence d'un catalyseur alcalin tel que NaOH, Ca(OH)₂, et Na₂CO₃ [31, 32].

La modification de l'amidon avec l'anhydride d'acide dicarboxylique, tel que l'anhydride octényl succinique (OSA), est une forme souhaitable d'estérification de l'amidon. L'OSA peut réagir avec l'amidon pour former de l'amidon OSA contenant à la fois des groupes hydrophiles et hydrophobes [33, 34]. Les polymères amphiphiles ont une large gamme d'applications industrielles, notamment dans l'émulsification, l'encapsulation, la production de films et de revêtements, et la production de gel. Ces dernières années, l'amidon OSA a attiré beaucoup d'attention en raison de sa stabilité souhaitable, de son potentiel d'encapsulation, d'interface, de chaleur, de nutrition et de propriétés rhéologiques [35].

IV.3 Réticulation

La réticulation est une méthode de modification chimique couramment utilisée. L'amidon natif réagit avec divers réactifs tels que le trimétaphosphate de sodium (STMP), le tripolyphosphate

de sodium (STPP), l'épichlorhydrine (ECH) et le chlorure de phosphoryle (POCl_3). En présence de sels neutres et à $\text{pH} > 11$, le POCl_3 est un agent de réticulation efficace [36]. Le STMP est également un agent de réticulation efficace et l'un des additifs alimentaires les plus importants [36]. L'ECH est peu soluble dans l'eau et se décompose partiellement en glycidol ; c'est pourquoi le POCl_3 et le STMP solubles dans l'eau sont souvent utilisés de préférence. En outre, on constate que les réticulations d'ECH sont moins uniformément distribuées que celles de STMP [37]. Dans la réaction de réticulation utilisant ECH et STMP, les deux réactifs attaquent l'intérieur des granules d'amidon, alors que la réticulation avec POCl_3 ne se produit qu'à la surface du granule [38]. Les produits finaux sont généralement divisés en trois catégories en fonction des agents de réticulation utilisés. La première est le monophosphate d'amidon, qui est préparé en estérifiant l'amidon avec de l'acide orthophosphorique, de l'orthophosphate de sodium ou de potassium, ou du STPP. La deuxième catégorie est le diphosphate d'amidon, qui est produit lorsque l'amidon natif réagit avec le STMP ou le POCl_3 . Le troisième type d'amidon réticulé est l'amidon réticulé mixte, qui résulte de la combinaison du monophosphate d'amidon et du diphosphate d'amidon. Le type d'agents de réticulation est le principal déterminant des modifications des propriétés fonctionnelles des amidons traités [39].

IV.4 Hydrolyse acide

Les procédures d'hydrolyse acide / enzymatique, d'irradiation gamma, de nano-précipitation simple, d'ultrasons et d'homogénéisation sont souvent utilisées pour synthétiser des nanoparticules d'amidon (SNPs) [40-43], qui présentent des propriétés physico-chimiques et biologiques distinctes de celles de l'amidon natif, notamment une solubilité et une surface de réaction plus élevées [44]. Dans cette étude, l'hydrolyse avec de l'acide HCl a été adoptée pour synthétiser des nanoparticules d'amidon de pomme de terre. Les propriétés des SNPs ainsi préparées, telles que la teneur en amylose, la rhéologie, la forme des particules et la distribution des tailles, ont été améliorées par rapport à leurs homologues en vrac. Les nanoparticules d'amidon sont généralement utilisées pour la formation de nano-émulsions, de films composites à base d'amidon, pour l'encapsulation et l'administration de médicaments [45-48].

V. Nanocristaux d'amidon et nanoparticules d'amidon

Les nanoparticules d'amidon peuvent être facilement synthétisées par hydrolyse acide ou enzymatique de l'amidon natif. L'hydrolyse acide légère par HCl ou H_2SO_4 entraîne la séparation des régions cristallines. Il est rapporté qu'à basse température (en dessous de la température de gélatinisation), les molécules acides préfèrent hydrolyser les régions amorphes des granules [49,

50]. L'origine de l'amidon et la méthode de formation des nanoparticules affectent les morphologies et les structures cristallines des nanoparticules. Les nanoparticules d'amidon sont sans danger pour la santé humaine et sont de plus en plus utilisées dans des applications industrielles alimentaires et non alimentaires [51, 52].

Les nanocristaux ou nanoparticules d'amidon sont généralement produits dans le but d'être utilisés comme charges dans les matrices polymériques pour améliorer leurs propriétés mécaniques et/ou barrières. Différentes méthodes ont été décrites par différents chercheurs pour formuler des nanoparticules d'amidon : (1) par précipitation [53, 54], (2) en combinant la formation de complexes et l'hydrolyse enzymatique [55], et (3) par microfluidisation [56]. En raison des différences de méthodologies, les nanoparticules d'amidon résultantes ont des caractéristiques et des cristallinités différentes.

V.1 Préparation et applications des nanoparticules d'amidon

Selon la source botanique de l'amidon et les procédures d'isolation utilisées, des nanoparticules d'amidon de tailles et de formes diverses peuvent être synthétisées. Les propriétés morphologiques des nanoparticules d'amidon dépendent de la source botanique de l'amidon, de sa cristallinité et du pourcentage d'amylose et d'amylopectine [57, 58]. La procédure de synthèse des nanoparticules d'amidon par hydrolyse acide est illustrée dans le schéma 1.

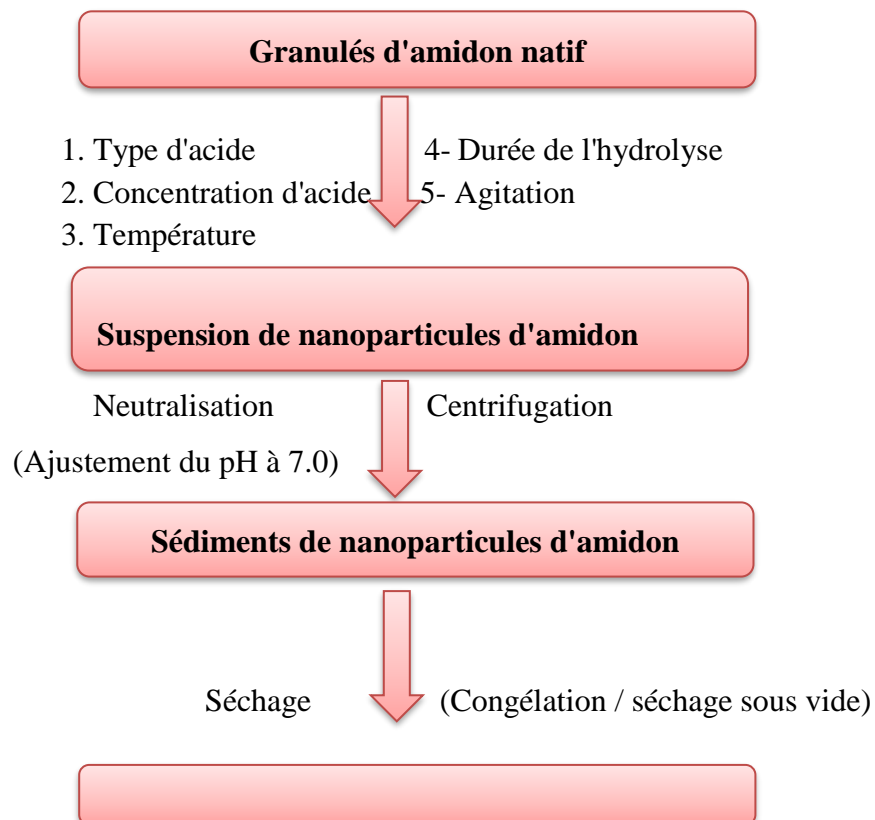


Schéma 1. Procédure de la préparation de l'amidon nanoparticules par hydrolyse acide.

Nanoprécipitation : La nanoprécipitation consiste à ajouter progressivement une solution diluée de polymère à un non-solvant ou à ajouter successivement le non-solvant à la solution de polymère, ce qui conduit à la formation de particules polymères de taille nanométrique [59]. Les avantages comprennent l'obtention de particules nanométriques plus homogènes et une utilisation réduite de solvants toxiques [59, 60].

La nanoprécipitation est une technologie plus prometteuse que les autres méthodes de synthèse, car il s'agit d'une technique simple, peu coûteuse et présentant moins de risques de contamination de l'échantillon [61]. Des études sur les SNPs obtenus par nanoprécipitation ont rapporté une taille de particule dans la gamme de 200 - 700 nm [60], 163 - 216 nm [59] et 60 - 123 nm [61], pour des SNPs d'amidon de maïs, de tapioca et d'amidon de maïs cireux, respectivement.

V.2 Applications des nanoparticules d'amidon

Les SNPs sont importants pour améliorer les propriétés mécaniques, thermiques et de barrière des films polymères végétaux. L'ajout de ces nanoparticules dans les films peut réduire la perméabilité à l'eau [61,62], protégeant ainsi les aliments de l'absorption d'humidité, et améliorer les propriétés mécaniques des films [62], produisant des films plus flexibles et plus résistants aux impacts mécaniques.

Les émulsions alimentaires doivent être stables pendant le stockage et l'utilisation. L'utilisation de stabilisants est essentielle pour maintenir la stabilité de l'émulsion. L'utilisation de SNP comme stabilisant peut être une alternative "verte" pour produire des émulsions stables. Les émulsions de Pickering avec SNPs et amidon de maïs / huile de haricot du sol [63] et amidon de taro / triglycérides à chaîne moyenne [64] ont montré une meilleure stabilité physique et une meilleure rétention des composés, principalement en raison de la production de particules plus petites.

L'utilisation de SNPs dans des systèmes encapsulés peut être une alternative intéressante pour l'application de nouveaux matériaux comme supports de composés bioactifs. Santoyo-Aleman et al. [65] ont étudié la production de nanoparticules vertes d'amidon de banane par nanoprécipitation avec l'addition d'acétone et d'éthanol et ont trouvé une efficacité d'encapsulation supérieure à 95 % pour le β -carotène.

VI. Généralités sur la Rosin

VI.1. Définition et structure chimique

Les colophanes (rosins) sont la forme solide des résines obtenues à partir de pins ou de types de plantes similaires appartenant à la famille des conifères. Ils sont produits en chauffant la résine

liquide pour vaporiser les terpènes volatils, qui sont un grand groupe d'hydrocarbures insaturés. La colophane est semi-transparente, et sa couleur varie du jaune pâle au noir [66].

La résine est d'abord extraite par une procédure appelée "tapping", qui consiste à faire une incision sur l'arbre, puis à récupérer la résine qui en sort (Figure 4). Cette dernière est composée d'environ 70 % de colophane, 15 % de térébenthine et 15 % de débris et d'eau [67, 68].

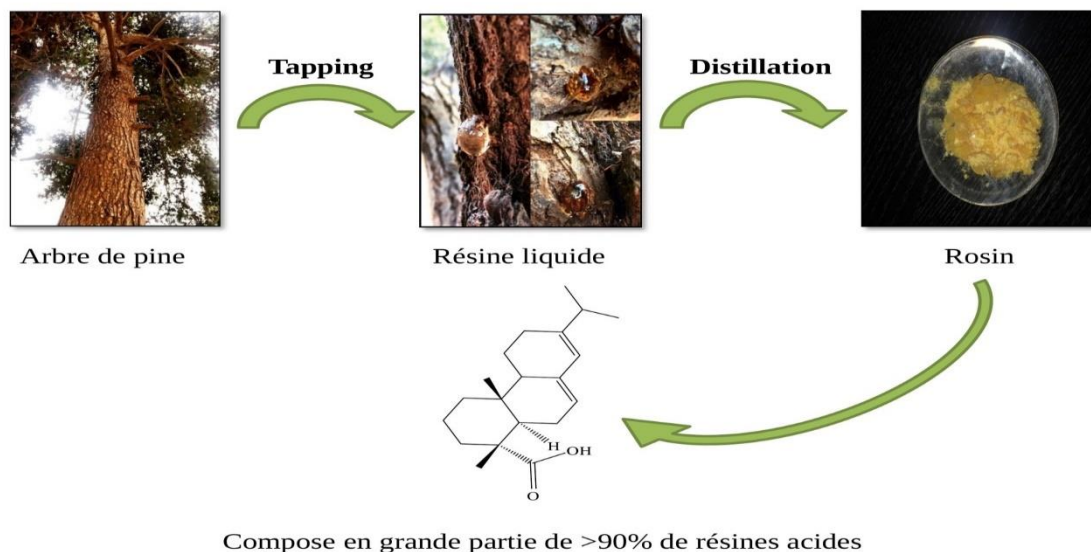


Figure 4. Procédé général pour l'extraction de la rosine d'arbre de pain.

La rosine est constituée d'une variété de résines acides, dont la plus courante et la plus répandue est l'acide abietique. Ces acides sont des isomères qui se distinguent par des structures cycliques à 20 carbones. Comme on peut le voir sur la figure 5, il y a des doubles liaisons dont le nombre et la position varient, ainsi qu'un seul groupe acide carboxylique. [67, 68].

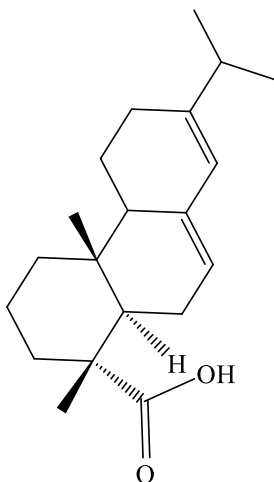


Figure 5. Structure chimique de la rosine.

VI.2. Applications et propriétés physico-chimiques

La résine a une variété d'utilisations dans l'industrie, notamment dans les peintures, les vernis, les adhésifs, les cosmétiques et l'enrobage des médicaments [69]. La gomme et la résine de bois sont également utilisées dans les flux de soudure [70]. Les échantillons de résine sont insolubles dans l'eau alors que certains de leurs composants sont solubles dans l'eau à des valeurs de pH plus élevées. La résine est soluble dans l'alcool, le benzène, l'éther, l'acide acétique glacial, les huiles, les hydroxydes alcalins et la térébenthine [71]. De plus, la résine a un point de ramollissement bas (environ 70°C) et de mauvaises caractéristiques mécaniques (elle est extrêmement cassante à température ambiante).

VI.3. Les modifications chimiques sur la résine

La structure de la résine doit être modifiée pour améliorer ses propriétés intrinsèques. Les doubles liaisons carbone-carbone et la fonction acide carboxylique sont des sites de modification excellents (figure 6). La littérature présente de nombreux exemples de réactions d'estérification ou de cyclo-additions de type diels-alder [72-74]. Shiqin et al. [75] ont décrit une estérification très efficace de la résine et du glycérol catalysée par un nouveau liquide ionique acide de Lewis à base de terre rare (chloroscandinate de 1-butyl-3-méthylimidazolium [BuMeim][Sc₂Cl₇]).

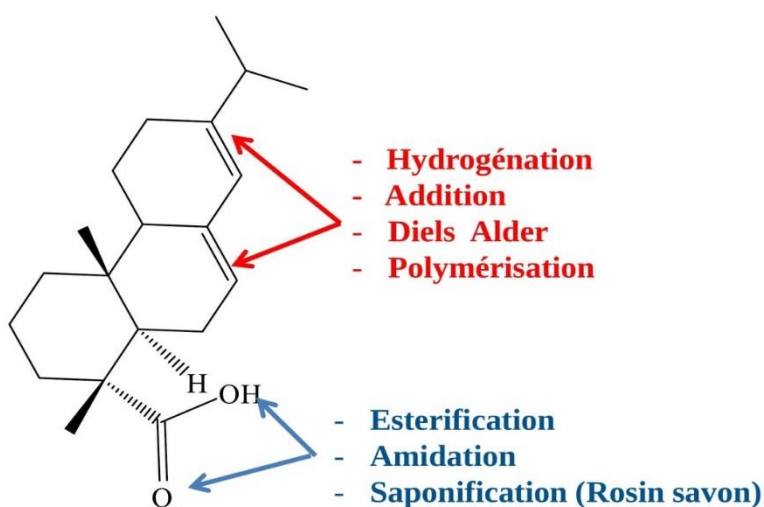


Figure 6. Les modifications chimiques potentielles de la résine.

L'une des façons les plus intéressantes de modifier la colophane est de la coupler avec divers diénophiles par la réaction d'addition de Diels-Alder. Selon la source et les exigences de l'application, différents diénophiles tels que l'anhydride maléique, l'acide acrylique, l'acrylonitrile et l'acide fumarique sont utilisés pour réagir avec la colophane afin d'obtenir des structures chimiques spécifiques et des propriétés intéressantes [75-77].

Références bibliographiques

- [1] Carraher CE. Introduction to polymer chemistry. CRC/Taylor & Francis; 2006.
- [2] GOMPPER, Gerhard et SCHICK, Michael (ed.). Soft Matter, Vol 1: Polymer Melts and Mixtures. Wiley-VCH, 2006.
- [3] SMITH, John K. The ten-year invention: Neoprene and du pont research, 1930-1939. Technology and Culture, 1985, vol. 26, no 1, p. 34-55.
- [4] BUKULA, NWABISA ASANDA. MTech (Chemistry: Product & Process Development). 2016. Thèse de doctorat. Faculty of Science, Nelson Mandela Metropolitan University.
- [5] Janssen L, Moscicki L. Thermoplastic starch: a green material for various industries. Wiley; 2009.
- [6] CALLISTER, William D., RETHWISCH, David G., et al. Materials science and engineering: an introduction. New York : John wiley & sons, 2007.
- [7] Whitten KW, Gailey KD, Davis RE. General chemistry with qualitative analysis. Harcourt Brace College Publishers; 1992.
- [8] Renard D, Della Valle G, Popineau Y. Plant biopolymer science: food and nonfood applications. Royal Society of Chemistry; 2002.
- [9] Smith R. Biodegradable polymers for industrial applications. CRC Press; 2005.
- [10] REIS, Rui L., NEVES, Nuno M., MANO, Joao F., et al. Natural-based polymers for biomedical applications. Elsevier, 2008.
- [11] CLAYDEN, Jonathan, GREEVES, Nick, et WARREN, Stuart. Organic chemistry. Oxford university press, 2012.
- [12] PIERCE, L. M. PHA and bio-derived PE to drive bioplastic packaging market to 2020: study. Packaging Digest. Site de Packaging Digest, 2011, p. 23-47.
- [13] SRICHUWONG, Sathaporn et JANE, Jay-lin. Physicochemical properties of starch affected by molecular composition and structures: a review. Food science and biotechnology, 2007, vol. 16, no 5, p. 663-674.

- [14] TESTER, Richard F., KARKALAS, John, et QI, Xin. Starch—composition, fine structure and architecture. *Journal of cereal science*, 2004, vol. 39, no 2, p. 151-165.
- [15] LEE, Byung-Hoo et LEE, Young-Tack. Physicochemical and structural properties of different colored sweet potato starches. *Starch-Stärke*, 2017, vol. 69, no 3-4, p. 1600001.
- [16] Moorthy SN. Physicochemical and functional properties of tropical tuber starches: A review. *Starch/Stärke*. 2002;54:559–592.
- [17] Kim J, Ren C, Shin M. Physicochemical properties of starch isolated from eight different varieties of Korean sweet potatoes. *Starch/Stärke*. 2013; 65:923–930.
- [18] Bertolini A. *Starches: characterization, properties, and applications*. CRC Press; 2009.
- [19] Yu L. *Biodegradable polymer blends and composites from renewable resources*. John Wiley & Sons; 2009.
- [20] BARSBY, Tina L., DONALD, Athene Margaret, et FRAZIER, Peter John (ed.). *Starch: Advances in structure and function*. Royal Society of Chemistry, 2001.
- [21] Phelps CF. *Polysaccharides*. Oxford University Press; 1972.
- [22] ŠUBARIĆ, D., BABIĆ, J., AČKAR, Đurđica, et al. Effect of galactomannan hydrocolloids on gelatinization and retrogradation of tapioca and corn starch. *Croatian journal of food science and technology*, 2011, vol. 3, no 1, p. 26-31.
- [23] DIAS, Amanda B., MÜLLER, Carmen MO, LAROTONDA, Fábio DS, et al. Biodegradable films based on rice starch and rice flour. *Journal of cereal science*, 2010, vol. 51, no 2, p. 213-219.
- [24] Wang JP, Yu B, Xu X, Yang N, Jin Z, Kim JM. *Food Chem*. 2011; 127:102-108.
- [25] WANG, Jin Peng, YU, Bo, XU, XueMing, et al. Orthogonal-function spectrophotometry for the measurement of amylose and amylopectin contents. *Food Chemistry*, 2011, vol. 127, no 1, p. 102-108.
- [26] GUO, Li, LIANG, Qin, et DU, Xianfeng. Effects of molecular characteristics of tea polysaccharide in green tea on glass transitions of potato amylose, amylopectin and their mixtures. *Food hydrocolloids*, 2011, vol. 25, no 3, p. 486-494.

- [27] SETIAWAN, Stephen, WIDJAJA, Hany, RAKPHONGPHAIRAJ, Vinai, et al. Effects of drying conditions of corn kernels and storage at an elevated humidity on starch structures and properties. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2010, vol. 58, no 23, p. 12260-12267.
- [28] R.L. Whistler and J.R. Daniel. "Starch." *Kirk Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, vol. 22, 5th ed., A. Seidel (Ed.), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, USA, 2005.
- [29] HUBER, Kerry C. et BEMILLER, James N. Location of sites of reaction within starch granules. *Cereal chemistry*, 2001, vol. 78, no 2, p. 173-180.
- [30] C.C. Seow and K. Thevamalar. "Starch-Stärke", vol. 45, no. 3, 2010, pp. 85-88.
- [31] J. Huang, H.A. Schols, Z. Jin, E. Sulmann, and V. Agj. "Carbohydr. Polym.", vol. 67, no. 1, 2007, pp. 11-20.
- [32] Y. Wang and L. Wang. "Starch-Stärke", vol. 54, no. 1, 2015, pp. 25-30.
- [33] R. Bhosale and R. Singhal. "Carbohydr. Polym.", vol. 68, no. 3, 2007, pp. 447-456.
- [34] M.C. Sweedman, M.J. Tizzotti, C. Schäfer, and R.G. Gilbert. "Carbohydr. Polym.", vol. 92, no. 1, 2013, pp. 905-920.
- [35] S. Wang, T. Li, S. Wang, and L. Copeland. "Carbohydr. Polym.", vol. 175, 2017, pp. 361-369.
- [36] J. Singh, L. Kaur, and O.J. McCarthy. "Food Hydrocoll.", vol. 21, no. 1, 2007, pp. 1-22.
- [37] D. Shiftan, F. Ravenelle, M.A. Mateescu, and R.H. Marchessault. "Starch-Stärke", vol. 52, no. 6-7, 2015, pp. 186-195.
- [38] R. Carmona-Garcia, M.M. Sanchez-Rivera, G. Méndez-Montevalvo, B. Garza-Montoya, and L.A. Bello-Pérez. "Carbohydr. Polym.", vol. 76, no. 1, 2009, pp. 117-122.
- [39] Shi M, Gu F, Wu J, Yu S, Gao Q. Preparation, physicochemical properties, and in vitro digestibility of cross-linked resistant starch from pea starch. *Starch-Stärke*. 2013;65(11-12):947-53.
- [40] LE CORRE, Déborah, BRAS, Julien, et DUFRESNE, Alain. Starch nanoparticles: a review. *Biomacromolecules*, 2010, vol. 11, no 5, p. 1139-1153.

- [41] F. Xie, E. Pollet, P. J. Halley, and L. Avérous, "Progress in Polymer Science," *Prog. Polym. Sci.*, vol. 38, no. 10–11, pp. 1590–1628, 2013, doi: 10.1016/j.progpolymsci.2013.05.002.
- [42] S. Bel Haaj, A. Magnin, C. Pétrier, and S. Boufi, "Starch nanoparticles formation via high power ultrasonication," *Carbohydr. Polym.* vol. 92, no. 2, pp. 1625–1632, 2013, doi: 10.1016/j.carbpol.2012.11.022.
- [43] KIM, Hee-Young, PARK, Sung Soo, et LIM, Seung-Taik. Preparation, characterization and utilization of starch nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2015, vol. 126, p. 607-620.
- [44] P. H. Campelo, A. S. Sant'Ana, and M. T. Pedrosa Silva Clerici, "Starch nanoparticles: production methods, structure, and properties for food applications," *Curr. Opin. Food Sci.*, vol. 33, no. i, pp. 136–140, 2020, doi: 10.1016/j.cofs.2020.04.007.
- [45] M. Avella, J. J. De Vlieger, M. Emanuela, S. Fischer, P. Vacca, and M. Grazia, "Food Chemistry Biodegradable starch / clay nanocomposite films for food packaging applications," vol. 93, pp. 467–474, 2005, doi: 10.1016/j.foodchem.2004.10.024.
- [46] S. Jiang, C. Liu, X. Wang, L. Xiong, and Q. Sun, "LWT - Food Science and Technology Physicochemical properties of starch nanocomposite films enhanced by self-assembled potato starch nanoparticles," *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 69, pp. 251–257, 2016, doi: 10.1016/j.lwt.2016.01.053.
- [47] A. Rodrigues and M. Emeje, "Recent applications of starch derivatives in nanodrug delivery," *Carbohydr. Polym.*, vol. 87, no. 2, pp. 987–994, 2012, doi: 10.1016/j.carbpol.2011.09.044.
- [48] ROBIN, J. P., MERCIER, Ch, CHARBONNIERE, R., et al. Lintnerized starches. Gel filtration and enzymatic studies of insoluble residues from prolonged acid treatment of potato starch. *Cereal chemistry*, 1974.
- [49] WANG, Ya-Jane, TRUONG, Van-Den, et WANG, Linfeng. Structures and rheological properties of corn starch as affected by acid hydrolysis. *Carbohydrate Polymers*, 2003, vol. 52, no 3, p. 327-333.

- [50] CHAKRABORTY, Soma, SAHOO, Bishwabhusan, TERAOKA, Iwao, et al. Solution properties of starch nanoparticles in water and DMSO as studied by dynamic light scattering. *Carbohydrate polymers*, 2005, vol. 60, no 4, p. 475-481.
- [51] LE CORRE, Déborah, BRAS, Julien, et DUFRESNE, Alain. Starch nanoparticles: a review. *Biomacromolecules*, 2010, vol. 11, no 5, p. 1139-1153.
- [52] Ma X, Jian R, Chang PR et al. Fabrication and characterization of citric acid-modified starch nanoparticles/plasticized-starch composites. *Biomacromolecules*. 2008, vol. 9, no 11, p. 3314-3320
- [53] Tan Y, Xu K, Li L et al. Fabrication of size-controlled starch-based nanospheres by nanoprecipitation. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2009, vol. 1, no 4, p. 956-959.
- [54] Kim JY, Lim ST. Preparation of nano-sized starch particles by complex formation with n-butanol. *Carbohydr Polym*. 2009, vol. 339, no 1, p. 117-124.
- [55] Liu D, Wu Q, Chen H et al. Transitional properties of starch colloid with particle size reduction from micro- to nanometer. *J Colloid Interface Sci*. 2009, vol. 339, no 1, p. 117-124.
- [56] GÉRARD, C., COLONNA, Paul, BULEON, Alain, et al. Order in maize mutant starches revealed by mild acid hydrolysis. *Carbohydrate Polymers*, 2002, vol. 48, no 2, p. 131-141.
- [57] JAYAKODY, L. et HOOVER, R. The effect of lintnerization on cereal starch granules. *Food Research International*, 2002, vol. 35, no 7, p. 665-680.
- [58] HEDAYATI, Sara, NIAKOUSARI, Mehrdad, et MOHSENPOUR, Ziba. Production of tapioca starch nanoparticles by nanoprecipitation-sonication treatment. *International journal of biological macromolecules*, 2020, vol. 143, p. 136-142.
- [59] CHANG, Ranran, JI, Na, LI, Man, et al. Green preparation and characterization of starch nanoparticles using a vacuum cold plasma process combined with ultrasonication treatment. *Ultrasonics sonochemistry*, 2019, vol. 58, p. 104660.
- [60] CARVALHO, Laura Gabriela Gurgel de, MARQUES, Nívia do Nascimento, FERNANDES, Rafael da Silva, et al. Effect of starch laurate addition on the properties of mango kernel starch films. *Materials Research*, 2021, vol. 24.

- [61] CONDÉS, María Cecilia, AÑÓN, María Cristina, DUFRESNE, Alain, et al. Composite and nanocomposite films based on amaranth biopolymers. *Food Hydrocolloids*, 2018, vol. 74, p. 159-167.
- [62] LU, Xuanxuan, XIAO, Jie, et HUANG, Qingrong. Pickering emulsions stabilized by media-milled starch particles. *Food Research International*, 2018, vol. 105, p. 140-149.
- [63] SHAO, Ping, ZHANG, Haoya, NIU, Ben, et al. Physical stabilities of taro starch nanoparticles stabilized Pickering emulsions and the potential application of encapsulated tea polyphenols. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, vol. 118, p. 2032-2039.
- [64] SANTOYO-ALEMAN, Daniela, SANCHEZ, Leidy T., et VILLA, Cristian C. Citric-acid modified banana starch nanoparticles as a novel vehicle for β -carotene delivery. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019, vol. 99, no 14, p. 6392-6399.
- [65] MAITI, S., DAS, S., MAITI, M., et al. Polymer publications of renewable-Resource materials, Eds, CE Carraher and LH Sperling. 1983.
- [66] G. Mitchell, G., biscaia, S., mahendra, V., and mateus, a. High Value Materials from the Forests. 2016. Vol. 6, pp. 54-60.
- [67] ZHANG, Jinwen (ed.). Rosin-based chemicals and polymers. Smithers Rapra, 2012.
- [68] MANDAOGADE, P. M., SATTURWAR, P. M., FULZELE, S. V., et al. Rosin derivatives: novel film forming materials for controlled drug delivery. *Reactive and Functional Polymers*, 2002, vol. 50, no 3, p. 233-242.
- [69] Watson, S. I., Cain, J. R., Cowie, H. Cherrie, J. W., *Ann. Occup. Hyg.* 2001, 45,669-676.
- [70] GUTIÉRREZ, Mauricio Ortiz, TORRES, Juan Carlos Ibarra, VERDUZCO, Marco Antonio Salgado, et al. Caracterización de la gelatina de pescado dicromatada como material fotosensible. *Ciencia Nicolaita*, 2016, no 67, p. 84-95.
- [71] A.-T. Karlberg, L. Hagvall, Colophony: Rosin in Unmodified and Modified Form BT Kanerva's *Occupational Dermatology*, in: S.M. John, J.D. Johansen, T. Rustemeyer, P.Elsner, H.I. Maibach (Eds.), Springer International Publishing, Cham, 2018: pp. 1–18.

[72] Dai, D. Hui et al. Study on the Waterproofing Agent for the Mineral Wool Board. In: Applied Mechanics and Materials, vol. 204-208, 2012, p. 3672-3676.

[73] Xie, Y. et al. Effects of Chemical Modification on the Mechanical Properties of Wood. In: European Journal of Wood and Wood Products, vol. 71, 2013, p. 401.

[74] Dan, Z. et al. A Novel Acid Catalyst Based on Super/Subcritical CO₂-Enriched Water for the Efficient Esterification of Rosin. In: Royal Society Open Science, vol. 5, no. 12, 2019, p. 171031.

[75] Atta, A. M. et al. Study of Polysulfone/Polyetherimide Blend Membranes. In: Polymer Advances in Technology, vol. 15, 2004, p. 514-522.

[76] Atta, A. M. et al. Synthesis and Characterization of Polystyrene-Based Ionomers. In: Reactive and Functional Polymers, vol. 67, 2007, p. 617-626.

[77] Hoa, L. T. N. et al. Investigation of the Grafting Reaction of Maleic Anhydride onto Polypropylene in the Solid State. In: European Polymer Journal, vol. 29, 1993, p. 491-495.

CHAPITRE II

Propriétés catalytiques de la Maghnite-H⁺

I. Introduction

La catalyse verte est une sous-catégorie de la chimie verte qui se concentre principalement sur la conception et la fabrication de catalyseurs respectueux de l'environnement. En comparaison avec d'autres catalyseurs, un catalyseur vert doit avoir une activité plus élevée, une sélectivité plus élevée, une récupération efficace, une durabilité et doit également être économique [1].

Les progrès récents en catalyse hétérogène démontrent que le domaine est prometteur dans les applications industrielles, notamment en chimie fine. Les nouveaux catalyseurs permettent de préparer des catalyseurs hétérogènes robustes tout en conservant la sélectivité et l'activité. Pour surmonter les difficultés et les gaspillages résultant de réactions, des solides minéraux tels que des argiles, des zéolithes, des hétéropolyacides, des oxydes, etc. sont utilisés comme catalyseurs de réactions organiques [2].

La Maghnite-H⁺, un nouveau catalyseur à base de Montmorillonite développé au Laboratoire de Chimie des Polymères, a démontré des capacités catalytiques exceptionnelles dans les processus de polymérisation de nombreux monomères vinyliques et hétérocycliques [3]. Dans ce chapitre, nous avons étudié la structure de la Maghnite-H⁺, son activation acide et les nombreux processus de polymérisation initiés par ce catalyseur.

II. Généralités sur les argiles

Les argiles, souvent appelées minéraux argileux, sont des aluminosilicates phyllosilicates. Selon leur morphologie et leur composition chimique, les smectites, kaolinites, chlorites et halloysites ne sont que quelques-unes des sous-familles dans lesquelles les argiles peuvent être classées [4].

II.1. Structure et propriétés des phyllosilicates

Les particules de phyllosilicates plans sont formées par empilement de couches minérales, qui sont composées de feuilles de silicate et d'oxyde d'aluminium s'exécutant parallèles les uns aux autres. Ces feuilles sont souvent appelées tétraédriques (T) et octaédriques (O) sur la base de leurs blocs de construction atomiques, constitués d'oxyde de silicium tétraèdres et d'octaèdres d'oxyde d'aluminium. Le rapport T:O de la structure de la couche est utilisé pour classer les phyllosilicates en types de couches 1:1 (TO) et 2:1 (TOT). Cette thèse concerne les phyllosilicates 2:1 (Figure 7), auxquels la majorité des minéraux argileux appartiennent [5].

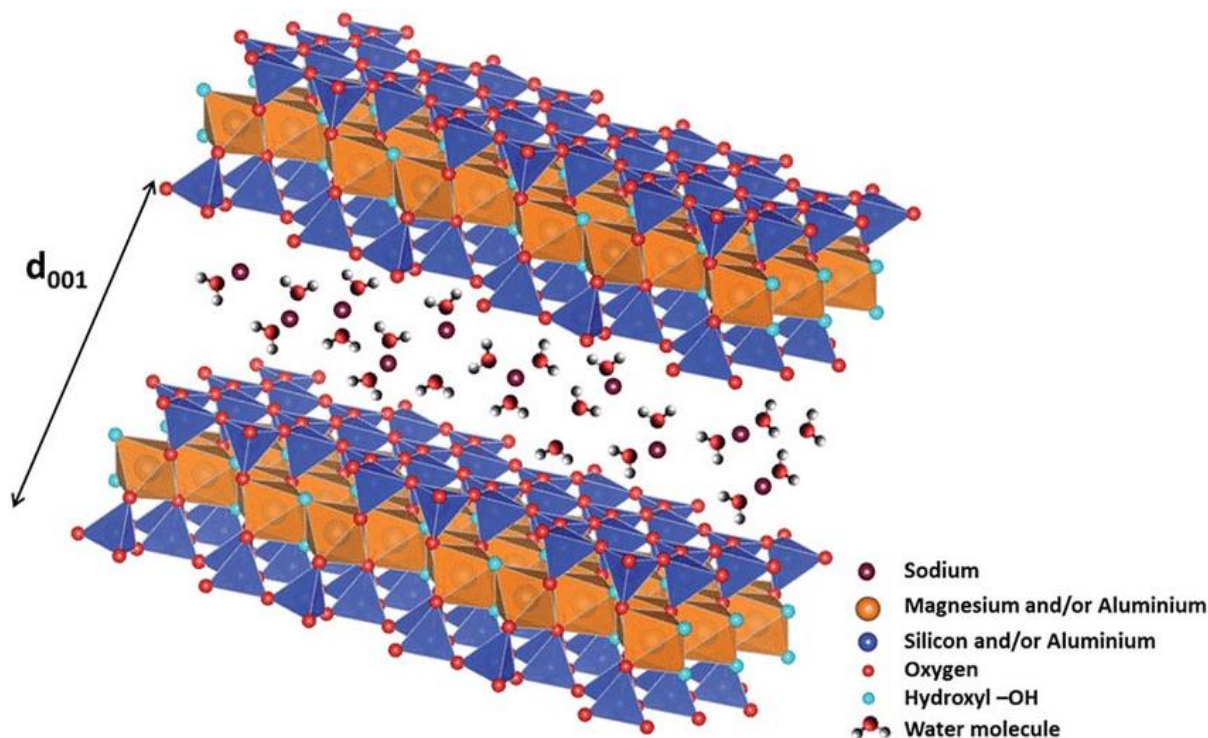


Figure 7. La structure des phyllosilicates 2:1 [6].

II.2. Structure montmorillonitique

La formule de la pyrophyllite est $[\text{Si}_4\text{Al}_2\text{O}_{10}(\text{OH})_2]$. Dans le cas de la montmorillonite, cette formule devient $[\text{Si}_4\text{O}_{10}\text{Al}^{3+(2-x)}\text{Mg}^{2+x}(\text{OH})_2]$ [7]. La structure physique des particules de montmorillonite est généralement visible en feuilles et en couches. Chaque couche est composée de deux types de feuilles structurales : tétraédriques et octaédriques. La feuille tétraédrique est composée de tétraèdres de silicium-oxygène liés aux tétraèdres voisins en partageant trois coins, ce qui résulte en un réseau hexagonal [7, 8]. Le quatrième coin restant de chaque tétraèdre fait partie de la feuille octaédrique adjacente. La feuille octaédrique est généralement composée d'aluminium ou de magnésium en coordination sextuple avec l'oxygène de la feuille tétraédrique et avec l'hydroxyle. Les deux feuilles forment ensemble une couche. Plusieurs couches peuvent être jointes dans une cristallite d'argile par des cations intercalés, par la force de Van der Waals, par une force électrostatique ou par une liaison hydrogène [7]. La structure est illustrée dans la figure 8.

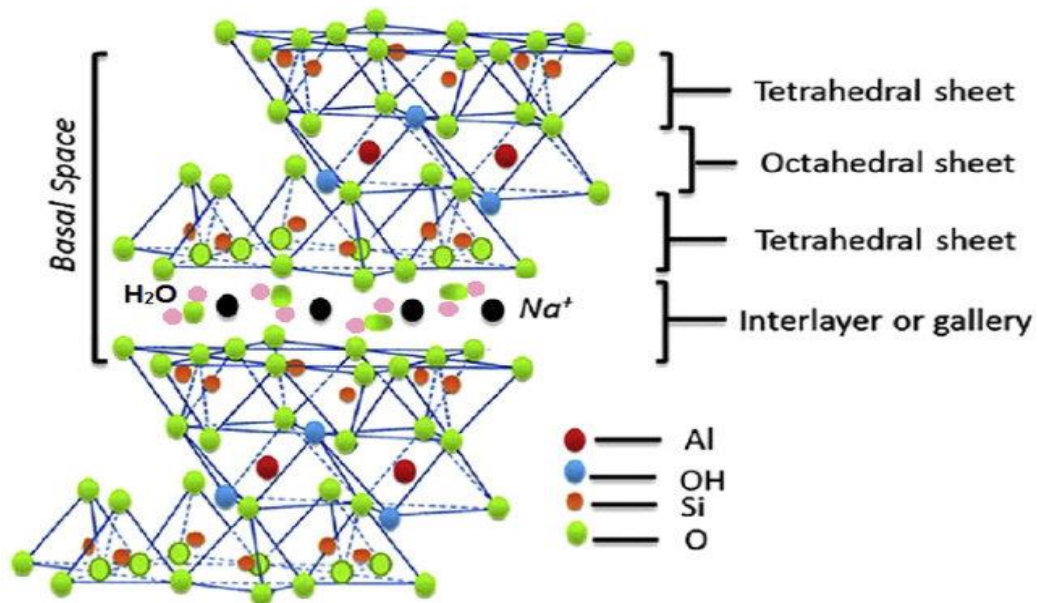


Figure 8. Structure de la Montmorillonite, adaptée de [8].

II.3. Propriétés des argiles

II.3.1 Capacité d'échange cationique

Il s'agit d'une caractéristique importante à prendre en compte lors de la modification du degré de compensation des cations présents dans l'argile. La capacité d'échange cationique est définie comme la quantité de cations nécessaires pour établir l'électroneutralité dans l'argile. Elle est mesurée en milliéquivalents par cent grammes d'argile (meq/100g) [9].

II.3.2 Taux de gonflement

Elle peut être définie comme la capacité de l'argile à se gonfler en volume sous l'effet de l'hydratation. Cela se manifeste par une variation importante de l'espace interfoliaire de l'argile. Ce taux varie néanmoins d'une famille d'argile à l'autre ; Les smectites, par exemple, font varier leur espacement interfoliaire de 10 à 18 Å selon le taux d'humidité [10].

II.3.3 La surface spécifique

Le rapport de la surface apparente des particules à leur masse est ce que l'on appelle la surface spécifique ($S_{spé}$), elle est mesurée en m^2/g . Les montmorillonites ont une surface spécifique totale qui peut atteindre $800 \text{ m}^2/\text{g}$, tandis que les argiles ont une ($S_{spé}$) élevée [11].

III. Identification et activation de la Maghnite

La maghnite est une bentonite provenant d'une carrière à Maghnia (nord-ouest de l'Algérie) et fournie par l'entreprise "ENOF" (une manufacture algérienne spécialisée dans la production de

produits non ferriques et de substances utiles), Il est composé principalement de montmorillonite (65%), et possède une grande capacité d'adsorption, d'échange d'ions et de gonflement, par conséquent, c'est un phyllosilicate du second groupe 2:1 "smectite dioctaédrique". Elle a fait l'objet de recherches pour ses caractéristiques catalytiques, par le groupe du laboratoire de chimie des polymères de l'université d'Oran 1. Plusieurs brevets ont été délivrés, ainsi que des publications dans le monde entier.

IV. Activation de la Maghnite

L'activation est une procédure traditionnelle qui implique un traitement chimique ou thermique pour améliorer les caractéristiques d'adsorption des argiles. La production d'argile H⁺ est l'idée de base de l'activation acide, qui se fait généralement à l'aide d'acides puissants comme les acides sulfurique, chlorhydrique ou nitrique [12]. Lorsque l'argile est activée thermiquement, elle est chauffée à des températures comprises entre 110°C et 500°C [13].

La valeur de la surface spécifique est notablement augmentée par l'activation. Selon certains auteurs [13], cette augmentation de la surface est le résultat de l'élimination des oxydes de fer, d'aluminium et de magnésium, ce qui augmente la teneur en SiO₂ par activation. Ils ont conclu que l'activation affecte les couches octaédriques qui contiennent les métaux Al ou Fe mais n'a aucun impact sur la structure de Si [14,15]. D'autres auteurs ont signalé la désintégration du réseau cristallin d'Al, Mg et Fe, ainsi que le départ des cations Na, Ca et Mg, ce qui entraîne une déshydratation de l'espace interfoliaire [16]. Par conséquent, des vides sont créés. Il convient de mentionner que l'efficacité de l'activation est liée à la concentration de l'acide utilisé, à la durée de contact avec l'acide et à la température de l'activation. En effet, les concentrations élevées et les temps de contact prolongés peuvent détruire la structure cristalline, ce qui entraîne une régression des performances de catalyse, d'adsorption et de décoloration [15].

V. Quelques réactions catalysées par Maghnite-H⁺

Le poly (D,L-lactide) a été synthétisé à l'aide d'un procédé de polymérisation par ouverture de cycle du D,L-lactide en présence de maghnite-H⁺ en tant que catalyseur [17].

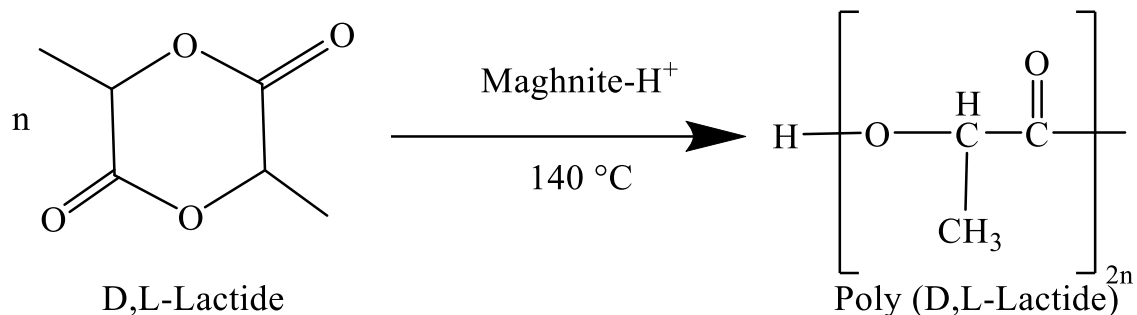


Schéma 2. La polymérisation du D,L-lactide.

Des copolymères triséquencés amphiphiles biodégradables (PCL-PEG-PCL) ont été préparés avec succès par la polymérisation par ouverture de cycle de l' ϵ -caprolactone (CL) en présence de poly(éthylène glycol) (PEG) à 80°C en utilisant la Maghnite-H⁺, une argile montmorillonite non toxique, comme catalyseur [18].

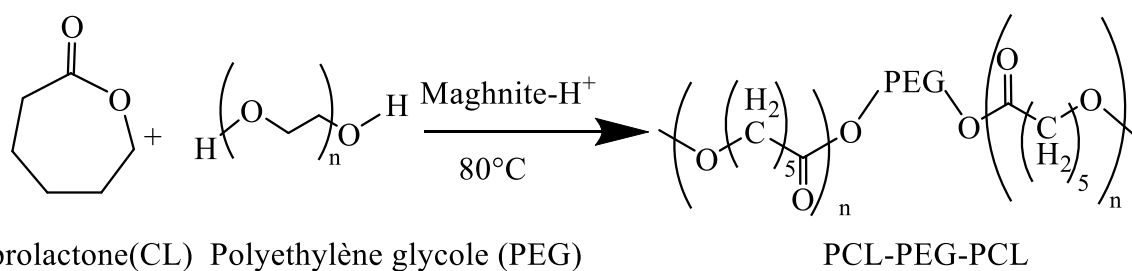


Schéma 3. La polycondensation de caprolactone avec polyéthylène glycole par la Maghnite-H⁺.

L'acide abiétique (Rosin) a été greffé en présence de Maghnite-H⁺ par estérification avec de l'alcool polyvinylique (PVA) ayant un poids moléculaire de 86000 g/mol [19].

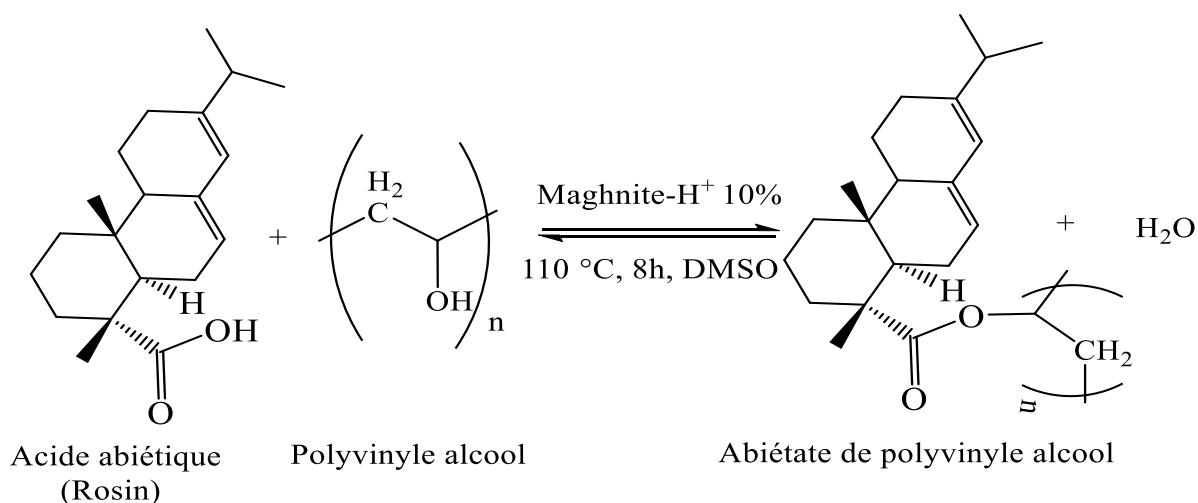


Schéma 4. La synthèse de Rosin avec l'alcool polyvinylique par la Maghnite-H⁺.

Des copolymères triséquencés PLA-PEG-PLA composés de polylactide (PLA) et de polyéthylène glycol (PEG) ont été synthétisés avec succès en une seule étape par polymérisation cationique en masse du lactide en présence de PEG de différents poids moléculaires moyens, utilisant la Maghnite-H⁺ comme catalyseur [20].

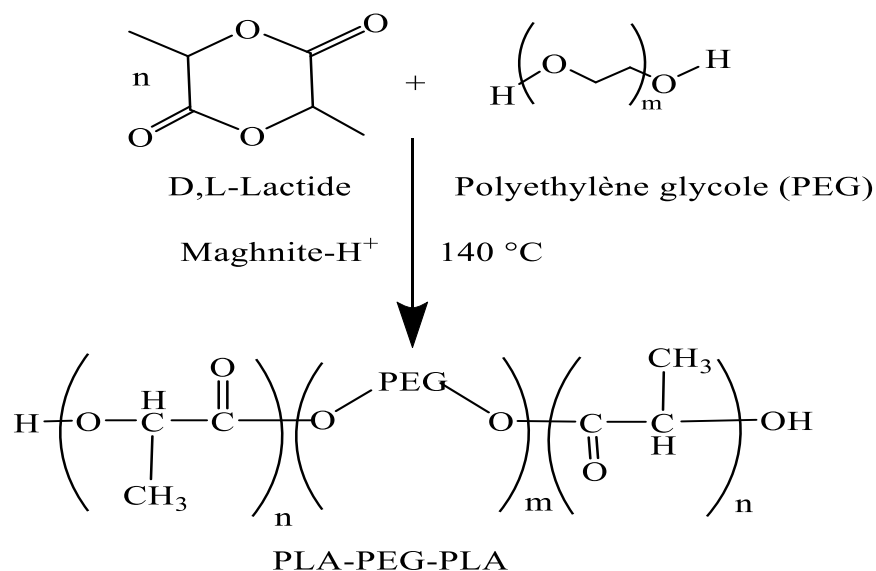


Schéma 5. La polycondensation de D, L-lactide avec polyethylene glycole par la Maghnite-H⁺.

Poly (acide D, L-lactique) (PLA) comme polymère biodégradable. Le PLA a été préparé par polycondensation directe de l'acide D, L-lactique en utilisant comme catalyseur la Maghnite-H⁺, une argile montmorillonite échangeuse de protons non toxique [21].

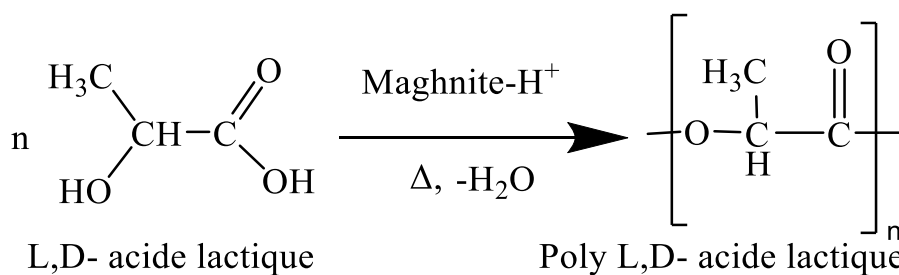


Schéma 6. La polycondensation de acide D, L-lactique par la Maghnite-H⁺.

Références bibliographiques

- [1] SAYAN, B., INDRANIL, S., ANIRUDDHA, M., et al. Role of nanotechnology in water treatment and purification: potential applications and implications. *Int J Chem Sci Technol*, 2013, vol. 3, no 3, p. 59.
- [2] KUMAR, Basuvaraj Suresh, DHAKSHINAMOORTHY, Amarajothi, et PITCHUMANI, Kasi. K10 montmorillonite clays as environmentally benign catalysts for organic reactions. *Catalysis Science & Technology*, 2014, vol. 4, no 8, p. 2378-2396.
- [3] Belbachir M, Bensaoula A. Composition and Method for Catalysis using Bentonites. US Patent 2003/0069446A1. 2003.
- [4] UDDIN, Faheem. Clays, nanoclays, and montmorillonite minerals. *Metallurgical and Materials Transactions A*, 2008, vol. 39, no 12, p. 2804-2814.
- [5] Brigatti, M. F.; Galán, E.; Theng, B. K. G. In *Developments in clay science*; Bergaya, F., Theng, B. K. G. and Lagaly, G., Eds.; Elsevier Ltd: Oxford, UK, 2006; Vol. 1; pp 19-48.
- [6] Lainé, M. Balan, E. Allard, T. Paineau, E. Jeunesse, P. Mostafavi, M. Robert, J.-L. Le Caër, S.), “RSC Advances Reaction mechanisms in swelling clays under ionizing radiation : in fluence of the water amount and of the nature of the clay mineral,” pp. 526–534, 2017, doi: 10.1039/C6RA24861F.
- [7] Uddin, Faheem. *Montmorillonite: An introduction to properties and utilization*. Vol. 817. London, UK: IntechOpen, 2018.
- [8] Boshnakova, I., Leferova, E. and Slavcheva, E. Investigation of montmorillonite as carrier for OER. In: *International Journal of Hydrogen Energy*. 2018, vol. 43, no. 35, pp. 16897-16904. ISSN 0360-3199.
- [9] Uddin, F. Clays, nanoclays, and montmorillonite minerals. In: *Metallurgical and Materials Transactions A*. 2008, vol. 39, no. 12, pp. 2804-2814. ISSN 1073-5623.
- [10] Amorim, C.L.G. et al. Effect of clay-water interactions on clay swelling by X-ray diffraction. In: *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment*. 2007, vol. 580, no. 1, pp. 768-770. ISSN 0168-9002.

- [11] MITCHELL, James Kenneth, SOGA, Kenichi, et al. Fundamentals of soil behavior. New York : John Wiley & Sons, 2005.
- [12] Thomas C., Hechey I., Stecker G. , bentonite activation, Ind.Eng.Chem, 1950, 42,5,766.
- [13] BenDjama A., Etude de la bentonite algerienne : Application à la décoloration des huiles, Thèse de Magister, 1981, E.N.P.Alger.
- [14] Pradas E.G., Sanchez E.V., Sanchez M.V., and Bueno E.R., "Evaluation of surface properties in a bentonite as a fonction of acid and heat treatment. J.Catal, 1982,166, 53.
- [15] KHEOK, S. C. et LIM, E. E. Mechanism of palm oil bleaching by montmorillonite clay activated at various acid concentrations. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1982, vol. 59, no 3, p. 129-131.
- [16] JOVANOVIĆ, Nadežda et JANAČKOVIĆ, Jovan. Pore structure and adsorption properties of an acid-activated bentonite. Applied Clay Science, 1991, vol. 6, no 1, p. 59-68.
- [17] Harrane, Amine; Belouedj, Mohamed El Amine; Belbachir, Mohamed. Cationic ring-opening polymerization of (d, l-lactide) using Maghnite-H⁺, a non-toxic catalyst. In: Reactive and Functional Polymers. 2011, vol. 71, no. 2, pp. 126-130. ISSN 1381-5148.
- [18] Z. Draoua, A. Harrane, and M. Belbachir, "Amphiphilic biodegradable poly (ε-caprolactone)-poly (ethylene glycol) – poly (ε-caprolactone) triblock copolymer synthesis by maghnite-H⁺ as a green catalyst," J. Macromol. Sci. Part A Pure Appl. Chem., vol. 52, no. 2, pp. 130–137, 2015, doi: 10.1080/10601325.2015.980763.
- [19] Thèse doctorat, Badia Imene CHERIFI,* Synthèse de nouveaux polymères catalysés par la Maghnite*, université d’Oran, Algérie, 2022.
- [20] Benachour, Mohamed et al. Direct synthesis and characterization of photo-crosslinkable biodegradable pla-peg-pla triblock copolymer with methacrylates functions by green montmorillonite clay catalyst. In: Chemistry. 2020, vol. 14, no. 4, pp. 474-480. ISSN 2451-9294.
- [21] A. Harrane, M. A. Belaouedj, R. Meghabar, and M. Belbachir, "Bulk polycondensation of lactic acid by Maghnite-H⁺ a non-toxic catalyst," J. Polym. Res., vol. 19, no. 2, 2012, doi: 10.1007/s10965-011-9785-1.

CHAPITRE III

**Activité antimicrobienne et
antioxydante**

I. Introduction

Il existe un intérêt croissant pour le domaine des biomatériaux, qui combine l'expertise de nombreuses disciplines, notamment la science des matériaux, la physique, l'ingénierie, la chimie et la médecine [1]. Un biomatériau est un matériau synthétique ou naturel destiné à interagir avec des systèmes biologiques et pouvant orienter le déroulement de toute démarche thérapeutique ou diagnostique. Son concept et son application ont été étendus des instruments médicaux aux produits médicaux [2,3].

Les biomatériaux proviennent de sources naturelles telles que les animaux, les plantes, les champignons, les algues et les bactéries, et sont composés principalement de molécules de protéines, de lipides et de glucides. La grande diversité des biomatériaux rend ces composés prometteurs pour le développement de nouveaux produits pour des applications technologiques. Dans ce sens, des biomatériaux antioxydants et antimicrobiens ont été développés pour remplir des fonctions biologiques et actives dans le corps humain et les formulations industrielles [4].

Des modifications sont souvent apportées pour améliorer les propriétés de biopolymères afin de les adapter à différentes applications. Ce chapitre vise à donner un aperçu du concept d'activité antimicrobienne et antioxydante ainsi que sur les progrès récents dans l'utilisation des biopolymères avec une référence particulière à leurs applications antioxydantes et antimicrobiennes dans divers domaines.

II. 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 [5].

II.1 La classification des bactéries

La classification est basée sur une coloration (créée par C. GRAM en 1884) basée sur le degré de perméabilité d'une membrane à un solvant. Les bactéries sont classées en deux types : les bactéries Gram positives et les bactéries Gram négatives. La distinction est principalement due à la structure de la paroi cellulaire [6].

II.1.1 Bactéries à *Gram négatif*

Ils représentent plus de 66 % des bactéries répertoriées dans la classification de Bergey.

Ils ont une paroi qui donne sa forme à la cellule. Cette paroi est constituée d'une couche de peptidoglycane située entre les membranes externe et cytoplasmique. Les bactéries à Gram négatif ont des parois de 15 à 20 nm d'épaisseur (voir Figure 9) [7,8].

Les lipoprotéines relient le peptidoglycane à la "membrane externe": le composant protéique est un polymère de 15 acides aminés qui forme une liaison peptidique avec le tétrapeptide des chaînes latérales du peptidoglycane; le composant lipidique est relié à la "membrane externe".

La "membrane externe" est constituée d'une double couche de phospholipides, des molécules de lipopolysaccharides remplaçant tout ou partie des phospholipides de la couche la plus externe. Au sein de cette "membrane externe", qui est une mosaïque fluide, sont associés au moins deux types de protéines spécifiques : certaines sont appelées protéines de structure car elles participent à la consolidation de la membrane externe (par exemple, l'OMPA) ; d'autres, appelées « porines », permettent le passage de petites molécules, notamment, sur le plan médical, des antibiotiques (tétracyclines, β -lactamines, quinolones...) [7,8].

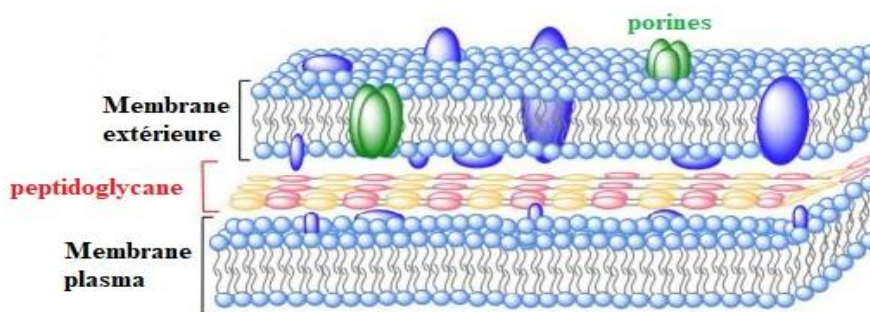


Figure 9. Paroi bactéries à *Gram négatif*.

II.1.2 Les Bactéries à *Gram Positif*

Les bactéries Gram-positives ont une structure composée de trois couches : la couche de peptidoglycane composant la paroi cellulaire, l'espace périplasmique et la membrane plasmique (Figure 10) [7,8]. Elles diffèrent considérablement en termes de morphologie, de physiologie et d'écologie des bactéries Gram-négatives.

Il existe de nombreuses couches de peptidoglycane dans la paroi cellulaire des bactéries Gram-positives, qui représentent jusqu'à 90 % des constituants de la paroi. Cette structure inclut également un feutrage d'acides teichoïques (polymères de glycérol ou de ribitol phosphate) qui est étroitement associé au peptidoglycane et dépasse parfois de la surface de la bactérie. Certains

acides teichoïques, comme les acides lipoteichoïques, sont ancrés dans la membrane cytoplasmique. Les bactéries Gram-positives ont peu ou pas de protéines dans leur paroi [7,8].

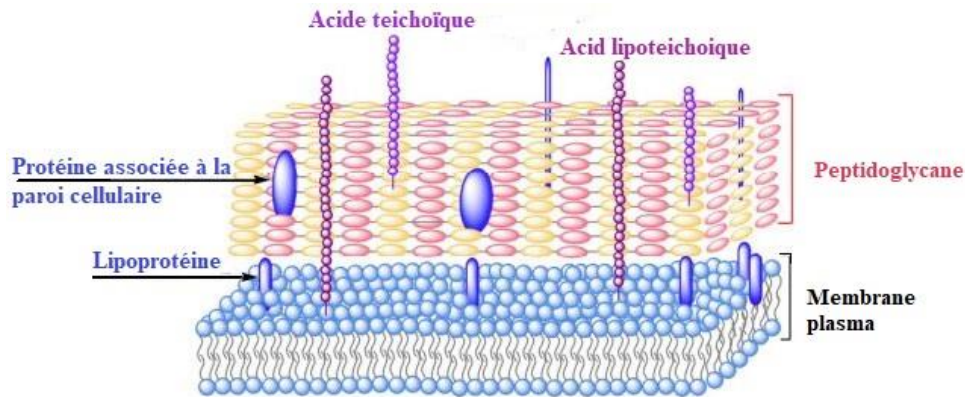


Figure 10. Paroi bactéries à *Gram positif*.

II.2 Morphologie microbienne

Différents types de microbes ont des formes différentes, mais caractéristiques. Dans des conditions appropriées, la forme et la taille des microbes sont relativement stables. Il est important de connaître la structure morphologique des microbes, car elle nous permet de mieux comprendre la physiologie microbienne, les mécanismes pathogènes, les caractéristiques antigéniques et nous permet de les identifier par espèce. De plus, la connaissance de la morphologie microbienne peut être utile pour diagnostiquer la maladie et prévenir les infections microbiennes. Les bactéries sont des microbes complexes et très variables. Ils se présentent sous quatre formes de base : sphérique (cocci), en forme de bâtonnet (bacille), en forme d'arc (vibrio) et en spirale (spirochète) (Figure 11). Morphologie microbienne [9].

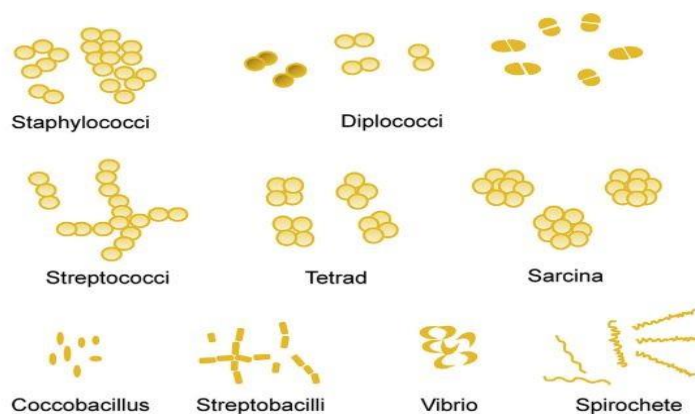


Figure 11. La form de base des bactéries.

II.3 Agents antimicrobiens chimiques

Les acides organiques et les sels sont très efficaces pour inhiber la croissance microbienne. Ces molécules inhibent la croissance des cellules bactériennes et fongiques. Les acides organiques tels que les acides benzoïque, les parabènes, l'acide sorbique, l'acide propionique, l'acide acétique, l'acide lactique, les acides gras de taille moyenne, les sels (sorbates, benzoates, propionates) et leurs mélanges possèdent une forte activité antimicrobienne et ont été utilisés comme conservateurs alimentaires, matériaux en contact avec les aliments et désinfectants. On rapporte que l'acide sorbique inhibe la germination et la croissance des spores bactériennes. Les propriétés antimicrobiennes des acides acétique, lactique, citrique et malique ont été utilisées par l'industrie alimentaire pour la conservation des aliments. Il est généralement admis que la molécule non dissociée de l'acide ou de l'ester organique est responsable de l'activité antimicrobienne [5].

II.4 Amidon modifié antimicrobien et ses activités

Un travail effectué par Guan et al [10] a montré l'effet microbicide du chlorhydrate de polyhexaméthylène guanidine (PHGH) et de l'amidon de pomme de terre liés de manière covalente sur l'activité d'*Escherichia coli* et de *Staphylococcus aureus* non résistants. La croissance microbienne a été inhibée à près de 100 % lorsque 1 % de PHGH a été utilisé dans la modification [11].

Tableau 3. Amidon modifié antimicrobien et ses activités.

Amidon	Agent antimicrobien	Concentration	Micro-organisme	Observation	Références
Pomme de terre	PHGH	1%	<i>E. coli</i>	100%	[12]
			<i>S. aureus</i>		
Patate douce	Sorbat de potassium	5, 10, 15%	<i>E. coli</i>	Inhibition à 5% seulement	[13]
Pomme de terre	Chlorhydrate de guanidine	4, 8, 12, 16 mol	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i>	Excellentes propriétés antimicrobiennes	[14]

III. Activité antioxydante

Un antioxydant est une molécule qui inhibe l'oxydation d'autres molécules. L'oxydation est une réaction chimique qui transfère un électron ou un hydrogène d'une substance à un agent oxydant. Les réactions d'oxydation peuvent produire des radicaux libres. À leur tour, ces radicaux peuvent déclencher des réactions en chaîne. Lorsque ces réactions en chaîne se produisent dans une cellule, elles peuvent provoquer des dommages ou la mort de la cellule. Les antioxydants mettent fin à ces réactions en chaîne en éliminant les radicaux libres intermédiaires et en inhibant d'autres réactions oxydatives [15,16]. Ils le font en étant eux-mêmes oxydants. Les antioxydants sont souvent des agents réducteurs tels que les thiols, l'acide ascorbique ou les polyphénols [17].

III.1 Les antioxydants végétaux

Les fruits, les légumes, les céréales, les épices et les herbes médicinales traditionnelles sont des organismes sessiles qui synthétisent un ensemble de métabolites secondaires ayant des effets physiologiques et biologiques importants pour se défendre contre les contraintes biotiques exogènes [18]. Les principales classes de métabolites secondaires sont les phénols, les terpènes et les alcaloïdes. Ces substances phytochimiques, en particulier les dérivés phénoliques, présentent fréquemment une gamme étendue d'effets biologiques en plus du comportement antioxydant, tels que l'activité anti-inflammatoire, antibactérienne, antivirale, anti-âge et anticancéreuse [19,20]. Parmi les principaux terpènes figurent les gibbérélines, les caroténoïdes et l'acide abscissique, qui jouent un rôle important dans la pigmentation, la croissance et le développement des plantes. Les alcaloïdes ont été utilisés comme médicaments pour traiter la malaria et le cancer [21].

III.2 La capacité antioxydante

La méthode DPPH est décrite comme une méthode simple, rapide et pratique, indépendante de la polarité de l'échantillon, permettant de cribler l'activité de piégeage des radicaux de nombreux échantillons [22]. La méthode DPPH est largement utilisée pour mesurer la capacité de piégeage des radicaux libres des antioxydants [22]. Pour déterminer l'activité de piégeage des radicaux de différents aliments, boissons et substrats, une grande variété de méthodes ont été élaborées avec l'utilisation du DPPH (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl). Elles sont basées sur les méthodes originales de Blois (1958) et de Brand Williams et al. (1995) [23-24].

III.3 Essai DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Le radical DPPH est une molécule stable, soluble dans le DMSO et d'autres solvants organiques, caractérisée par sa couleur violet foncé avec un maximum d'absorption à 517 nm. Les antioxydants (R:H) ou d'autres espèces radicalaires (point radicalaire) sont capables de réagir avec ce radical stable (point radicalaire DPPH) en fournissant un électron ou un atome d'hydrogène (Figure 12), le réduisant ainsi en 2,2-diphényl-1-hydrazine (DPPH-H) caractérisé par une couleur incolore ou jaune pâle qui peut être facilement suivie à l'aide d'un spectrophotomètre [25].

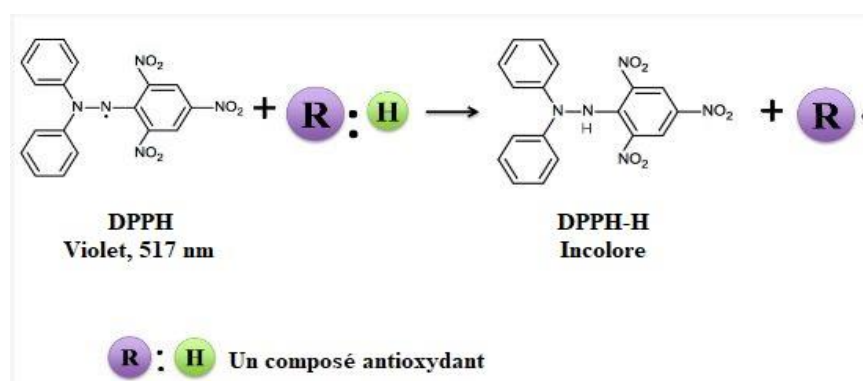


Figure 12. Mécanismes de piégeage du DPPH par un antioxydant (R:H).

III.4 Amidon modifié antioxydant et ses activités

Les nouvelles technologies ont été proposées pour améliorer les performances des produits pharmaceutiques, alimentaires et cosmétiques fabriqués à partir de matières premières naturelles, ce qui favorise leur acceptation par le consommateur [27], comme on peut l'observer à travers le large éventail d'applications présentées dans cette revue et résumées ici dans le tableau 4.

Tableau 4. Résumé des matrices d'amidon incorporant des composés bioactifs.

Amidon	Matrice d'amidon	Bioactif	Application	Références
Maïs	Film	Composés phénoliques	Pharmaceutique	[26]
Manioc	Film	Flavonoïdes	Pharmaceutique	[27]
Maïs	Particule	Curcumin	Pharmaceutique	[26]
Rice	Film	Composés phénoliques	Emballage	[28]

Références bibliographiques

- [1] LYNCH, Roisin I. et LAVELLE, Ed C. Immuno-modulatory biomaterials as anti-inflammatory therapeutics. *Biochemical Pharmacology*, 2022, p. 114890.
- [2] PEDRO, Alessandra Cristina, PANIZ, Oscar Giordani, FERNANDES, Isabela d'Andrade Arruda, et al. The Importance of Antioxidant Biomaterials in Human Health and Technological Innovation: A Review. *Antioxidants*, 2022, vol. 11, no 9, p. 1644.
- [3] ZHANG, Kai, MA, Bin, HU, Kaiyan, et al. Evidence-based biomaterials research. *Bioactive Materials*, 2022, vol. 15, p. 495-503.
- [4] Pedro, Alessandra Cristina, Paniz, Oscar Giordani, FERNANDES, Isabela de Andrade Arruda, et al. The Importance of Antioxidant Biomaterials in Human Health and Technological Innovation: A Review. *Antioxidants*, 2022, vol. 11, no 9, p. 1644.
- [5] BALDEVRAJ, RS Matche et JAGADISH, R. S. Incorporation of chemical antimicrobial agents into polymeric films for food packaging. *Multifunctional and nanoreinforced polymers for food packaging*, 2011, p. 368-420.
- [6] GRAM, Christian. Ueber die isolirte Färbung der Schizomyceten in Schnitt- und Trockenpräparaten. *Fortschritte der Medicin*, 1884, vol. 2, p. 185-189.
- [7] RUSSELL, A. D. Plasmids and bacterial resistance to biocides. *Journal of applied Microbiology*, 1997, vol. 83, no 2, p. 155-165.
- [8] HANCOCK, Robert EW. Resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and other nonfermentative gram-negative bacteria. *Clinical Infectious Diseases*, 1998, vol. 27, no Supplement_1, p. S93-S99.
- [9] GUAN, Y., QIAN, L., XIAO, H., et al. Preparation of novel antimicrobial-modified starch and its adsorption on cellulose fibers: Part I. Optimization of synthetic conditions and antimicrobial activities. *Cellulose*, 2008, vol. 15, p. 609-618.
- [10] AHMAD, Mohammad Zaki, AKHTER, Sohail, ANWAR, Mohammed, et al. Assam Bora rice starch based biocompatible mucoadhesive microsphere for targeted delivery of 5-fluorouracil in colorectal cancer. *Molecular Pharmaceutics*, 2012, vol. 9, no 11, p. 2986-2994, doi: 10.1021/mp300289y.

- [11] ZIAEE, Zainab, QIAN, Liying, GUAN, Yong, et al. Antimicrobial/antimold polymer-grafted starches for recycled cellulose fibers. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 2010, vol. 21, no 10, p. 1359-1370, doi: 10.1163/092050609X12517190417795.
- [12] PELISSARI, Franciele M., GROSSMANN, Maria VE, YAMASHITA, Fabio, et al. Antimicrobial, mechanical, and barrier properties of cassava starch– chitosan films incorporated with oregano essential oil. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2009, vol. 57, no 16, p. 7499-7504. doi.10.1021/jf9002363.
- [13] SHEN, Xiao Li, WU, Jia Min, CHEN, Yonghong, et al. Antimicrobial and physical properties of sweet potato starch films incorporated with potassium sorbate or chitosan. *Food Hydrocolloids*, 2010, vol. 24, no 4, p. 285-290, doi:10.1016/j.foodhyd.2009.10.003.
- [14] AMES, Bruce N., SHIGENAGA, Mark K., et HAGEN, Tory M. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1993, vol. 90, no 17, p. 7915-7922.
- [15] SHENOY, R. et SHIRWAIKAR, A. Anti inflammatory and free radical scavenging studies of *Hyptis suaveolens* (Labiatae). *Indian drugs*, 2002, vol. 39, no 11, p. 574-577.
- [16] SIES, Helmut. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology: Translation and Integration*, 1997, vol. 82, no 2, p. 291-295.
- [17] VILLASANTE, Juliana, PÉREZ-CARRILLO, Esther, HEREDIA-OLEA, Erick, et al. In vitro antioxidant activity optimization of nut shell by extrusion using response surface methods. *Biomolecules*, 2019, vol. 9, no 12, p. 883, doi: 10.3390/biom9120883
- [18] KURECK, Itamara, POLICARPI, Priscila de Brito, TOALDO, Isabela Maia, et al. Chemical characterization and release of polyphenols from pecan nut shell in zein microparticles for bioactive applications. *Plant foods for human nutrition*, 2018, vol. 73, p. 137-145, doi: 10.1007/s11130-018-0667-0.
- [19] HILBIG, Josiane, DE BRITTO POLICARPI, Priscila, DE SOUZA GRINEVICIUS, Valdelúcia Maria Alves, et al. Aqueous extract from pecan nut shell show activity against breast cancer cell line MCF-7 and Ehrlich ascites tumor in Balb-C mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 2018, vol. 211, p. 256-266, doi:10.1016/j.jep.2017.08.012.

- [20] Marxen, Kai et al. Determination of DPPH radical oxidation caused by methanolic extracts of some microalgal species by linear regression analysis of spectrophotometric measurements. In: *Sensors*. 2007, vol. 7, no. 10, pp. 2080-2095. ISSN 1424-8220.
- [21] Pérez-Jiménez, Jara et al. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. In: *Food research international*. 2008, vol. 41, no. 3, pp. 274-285. ISSN 0963-9969.
- [22] Blois, Marsden S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. In: *Nature*. 1958, vol. 181, pp. 1199-1200. ISSN 0028-0836.
- [23] BRAND-WILLIAMS, Wendy, CUVELIER, Marie-Elisabeth, et BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 1995, vol. 28, no 1, p. 25-30, doi: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5.
- [24] Munteanu, Irina Georgiana; Apetrei, Constantin. Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. In: *International Journal of Molecular Sciences*. 2021, vol. 22, no. 7, pp. 3380. ISSN 1422-0067, doi: 10.3390/ijms22073380.
- [25] GUERRA, A., CERVI, C. B., GARCIA, VDS, et al. INCORPORATION OF ACTIVE COMPOUNDS FROM MANGO PEEL INTO CORN STARCH-BASED ORAL DISINTEGRATING FILMS. *Latin American Applied Research*, 2019, vol. 49, p. 93-7.
- [26] BODINI, Renata Barbosa, PUGINE, Silvana Marina Piccoli, DE MELO, Mariza Pires, et al. Antioxidant and anti-inflammatory properties of orally disintegrating films based on starch and hydroxypropyl methylcellulose incorporated with *Cordia verbenacea* extract. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, vol. 159, p.714-724, doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.05.075.
- [27] DAUDT, Renata Moschini, BACK, Patrícia Inês, CARDOZO, Nilo Sérgio Medeiros, et al. Pinhão starch and coat extract as new natural cosmetic ingredients: Topical formulation stability and sensory analysis. *Carbohydrate polymers*, 2015, vol. 134, p. 573-580. doi:10.1016/j.carbpol.2015.08.038.
- [28] Da Silva, L.R.; Velasco, J.I.; Fakhouri, F.M. Bioactive Films Based on Starch from White, Red, and Black Rice to Food Application. *Polymers* 2022, vol. 14, no 4, p. 835, doi : 10.3390/polym14040835.

CHAPITRE IV

Matériel et Méthodes

Dans ce chapitre, nous présentons les différents produits et composants utilisés, ainsi qu'un aperçu bibliographique des idées fondamentales qui sous-tendent les différentes techniques de caractérisation appliquées dans cette étude.

I. Les réactifs et matériaux utilisés

L'amidon de pomme de terre a été fourni par Youville Montréal (Québec, Canada) et a été utilisé dans la réaction d'estérification avec de la gomme acide colophane (Rosin) obtenue auprès des producteurs locaux Costa e Irmos à Leiria, Portugal. Les réactifs chimiques tels que le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), l'acide ascorbique, le diméthylsulfoxyde (DMSO), le méthanol, l'éthanol, les acides sulfurique et chlorhydrique ont été achetés chez Sigma-Aldrich (Allemagne). L'argile Maghnite brute (montmorillonite algérienne) a été obtenue auprès de "BENTAL" (Société Algérienne de Bentonite) et provient d'une carrière dans la région de Maghnia (au nord-ouest de l'Algérie). La Gylose, le Mueller-hinton, la Candida albicans ATCC 10231, le Bacillus cereus ATCC 10876, le Staphylococcus aureus ATCC 33862 et le Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853, ainsi que le Klebsiella pneumoniae ATCC 13883 ont été obtenus auprès de l'Institute of Microbial Technology (IMTECH) à Chandigarh, Inde.

II. Préparation de la maghnite-H⁺

La Maghnite H⁺ a été préparée en adoptant la méthode proposée par la référence [1]. Tout d'abord, la Maghnite brute (40 g) a été broyée dans un broyeur à billes en céramique prolabo pendant 20 minutes, puis séchée pendant 2 heures à 105 °C (Figure 13). Le produit obtenu a ensuite été placé dans un Erlenmeyer contenant 500 ml d'eau distillée et le mélange a été agité avec un agitateur magnétique à température ambiante, avec l'ajout goutte à goutte d'une solution d'acide sulfurique 0.25 M jusqu'à saturation en 48 heures. Ensuite, le minéral obtenu a été filtré et lavé avec de l'eau distillée jusqu'à ce que le pH soit constant. La Maghnite H⁺ a ensuite été filtrée, broyée, puis séchée dans un four pendant 24 heures à 105 °C.

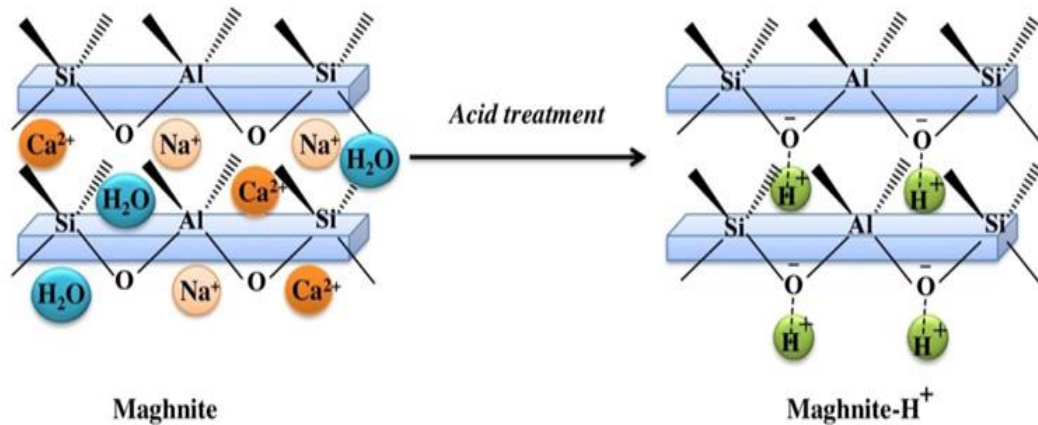


Figure 13. Procédure de préparation de la Maghnite-H⁺.

III. Préparation de nanoparticules d'amidon SNPs par hydrolyse acide

50g d'amidon ont été mis en suspension dans 400 ml de HCl 2.2 N pendant 3 jours à 40°C au bain-marie, conformément à la référence [2]. Après l'hydrolyse, la suspension d'amidon a été centrifugée et lavée à plusieurs reprises avec de l'eau distillée. Les nanoparticules d'amidon (SNPs) ont ensuite été neutralisées avec 1 N de NaOH jusqu'à ce que le pH atteigne 7.0. Ensuite, les SNPs ont été lavées à l'éthanol et à l'eau déminéralisée, et finalement séchées pendant 24 heures à 60°C.

IV. Estérification des nanoparticules d'amidon avec l'acide rosin

IV.1 La synthèse d'estérification

Les SNPs ont été dissous dans 3 ml de DMSO, puis la rosin a été ajoutée (Figure 14), avec un rapport molaire rosin/unité glucose anhydre de 4:1. Différentes quantités de catalyseur Maghnite-H⁺ (m/m, par rapport aux SNPs) ont été ajoutées aux mélanges. Afin de trouver les conditions de réaction optimales, le même processus a été répété en ajustant le pourcentage de catalyseur, le temps de réaction et la température de réaction. Les SNPs estérifiés ont été précipités par l'ajout progressif de 25 ml de méthanol après l'élimination de la Maghnite-H⁺ par filtration, puis lavés trois fois avec 15 ml de méthanol et séchés à 60 °C pendant 24 heures.

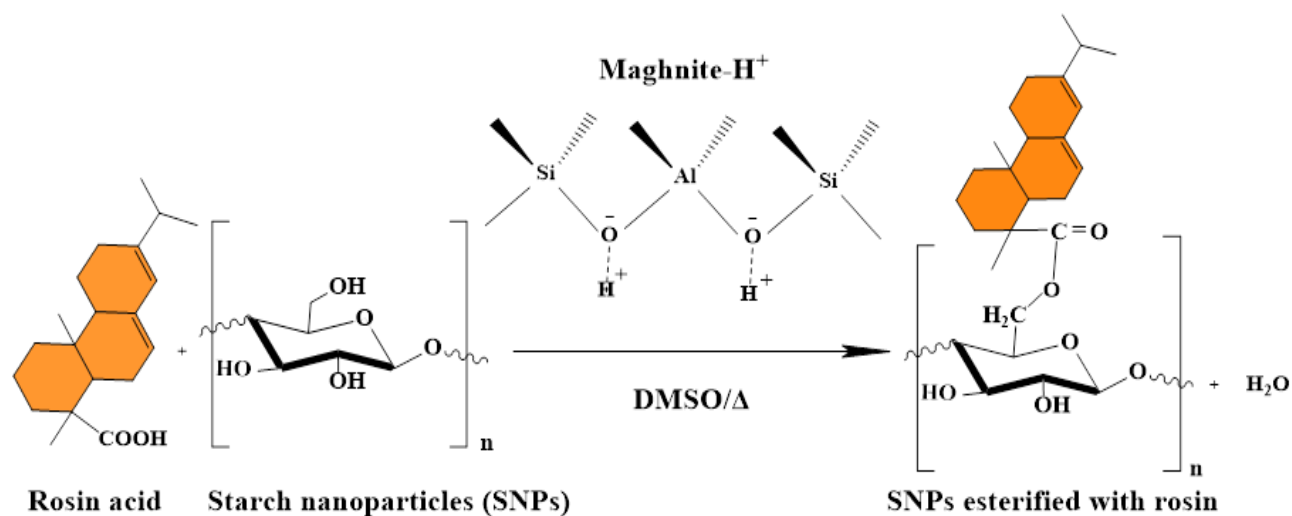


Figure 14. Nanoparticules d'amidon estérifiées avec de l'acide rosin catalysées par Maghnite-H⁺. Comme le montre la figure 14, seul l'OH en position 6 a réagi ; pendant ce temps, les deux groupes hydroxyles aux positions 2 et 3 peuvent également être mis à réagir.

IV.2 Détermination du degré de substitution (DS)

La technique de titrage a été utilisée pour mesurer le degré de substitution (DS) qui est défini comme le rapport molaire moyen des groupes acyles de rosin fixés par unité de glucose anhydre (AGU) [3]. Pour ce faire, 0.5 g de l'échantillon a été dissous dans 3 ml de DMSO. Ensuite, 20 ml de NaOH 0.5 M ont été ajoutés. Le mélange a été agité à 50°C pendant 4 heures. Ensuite, l'excès de NaOH a été titré en retour avec une solution de HCl 0.5 M, qui a été utilisée avec la phénolphthaléine comme indicateur.

La valeur DS des SNPs estérifiés a été déterminée comme suit :

$$DS = \frac{162 \times C(V_0 - V)}{m - 285 \times C(V_0 - V)} \quad (1)$$

où 162 représente le poids moléculaire de l'AUG, 285 est le poids moléculaire de l'acyle de rosin, V_0 et V sont les volumes de titrage de HCl consommés dans les SNPs avant et après estérification, respectivement, C est la concentration molaire de HCl, et m est la quantité de l'échantillon en poudre.

IV.3 Conception expérimentale et analyse statistique

Au cours de la procédure de synthèse des SNPs modifiées par la rosin, l'influence des conditions de réaction sur la valeur DS, prend en compte le rapport molaire rosin / AUG, la température de réaction, le temps de réaction, et la quantité de catalyseur.

Les résultats des expériences ont montré que la valeur de la DS varie en fonction du rapport molaire rosin / AUG au cours de la synthèse des SNPs estérifiés par rosin, mais qu'elle était la plus élevée lorsque le rapport était de 4:1. Par conséquent, pour simplifier la conception expérimentale et obtenir des résultats cohérents, le rapport molaire rosin / AUG a été fixé à 4:1 et n'a pas été pris en compte comme variable dans les expériences ultérieures.

Dans ce travail, un plan de Box-Behnken à 17 essais, 3 facteurs et 3 niveaux a été adopté pour construire des modèles polynomiaux pour l'optimisation du processus. Les valeurs réelles des facteurs à trois niveaux ont été sélectionnées, codées comme -1, 0, et +1 pour les facteurs faibles, moyens et élevés respectivement (Tableau 5).

Tableau 5. Plan d'expérience Box-Behnken et valeurs de réponse pour le degré de substitution.

Facteurs symbole	Niveaux codés		
	-1	0	+1
Température de réaction (°C)	X ₁ 40	70	100
Temps de réaction (h)	X ₂ 6	15	24
Catalyseur (% , en poids d'amidon) X ₃	5	15	25

Ce plan était approprié pour étudier la surface de réponse quadratique et pour être utilisé dans la construction d'un modèle polynomial du second ordre à l'aide du logiciel Design-Expert (version 11.1.2.0, Stat-Ease, USA).

La matrice du plan d'expérience a été générée par le logiciel et présentée dans le tableau 7. La fonction du système est exprimée par l'équation polynomiale du second ordre suivante [4]:

$$Y = \alpha_0 + \sum_{i=1}^3 \alpha_i X_i + \sum_{i=1}^3 \sum_{i \neq j}^3 \alpha_{ij} X_i X_j + \sum_{i=1}^3 \alpha_{ii} X_i^2 \quad (2)$$

où Y est la variable de réponse ; α_0 est la constante du modèle ; α_i est le coefficient linéaire α_{ii} est le coefficient quadratique ; α_{ij} est le coefficient d'interaction. Les facteurs évalués dans ce travail sont la température (X₁), le temps de réaction (X₂) et la quantité de catalyseur (X₃).

V. Essai d'activité antioxydante (activité de piégeage des radicaux DPPH)

Le test de piégeage des radicaux DPPH, tel que rapporté par Krishnaiah et al. [5] a été utilisé pour évaluer la capacité des échantillons à piéger les radicaux libres. La capacité des échantillons à donner des atomes d'hydrogène a été déterminée en décolorant une solution de DMSO de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH). En présence d'antioxydants, le DPPH génère un colorant violet dans la solution de DMSO et se transforme en couleur jaune. Une solution de 0,5 mM de DPPH dans du DMSO a été préparée, et 2.4 ml de cette solution a été mélangé avec 100 μ l d'échantillon dans du DMSO à différentes concentrations (0,39 - 200 mg/mL). Le mélange réactionnel a été mélangé au vortex et incubé à température ambiante pendant 30 minutes dans l'obscurité. L'absorbance du mélange a été déterminée par spectrophotométrie à 517 nm. L'acide ascorbique (vitamine C) a été utilisé comme témoin. L'équation suivante a été utilisée pour déterminer la proportion de l'activité de piégeage des radicaux DPPH :

$$\% \text{ Inhibition du DPPH} = \frac{A_{\text{Control}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{Control}}} \times 100 \quad (3)$$

où A_{control} et $A_{\text{échantillon}}$ indiquent l'absorbance du contrôle et de l'échantillon, respectivement.

VI. Etude de l'activité antimicrobienne des SNPs - rosin

VI.1 Revivification des souches bactériennes

Les souches doivent être réactivées avant utilisation en raison de leur activité biologique, afin d'obtenir une culture jeune et propre. Il s'agit d'ajouter quelques colonies des souches conservées à 4°C à la surface de la gélose nutritive déjà coulée et durcie en boîtes de Pétri (milieu gélosé nutritif pour bactéries). Les boîtes de Pétri contenant les différentes souches de bactéries sont incubées pendant 24 heures à 37°C [6].

VI.2 Préparation de l'inoculum

Quelques colonies de bactéries sont prélevées sur les jeunes cultures et placées dans 5 mL d'eau physiologique stérile (0.9 % NaCl). Ensuite, les tubes sont agités au vortex pendant quelques secondes. La densité de chacune des suspensions bactériennes produites est ensuite mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 625 nm. Par conséquent, la densité optique mesurée pour les bactéries doit être comprise entre 0,08 et 0,1, ce qui correspond à une concentration de 10^8 germes/mL [7].

VI.3 Préparation des milieux de culture avec des suspensions bactériennes

Le milieu de culture "Mueller Hilton" est liquéfié au bain-marie avant d'être surfondu et coulé aseptiquement sur des boîtes de Pétri, à raison de 15 mL par boîte. L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage avec un coton-tige stérile contenant des suspensions microbiennes, et on verse tout en faisant tourner la boîte, comme indiqué sur la figure 15. Ensuite, on laisse les suspensions refroidir et se solidifier sur la paillasse.

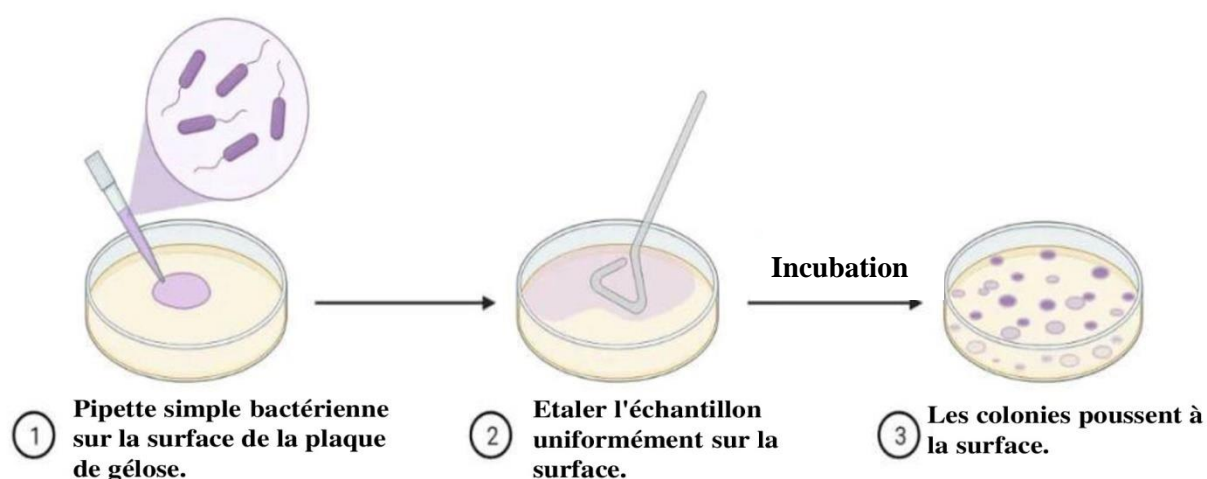


Figure 15. Technique d'ensemencement.

VI.4 Technique de l'aromatogramme (méthode de Vincent)

La réalisation de ce processus est basée sur le concept de l'antibiogramme [8]. Des disques stériles de papier Whatman de 6 mm de diamètre contenant 2 μL de chaque solution à une concentration de 100 mg dans 1 mL de DMSO pour chaque échantillon à tester sont déposés à l'aide d'une pince stérile à la surface d'un milieu gélosé adapté à chaque souche préalablement inoculé avec 100 μL de suspension microbienne dont la turbidité a été régulée à 10^8 UFC/mL pour les bactéries et 10^6 UFC/mL pour les levures [9]. Le DMSO est utilisé comme témoin. Les boîtes de Pétri sont ensuite fermées et laissées 1 heure pour diffusion à température ambiante avant d'être incubées à 37°C pendant 24 heures. L'activité antimicrobienne de chaque échantillon est mesurée en calculant le diamètre de la zone d'inhibition formée autour de chaque disque.

VI.5 Lecture des résultats

Comme le montre la figure 16 [10], les mesures sont effectuées en comptant le nombre de fois où vous mesurez le diamètre des zones d'inhibition en millimètres.

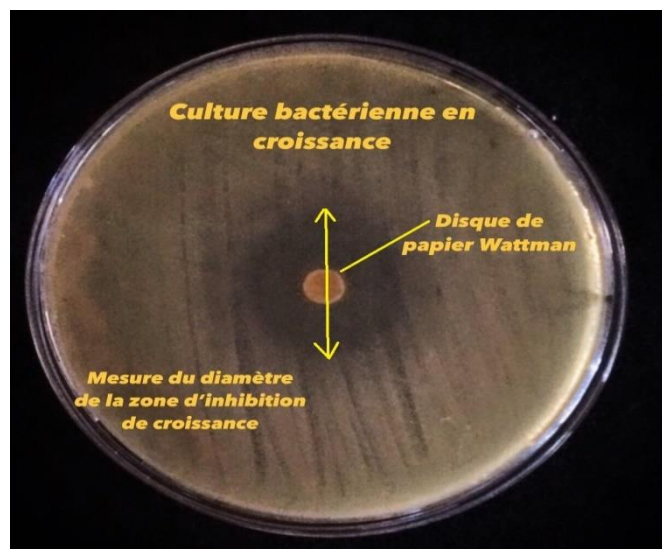


Figure 16. La technique de mesure du diamètre de la zone d'inhibition de croissance.

VII. Caractérisation physicochimique

VII.1 Infra Rouge à Transformée de Fourier (IRTF)

Les analyses IRTF ont été réalisées au laboratoire SEA2M de l'Université de Mostaganem, avec un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier Shimadzu 1240, contrôlé par ordinateur pour une gamme d'absorbance comprise entre 500 et 4000 cm^{-1} , avec une résolution de 4 cm^{-1} . Les échantillons en poudre ont été dispersés dans du KBr et comprimés en pastilles contenant $0,5\%$ de l'échantillon à analyser. Les nombres d'onde sont exprimés en cm^{-1} (Figure 17).



Figure 17. Spectromètre Infrarouge (Shimadzu 1240) à transformée de Fourier.

VII.2 Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

Sur un spectromètre Bruker Avance III HD fonctionnant à 400 MHz, l'analyse de RMN ^1H a été réalisée au Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques (CRAPC). Les déplacements chimiques sont présentés en ppm en utilisant le TMS comme référence (Figure 18).



Figure 18. Spectromètre RMN (Brucker advance III HD).

VII.3 Analyse Thermogravimétrique (ATG)

Les analyses par ATG/DSC ont été effectuées au niveau du Laboratoire Structure, Elaboration et Application des Matériaux Moléculaires (SEA2M) de l'Université de Mostaganem sur un appareil Discovery SDT650, sur un intervalle de température allant de 17 à 600 °C et avec une vitesse de chauffage de 10°C/min sous une atmosphère d'azote (Figure 19).



Figure 19. Dispositif de mesure DSC et ATG (Discovery SDT650).

VII.4 Spectrophotomètre UV/Visible

Le spectrophotomètre UV/Visible a été utilisé au Laboratoire Structure, Elaboration et Application des Matériaux Moléculaires (SEA2M), Mostaganem, avec un appareil Specord 210 plus. La gamme de longueurs d'onde s'étend de 185 à 1200 nm, couvrant à la fois la région UV et la région visible. Différents accessoires ont été utilisés pour l'analyse des échantillons liquides, gazeux, pulvérulents et solides, permettant ainsi l'analyse spectroscopique UV/Vis d'une variété de molécules et de composés (Figure 20).



Figure 20. Spectrophotomètre UV/Visible (Specord 210 plus).

VII.5 Analyse par diffraction des rayons X

L'analyse par diffraction des rayons X a été réalisée à l'aide d'un instrument Bruker D4 DISCOVER Effort (Université de Tiaret) équipé d'une source de rayonnement $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$) dans la plage de 2θ allant de 10 à 70° à température ambiante (Figure 21).



Figure 21. Diffraction des rayons X (Effort DISCOVER Bruker D4).

VII.6 Microscope Electronique à Balayage (MEB)

La morphologie a été analysée par microscopie électronique à balayage (MEB) à CRAPC en utilisant un instrument JEOL 7001F, FEG-SEM. Les échantillons ont été préalablement séchés et en poudre, puis fixés avec une pâte d'argent sur un support en aluminium et recouverts d'une fine couche d'or pour améliorer leur conductivité. Les micrographies ont été enregistrées sous une tension d'accélération de 20 kV (Figure 22).



Figure 22. Microscope Electronique à Balayage(JEOL 700F).

VII.7 Analyseur de nanoparticules

La série SZ-100V2 (Figure 23) a été utilisé au Laboratoire Structure, Elaboration et Application des Matériaux Moléculaires (SEA2M), qui mesure la taille et la distribution de la taille des particules par diffusion dynamique de la lumière (DLS), avec une plage de mesure de la taille des particules allant de 0,3 nm à 10 μm . Cette technique permet d'analyser une large gamme de concentrations d'échantillons, de l'ordre des ppm à des concentrations à deux chiffres en pourcentage, il est nécessaire de préparer l'échantillon sous forme d'une suspension, cette suspension doit être placée dans la cuvette de l'instrument DLS à une température ambiante.



Figure 23. Analyseur de nanoparticules (SZ-100V2).

Références bibliographiques

- [1] Z. Draoua, A. Harrane, and M. Belbachir, “Amphiphilic biodegradable poly(ϵ -caprolactone)-poly (ethylene glycol) – poly(ϵ -caprolactone) triblock copolymer synthesis by maghnite- H^+ as a green catalyst,” *J. Macromol. Sci. Part A Pure Appl. Chem.*, vol. 52, no. 2, pp. 130–137, 2015, doi: 10.1080/10601325.2015.980763.
- [2] PUTAUX, Jean-Luc, MOLINA-BOISSEAU, Sonia, MOMAUR, Thomas, et al. Platelet nanocrystals resulting from the disruption of waxy maize starch granules by acid hydrolysis. *Biomacromolecules*, 2003, vol. 4, no 5, p. 1198-1202, doi:10.1021/bm0340422
- [3] R. Lin, H. Li, H. Long, J. Su, and W. Huang, “Synthesis of rosin acid starch catalyzed by lipase,” *Biomed Res. Int.*, vol. 2014, doi: 10.1155/2014/647068.
- [4] M. Almeida, R. Erthal, E. Padua, L. Silveira, and L. Am, “Talanta Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry,” vol. 76, pp. 965–977, 2008, doi: 10.1016/j.talanta.2008.05.019.
- [5] D. Krishnaiah, R. Sarbatly, and R. Nithyanandam, “A review of the antioxidant potential of medicinal plant species,” *Food Bioprod. Process.*, vol. 89, no. 3, pp. 217–233, 2011, doi: 10.1016/j.fbp.2010.04.008.
- [6] Joly, B., Reynaud, A. *Entérobactéries Systématique et méthodes de diagnostic*, Ed. médicales internationales, ISSN 1625-9319, Paris, 2003, pp356.
- [7] Chabbert, Y, Acar, J. Study of the bactericidal action on staphylococcus aureus of combinations of rifamycin sv with other antibiotics by the cellophane transfer technic, *Chemotherapia*. 1963, 27, 287-294.
- [8] K.Wang, and M. Nicholaou, Suppression of antimicrobial resistance in MRSA using CRISPR-dCas9. *American Society for Clinical Laboratory Science*, 2017, vol. 30, no. 4, p. 207-213.
- [9] F. Haddouchi, H. A. Lazouni, P. Naturels, D. De Biologie, F. Sciences, and U. A. Belkaid, “Etude physicochimique et microbiologique de l’ huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut Résumé,” vol. 05, no. 2, pp. 246–259, 2009.

- [10] Baser, K.H.C., Buchbauer, G. Handbook of essential oils: Science, technology and applications. CRC Press United States, 2010, pp99.

CHAPITRE V

Résultats et Discussion

Dans ce dernier chapitre, nous allons présenter tous les résultats obtenus en laboratoire, notamment la préparation de la Maghnite-H⁺ catalytique, la synthèse des nanoparticules d'amidon, l'estérification des nanoparticules d'amidon par la rosin, ainsi que la caractérisation physico-chimique par IRTF, DRX, RMN, ATG, DSC et MEB. Nous aborderons également certaines applications biologiques telles que l'activité antibactérienne et antioxydante des produits synthétiques obtenus.

I. Caractérisations de Maghnite-H⁺

I.1. Analyse spectroscopie Infra Rouge à Transformée de Fourier (IRTF)

Le spectre IRTF de Maghnite-H⁺ comparé à celui de la Maghnite brute (Figure 24) montre que la structure hydratée de Maghnite-H⁺ engendre des vibrations du groupe hydroxyle aux environs de 3395 cm⁻¹ et 3625 cm⁻¹. La vibration d'étirement de Si-O dans la couche tétraédrique est représentée par la forte bande à 1032 cm⁻¹. La structure de l'argile montmorillonite est responsable d'un certain nombre de bandes d'absorption supplémentaires à 917, 795 et 615 cm⁻¹. Toutes ces bandes d'absorption caractéristiques démontrent que la structure du composé est en accord remarquable avec les valeurs de vibration trouvées dans la littérature [1,2].

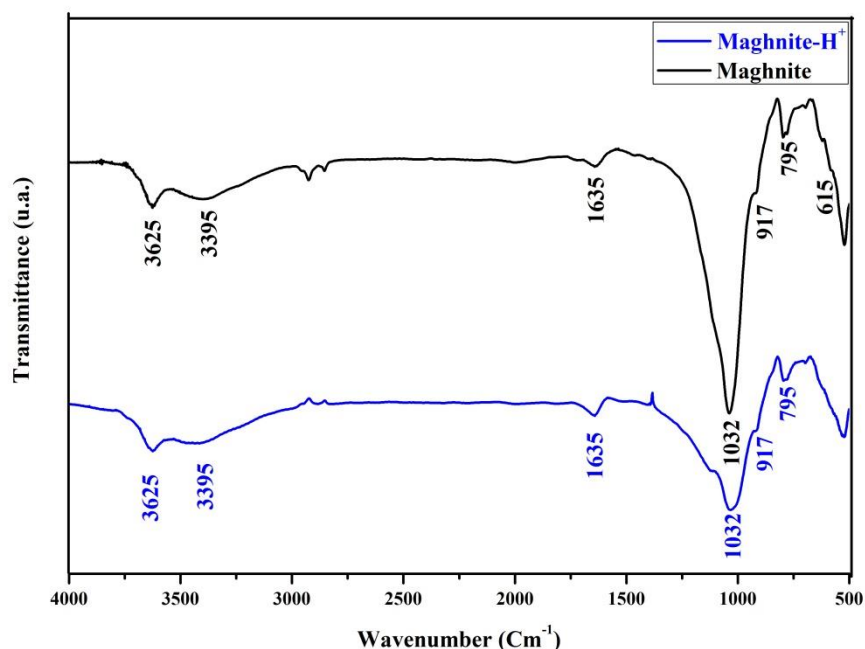


Figure 24. Spectre IRTF de Maghnite brute et Maghnite-H⁺.

I.2. Analyse diffraction des rayons X (DRX)

Tableau 6. Paramètres structuraux et nanostructuraux de la Maghnite et de la Maghnite-H⁺.

Echantillon	2θ (°)	(hkl)	d (Å)	D (nm)
Maghnite	7.02	(001)	12.59	4.31
	19.76	(110)	4.49	13.91
	26.62	(011)	3.34	4.26
				$\bar{D} = 7.49$
Maghnite-H ⁺	5.46	(001)	16.18	5.10
	19.76	(110)	4.49	10.57
	26.62	(011)	3.34	4.25
				$\bar{D} = 6.64$

A partir des diagrammes DRX présentés dans la figure 25, on peut observer que la Maghnite brute et traitée à l'acide révèle trois pics les plus forts situés à $2\theta = 7.02^\circ$, 19.79° , et 26.63° de l'argile, qui correspondent aux réflexions (001) et (110), appartenant à la structure cristalline hexagonale de la phase montmorillonite, ainsi qu'à la réflexion (011) correspondant à la phase quartz en accord avec la fiche JCPDS n° 00-046-1045 [3]. Les paramètres structuraux correspondants sont indiqués dans le tableau 6. Après avoir soustrait l'épaisseur des feuilles, cette distance peut être utilisée pour déduire la distance entre les feuilles.

La DRX de l'argile Maghnite traitée à l'acide présente des pics similaires à ceux de la Maghnite brute, mais la position et l'élargissement des pics sont influencés par le traitement appliqué. Il y a un déplacement clair des positions des pics vers des angles 2θ plus faibles, indiquant une expansion du réseau cellulaire unitaire, confirmant ainsi l'intercalation des (H⁺) dans les couches de la phase mère de l'argile montmorillonite. Du point de vue de la quantification, la distance entre les couches a été calculée et reportée dans le tableau. On peut noter que la distance intercouche d (001) augmente significativement d'environ 29 %, c'est-à-dire de 12.59 à 16.18 Å pour la Maghnite brute et traitée respectivement. Ceci peut être interprété comme étant dû à l'assaut des protons acides qui ont un diamètre relativement plus grand pour remplacer les cations inter-lamellaires dans la Maghnite.

La taille des cristallites (D) a été calculée en utilisant l'équation de Scherrer bien connue [4] pour chaque réflexion et les valeurs correspondantes sont données dans le tableau 6:

$$D = \frac{0.9 \lambda}{\beta \cos \theta}$$

où λ représente la longueur d'onde des rayons X (1.5418 Å), β la largeur totale à mi-hauteur du pic de diffraction, θ l'angle de diffraction du pic, et 0,9 une constante dépendant de la forme des particules. À partir de la valeur moyenne obtenue, on peut mettre en évidence que la taille moyenne des cristallites (\bar{D}) de la Maghnite diminue de 11.35 % après traitement acide. Ceci peut être attribué à la composition chimique des couches de Maghnite qui varie lors de l'activation acide. Par ailleurs, la taille des cristaux de quartz est restée stable, ce qui montre que le quartz est plus résistant au traitement acide.

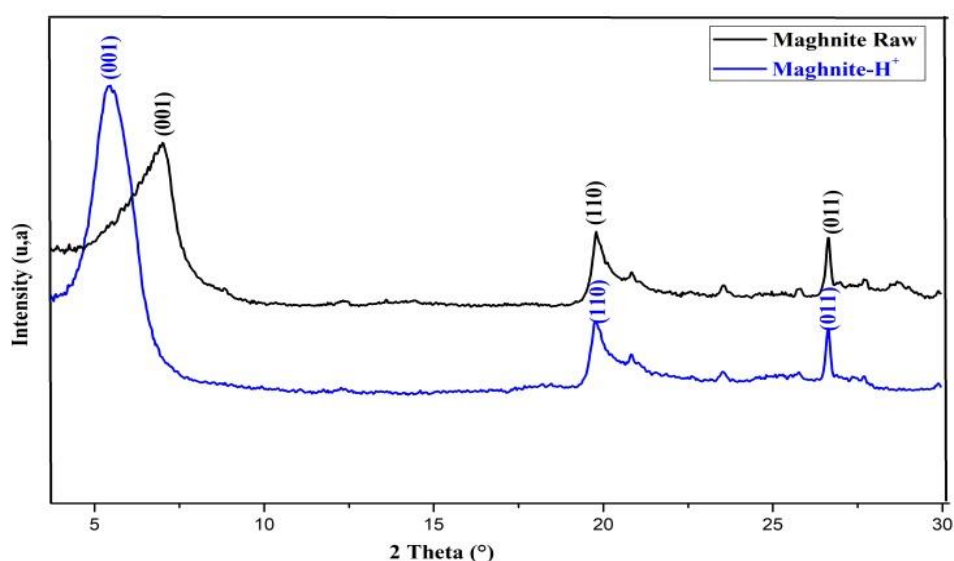


Figure 25. Diffractogrames DRX d'une Maghnite brute et d'une Maghnite traitée avec acide (H_2SO_4).

II. Optimisation de la synthèse d'amidon nanoparticules estérifiées avec la Rosin

II.1. Le rapport molaire (rosin : SNPs)

Pour le rapport molaire 1:1 (Figure 26), la valeur de DS était extrêmement faible, ce qui indique que le processus d'estérification s'est déroulé très lentement. DS augmente d'abord avec l'augmentation du rapport molaire et atteint sa valeur maximale de 0.135 pour un rapport molaire de 4:1. La durée correspondant à la collision des molécules entre l'amidon et la rosin est également relativement courte par unité de temps lorsque le rapport n-Rosin / n-SNPs est plus petit. En revanche, la probabilité d'une collision réelle est assez élevée. Lorsque le rapport n-Rosin / n-SNPs augmente, l'augmentation de DS peut être due à une plus grande interaction entre les molécules d'amidon et de rosin.

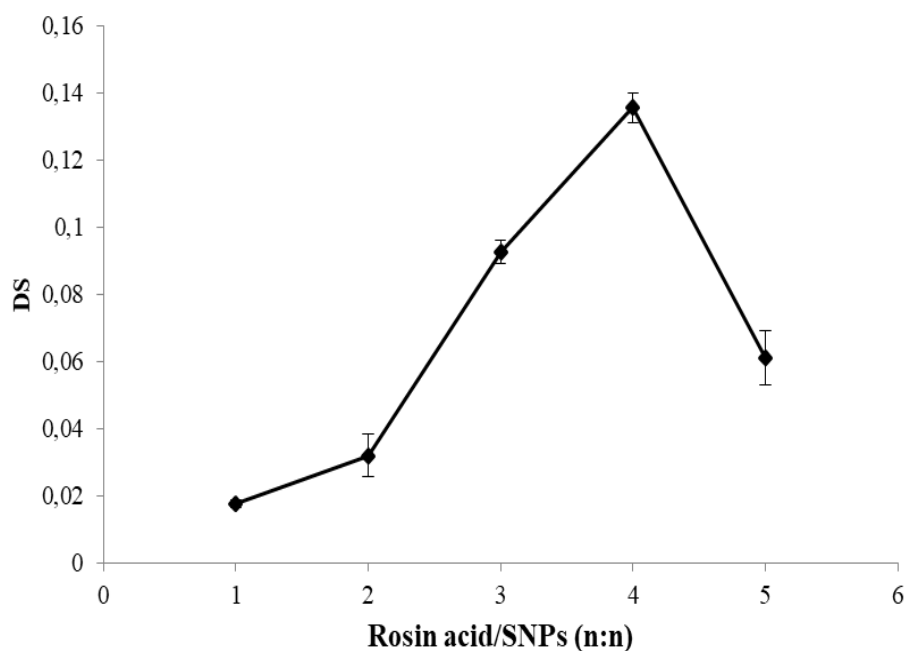


Figure 26. L'effet du rapport molaire de substrat sur la synthèse de SNPs-Rosin.

II.2. Analyse statistique des données expérimentales ANOVA par le logiciel Design-Expert

Les valeurs réelles de la DS et les valeurs prédites aux différents points, basées sur la conception expérimentale, sont présentées dans le tableau 7. Les coefficients de l'équation de régression (Eq. (2)) ont été calculés à l'aide de l'outil Design Expert en utilisant le modèle de Box-Behnken et les données expérimentales.

Tableau 7. Plan d'expérience Box-Behnken et valeurs de réponse pour le degré de substitution.

	Facteur 1	Facteur 2	Facteur 3	Réponse 1	Réponse 2
Exécuter	X ₁ /Température (°C)	X ₂ /Temps de réaction (h)	X ₃ /Catalyseur (%)	DS Y réel	DS Y prédit
1	100	24	15	0.094	0.098
2	40	6	15	0.055	0.050
3	70	15	15	0.103	0.110
4	100	15	25	0.123	0.123
5	70	15	15	0.114	0.110
6	100	15	5	0.031	0.097
7	70	6	5	0.032	0.036

8	70	24	5	0.034	0.033
9	40	15	25	0.073	0.077
10	40	15	5	0.034	0.034
11	70	15	15	0.117	0.110
12	70	6	25	0.073	0.073
13	40	24	15	0.073	0.073
14	70	24	25	0.141	0.136
15	70	15	15	0.105	0.110
16	100	6	15	0.064	0.063
17	70	15	15	0.111	0.110

L'équation polynomiale du second ordre ci-dessous a été réalisée pour analyser la valeur DS des SNPs après esterification:

$$Y = \alpha_0 + \alpha_1 X_1 + \alpha_2 X_2 + \alpha_3 X_3 + \alpha_4 X_1 X_2 + \alpha_5 X_1 X_3 + \alpha_6 X_2 X_3 + \alpha_7 X_1^2 + \alpha_8 X_2^2 + \alpha_9 X_3^2 \quad (3)$$

$$Y = 0,11 + 0,009625X_1 + 0,01475X_2 + 0,034875X_3 + 0,003 X_1 X_2 + 0,01325 X_1 X_3 + 0,0165 X_2 X_3 - 0,021625 X_1^2 - 0,016875 X_2^2 - 0,023125X_3^2 \quad (R^2 = 0,9866) \quad (4)$$

L'analyse de la variance (ANOVA) a également été réalisée pour vérifier la signification de l'ajustement de l'équation polynomiale du second ordre pour les données expérimentales, et les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 8.

Tableau 8. Analyse de la variance (ANOVA) pour les éléments du paramètre de Box - Behnken.

Source :	Somme des carrés	Degré de liberté	Carré moyen	Valeur F	p-valeur	
Modèle	0.0201	9	0.0022	57.26	<0.0001	Significatif
X₁/Température	0.0007	1	0.0007	19.02	0.0033	
X₂/Temps de réaction	0.0017	1	0.0017	44.67	0.0003	
X₃ /Catalyseur	0.0097	1	0.0097	249.72	<0.0001	
X₁ X₂	0.0000	1	0,0000	0.9239	0.3685	
X₁ X₃	0.0007	1	0.0007	18.02	0.0038	
X₂ X₃	0.0011	1	0.0011	27.95	0.0011	
X₁²	0.0020	1	0.0020	50.53	0.0002	
X₂²	0.0012	1	0.0012	30.77	0.0009	

X₃²	0.0023	1	0.0023	57.79	0.0001	
Résiduel	0.0003	7	0.0000			
Manque d'adéquation	0.0001	3	0.0000	1.26	0.3990	Non significatif
Erreur pure	0.0001	4	0.0000			
Cor Total	0.0204	16				

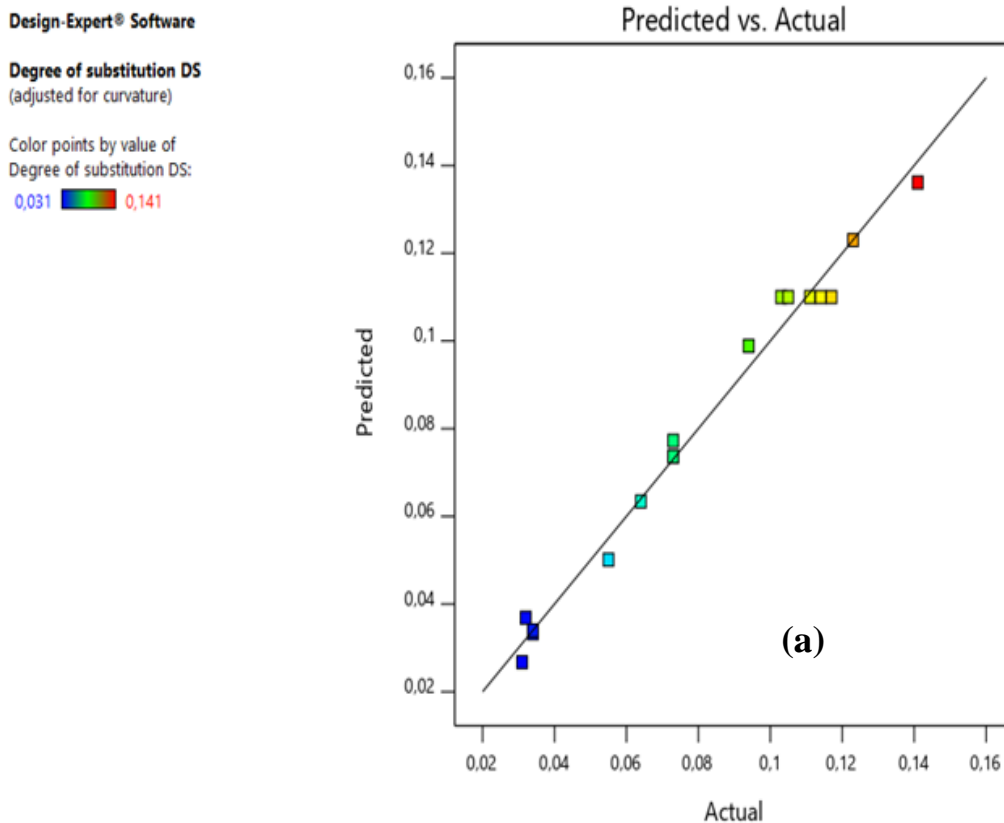
$R^2 = 0.9866$, $R^2_{Adj} = 0.9694$, $R^2_{Pred} = 0.8849$, $CV = 7.71\%$.

La valeur F supérieure du modèle est de 57.26 et la valeur p inférieure ($p < 0.0001$) indiquent que les coefficients sont hautement significatifs et que le modèle évolué est le mieux adapté. Pour des valeurs p inférieures à 0.05, les termes du modèle sont statistiquement significatifs. Dans ce cas, X_1 , X_2 , X_3 , $X_1 X_3$, $X_2 X_3$, X_1^2 , X_2^2 , X_3^2 représentent les termes significatifs du modèle. Alors que pour les valeurs p supérieures à 0.1000, cela implique que les termes du modèle ne sont pas significatifs. La valeur F d'absence d'ajustement de 1.26 signifie que cette dernière n'est pas significative par rapport à l'erreur pure. Il y a 39.90 % de chances qu'une valeur F de manque d'ajustement aussi élevée soit due au bruit.

La qualité de l'ajustement du modèle a été optimisée en calculant le coefficient (R^2). Ainsi, le coefficient (R^2) s'avère être de 0.9866. Cela signifie que le modèle de régression peut rendre compte de 98.66% de la variance, et que le modèle est fiable. En outre, la valeur du coefficient de détermination modifié ($R^2_{Adj} = 0.9694$) est élevée, ce qui suggère une applicabilité élevée du modèle [5]. Le coefficient de détermination attendu ($R^2_{Pred} = 0.8849$), qui fournit des détails sur la valeur de réponse attendue du modèle, est en bon accord avec le R^2_{Adj} . En outre, le coefficient de variance ($CV = 7.71\%$) est faible, ce qui implique que les expériences sont assez précises et fiables. [8].

Dans la figure 4(a), on observe une bonne corrélation entre les valeurs prédites et réelles de la DS pour les SNPs estérifiés. Les valeurs prédites, fournies par les modèles, et les valeurs réelles pour une série spécifique, représentent les données de réponse déterminées. On peut en conclure que les valeurs estimées correspondent de manière satisfaisante aux valeurs réelles. Les points distribués en diagonale indiquent qu'une représentation suffisamment précise des données expérimentales est donnée par l'équation du modèle de régression. Les surfaces de réponse et les lignes de contour créées à partir du modèle polynomial adopté, ainsi que la représentation exprimée par l'équation (Eq. (4)), peuvent être considérées comme des approches perspicaces et efficaces pour analyser les interactions entre deux facteurs ainsi que l'influence des variables expérimentales sur les réponses, permettant une meilleure compréhension du système de réaction

[5]. La figure 27 présente les surfaces de réponse et les lignes de contour pour deux variables, tandis que les fonctions des deux autres variables sont maintenues à leur niveau central. On peut observer que la valeur de DS, en fonction de la température (X_1), du temps de réaction (X_2) et de la quantité de catalyseur (X_3), révèle des tracés 2D et 3D de la surface de réponse. Les surfaces de réponse sont des courbes linéaires concaves vers le bas, ce qui indique une valeur maximale de réponse (DS). Elles montrent également l'influence du temps de réaction, de la température, ainsi que de la quantité de catalyseur, et de leurs interactions, sur l'évolution de la DS des SNPs estérifiés. On observe que la valeur de la DS augmente avec l'augmentation du temps de réaction jusqu'à 23 heures, de la quantité de catalyseur jusqu'à 23.78 %, et de la température jusqu'à 85.7°C pour une valeur maximale de la DS de 0.142.



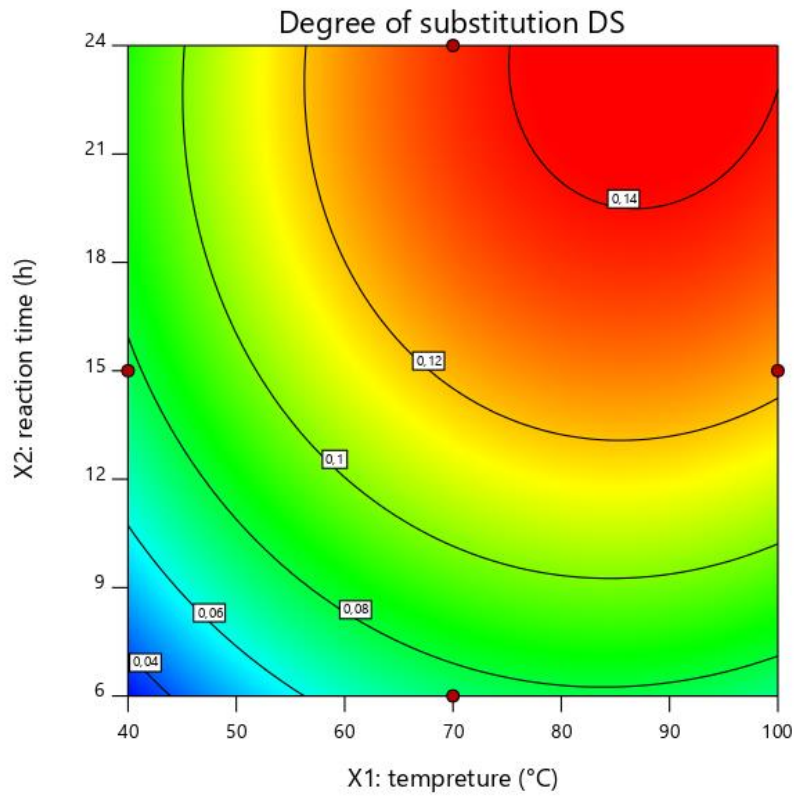
Design-Expert® Software
Factor Coding: Actual

Degree of substitution DS

● Design Points
0,031 0,141

X1 = A: tempreture
X2 = B: reaction time

Actual Factor
C: catalyst = 25



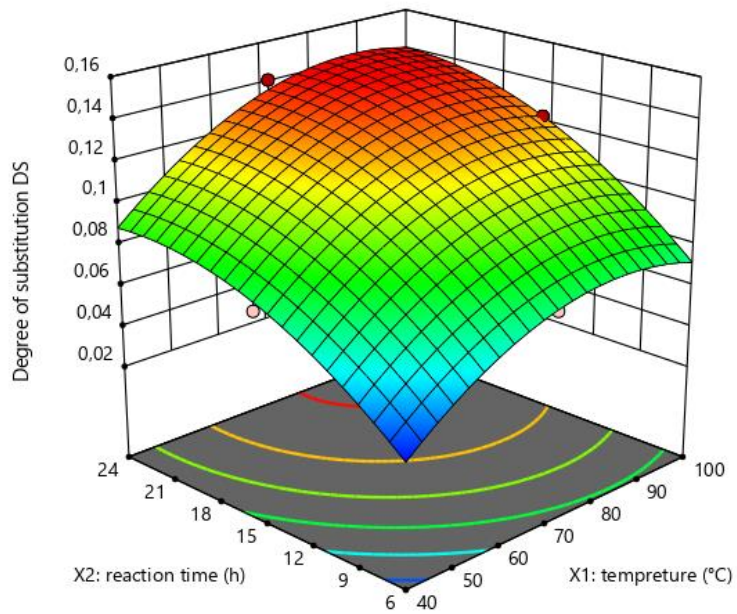
Design-Expert® Software
Factor Coding: Actual

Degree of substitution DS

● Design points above predicted value
○ Design points below predicted value
0,031 0,141

X1 = A: tempreture
X2 = B: reaction time

Actual Factor
C: catalyst = 25



(b)

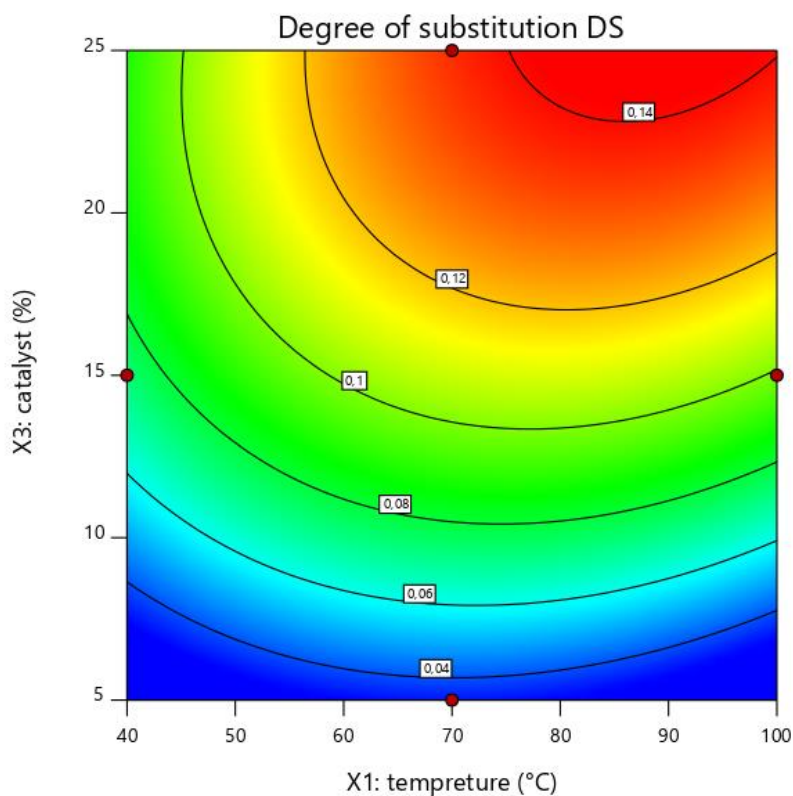
Design-Expert® Software
Factor Coding: Actual

Degree of substitution DS

● Design Points
0,031 0,141

X1 = A: temperature
X2 = C: catalyst

Actual Factor
B: reaction time = 24



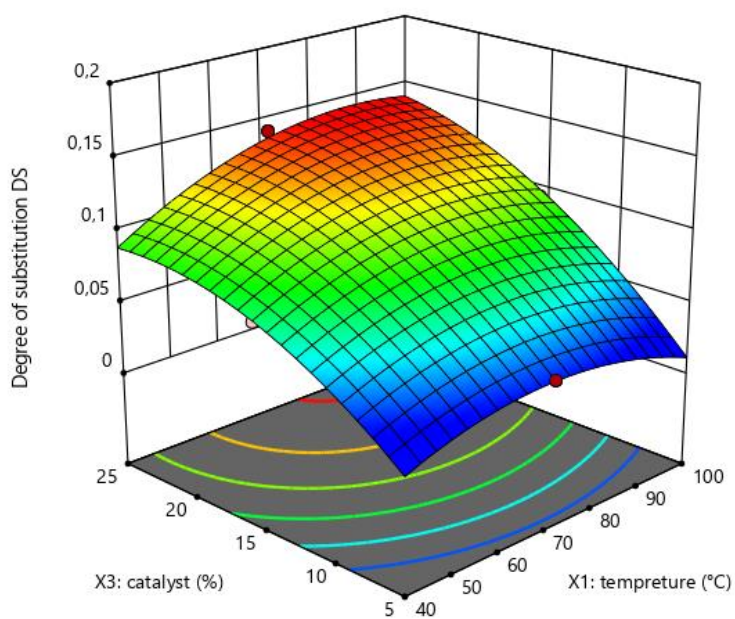
Design-Expert® Software
Factor Coding: Actual

Degree of substitution DS

● Design points above predicted value
○ Design points below predicted value
0,031 0,141

X1 = A: temperature
X2 = C: catalyst

Actual Factor
B: reaction time = 24



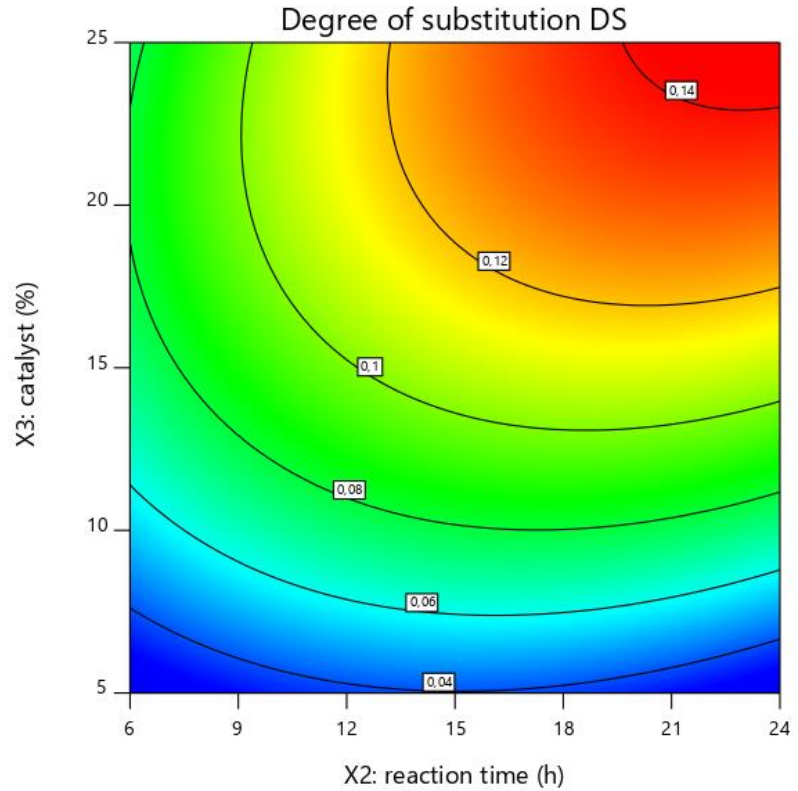
(c)

Design-Expert® Software
Factor Coding: Actual

Degree of substitution DS
0,031 0,141

X1 = B: reaction time
X2 = C: catalyst

Actual Factor
A: temperture = 90,4

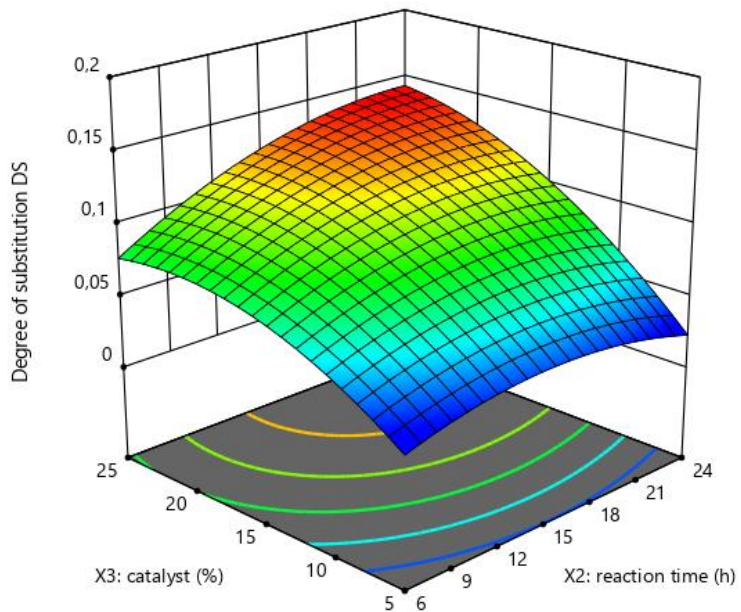


Design-Expert® Software
Factor Coding: Actual

Degree of substitution DS
0,031 0,141

X1 = B: reaction time
X2 = C: catalyst

Actual Factor
A: temperture = 90,4



(d)

Figure 27. a) Graphiques de diagnostic du modèle quadratique utilisé pour la réponse estimée de la synthèse réelle des nanoparticules d'amidon estérifié par rapport à la réponse prédite. Surface de réponse et contours montrant l'effet de la température de réaction (X_1), du temps de réaction

(X_2) et de la quantité de catalyse (X_3) sur le degré de substitution DS. **(b)** Surfaces de réponse et lignes de contour de DS en fonction de X_1 et X_2 . **(c)** Surface de réponse et lignes de contour de DS en fonction de X_1 et X_3 . **(d)** Surface de réponse et lignes de contour de DS en fonction de X_2 et X_3 .

Avec un temps de réaction de 24 h (Figure 28a), la valeur maximale de DS des SNPs estérifiés est atteinte à 0.140. Il est clair que cette durée est nécessaire pour achever l'estérification. Il est intéressant de noter qu'un temps adéquat est nécessaire pour assurer une interaction appropriée entre les réactifs, ce qui conduit à une homogénéité améliorée des réactifs. On suppose qu'un temps suffisant est nécessaire pour permettre les collisions maximales, qui peuvent durer jusqu'à 24 heures. En prolongeant la période de réaction, l'agent estérifiant pénètre suffisamment à l'intérieur de l'amidon pendant cette période [7].

La température de réaction a une influence substantielle sur le degré de substitution (voir Figure 27b). L'augmentation de la température de réaction de 40 à 90 °C a entraîné une augmentation de la valeur de DS jusqu'à 0.142. Cependant, une augmentation de la température de réaction au-delà de 90 °C a entraîné une diminution de la valeur de DS. Ceci est dû au fait qu'une température plus élevée fournit suffisamment d'énergie d'activation (E_a) pour que le système réactionnel puisse dépasser la barrière énergétique correspondante [8]. Lorsque le mélange réactionnel produit de l'eau, l'efficacité de la Maghnite- H^+ diminue car elle absorbe l'eau, ce qui empêche l'attaque des cations H^+ pendant la réaction. Il y a trois principales explications pour le fait que le degré de réactivité est accru dans ces conditions de fonctionnement: premièrement, la disponibilité d'énergie suffisante qui permet une réaction rapide. Deuxièmement, à une température relativement élevée, l'amidon subit une gélatinisation partielle. Par conséquent, la structure cristalline des particules d'amidon est altérée, permettant aux molécules de rosin de pénétrer plus facilement dans les particules pour effectuer l'estérification. Troisièmement, le système de réaction est dépourvu d'eau, ce qui empêche les réactions secondaires d'hydrolyse tout en favorisant le processus d'estérification (voir Figure 27c). En conséquence, le degré de substitution (DS) varie entre 5 et 25%. Cela s'explique par une augmentation des centres acides actifs qui initient le processus d'estérification. Plus il y a de centres actifs, plus le DS est élevé. Cependant, ce phénomène est très probablement le résultat d'une surabondance de "sites actifs d'acides de Brönsted et de Lewis" à la surface des couches du catalyseur, ce qui peut induire une augmentation significative du DS.

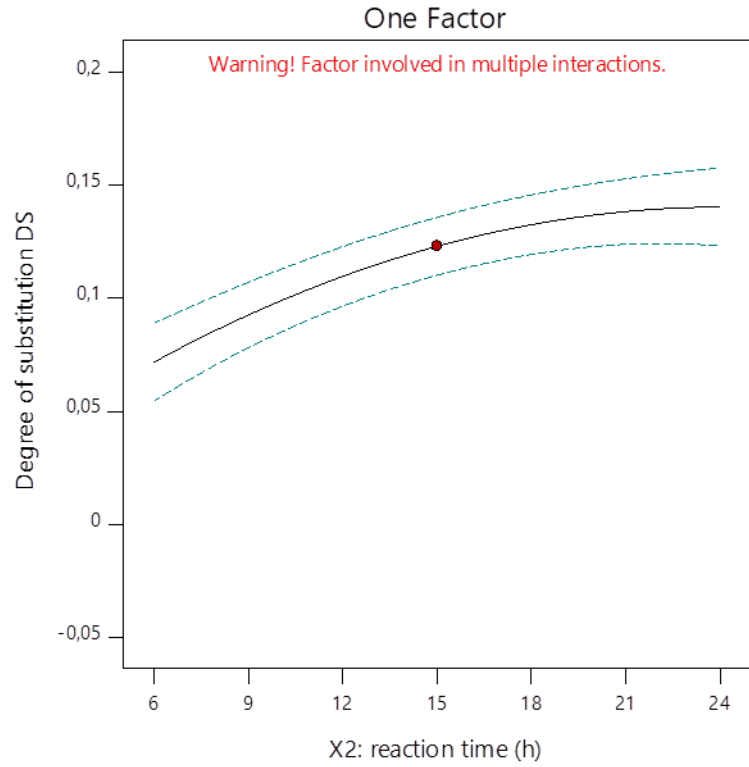
Design-Expert® Software
Factor Coding: Actual

Degree of substitution DS
● Design Points
----- 95% CI Bands

X1 = B: reaction time

Actual Factors
A: temperature = 100
C: catalyst = 25

(a)



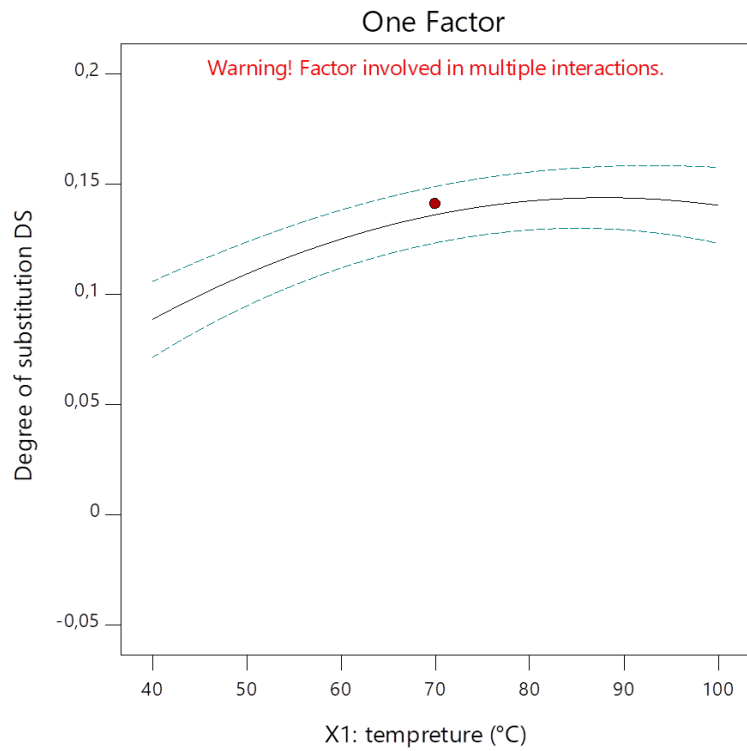
Design-Expert® Software
Factor Coding: Actual

Degree of substitution DS
● Design Points
----- 95% CI Bands

X1 = A: temperature

Actual Factors
B: reaction time = 24
C: catalyst = 25

(b)



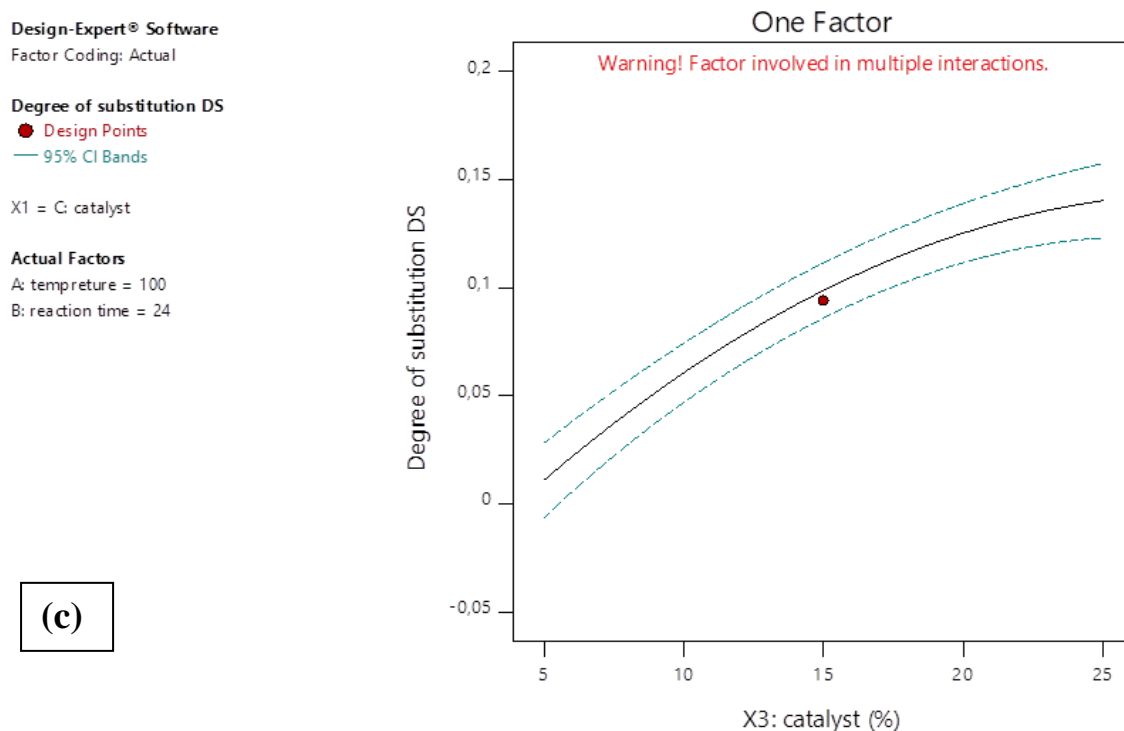


Figure 28. L'effet temps de réaction (a), de la température (b), et du pourcentage de Magnite-H⁺ (m/m par rapport aux SNPs) sur la synthèse des SNP-Rosin (c).

III. Le mécanisme probable de la réaction

Comme l'illustre la Figure 29, le catalyseur Maghnite-H⁺ possède à la fois un site acide de Brønsted (H⁺) et un site acide de Lewis (Al⁺). Par conséquent, la réaction peut impliquer les deux types de sites acides. Le processus catalytique est plus rapide au taux de Brønsted, et le catalyseur présente une acidité de Brønsted plus forte. La réaction est considérée comme étant principalement catalysée par un acide de Brønsted, dans laquelle (H⁺) est transféré des sites acides de Brønsted de la Maghnite-H⁺ à l'oxygène du carbonyle (protonation du groupe carbonyle) (étape I). Ensuite, l'oxygène des SNPs attaque le groupe carbonyle protoné (étape II). L'ester (SNPs-Rosin) est formé après déprotonation et perte de H₂O (étape III).

En outre, les sites acides de Lewis du catalyseur Maghnite-H⁺ peuvent également contribuer à la formation de SNPs-Rosin. La première étape du processus d'estérification catalysé par les acides de Lewis est la liaison directe de la rosin avec les sites de Lewis (Al⁺) (étape IV). Dans la deuxième et la troisième partie, la réaction suit le même mécanisme que la réaction catalysée par l'acide de Brønsted.

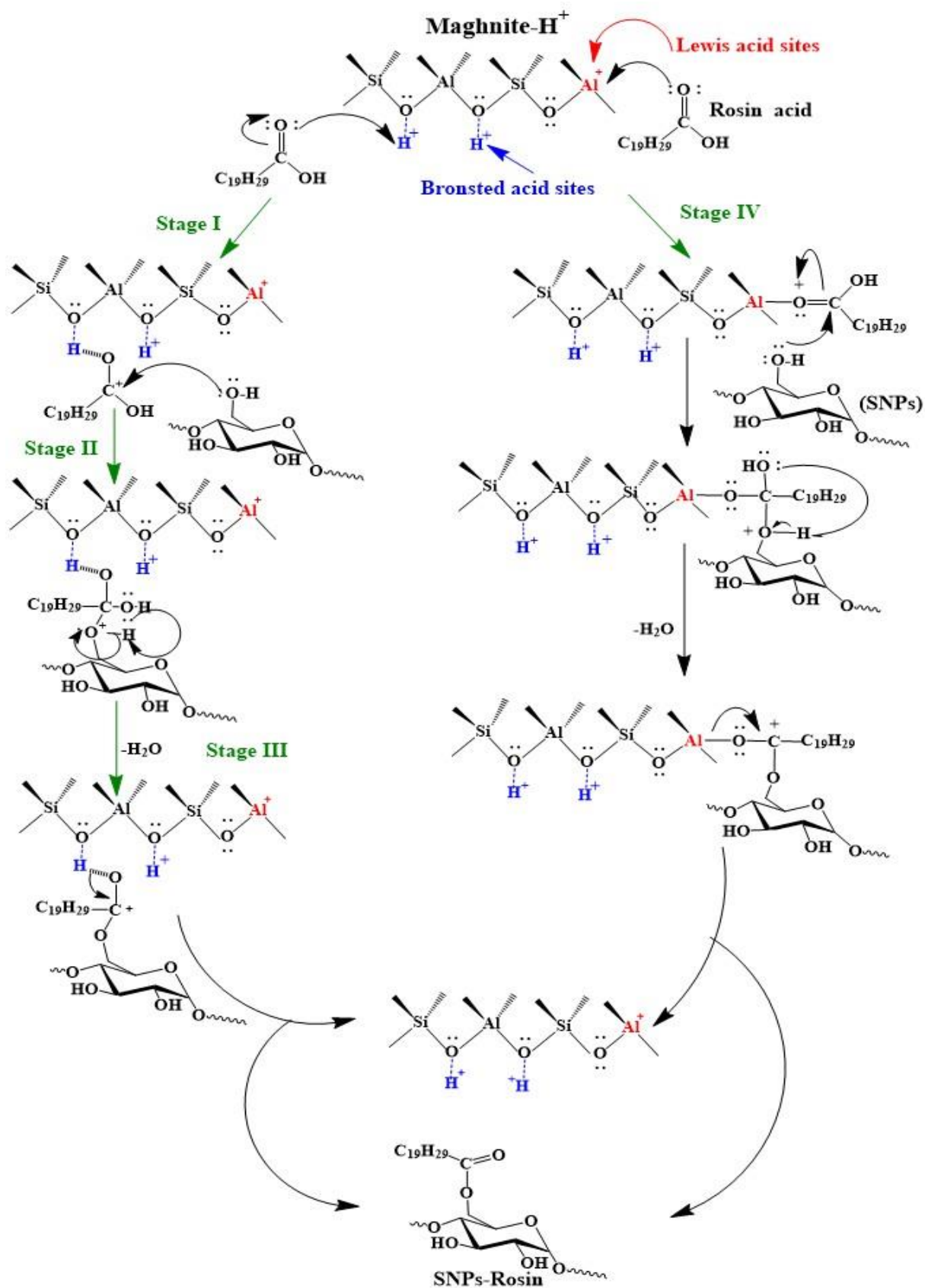


Figure 29. Mécanisme de réaction de la rosin des nanoparticules d'amidon catalysée par la Maghnite-H⁺.

IV. Propriétés structurales et morphologiques

IV.1. Analyse IRTF

Les spectres IRTF de l'amidon natif et des SNPs sont similaires et presque identiques (Figure 30a), comme dans une étude précédente sur la synthèse de nano-amidon [9]. Les deux pics à 1026 et 1079 cm^{-1} correspondent aux vibrations d'étirement de l'unité de glucose C-O [10]. Le large pic à 3383 cm^{-1} (dans la plage de 3000 et 3600 cm^{-1}) est attribué à l'étirement des liaisons hydrogène O-H [11]. Le pic à 1350 cm^{-1} est lié aux déformations des groupes C-O-H, tandis que le pic à 1641 cm^{-1} est associé aux molécules d'eau adsorbées par l'amidon, et le pic à 2930 cm^{-1} est lié aux vibrations des liaisons C-H [12]. Cependant, le pic correspondant à la vibration d'étirement OH à 3395 cm^{-1} des SNPs lors de la réaction avec la rosin (Figure 30c) présente une diminution d'intensité par rapport à l'amidon natif et aux SNPs. Cela suggère que certaines parties de la vibration d'étirement OH subissent une interaction pendant l'estérification des SNPs avec la rosin. De plus, dans la molécule de rosin (Figure 30b), le pic de 1694 cm^{-1} correspondant au groupe carboxyle disparaît dans le spectre des SNPs estérifiés [13, 14]. En parallèle, un nouveau pic intense de 1726 cm^{-1} correspondant à l'étirement C=O du groupe ester est détecté, ce qui confirme que les SNPs ont été synthétisés avec succès avec la rosin [11, 15].

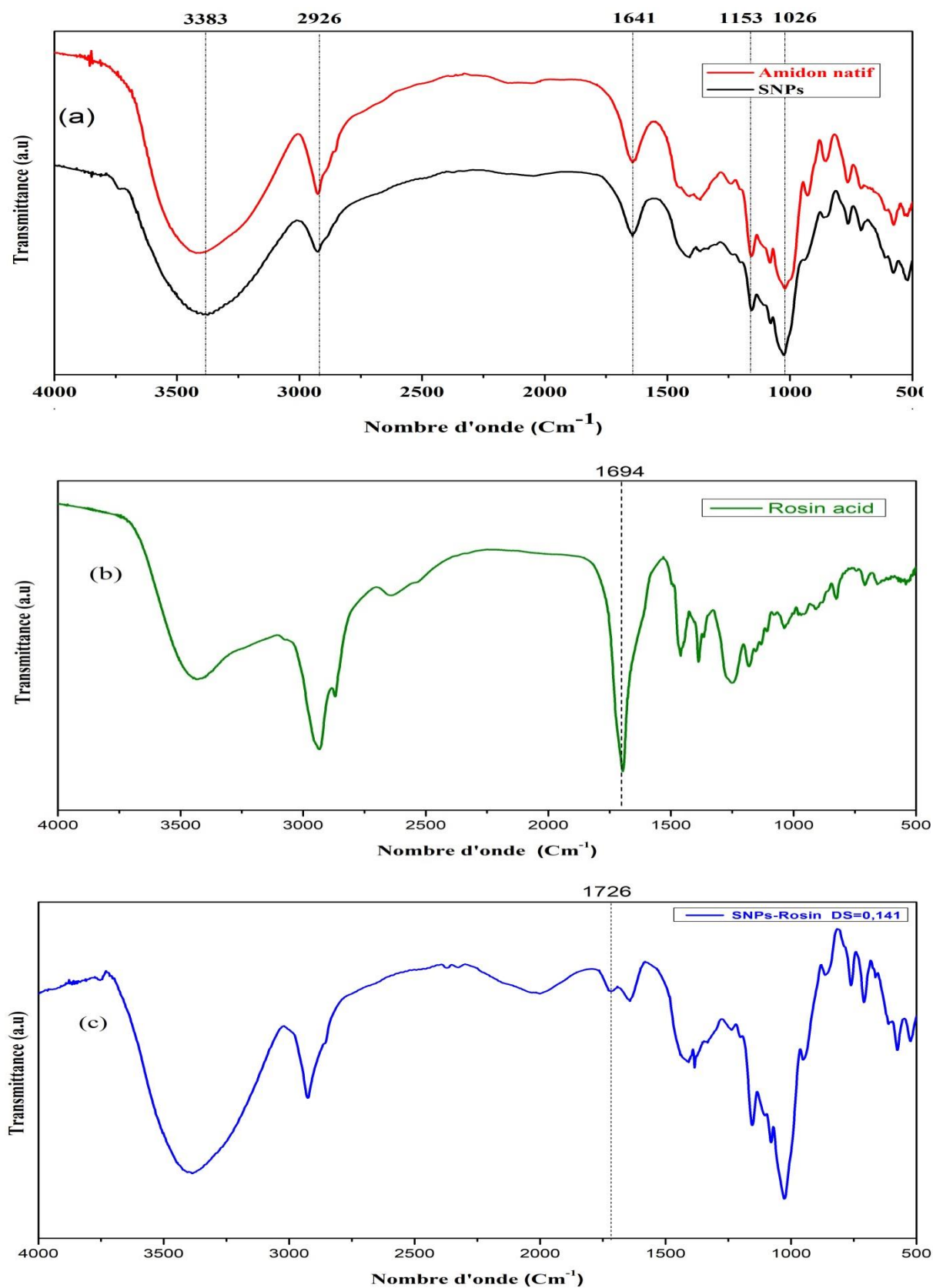
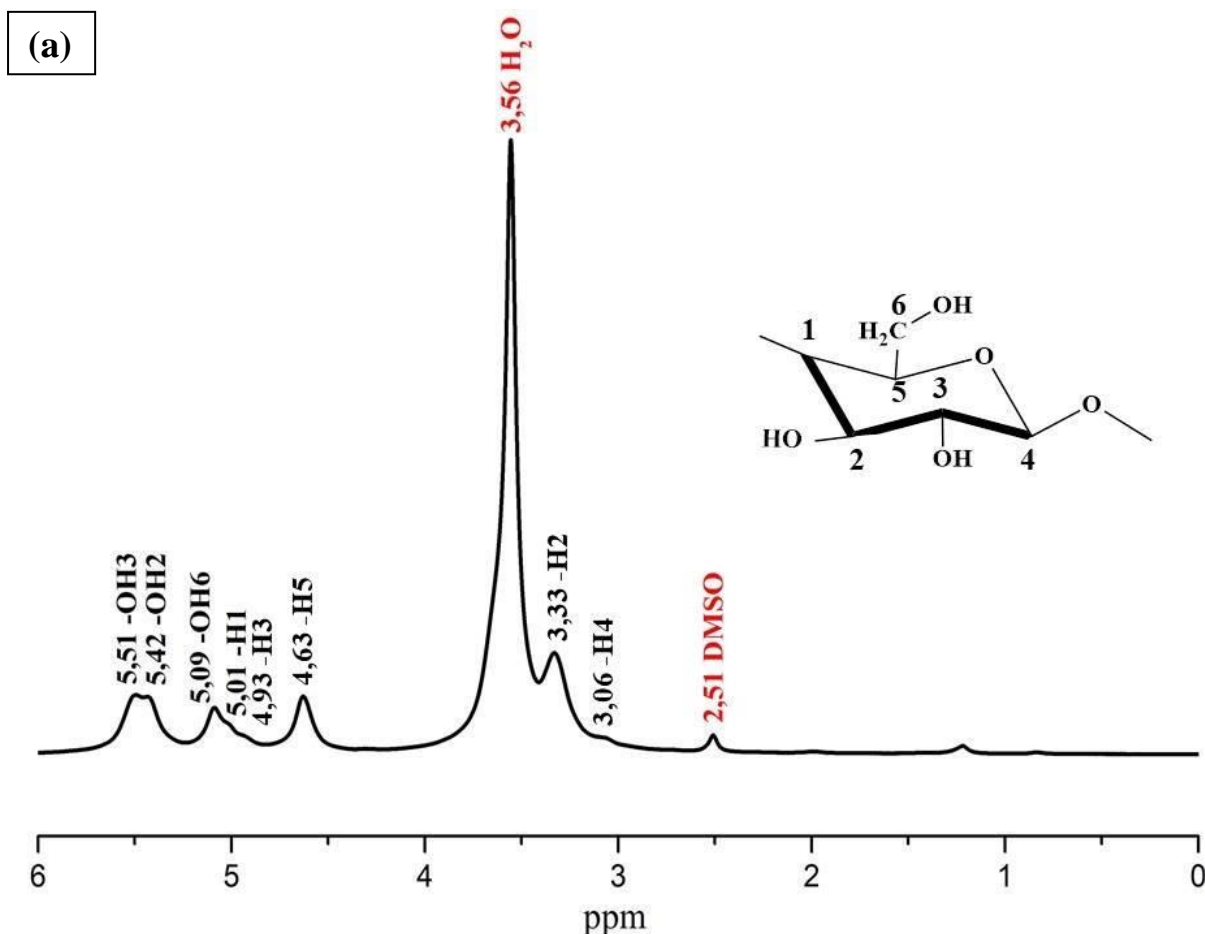


Figure 30. Spectres IRTF (a) amidon natif et nanoparticules d'amidon, (b) acide rosine et (c) nanoparticules d'amidon estérifié.

IV.2. Analyse RMN

La RMN est un outil important qui permet de caractériser la structure chimique et les propriétés chimiques de l'amidon et des échantillons d'amidon nanoparticules modifiés. La figure 31 présente le spectre typique de RMN ^1H pour (a) les SNPs et (b) les SNPs-Rosin (DS = 0.141). Les déplacements chimiques des protons à 4.93 ppm ont été attribués à H-3, ceux à 4.63 ppm à H-5, ceux à 3.33 ppm à H-2 et ceux à 3.06 ppm à H-4. Les déplacements chimiques de H-1 et OH-2, 3, 6 ont été attribués aux pics à 5.42, 5.51 et 5.09 ppm, respectivement. Par rapport au spectre des SNPs, on observe de nouveaux signaux de protons à 0.75-2.31 ppm dans le spectre de RMN ^1H des SNPs-Rosin, qui sont attribués aux protons de CH_3 , CH_2 et CH dans la rosin. En outre, on peut constater que l'intensité des signaux de protons de la rosin est claire dans le spectre des SNPs-Rosin que dans celui des SNPs. Selon les résultats de l'analyse spectrale IRTF et ^1H RMN, il est confirmé que les SNPs-Rosin ont été synthétisés avec succès.



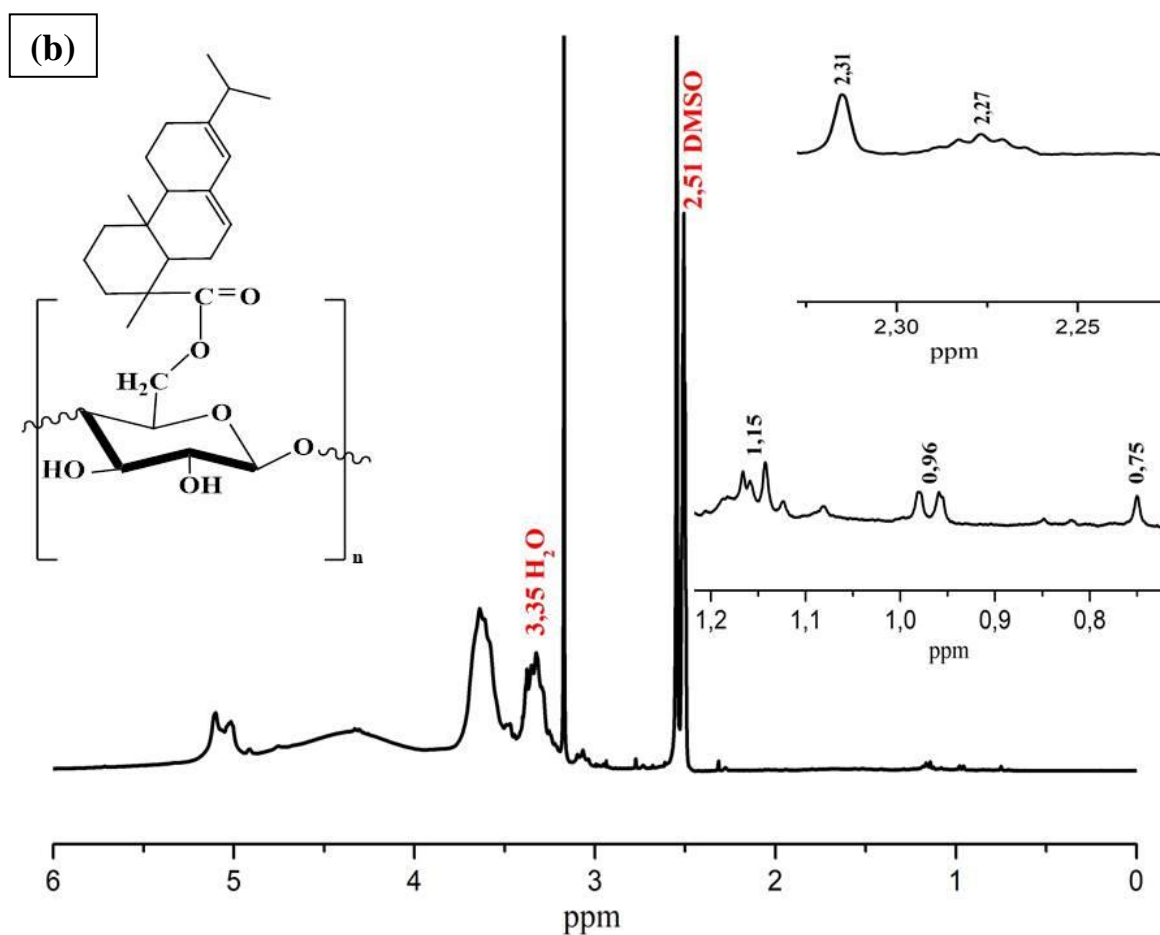


Figure 31. Spectre RMN ^1H de (a) nanoparticules d'amidon, (b) nanoparticules d'amidon estérifié.

IV.3. Analyse DRX

Les diagrammes DRX de l'amidon natif, des SNPs avant et après estérification avec l'acide rosin enregistrés dans la gamme 2θ $10^\circ - 70^\circ$ sont présentés dans la figure 32. L'amidon natif présente une intensité élevée et des pics de diffraction relativement larges situés approximativement autour de 15.10° , 17.08° , 19.14° , 22.22° et 23.88° associés au polymorphe de type B [16, 18]. Cela indique sa nature semi-cristalline, avec la présence de phases cristallines et amorphes. Aucune différence significative ne peut être observée entre les diagrammes XRD des SNPs et de l'amidon natif, à l'exception d'une légère réduction de l'intensité relative des pics. Le composé linéaire de l'amylose α -1, 4-glucopyranose est responsable de l'apparition de la phase amorphe, tandis que la phase cristalline est attribuée à la grande amylopectine composée à la fois d' α -1,4 et d' α -1,6 glucopyranose. La structure cristalline fortement ordonnée est due à des liaisons hydrogène intra et intermoléculaires [19, 20]. Une grande partie des groupes hydroxyle des SNPs ont été remplacés par des groupes carboxyle, ce qui a entraîné une réduction de la

formation de liaisons hydrogène intermoléculaires [21]. Comme prévu, après estérification des SNPs, le schéma DRX est composé d'un pic de diffraction principal très large situé autour de 19.7° , indiquant la transformation complète en phase amorphe.

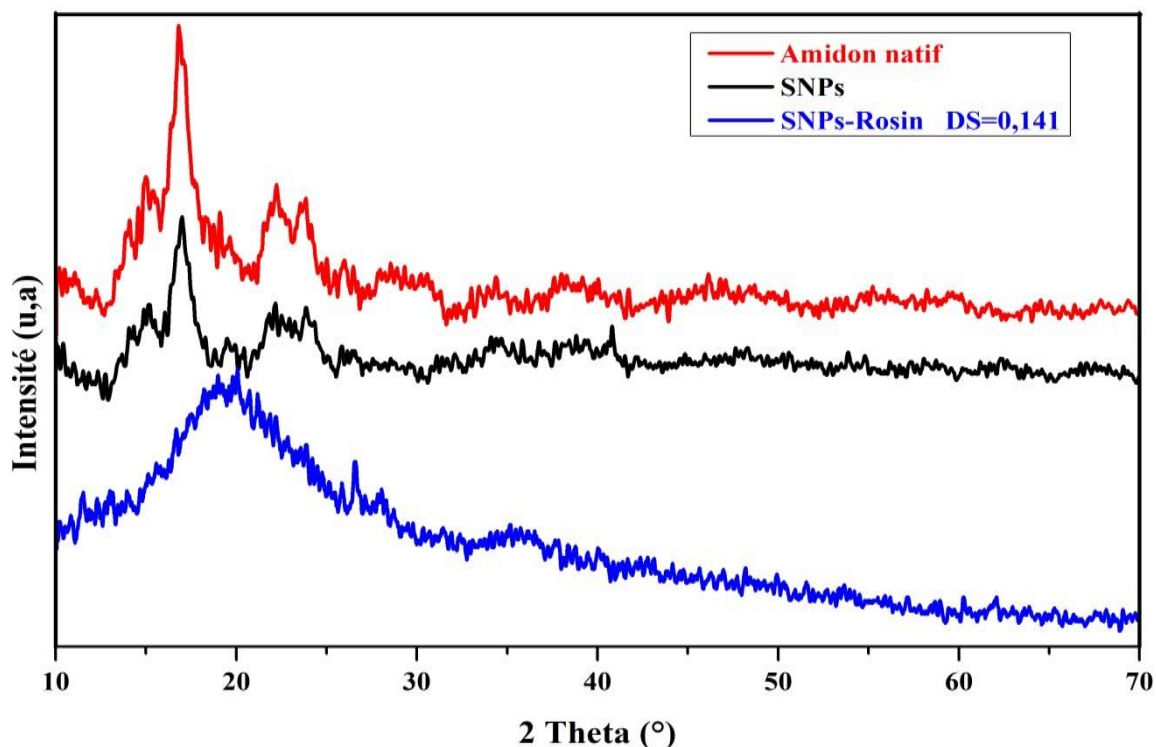
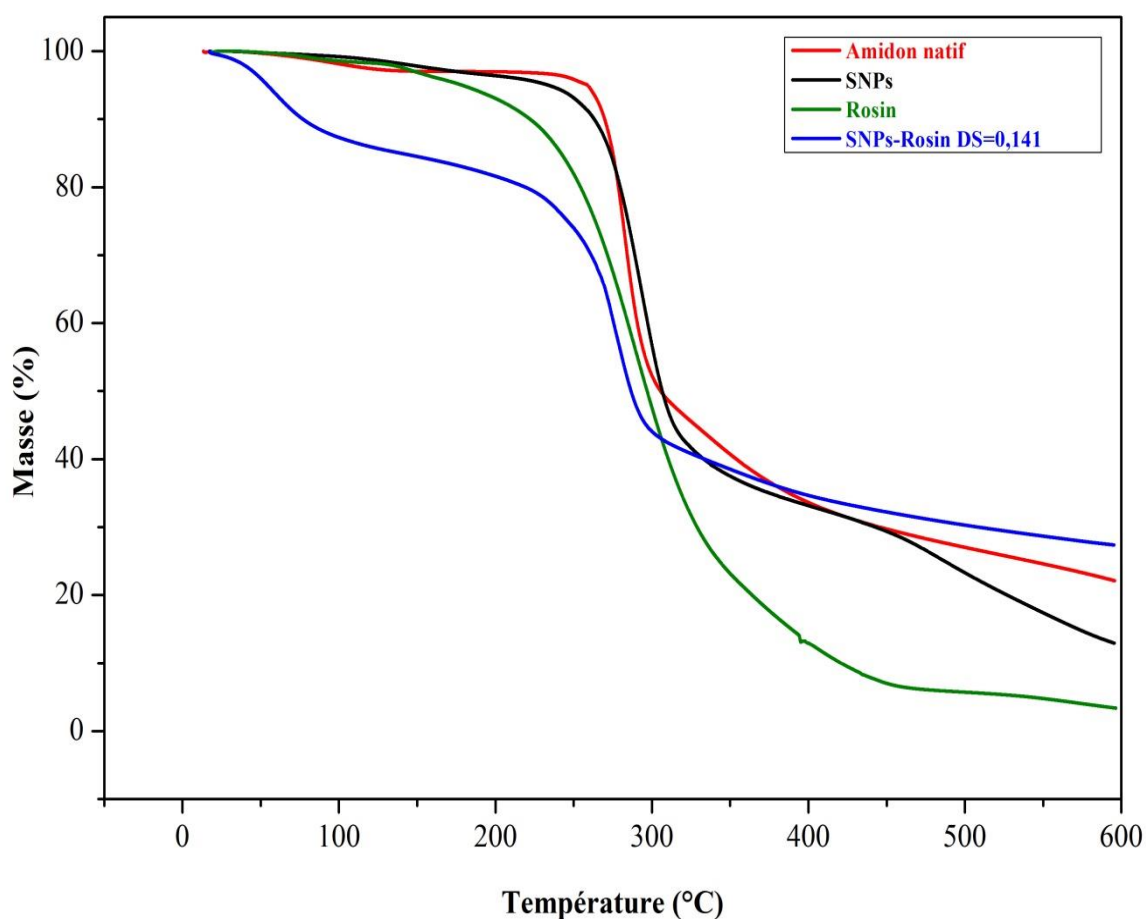


Figure 32. Diffraction des rayons X de l'amidon natif et des nanoparticules d'amidon (SNPs) avant et après estérification .

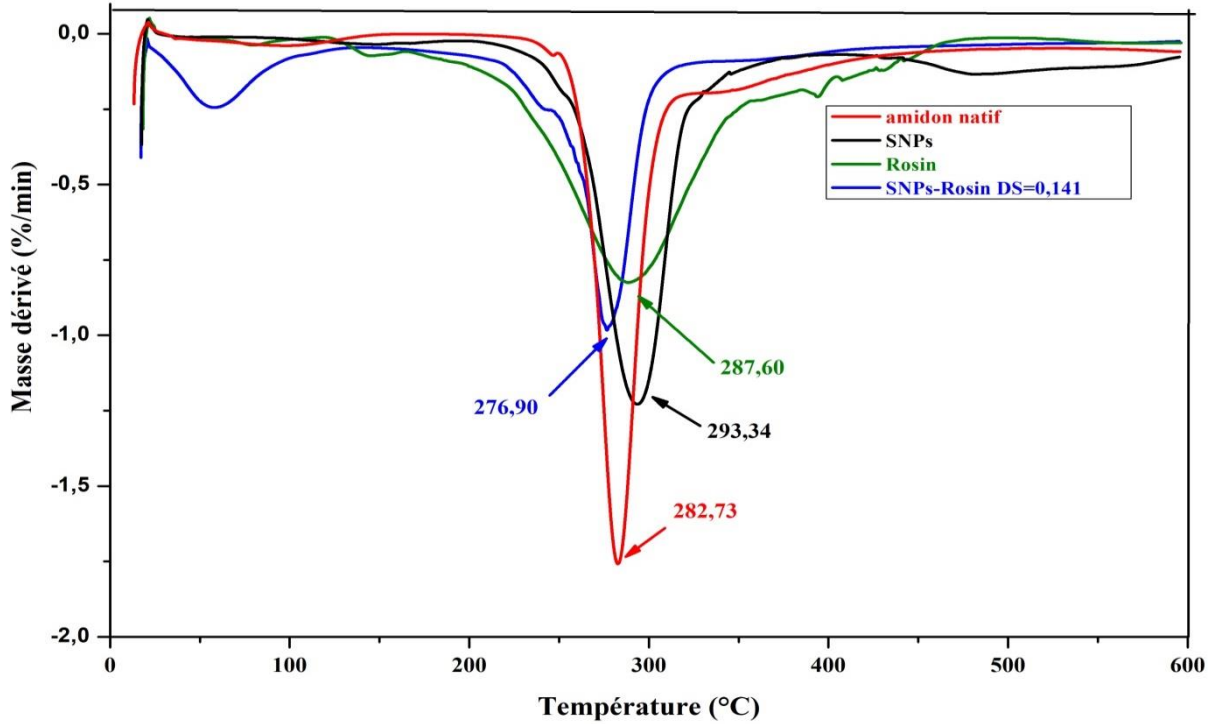
IV.4. Analyse de la stabilité thermique (ATG-DSC)

Les propriétés thermiques de l'amidon de pomme de terre natif, des SNPs et des SNPs estérifiés ont été étudiées par analyse thermogravimétrique, comme le montre la figure 33a. On peut déduire que les SNPs commencent à perdre du poids à une température légèrement inférieure à celle de l'amidon natif. Ceci indique que les SNPs possèdent un nombre élevé de groupements hydroxyle à leur surface, ce qui facilite leur dégradation thermique. Des résultats similaires ont déjà été rapportés pour les nanoparticules d'amidon préparées par hydrolyse acide [22]. Dans le cas des SNPs, la principale perte de masse, de 94.90 à 40.79%, se produit autour de $235\text{-}329^\circ\text{C}$, tandis que la température correspondant à la décomposition à haute température est d'environ 293.94°C (Figure 33b), avec une température de fusion (T_f) de 288.33°C (Figure 33c). En revanche, la décomposition des SNPs estérifiés (DS 0.141) commence à une température beaucoup plus basse par rapport aux SNPs. La principale perte de masse, de 78.58 à 43.15%, pour les SNPs estérifiés est observée autour de $230\text{-}305^\circ\text{C}$. La température de

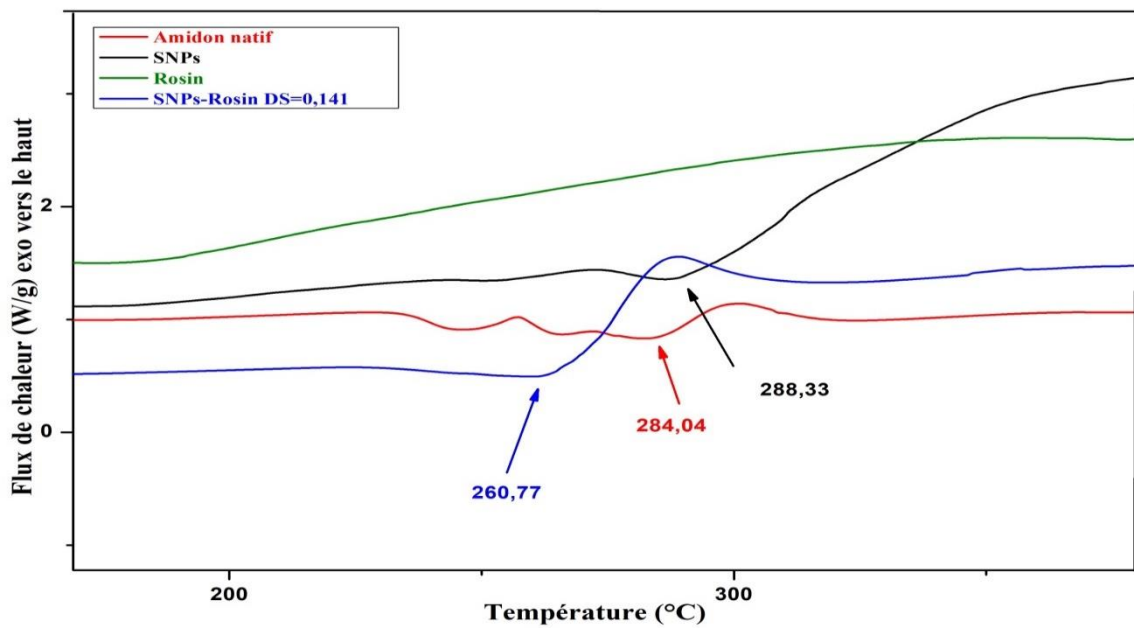
décomposition maximale pour les SNPs estérifiés est d'environ 276.90 °C (Figure 33b), avec une température de fusion (T_f) de 260.77 °C (Figure 33c). Par conséquent, la stabilité thermique des SNPs est réduite après la modification par la rosin. Cela peut être dû à la déformation des régions cristallines des SNPs suite à la modification lors de l'estérification avec la rosin. Les molécules de rosin sont introduites dans la chaîne moléculaire des SNPs, altérant ainsi l'hydrophobicité des SNPs et les liaisons hydrogène, ce qui diminue les interactions entre les SNPs et entraîne une diminution de la stabilité thermique [21].



(a)



(b)

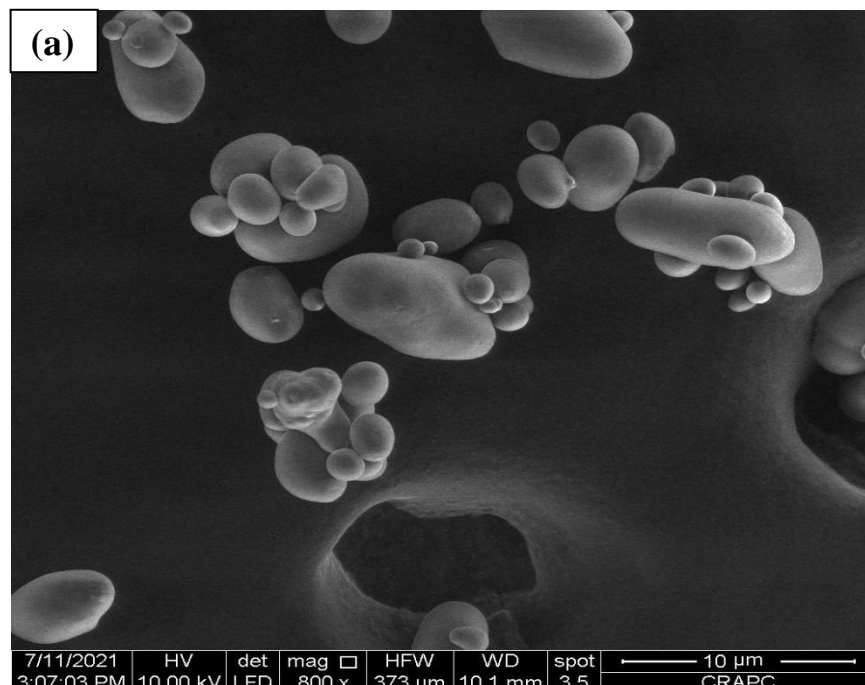


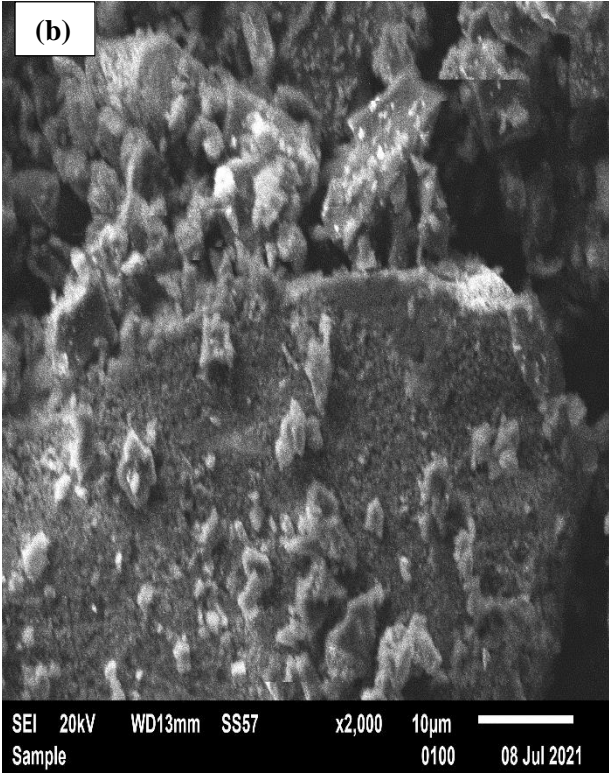
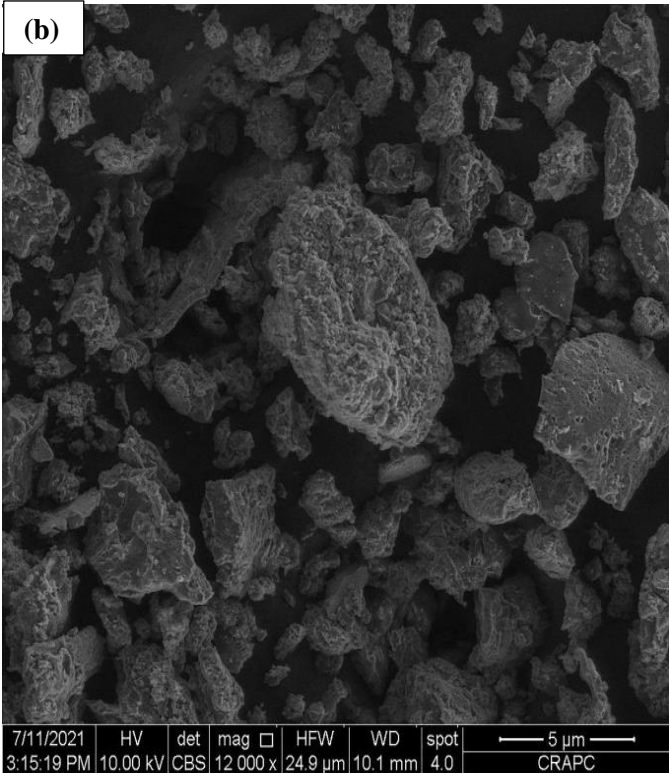
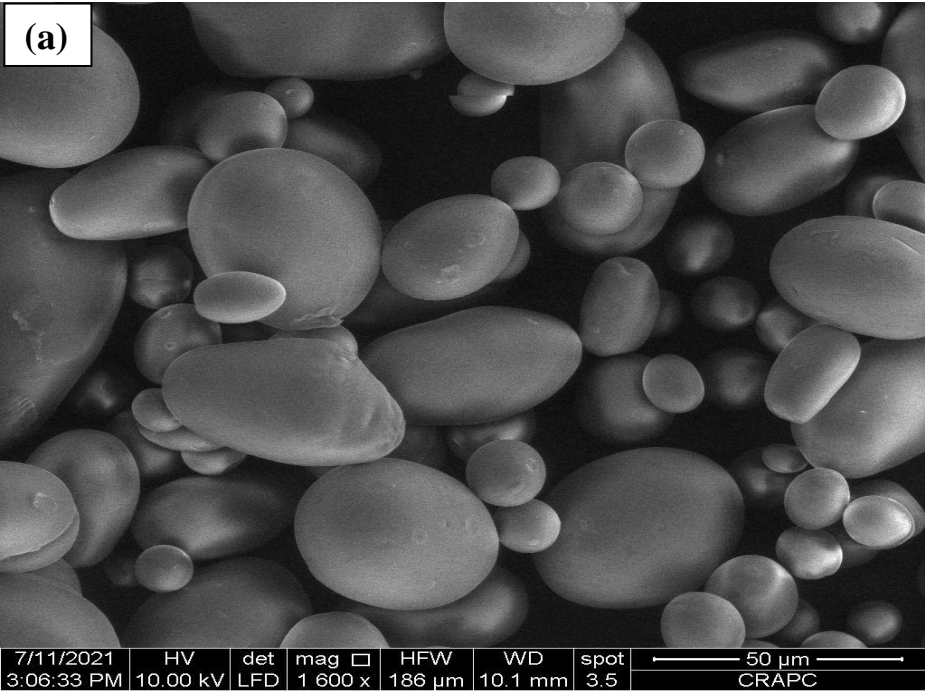
(c)

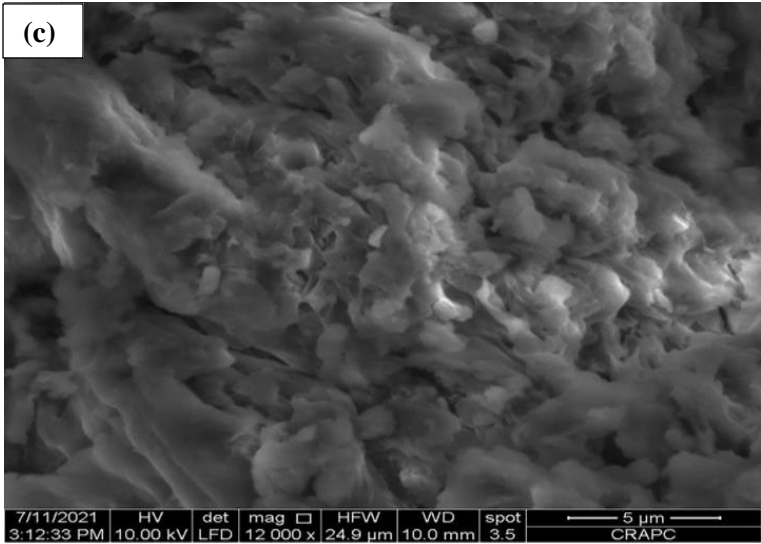
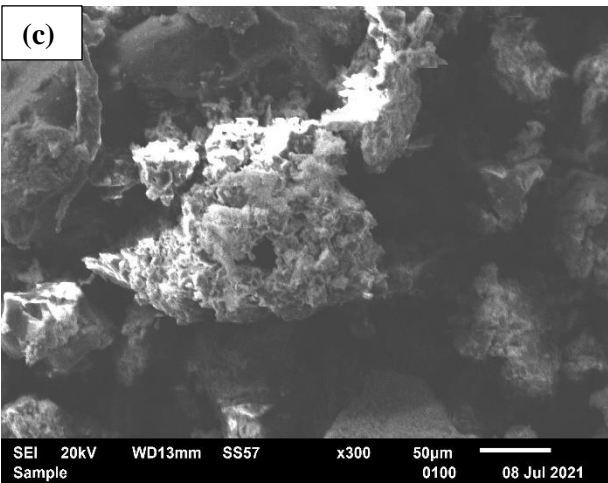
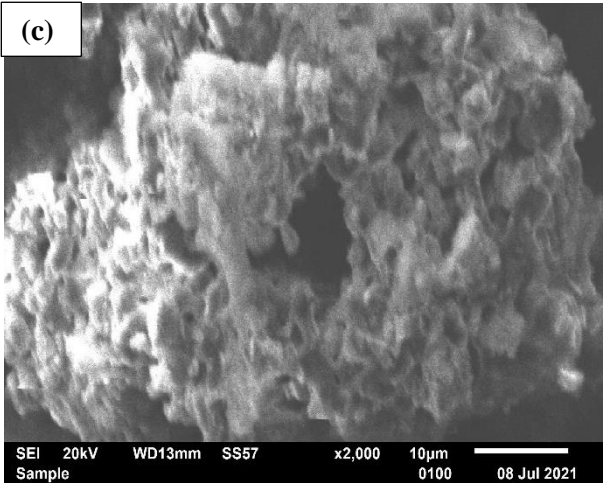
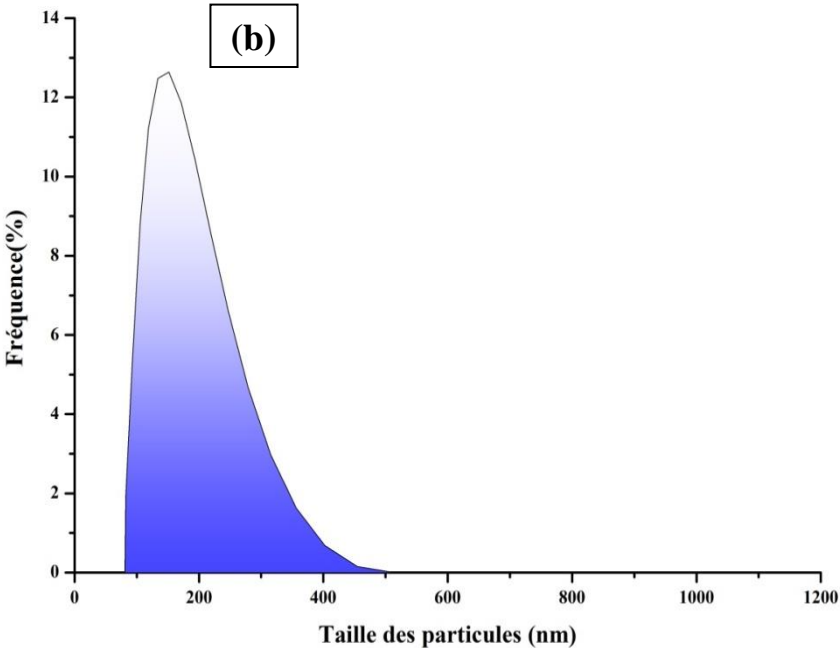
Figure 33. (a) Courbes d'analyse thermogravimétrique (ATG), (b) dérivée des courbes ATG, et (c) et calorimétrie à balayage différentiel (DSC) de l'amidon natif, nanoparticules d'amidon (SNPs) avant et après estérification avec de l'acide rosine.

IV.5. Observations du MEB

La figure 34a montre la micrographie MEB de l'amidon de pomme de terre natif, qui est composé principalement de granules de forme irrégulière avec une surface lisse et une large distribution de taille allant de 2 à 50 μm . L'hydrolyse de l'amidon par une solution de HCl a complètement perturbé la structure granulaire de l'amidon pour former un amidon homogène. Par la suite, des nanoparticules d'amidon ont été formées avec une taille de particules comprise entre 82.33 et 511.38 nm, comme le montre la figure 34b. L'impact de l'estérification sur la morphologie des nanoparticules d'amidon est décrit dans la figure 34c. L'incorporation de la rosin dans les nanoparticules d'amidon a provoqué des perturbations structurelles totales induisant un désordre atomique/moléculaire local complet, et par conséquent la formation d'une structure amorphe avec une taille de particule entre 170.80– 218.60 nm et 402.44 – 1741.10 nm. Les études DRX et MEB indiquent que l'inclusion de rosin dans les nanoparticules d'amidon a transformé ces dernières en un nouveau nanomatériau sans cristallisation. En conclusion, on peut dire que les résultats des études DRX et MEB montrent clairement que l'estérification a altéré la morphologie des nanoparticules d'amidon, entraînant la formation d'un nouveau nanomatériau sans structure cristalline.







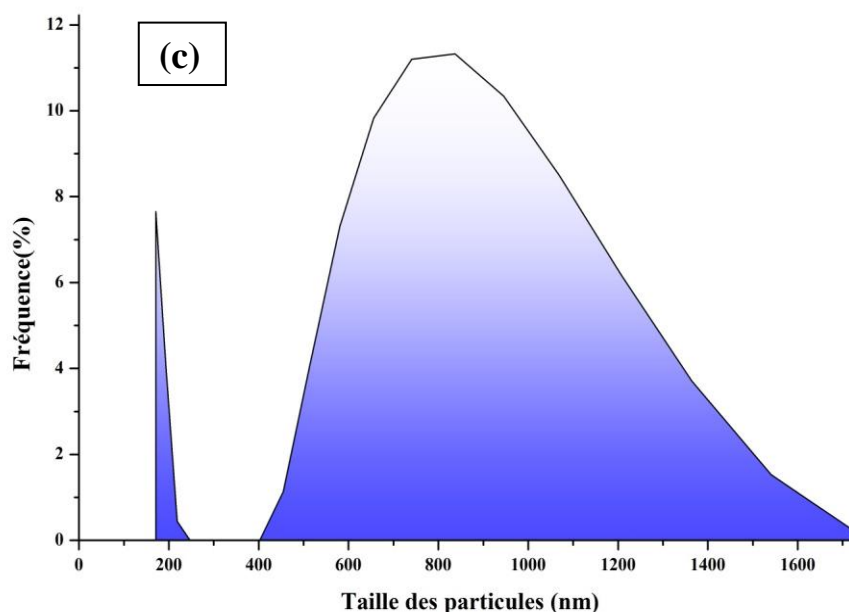


Figure 34. Images de MEB et taille des particules (nm) : (a) amidon natif, (b) nanoparticules d'amidon (SNPs) et (c) nanoparticules d'amidon estérifiées (DS=0.141).

VI. Activités biologiques

VI.1. Activité antioxydante

Le radical libre stable 1,1-diphényl-2-picryl hydrazyl est réduit en recevant des électrons ou de l'hydrogène du donneur (Figure 35a) [23, 24]. De même, l'acide ascorbique (vitamine C), un antioxydant naturel, a été largement utilisé comme référence pour évaluer l'efficacité antioxydante. Lorsque l'on compare les nanoparticules d'amidon de pomme de terre estérifiées (SNPs estérifiées) aux nanoparticules d'amidon (SNPs), les premières présentent une activité de piégeage remarquable (Figure 35b). Le taux d'inhibition augmente significativement de 1.03 ± 0.606 à 17.68 ± 4.559 % pour les SNPs avec l'augmentation de la concentration des SNPs et de 37.35 ± 1.992 à 62.91 ± 4.560 % pour les SNPs estérifiées avec l'augmentation de la concentration des SNPs estérifiées. De plus, le taux de piégeage du DPPH atteint 92.86 ± 2.735 % pour la vitamine C.

L'activité antioxydante augmente progressivement avec la concentration des SNPs estérifiés, atteignant une valeur maximale (17.68 ± 4.559 % et 62.91 ± 4.560 %) à 200 mg/mL. L'amélioration de l'activité DPPH peut être attribuée à l'apparition de modifications chimiques

lors de l'estérification des SNPs par la rosin. En effet, les nanoparticules d'amidon fabriquées à partir de procédés innovants incluant l'ultrasonication, l'hydrolyse alcaline et acide ont été montrées pour augmenter la capacité de piégeage des radicaux DPPH. Selon la littérature, le faible poids moléculaire et la teneur en monosaccharides des polysaccharides peuvent contribuer à leur activité antioxydante [25]. La production de nanoparticules entraîne une réduction du poids moléculaire, ce qui peut améliorer le potentiel antioxydant. La rosin démontre une bonne activité antioxydante qui renforce l'activité antioxydante des SNPs avec une IC_{50} d'environ 100 mg/mL grâce aux doubles liaisons carbone contenues dans la rosin [26, 27]. La valeur IC_{50} est couramment utilisée pour exprimer le résultat, qui est défini comme la concentration d'antioxydant qui induit une baisse de 50 % de l'absorbance DPPH [28, 29].

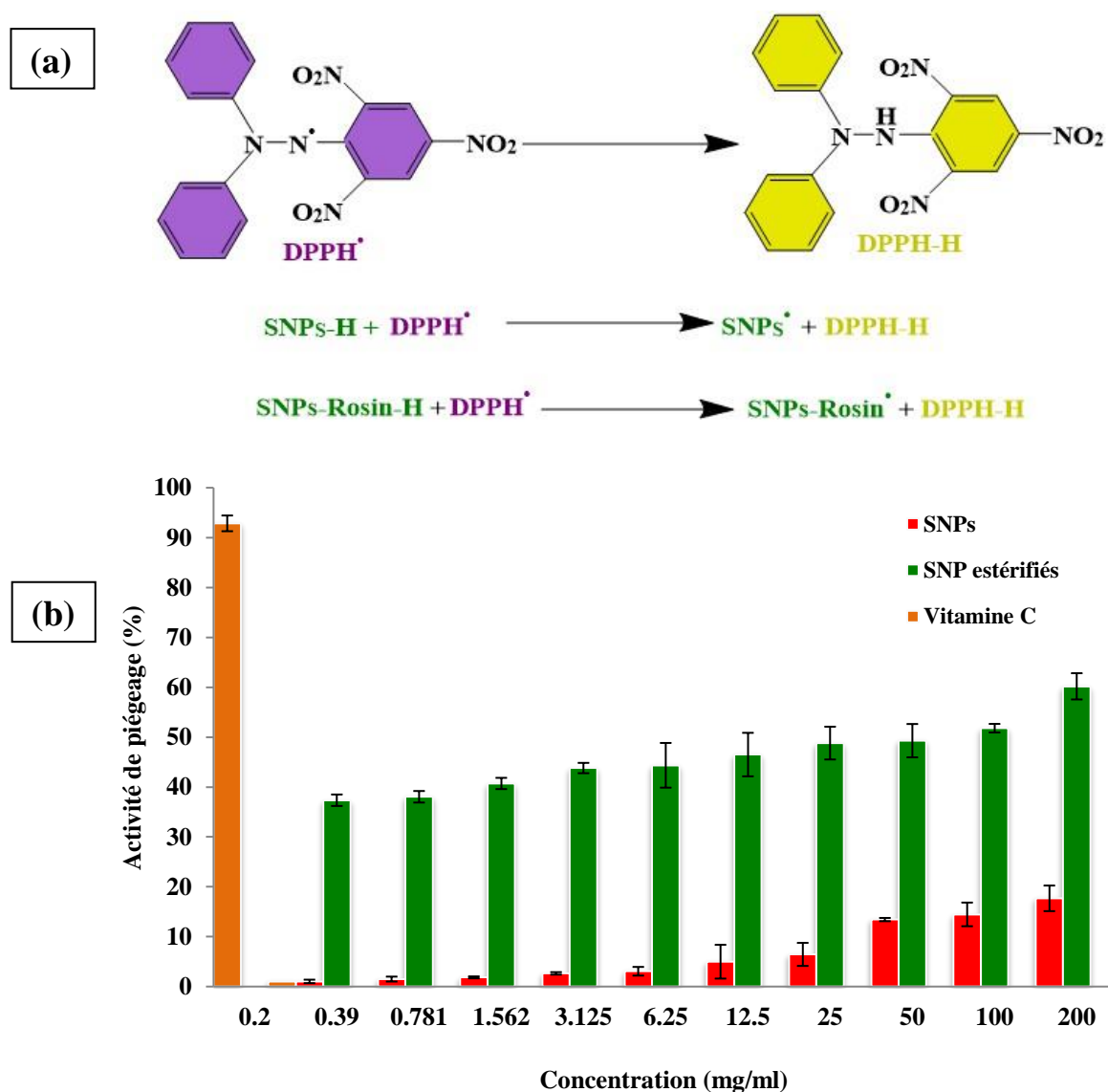


Figure 35. (a) Mécanisme de réaction du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) avec l'antioxydant et (b) activité de piégeage du DPPH des SNPs et des SNPs estérifiés.

VI.2. Activité antimicrobienne

La figure 36 présente l'activité antibactérienne des SNPs avant et après estérification avec la rosin. Les zones d'inhibition dans les plaques de milieu de croissance ont été mesurées pour évaluer cette activité. Une zone distincte s'est formée autour de chaque puits, confirmant l'activité antibactérienne des SNPs estérifiés. Chaque plaque de croissance comprenait des puits avec différents degrés de substitution (DS) des SNPs estérifiés, à savoir 0, 0.034, 0.064, 0.094, 0.117, 0.123 et 0.141.

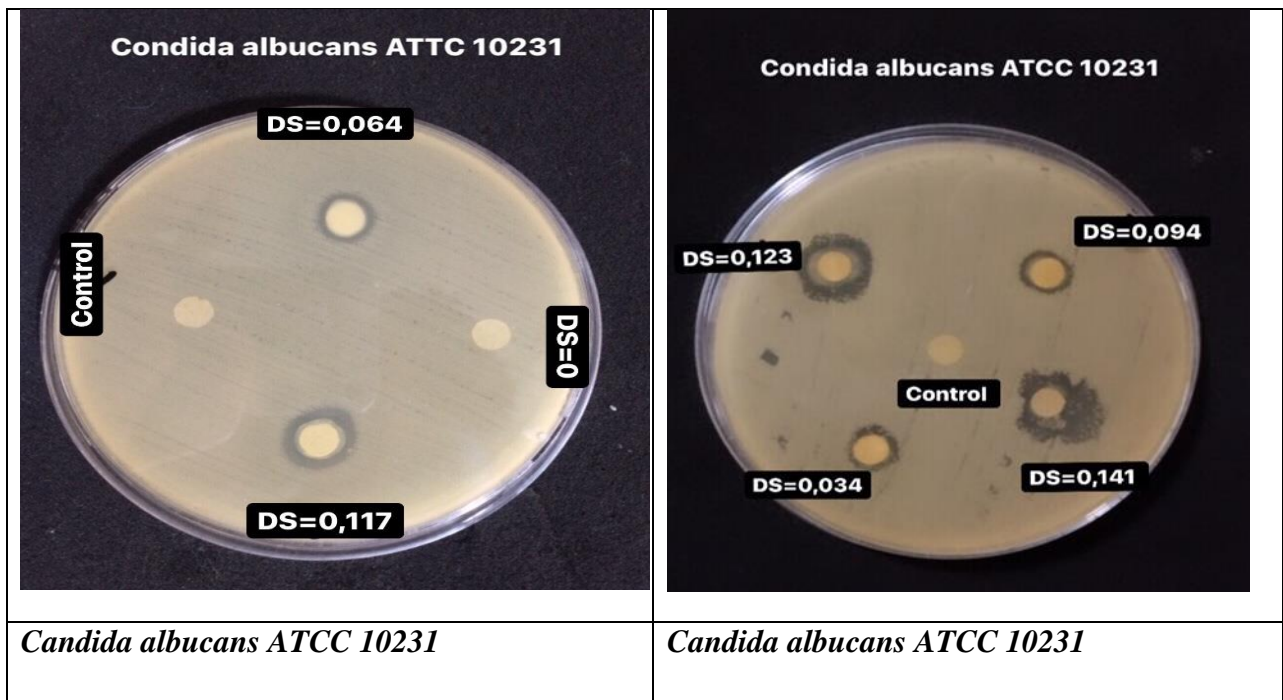
Tableau 9. Les valeurs de zone d'inhibition des échantillons pour chaque souche bactérienne.

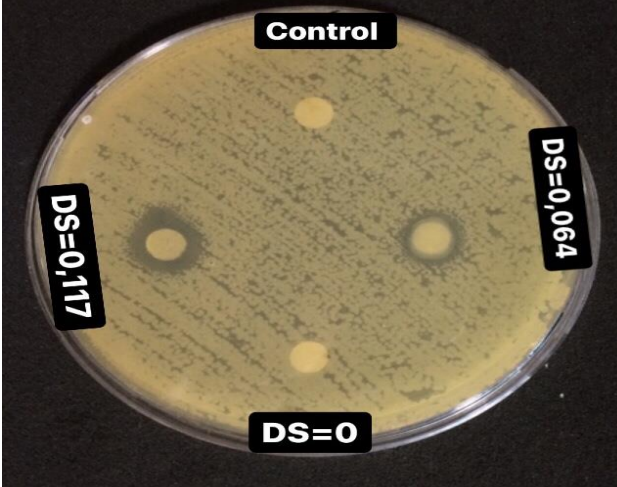

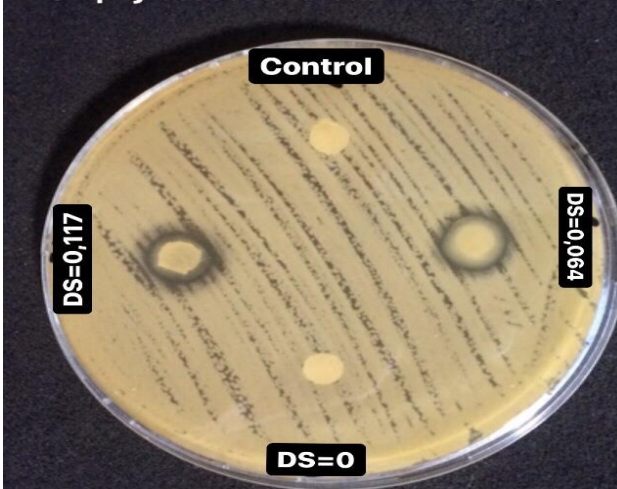

Souche bactérienne	Zone moyenne d'inhibition (mm) \pm SD		
	DS0.034	DS0.064	DS0.094
Candida albicans	8.67 (\pm 0.577)	9.67 (\pm 0.577)	10.33 (\pm 0.577)
Bacillus cereus	9.33 (\pm 3.055)	10.33 (\pm 0.577)	11.33 (\pm 0.577)
Staphylococcus aureus	9.33 (\pm 1.155)	10.33 (\pm 1.155)	11.67 (\pm 0.577)
Pseudomonas aeruginosa	11.33 (\pm 0.577)	12.33 (\pm 0.577)	13.67 (\pm 1.528)
Klebsiella pneumonia	9.33 (\pm 0.577)	10.67 (0.577)	11.33 (\pm 1.155)
	DS0.117	DS0.123	DS0.141
Candida albicans	11.67 (\pm 1.155)	12.33 (\pm 2.517)	14.00 (\pm 2.272)
Bacillus cereus	12.00 (\pm 1.000)	13.00 (\pm 1.000)	14.67 (\pm 0.577)
Staphylococcus aureus	12.33 (\pm 0.577)	13.67 (\pm 1.155)	15.00 (1.732)
Pseudomonas aeruginosa	14.67 (\pm 1.528)	15.33 (\pm 1.528)	18.66 (\pm 1.247)
Klebsiella pneumonia	12.33 (\pm 0.577)	14.00 (\pm 1.000)	17.00 (\pm 2.000)

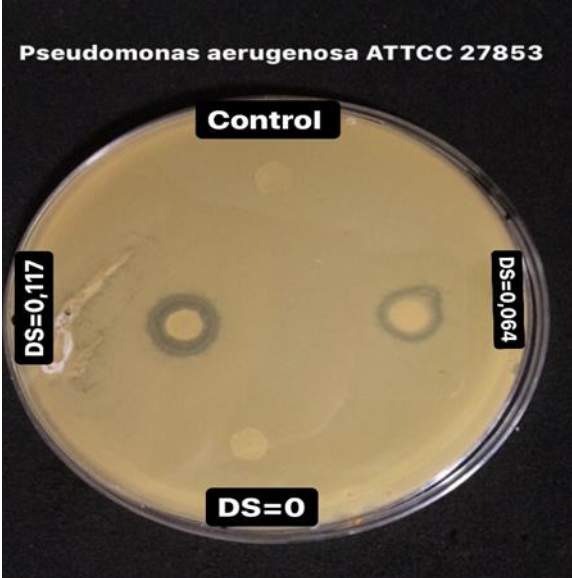
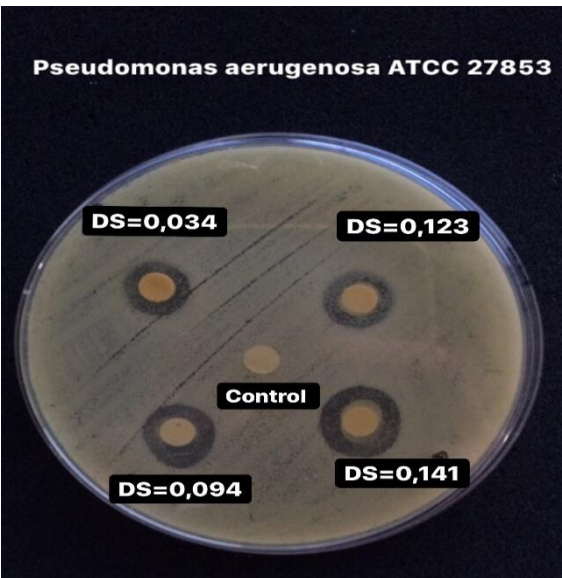
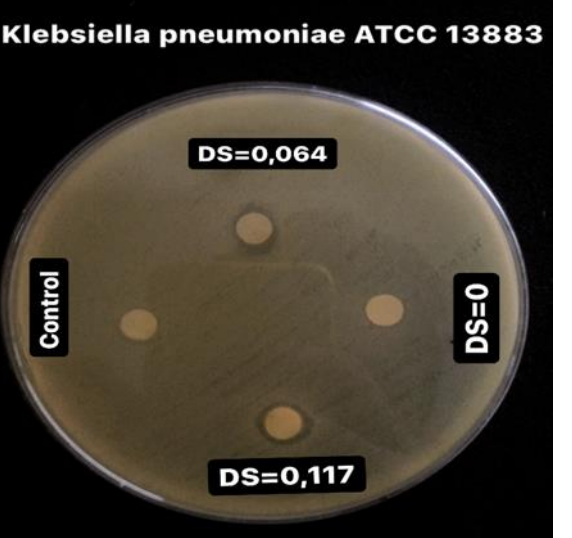
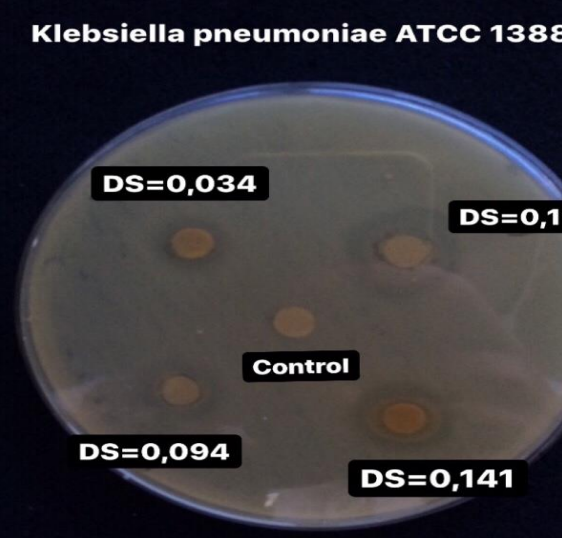
Comme le montre la figure 36a et le tableau 9, l'analyse statistique démontre que lorsque le DS augmente, le diamètre de la zone d'inhibition augmente également (Figure 36 b) et que les SNPs non modifiés (DS0) n'ont pas d'activité antibactérienne, donc pas de zone d'inhibition. Toutes les souches manifestent une efficacité inhibitrice comme l'illustre la figure 36b, c'est-à-dire *Candida albicans* avec un diamètre de 8.67 (\pm 0.577) -14.00 (\pm 2.272) mm ; *Bacillus cereus* avec un diamètre de 9.33 (\pm 3.055) – 14.67 (\pm 0.577) mm ; *Staphylococcus aureus* avec un diamètre de 9.33 (\pm 1.155) – 15.00 (\pm 1.732) mm ; *Pseudomonas aeruginosa* avec un diamètre de 11.33 (\pm 0.577) – 18.66 (\pm 1.247) mm, et *Klebsiella pneumonia* avec un diamètre de 9.33 (\pm 0.577) – 17.00 (\pm 2.000) mm.

On a découvert que la rosin présente un caractère hydrophobe élevé et une structure unique qui lui confère une excellente activité antibactérienne contre les bactéries [30]. Étant hydrophobe, le SNPs-Rosin peut pénétrer plus facilement les lipides et les mitochondries des membranes cellulaires bactériennes (Figure 37), provoquant une fuite d'ions dans le cytoplasme et, par conséquent, la mort des bactéries [31].

Selon la littérature, l'activité antibactérienne du composite nanofibre de cellulose/alcool polyvinylique-argent (CNF/PVA-Ag) a été testée contre des bactéries Gram-positives (*Bacillus subtilis*) et Gram-négatives (*Escherichia coli*) en utilisant la méthode de diffusion de disques. Les résultats ont montré que le composite CNF/ PVA-Ag est efficace contre les bactéries testées [32]. D'autre part, il est évident que l'ajout d'huiles essentielles aux films à base d'amidon est très efficace contre diverses bactéries, et que plus la teneur en huiles essentielles est élevée, meilleure est l'inhibition [33]. Ainsi, il a été démontré que la taille des particules et l'activité antibactérienne des nanoparticules de chitosan réticulées au tripolyphosphate (TPP) sont proportionnelles au degré de réticulation [34].



<p>Bacillus cereus ATCC 10876</p>  <p>Control</p> <p>DS=0</p> <p>DS=0,064</p> <p>DS=0,117</p>	<p>Bacillus cereus ATCC 10876</p>  <p>Control</p> <p>DS=0,034</p> <p>DS=0,094</p> <p>DS=0,123</p> <p>DS=0,141</p>
<p><i>Bacillus cereus ATCC 10876</i></p>	<p><i>Bacillus cereus ATCC 10876</i></p>
<p>Staphylococcus aureus ATCC 33862</p>  <p>Control</p> <p>DS=0</p> <p>DS=0,064</p> <p>DS=0,117</p>	<p>Staphylococcus aureus ATCC 33862</p>  <p>Control</p> <p>DS=0,034</p> <p>DS=0,094</p> <p>DS=0,123</p> <p>DS=0,141</p>
<p><i>Staphylococcus aureus ATCC 33862</i></p>	<p><i>Staphylococcus aureus ATCC 33862</i></p>

<p>Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853</p>  <p>Control</p> <p>DS=0,117</p> <p>DS=0,064</p> <p>DS=0</p>	<p>Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853</p>  <p>DS=0,034</p> <p>DS=0,123</p> <p>Control</p> <p>DS=0,094</p> <p>DS=0,141</p>
<p><i>Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853</i></p>	<p><i>Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853</i></p>
<p>Klebsiella pneumoniae ATCC 13883</p>  <p>DS=0,064</p> <p>Control</p> <p>DS=0</p> <p>DS=0,117</p>	<p>Klebsiella pneumoniae ATCC 13883</p>  <p>DS=0,034</p> <p>DS=0,123</p> <p>Control</p> <p>DS=0,094</p> <p>DS=0,141</p>
<p><i>Klebsiella pneumoniae ATCC 13883</i></p>	<p><i>Klebsiella pneumoniae ATCC 13883</i></p>

(a)

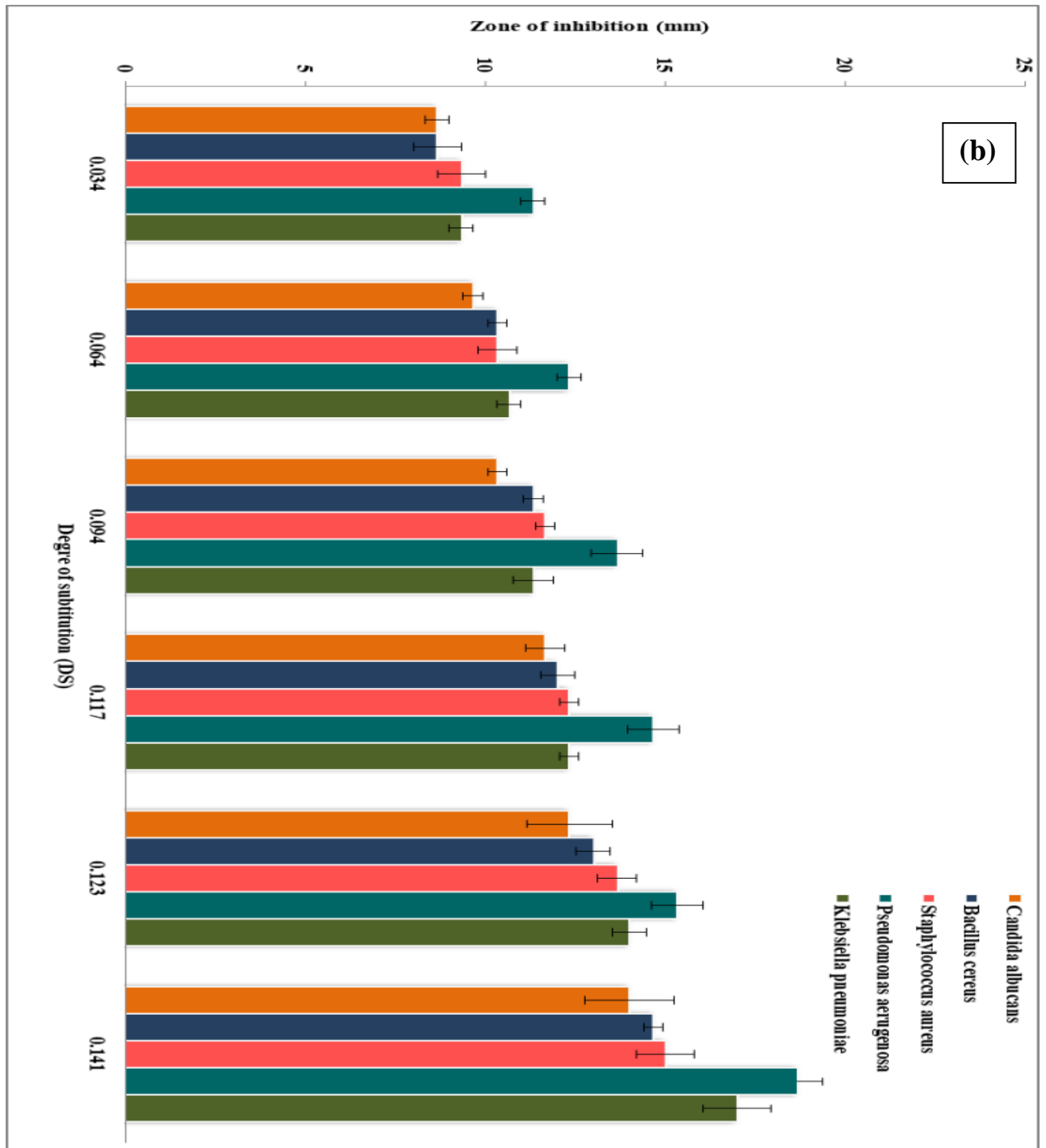


Figure 36. Activité antibactérienne des SNPs-Rosin sur diverses souches bactériennes avec différents degrés de substitution. (a) Activité antibactérienne des SNPs-Rosin contre *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*. (b) Les données sont rapportées en écarts types (\pm SE). Variations significatives entre les zones d'inhibition à des DS distincts.

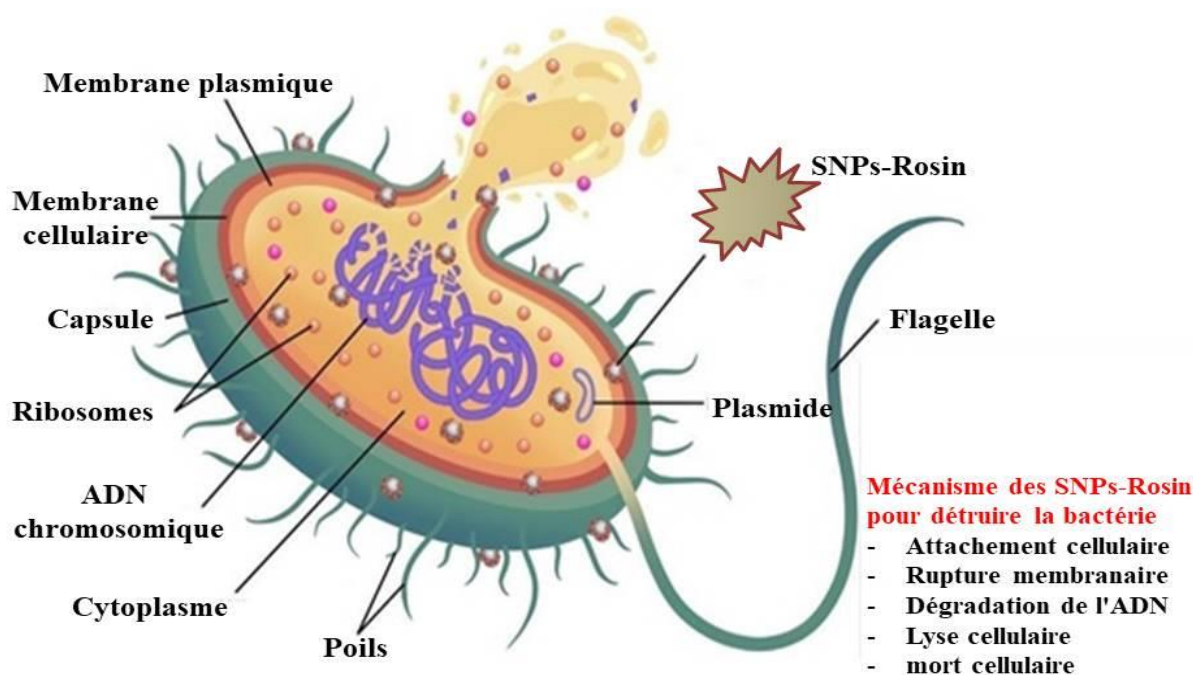


Figure 37. Mécanisme des SNPs-Rosin pour détruire la bactérie.

Conclusion

L'approche de réponse de surface de Box-Behnken a été utilisée pour optimiser les conditions de réaction de synthèse des nanoparticules d'amidon estérifiées à l'acide rosin. Les conditions optimales étaient les suivantes : temps de réaction de 23 heures, température de réaction de 85.7°C et quantité de catalyseur Maghnite-H⁺ de 23.78 % (en poids de SNPs). La spectroscopie IRFT a permis d'identifier les groupes fonctionnels avant et après l'estérification des nanoparticules d'amidon. Les analyses MEB et DRX ont indiqué que l'estérification des nanoparticules d'amidon avait affecté leur structure cristalline, entraînant la formation d'une phase amorphe. En revanche, la stabilité thermique a été améliorée. La rosin a montré une bonne fonction antioxydante, renforçant ainsi l'activité antioxydante des nanoparticules d'amidon estérifiées, avec une IC₅₀ d'environ 100 mg/mL. Les nanoparticules d'amidon modifiées ont démontré une activité antibactérienne significative contre plusieurs souches de bactéries Gram négatives et Gram-positives.

Références bibliographiques

- [1] D. Monomers, H. Amine, R. Meghabar, and M. Belbachir, “Polymerization of ϵ -caprolactone using a montmorillonite clay as catalyst Polymerization of ϵ -caprolactone using a montmorillonite clay as catalyst,” no. March 2019, pp. 10–24, 2005, doi: 10.1163/1568555053084203.
- [2] Z. Cherifi, B. Boukoussa, A. Zaoui, M. Belbachir, and R. Meghabar, “Structural, morphological and thermal properties of nanocomposites poly(GMA)/clay prepared by ultrasound and in-situ polymerization,” *Ultrason. Sonochem.*, vol. 48, pp. 188–198, 2018, doi: 10.1016/j.ultsonch.2018.05.027.
- [3] H. Sun, T. Peng, B. Liu, and H. Xian, “Effects of montmorillonite on phase transition and size of TiO₂ nanoparticles in TiO₂/montmorillonite nanocomposites,” *Appl. Clay Sci.*, vol. 114, no. November 2018, pp. 440–446, 2015, doi: 10.1016/j.clay.2015.06.026.
- [4] U. Holzwarth and N. Gibson, “The Scherrer equation versus the ‘Debye-Scherrer equation’,” *Nat. Publ. Gr.*, vol. 6, no. 9, p. 534, 2011, doi :10.1038/nnano.2011.145.
- [5] N. M. Nasir, E. Abdulmalek, and N. Zainuddin, “Preparation and optimization of water-soluble cationic sago starch with a high degree of substitution using response surface methodology,” *Polymers (Basel)*, vol. 12, no. 11, pp. 1–13, 2020, doi: 10.3390/polym12112614.
- [6] A. Ahmad et al., “Box–Behnken Response Surface Design of Polysaccharide Extraction from *Rhododendron arboreum* and the Evaluation of Its Antioxidant Potential,” *Molecules*, vol. 25, no. 17, 2020, doi: 10.3390/molecules25173835.
- [7] F. Han, C. Gao, M. Liu, F. Huang, and B. Zhang, “Synthesis, optimization and characterization of acetylated corn starch with the high degree of substitution,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 59, pp. 372–376, 2013, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.04.080.
- [8] LI, P., HE, X., ZUO, Y., et al. Wu, &. 2020. Synthesis and characterization of lactic acid esterified starch by an in-situ solid phase method, *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 156, p. 1316-1322, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.11.171.
- [9] Y. Qin, C. Liu, S. Jiang, L. Xiong, and Q. Sun, “Characterization of starch nanoparticles prepared by nanoprecipitation : Influence of amylose content and starch type,” *Ind. Crop. Prod.*, vol. 87, pp. 182–190, 2016, doi: 10.1016/j.indcrop.2016.04.038.

- [10] S. Wang, C. Li, L. Copeland, Q. Niu, and S. Wang, “Starch Retrogradation : A Comprehensive Review,” vol. 14, 2015, doi: 10.1111/1541-4337.12143.
- [11] J. Xin, Y. Wang, T. Liu, K. Lin, L. Chang, and C. Xia, “Biosynthesis of Corn Starch Palmitate by Lipase Novozym 435,” no. December, 2012, doi: 10.3390/ijms13067226.
- [12] C. Pozo, S. Rodríguez-llamazares, R. Bouza, L. Barral, J. Castaño, and N. Müller, “Study of the structural order of native starch granules using combined FTIR and XRD analysis Study of the structural order of native starch granules using combined FTIR and XRD analysis,” no. March 2019, 2018, doi: 10.1007/s10965-018-1651-y.
- [13] ZAOUI, Aniss, MAHENDRA, Vidhura, MITCHELL, Geoffrey, et al. Design, synthesis and thermo-chemical properties of rosin vinyl imidazolium based compounds as potential advanced biocompatible materials. *Waste and biomass valorization*, 2020, vol. 11, p. 3723-3730.
- [14] C. Winarti, Widaningrum, I. S. Surono, and M. Uswah, “Effect of acid and hydrolysis duration on the characteristics of arrowroot and taro starch nanoparticles,” *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 309, no. 1, 2019, doi: 10.1088/1755-1315/309/1/012039.
- [15] MISKEEN, Sumaira, HONG, Jung Sun, CHOI, Hee-Don, et al. Fabrication of citric acid-modified starch nanoparticles to improve their thermal stability and hydrophobicity. *Carbohydrate Polymers*, 2021, vol. 253, p. 117242.
- [16] N. W. H. Cheetham and L. Tao, “Variation in crystalline type with amylose content in maize starch granules : an X-ray powder diffraction study,” vol. 36, pp. 277–284, 1998.
- [17] I. Ahmed, M. Jabeen, H. Geelani, F. Ahmad, I. Saba, and S. Muzaffar, “Food Hydrocolloids Effect of gamma irradiation on physicochemical properties of Indian Horse Chestnut (*Aesculus indica* Colebr .) starch,” *Food Hydrocoll.*, vol. 35, pp. 253–263, 2014, doi: 10.1016/j.foodhyd.2013.06.002.
- [18] K. Zhang, D. Zhao, Q. Huang, J. Huang, and Q. Wen, “Physicochemical , Structural Properties and In Vitro Digestibility of A- and B-type Granules Isolated from Green Wheat and Mature Wheat Starch,” vol. 2100065, pp. 1–10, 2021, doi: 10.1002/star.202100065.
- [19] E. Bertoft, “Understanding Starch Structure : Recent Progress,” vol. 7, no 3, p. 56.2017, doi: 10.3390/agronomy7030056.

- [20] F. Spinozzi, C. Ferrero, and S. Perez, “The architecture of starch blocklets follows phyllotaxic rules,” *Sci. Rep.*, vol. 10, no. 1, pp. 1–16, 2020, doi: 10.1038/s41598-020-72218-w.
- [21] R. Lin, H. Li, H. Long, J. Su, and W. Huang, “Synthesis of rosin acid starch catalyzed by lipase,” *Biomed Res. Int.*, vol. 2014, doi: 10.1155/2014/647068.
- [22] M. Lamanna, N. J. Morales, N. Lis, and S. Goyanes, “Development and characterization of starch nanoparticles by gamma radiation: Potential application as starch matrix filler,” *Carbohydr. Polym.* vol. 97, no. 1, pp. 90–97, 2013, doi: 10.1016/j.carbpol.2013.04.081.
- [23] S. S. Nanoparticles, “AN INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT AND CYTOTOXIC PROPERTIES OF GREEN,” no. August 2017, 2015.
- [24] R. O. L. P. Rior, “The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays,” 2005, vol. 53, no 6, p. 1841-1856. doi: 10.1021/jf030723c.
- [25] M. Ahmad, A. Gani, I. Hassan, Q. Huang, and H. Shabbir, “Production and characterization of starch nanoparticles by mild alkali hydrolysis and ultra-sonication process,” *Sci. Rep.*, vol. 10, no. 1, pp. 1–11, 2020, doi: 10.1038/s41598-020-60380-0.
- [26] F. H. Roche, “NATURAL ANTIOXIDANTS EXPLOITED COMMERCIALY,” p. 99-170, 1990, doi.org/10.1007/978-94-009-0753-9_4
- [27] V. Cuzzucoli et al., “European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics Intermolecular interaction and solid state characterization of abietic acid / chitosan solid dispersions possessing antimicrobial and antioxidant properties,” *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 125, no. January, pp. 114–123, 2018, doi: 10.1016/j.ejpb.2018.01.012.
- [28] K. Sridhar and A. L. Charles, “Department of Tropical Agriculture and International Cooperation, National Pingtung,” *Food Chem.*, 2018, doi: 10.1016/j.foodchem.2018.09.040.
- [29] BRAND-WILLIAMS, Wendy, CUVELIER, Marie-Elisabeth, et BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 1995, vol. 28, no 1, p. 25-30. doi:10.1016/s0023-6438(95)80008-5
- [30] F. Li et al., “Bifunctional Reinforcement of Green Biopolymer Packaging Nanocomposites with Natural Cellulose Nanocrystals-rosin Hybrids Bifunctional Reinforcement

of Green Biopolymer Packaging Nanocomposites the Key Laboratory of Advanced Textile Materials and Manufact,” 2020, vol. 3, no 4, p. 1944-1954, doi: 10.1021/acsabm.9b01100.

[31] S. Ketkaew, P. Kasemsiri, and S. Hiziroglu, “Effect of Oregano Essential Oil Content on Properties of Green Biocomposites Based on Cassava Starch and Sugarcane Bagasse for Bioactive Packaging,” *J. Polym. Environ.* vol. 0, no. 0, p. 0, 2017, doi: 10.1007/s10924-017-0957-x.

[32] M. V. Limaye, V. Gupta, S. B. Singh, G. R. Paik, and P. Singh, “Antimicrobial Activity of Composite Consisting of Cellulose Nanofibers and Silver Nanoparticles,” *ChemistrySelect*, vol. 4, no. 41, pp. 12164–12169, 2019, doi: 10.1002/slct.201901572.

[33] SYAFIQ, R., SAPUAN, S. M., ZUHRI, M. Y. M., et al. Antimicrobial activities of starch-based biopolymers and biocomposites incorporated with plant essential oils: A review. *Polymers*, 2020, vol. 12, no 10, p. 2403, doi.org/10.3390/polym12102403

[34] C. Pan, J. Qian, C. Zhao, H. Yang, X. Zhao, and H. Guo, “Study on the relationship between crosslinking degree and properties of TPP crosslinked chitosan nanoparticles,” *Carbohydr. Polym.*, no. February, p. 116349, 2020, doi: 10.1016/j.carbpol.2020.116349.

Conclusion Générale

La chimie verte pour la synthèse chimique répond à nos futurs défis en travaillant avec des processus et des produits chimiques, en inventant de nouvelles réactions qui peuvent maximiser les produits souhaités et minimiser les sous-produits, en concevant de nouveaux schémas et appareils synthétiques qui peuvent simplifier les opérations dans les productions chimiques, et en recherchant des solvants et catalyseurs plus verts qui sont intrinsèquement inoffensifs pour l'environnement et l'écologie.

Dans cette étude, la procédure d'hydrolyse acide HCl a été adoptée pour préparer des nanoparticules d'amidon de pomme de terre (SNPs) puis estérifiées avec la rosin comme acide organique naturel, en utilisant un catalyseur naturel vert non toxique "Magnhnite-H⁺". En particulier, l'effet de la rosin sur la morphologie des nanoparticules d'amidon (SNPs), le comportement de cristallisation, les propriétés thermiques et surtout, l'amélioration de l'activité antimicrobienne et antioxydante ont été étudiés en détail.

La synthèse de nanoparticules d'amidon estérifié avec de la rosin a été menée avec succès. Sa structure et sa forme ont été étudiées à l'aide de diverses techniques analytiques, telles que la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRFT), la diffraction des rayons X (DRX), la calorimétrie différentielle à balayage (DSC), la thermogravimétrie analytique (ATG), la résonance magnétique nucléaire (RMN) et la microscopie électronique à balayage (MEB).

Ce type de matériau présente une activité biologique potentielle en tant qu'agent antibactérien et antioxydant en raison de la présence de la molécule de "Rosin". Les résultats obtenus indiquent que le degré de substitution (DS) a une influence directe sur la zone d'inhibition, qui est responsable de l'activité antimicrobienne.

Les caractéristiques antioxydantes des nanoparticules d'amidon avant et après estérification ont été étudiées à l'aide de tests de piégeage des radicaux 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle. Les résultats ont montré une augmentation dose-dépendante de l'activité antioxydante, qui est comparable à celle de la vitamine C standard (acide ascorbique).

Cette recherche ouvre la voie à une utilisation plus judicieuse des nanoparticules d'amidon estérifiées avec de la rosin dans le domaine des surfaces fonctionnelles, offrant ainsi des applications potentielles dans les domaines biomédical et pharmaceutique, ainsi que dans l'industrie cosmétique.

ملخص:

يهدف هذا البحث إلى تحضير جسيمات النانوية لنشاء البطاطا عن طريق التحلل المائي لحمض كلور الماء، يتم تحفيز تفاعل بالبروتون الأستره للجسيمات النانوية مع حمض الصنوبري بواسطة مركب مونتموغيونيت كمحفز أخضر ، غير سام متبادل (طين صفيحة سيليكات) وهو مركب مغنيت-بروتون. يتم تقييم تأثير ظروف التركيب ، بما في ذلك درجة حرارة التفاعل ووقت التفاعل وكمية المحفز ، باستخدام طريقة سطح الاستجابة التي تعتمد على تصميم مركب مركزي ثلاثة عوامل وثلاثة مستويات. يوضح تحليل التحليل الطيفي لأستره الجسيمات النانوية لنشاء بحمض الصنوبري ظهور ذروة مكثفة جديدة لرابطة كربونيل لوظيفة استر عند 1726 سم⁻¹. تكشف ملاحظات المسح المجهر الإلكتروني عن بعض الاضطرابات الذرية والجزئية بعد الأستره. يشير تحليل حيود الأشعة السينية إلى وجود بنية غير متبلورة ، مع انخفاض كبير في التبلور عند أستره. يوضح التحليل الحراري الوزني أن الثبات الحراري لجسيمات النانوية بعد الأستره أقل مقارنة بالنشا الأصلي تظهر زيادة تعتمد على الجرعة والجسيمات النانوية. من خلال اختبارات المسح الجذري 1، 1-ديفينيل-2-بيكريل هيدرازيل في نشاط مضادات الأكسدة التي يمكن مقارنتها بفيتامين ج، علاوة على ذلك ، كشفت دراسة النشاط المضاد للميكروبات لجسيمات النانوية المؤسرة بحمض الصنوبري (درجة استبدال بين 0 و 0.141) أنها كانت فعالة ضد جميع السلالات البكتيرية المختبرة. درجة استبدال يتناسب طردياً مع منطقة التثبيط. يوضح هذا البحث أهمية صياغة جسيمات نانوية المؤسرة المصممة حديثاً في الصناعات الطبية الحيوية والغذائية.

كلمات مفتاحية: الجسيمات النانوية لنشا البطاطس ، حمض صنوبري ، درجة الاستبدال ، مغنيت-بروتون ، الأستره، مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للميكروبات.

Abstract

The objective of this study is to produce potato starch nanoparticles (SNPs) via hydrochloric acid hydrolysis and subsequently esterify them with rosin acid using Maghnite-H⁺ as a green catalyst. Maghnite-H⁺ is a non-toxic, proton-exchanged montmorillonite (sheet silicate clay). The effects of synthesis conditions, including reaction temperature, reaction time, and catalyst quantity, were evaluated using a response surface methodology based on a central composite design with three factors and three levels. FTIR spectroscopy analysis confirmed the esterification of SNPs with rosin acid, evidenced by a new intense peak at 1726 cm⁻¹ corresponding to C=O ester. Scanning electron microscopy observations indicated some atomic/molecular disorder after esterification. X-ray diffraction analysis demonstrated the presence of an amorphous structure and a significant reduction in crystallinity after the esterification of SNPs. Thermogravimetric analysis revealed that the thermal stability of esterified SNPs is lower compared to native starch and SNPs. The antioxidant activity of SNPs before and after esterification was investigated using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging tests, which demonstrated a dose-dependent increase in antioxidant activity that was comparable to standard vitamin C (ascorbic acid). Furthermore, the antimicrobial activity of SNPs esterified with rosin acid (DS between 0 and 0.141) was evaluated, and the results showed that the esterified SNPs were effective against all tested bacterial strains. Additionally, the degree of substitution was directly proportional to the zone of inhibition. This research highlights the potential applications of the newly designed SNPs-Rosin formulation in the biomedical and food industries, demonstrating its significance as a promising material in these fields.

Keywords : Potato starch nanoparticles, Rosin acid, Degree of substitution, Maghnite-H⁺, Esterification, Antioxidant activity, Antimicrobial activity.

Resumé

Cette recherche vise à préparer des nanoparticules d'amidon de pomme de terre (SNPs) par hydrolyse de l'acide chlorhydrique. La réaction d'estérification des nanoparticules d'amidon avec la rosin est catalysée par la Maghnite-H⁺ comme catalyseur vert, une montmorillonite non toxique à échange de protons (argile de silicate en feuille). L'influence des conditions de synthèse, notamment la température de réaction, le temps de réaction et la quantité de catalyseur, est évaluée à l'aide d'une méthode de surface de réponse reposant sur un plan composite central à trois facteurs et trois niveaux. L'analyse par spectroscopie FTIR élucide l'estérification des SNPs avec l'acide Rosin, avec l'apparition d'un nouveau pic intense C=O ester à 1726 cm⁻¹. Les observations par microscopie électronique à balayage révèlent un certain désordre atomique/moléculaire après l'estérification. L'analyse par diffraction des rayons X indique la présence d'une structure amorphe, avec une baisse significative de la cristallinité après estérification des SNPs. L'analyse thermogravimétrique montre que la stabilité thermique des SNPs estérifiés est inférieure à celle de l'amidon natif et des SNPs. Les caractéristiques antioxydantes des SNPs avant et après estérification, étudiées par des tests de piégeage des radicaux 1,1-diphényl- 2-picryl hydrazyl, démontrent une augmentation dose-dépendante de l'activité antioxydante qui est comparable à celle de la vitamine C standard (acide ascorbique). En outre, l'étude de l'activité antimicrobienne des SNPs estérifiés avec de la rosin (DS entre 0 et 0,141), a révélé que les SNPs estérifiés étaient efficaces contre toutes les souches bactériennes testées. De plus, le DS est directement proportionnel à la zone d'inhibition. Cette recherche montre l'importance de la formulation SNPs-Rosin nouvellement conçue dans les industries biomédicales et alimentaires.

Mots clés: Nanoparticules d'amidon de pomme de terre, Rosin, Degré de substitution, Maghnite-H⁺, Esterification, Activité antioxydante, Activité antimicrobienne.

Annexe



Green Synthesis of Starch Nanoparticles (SNPs) by Esterification with Rosin Acid Catalyzed by Maghnite-H⁺ (Algerian Montmorillonite) with Enhanced Antioxidant Activity

Mohammed Amin Bezzekhami¹ · Amine Harrane^{1,2} · Mahmoud Belalia¹ · Amina Mostefai¹ · Nacera Leila Belkhir¹ · M. Bououdina³

Received: 16 March 2022 / Accepted: 5 June 2022
© King Fahd University of Petroleum & Minerals 2022

Abstract

This research aims to prepare potato starch nanoparticles (SNPs) by hydrochloric acid hydrolysis. The esterification reaction of starch nanoparticles with rosin acid is catalyzed by Maghnite-H⁺ as green catalyst, a non-toxic proton exchanged montmorillonite (sheet silicate clay). The influence of synthesis conditions, including reaction temperature, reaction time, and the amount of catalyst, are assessed using a response surface method relying on a central composite design with three factors and three levels. FTIR spectroscopy analysis elucidates the esterification of SNPs with rosin acid, with the appearance of a new intense peak C=O ester at 1726 cm⁻¹. Scanning electron microscopy observations reveal some atomic/molecules disorder after esterification. X-ray diffraction analysis indicates the presence of the amorphous structure, with a significant decline of the crystallinity upon esterification of SNPs. Thermogravimetric analysis manifests that the thermal stability of esterified SNPs is lower compared to native starch and SNPs. The antioxidant characteristics of SNPs before and after esterification investigated through 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl radical scavenging tests demonstrate a dose-dependent increase in the antioxidant activity that is comparable to standard vitamin C (ascorbic acid).

Keywords Potato starch nanoparticles · Maghnite-H⁺ · Rosin acid · Esterification · Antioxidant activity

1 Introduction

In the context of the valorization of biomass and the development of new biodegradable materials, extensive studies have been conducted on "starch", a very natural abundant polysaccharide polymer. The latter is a renewable, biodegradable, nontoxic [1, 2], and cheap polysaccharide. It represents the energy reserve organ of higher plants and exists in the form of a white powder consisting of micrometric grains [3–5].

Starch is a mixture of two homopolymeric polysaccharides, amylose and amylopectin composed of D-anhydroglucose pyranose units (AGU), with a general formula (C₆H₁₀O₅) [6–9].

The procedures of acid/enzymatic hydrolysis, gamma irradiation, simple nanoprecipitation, ultrasound, and homogenization are often used to synthesize starch nanoparticles (SNPs) [10–13], exhibiting distinct physicochemical and biological properties compared to native starch, including higher solubility and reaction surface [14]. In this study, hydrolysis by using acid HCl has been adopted to synthesize potato starch nanoparticles. The properties of the as-prepared SNPs, such as amylose content, adherence, rheology, particles' shape, and size distribution, are found to be enhanced compared to their bulk counterparts. Starch nanoparticles are generally utilized in the formation of nanoemulsions, starch-based composite films, encapsulation, and drug delivery applications [3, 15–17].

The starch has three hydroxyl groups inside the α-D-glucopyranose unit whereby it offers many coupling

✉ Mohammed Amin Bezzekhami
mohammed.bezzekhami.etu@univ-mosta.dz

¹ Laboratoire Structure, Elaboration et Application des Matériaux Moléculaires, Department of Chemistry, Faculté de Sciences Exactes et de l'Informatique, University Abdelhamid Ibn Badis, 27000 Mostaganem, Algeria

² Laboratoire de Chimie des Polymères, Department of Chemistry, Faculté de Sciences Exactes et Appliquées, University of Oran 1 Ahmed Benbella, 31000 Oran, Algeria

³ Department of Mathematics and Science, Faculty of Humanities and Sciences, Prince Sultan University, Riyadh, Saudi Arabia



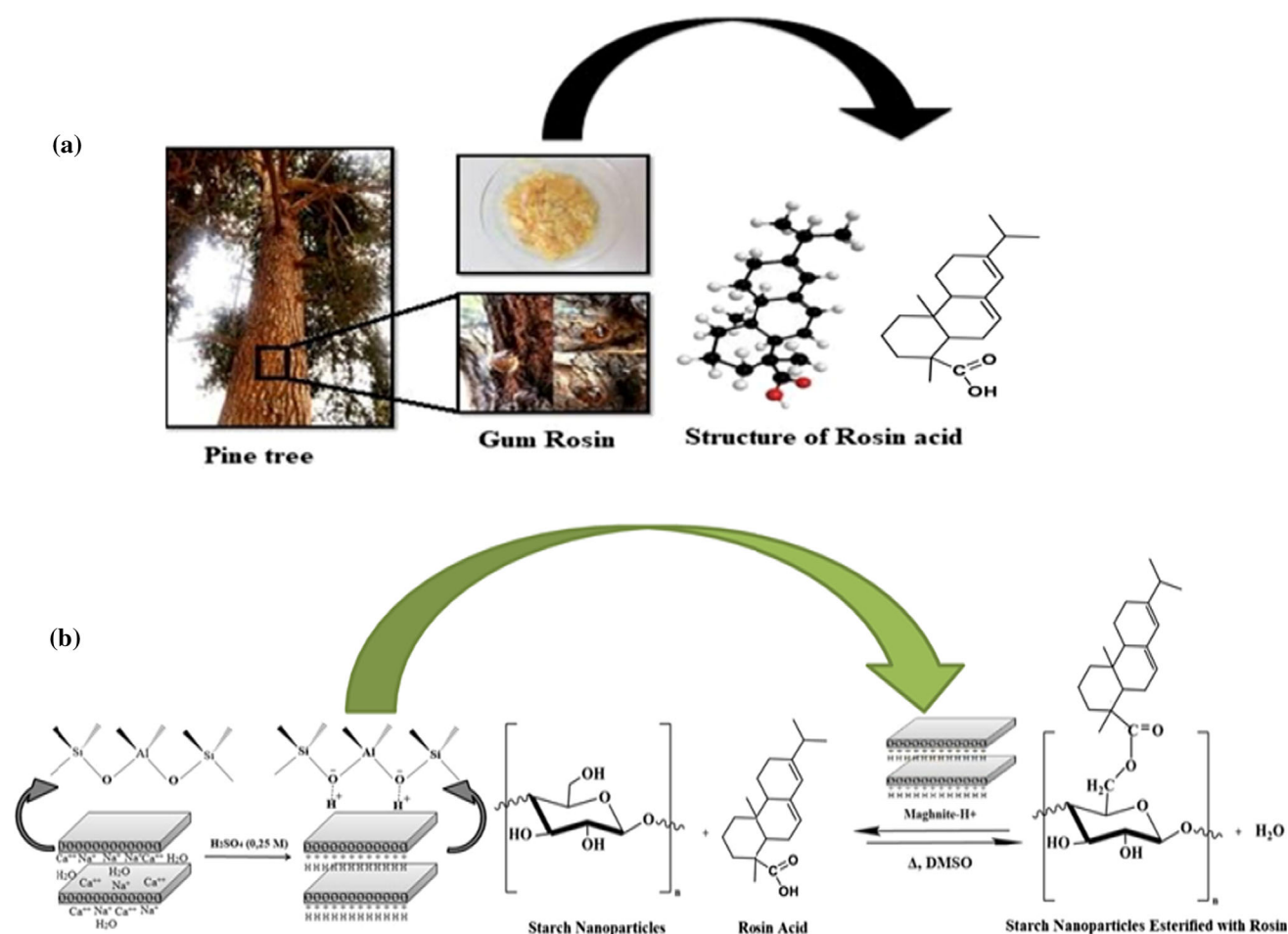


Fig. 1 **a** General process for the extraction of Rosin from Pine trees and **b** the active form of Maghnite with sulfuric acid, Starch nanoparticles esterified with rosin acid catalyzed by Maghnite- H^+ . As indicated in the scheme, only the OH at position 6 has been reacted; meanwhile, both hydroxyl groups at positions 2 and 3 can also be reacted

reactions possibilities. Oxidation, esterification, and etherification reactions have been developed for more than 50 years [18, 19]. In this work, the chemical modification consisted in transforming the polar hydroxyl groups present on the surface of starch nanoparticles into esters' groups. The esterification of starch involves chain reactions with acids, chlorides of organic acids salts of inorganic acids, and anhydrides [20–22]. During synthesis, rosin acid was used as a natural acid esterified with potato starch nanoparticles. Thus, dimethylsulfoxide (DMSO) is a successful replacement for toxic solvents in addition to starch nanoparticles and rosin acid being completely soluble in DMSO [23, 24].

Rosin is a natural solid yellowish-brown acidic resin substance with the molecular formula $C_{19}H_{29}COOH$ [25] (Fig. 1a). It is largely composed of abietic, pimaric, and levopimaric acids that are obtained from pine and other conifer trees by heating the tree's liquid resin to vaporize the volatile liquid terpene elements [26]. The rosin acid molecule has two chemically reactive centers: the double bond and the carboxyl

group [27]. Rosin is used as an emulsifier in a variety of applications due to its low manufacturing cost, high availability, and outstanding properties (biocompatibility, hydrophobicity and chemical reactivity) [28]. So far in the literature, no work has been reported on the esterification of rosin with potato starch nanoparticles using Maghnite- H^+ as a green heterogeneous solid catalyst (Fig. 1c).

The Maghnite is natural clay of montmorillonite type, obtained from northwest Algeria (Maghnia), characterized by its high silica (SiO_2) content compared to alumina (Al_2O_3), thereby a strong catalytic activity. Silica has a high electronegativity; therefore, protons are more quickly absorbed on silica than on alumina (Fig. 1b) [29–31]. Polycondensation of D, L-lactic acid is one of the known reactions used with Maghnite as a catalyst [32]. The authors reported a new method for preparing poly (D, L-lactic acid) (PLA) as a biodegradable polymer (polyester).

In this study, the response surface methodology (RSM) has been adopted to optimize the synthesis process of starch

nanoparticles esterified with rosin acid. RSM is a set of mathematical and statistical approaches applied in experiment design [33] and usually adopted to reduce the number of experimental trials required to evaluate several factors and their interactions [34]. Furthermore, RSM may be used to determine the target value of a particular parameter by studying the individual and interaction impacts of factors [35]. Therefore, RSM is considered as an efficient method aiding in process optimization when there exists numerous factors and interactions in the experiment [36]. In this paper, the occurrence of mutual effects of reaction temperature, reaction time, and the amount of Maghnite- H^+ catalyst on the esterification synthesis of starch nanoparticles using rosin acid is investigated in depth and breadth by applying the Box–Behnken design response surface methodology by Design Expert Version 11.1.2.0 (Stat Ease, USA).

Furthermore, the antioxidants are substances that inhibit the formation of reactive oxygen species, which minimize oxidative stress in cells, making them effective in the treatment of a variety of human disorders, such as cancer, inflammatory diseases, and cardiovascular disease [37, 38]. In this present work, the green synthesized starch nanoparticles by esterification with rosin acid has been studied for antioxidant activity by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging method.

2 Material and Methods

The potato starch was provided from Youville Montreal (Quebec Canada) and was used in the esterification reaction with gum Rosin acid obtained from local producers Costa e Irmos, Leiria, Portugal. The chemical reagents such as 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), acid ascorbic, dimethylsulfoxide (DMSO), methanol, ethanol, sulfuric, and hydrochloric acids were purchased from Sigma-Aldrich (Germany). The raw Maghnite clay (Algerian Montmorillonite) was obtained from "BENTAL" (Algerian Bentonite Company) and originates from a quarry in the region of Maghnia (in the Northwest of Algeria).

2.1 Preparation of Maghnite- H^+

The Maghnite H^+ has been prepared by adopting the method proposed by ref. [39]. The raw Maghnite (40 g) was grounded in a prolabo ceramic ball mill for 20 min, then dried for 2 h at 105 °C. The as-obtained product was placed in an Erlenmeyer flask with 500 mL of distilled water (DW), and the mixture was agitated with a magnetic stirrer at room temperature with the addition dropwise of 0.25 M sulfuric acid solution (100 mL) until it reached saturation in 48 h. Further, the obtained mineral was filtered and washed with DW until the pH was 7.0. The Maghnite- H^+ was then filtered,

grounded, then dried in an oven for 24 h at 105 °C with a yield of 80.37%.

2.2 Preparation of Starch Nanoparticles (SNPs) by Acid Hydrolysis

50 g of the starch was suspended in 400 mL of 2.2 N HCl for 3 days at 40 °C using a water bath [40]. The starch's suspension was centrifuged after hydrolysis for 20 min at 8000 rpm and washed five times with 500 mL of DW. The starch nanoparticles (SNPs) were neutralized with 1 N NaOH until the pH reached 7.0. Then, SNPs were washed with ethanol and DW and finally dried for 24 h at 60 °C under ambient pressure.

2.3 Esterification of Starch Nanoparticles with Rosin Acid

SNPs were dissolved in 3 mL of DMSO followed by the addition of rosin acid and a molar ratio of rosin acid/anhydrous glucose unit 3:1. Various quantities of Maghnite- H^+ catalysis (m/m, relative to SNPs) have been added to the mixtures. In order to find the optimum reaction conditions, the same process was repeated by adjusting the catalyst percentage, reaction time, and reaction temperature. Esterified SNPs precipitated by gradually adding 25 mL of methanol after the removal of Maghnite- H^+ by filtration, then washed with 15 mL of methanol three times and dried at 60 °C for 24 h at ambient pressure.

2.4 Determination of the Degree of Substitution (DS)

The titration technique was used to measure the degree of substitution (DS), which is defined as the average molar ratio of affixed rosin acyl groups per unit of anhydrous glucose (AGU) [41]. 0.5 g of the sample was dissolved in 3 mL DMSO. Then 20 mL of 0.5 M NaOH was also added, after that the mixture was stirred at 50 °C for 4 h. Excess of NaOH was titrated back with 0.5 M of HCl solution that used phenolphthalein as an indication.

The DS value of esterified SNPs was determined as follow:

$$DS = \frac{162 \times C(V_0 - V)}{m - 285 \times C(V_0 - V)} \quad (1)$$

where 162 represents the molecular weight AUG, 285 is the molecular weight of rosin acyl, V_0 and V are the titration volumes of HCl consumed in SNPs before and after esterification, respectively, C is the molar concentration of HCl, and m is the amount of the powdered sample.



2.5 Experimental Design and Statistical Analysis

During the synthesis procedure of rosin acid modified-SNPs, the influence of the reaction conditions on the DS value takes into account the rosin acid/AGU molar ratio, reaction temperature, reaction time, and the amount of catalyst.

According to the experiments' results (Unpublished results), while the DS value changes with the molar ratio of rosin acid/AUG varied during the synthesis of SNPs esterified with rosin acid, it was found that the DS value was the highest when the ratio was 3:1. Therefore, the molar ratio of rosin acid/AUG was usually not taken as a variable in the experimental design and was fixed at 3:1.

In this work, a 17-trial, 3-factor, and 3-level Box–Behnken design were adopted in constructing polynomial models for the process optimization. The actual factor values at three levels were selected, coded as -1 , 0 , and $+1$ for low, medium, and high factors, respectively (Table 1).

This design was appropriate for studying the quadratic response surface and for use in the construction of a second-order polynomial model using Design-Expert software (Version 11.1.2.0, Stat-Ease, USA).

The experiment design matrix was generated by the software and presented in Table 2. The function of the system is expressed by the following second order polynomial equation [42]:

$$Y = \alpha_0 + \sum_{i=1}^3 \alpha_i X_i + \sum_{i=1}^3 \sum_{i \neq j}^3 \alpha_{ij} X_i X_j + \sum_{i=1}^3 \alpha_{iii} X_i^2 \quad (2)$$

where Y is the response variable; α_0 is the model constant; α_i is the linear coefficient; α_{ij} is the quadratic coefficient; α_{ij} is the interaction coefficient, whereas the factors evaluated in this work are the temperature (X_1), reaction time (X_2), and the amount of catalyst (X_3).

Table 1 Coded and actual levels of factors involved in the experimental design

Factors	Coded levels			
	Symbol	-1	0	$+1$
Reaction temperature ($^{\circ}\text{C}$)	X_1	40	70	100
Reaction time (h)	X_2	6	15	24
Catalyst (% by weight of starch)	X_3	5	15	25

Table 2 Box–Behnken experimental design and response values for the degree of substitution

Run	Factor 1 X_1 /Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	Factor 2 X_2 /Reaction time (h)	Factor 3 X_3 /Catalyst (%)	Response 1 Actual DS Y	Response 2 Predicted DS Y
1	100	24	15	0.094	0.098
2	40	6	15	0.055	0.050
3	70	15	15	0.103	0.110
4	100	15	25	0.123	0.123
5	70	15	15	0.114	0.110
6	100	15	5	0.031	0.097
7	70	6	5	0.032	0.036
8	70	24	5	0.034	0.033
9	40	15	25	0.073	0.077
10	40	15	5	0.034	0.034
11	70	15	15	0.117	0.110
12	70	6	25	0.073	0.073
13	40	24	15	0.073	0.073
14	70	24	25	0.141	0.136
15	70	15	15	0.105	0.110
16	100	6	15	0.064	0.063
17	70	15	15	0.111	0.110

Table 3 Analysis of variance (ANOVA) for the elements of the Box–Behnken parameter

Source	Sum of squares	Degree of freedom	Mean square	F-value	p-value	
Model	0.0201	9	0.0022	57.26	< 0.0001	Significant
X_1 /Temperature	0.0007	1	0.0007	19.02	0.0033	
X_2 /Reaction time	0.0017	1	0.0017	44.67	0.0003	
X_3 /Catalyst amount	0.0097	1	0.0097	249.72	< 0.0001	
X_1X_2	0.0000	1	0.0000	0.9239	0.3685	
X_1X_3	0.0007	1	0.0007	18.02	0.0038	
X_2X_3	0.0011	1	0.0011	27.95	0.0011	
X_1^2	0.0020	1	0.0020	50.53	0.0002	
X_2^2	0.0012	1	0.0012	30.77	0.0009	
X_3^2	0.0023	1	0.0023	57.79	0.0001	
Residual	0.0003	7	0.0000			
Lack of fit	0.0001	3	0.0000	1.26	0.3990	Not significant
Pure error	0.0001	4	0.0000			
Cor total	0.0204	16				

$$R^2 = 0.9866, R^2_{\text{Adj}} = 0.9694, R^2_{\text{Pred}} = 0.8849, \text{CV} = 7.71\%$$

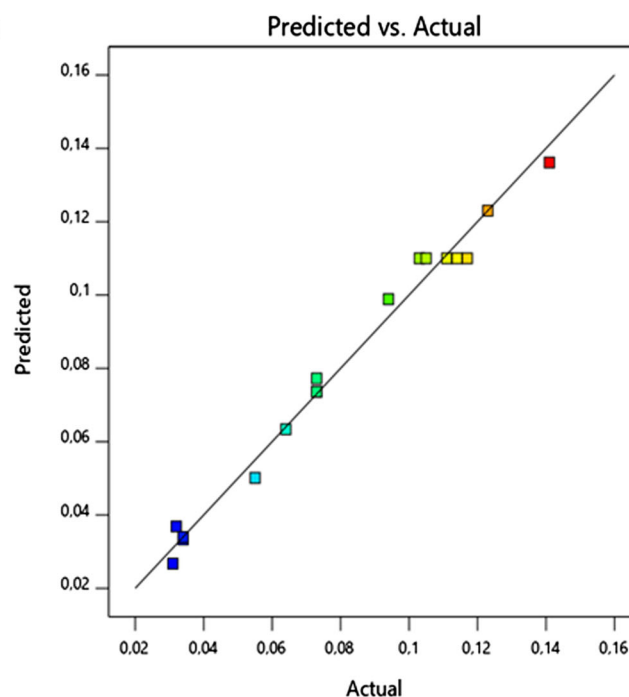
Fig. 2 a Diagnostic plots of the quadratic model used for the estimated response of the actual synthesis of esterified starch nanoparticles versus the predicted response. Response surface and contours showing the effect of reaction temperature (X_1), reaction time (X_2), and amount of catalysis (X_3) on the degree of substitution DS, **b** Response surfaces and contour lines of DS as a function of X_1 and X_2 , **c** Response surface and contour lines of DS as a function of X_1 and X_3 , and **d** Response surface and contour lines of DS as a function of X_2 and X_3

Design-Expert® Software

Degree of substitution DS (adjusted for curvature)

Color points by value of Degree of substitution DS: 0,031 0,141

(a)



2.6 Physicochemical Characterization

The thermogravimetric analysis (TGA) was performed by using the SDT650 instrument in the temperature range 17–600 °C at a heating rate of 10 °C/min under nitrogen atmosphere. Fourier transform infrared (FTIR) spectra were recorded in the range of 4000–500 cm^{-1} using a Shimadzu

1240 FTIR spectrometer. The powdered samples were dispersed in KBr and compressed into pellets. X-ray diffraction analysis was performed using an Effort DISCOVER Bruker D4 instrument equipped with $\text{CuK}\alpha$ radiation source ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$) in the 2θ range 10°–70°. The morphology was analyzed by scanning electron microscopy (SEM) using a JOEL JSM-6610 LA instrument. The dried powdered samples were fixed with a silver paste to an Al support and then



Fig. 2 continued

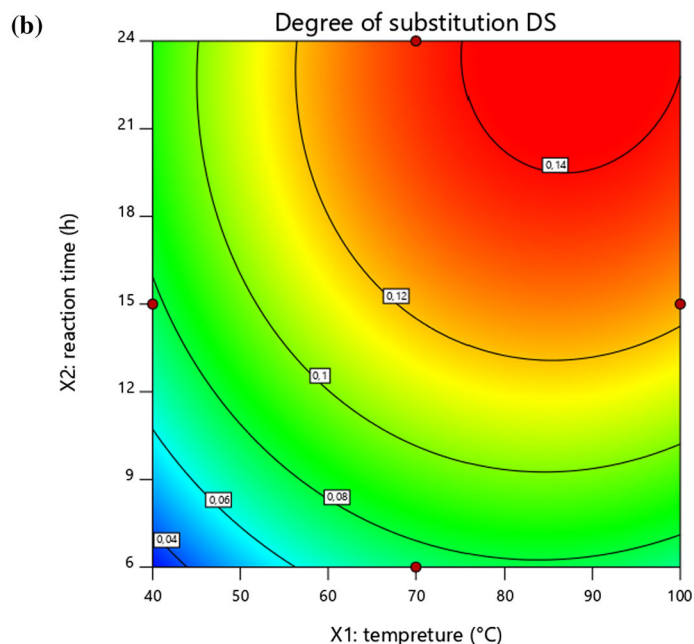
Design-Expert® Software
Factor Coding: Actual

Degree of substitution DS

● Design Points
0,031 0,141

X1 = A: temperature
X2 = B: reaction time

Actual Factor
C: catalyst = 25



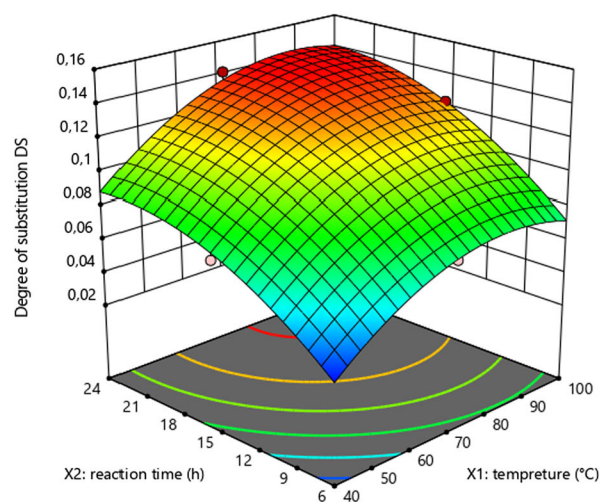
Design-Expert® Software
Factor Coding: Actual

Degree of substitution DS

● Design points above predicted value
○ Design points below predicted value
0,031 0,141

X1 = A: temperature
X2 = B: reaction time

Actual Factor
C: catalyst = 25



coated with a thin gold layer to enhance their conductivity. The micrographs were recorded under an accelerating voltage of 20 kV.

2.7 Assay for Antioxidant Activity (DPPH Radical Scavenging Activity)

The DPPH radical scavenging assay, as reported by Krishnaiah et al. [43], was used to assess the samples free radical scavenging ability. The hydrogen atom donating capacity of samples was determined by decolorizing a DMSO solution of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). In the presence of antioxidants, DPPH generates a purple/violet dye in DMSO

solution and turns into yellow color. A solution of 0.5 mM of DPPH in DMSO was prepared, and 2.4 mL of this solution was mixed with 100 μ L of sample in DMSO at different concentrations (0.39–200 mg/mL). The reaction mixture was vortexed and incubated at room temperature for 30 min in the dark. At 517 nm, the absorbance of the mixture was determined by spectrophotometry. As a control, ascorbic acid (Vitamin C) was used. The following equation was used to determine the proportion of DPPH radical scavenging activity:

$$\% \text{ Inhibition of DPPH} = \frac{A_{\text{Control}} - A_{\text{Sample}}}{A_{\text{Control}}} \times 100 \quad (3)$$



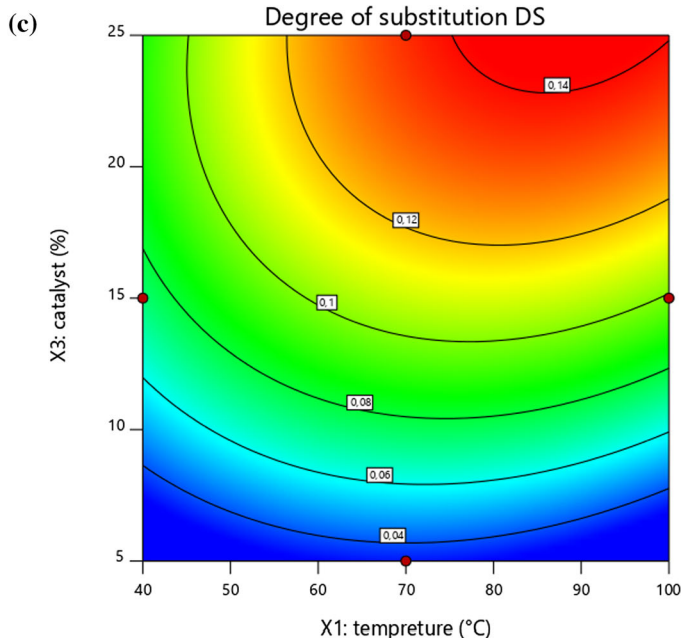
Fig. 2 continued

Design-Expert® Software
Factor Coding: Actual

Degree of substitution DS
● Design Points
0,031 0,141

X1 = A: tempreture
X2 = C: catalyst

Actual Factor
B: reaction time = 24

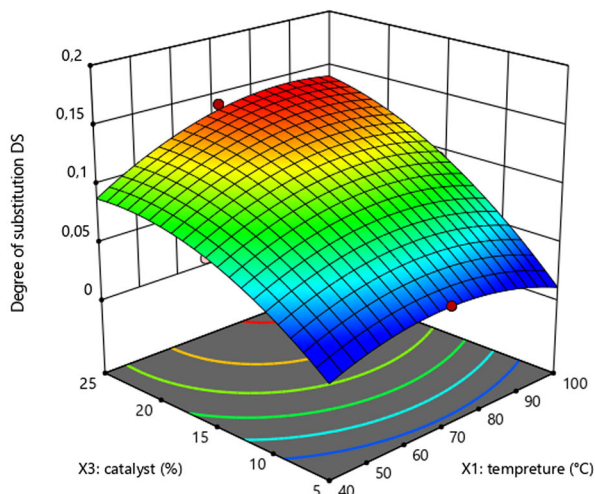


Design-Expert® Software
Factor Coding: Actual

Degree of substitution DS
● Design points above predicted value
○ Design points below predicted value
0,031 0,141

X1 = A: tempreture
X2 = C: catalyst

Actual Factor
B: reaction time = 24



where $A_{control}$ and A_{sample} indicate the absorbance of the control and sample, respectively.

3 Results and Discussion

3.1 Statistical Analysis of ANOVA Experimental Data by Design-Expert Software

The actual DS and the predicted values at the points based on the experimental design are presented in Table 2. The coefficients of the regression equation (Eq. 2) have been calculated

with the Design Expert tools using the Box-Behnken model and experimental data.

The second-order polynomial equation below has been conducted to analyze the DS value of SNPs after esterification:

$$Y = \alpha_0 + \alpha_1 X_1 + \alpha_2 X_2 + \alpha_3 X_3 + \alpha_4 X_1 X_2 + \alpha_5 X_1 X_3 + \alpha_6 X_2 X_3 + \alpha_7 X_1^2 + \alpha_8 X_2^2 + \alpha_9 X_3^2 \quad (4)$$

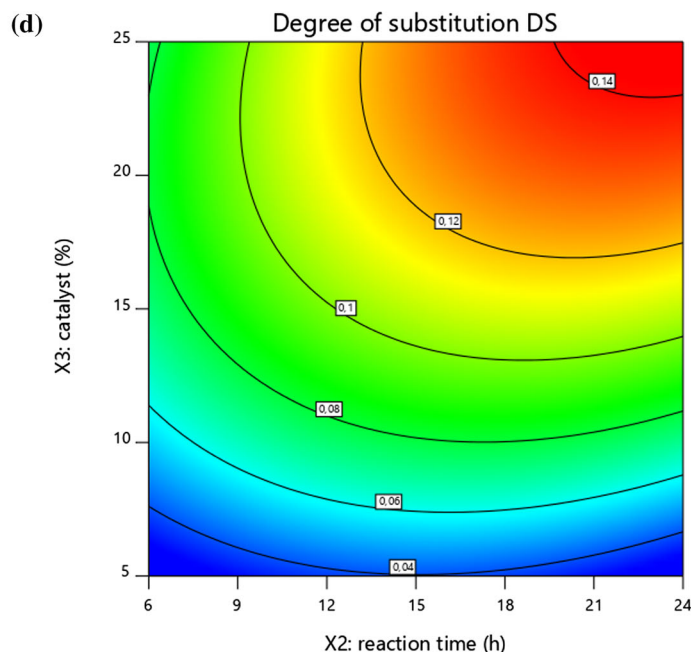
$$Y = 0.11 + 0.009625 X_1 + 0.01475 X_2 + 0.034875 X_3 + 0.003 X_1 X_2 + 0.01325 X_1 X_3 + 0.0165 X_2 X_3 - 0.021625 X_1^2 - 0.016875 X_2^2$$

Fig. 2 continued

 Design-Expert® Software
 Factor Coding: Actual

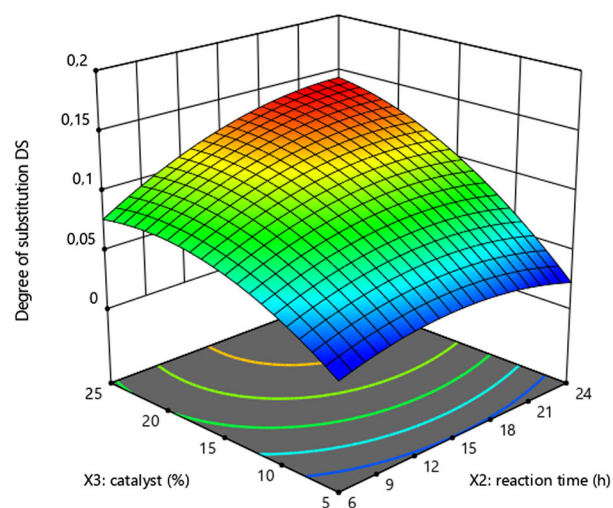
 Degree of substitution DS
 0,031 0,141

 X1 = B: reaction time
 X2 = C: catalyst

 Actual Factor
 A: temperture = 90,4

 Design-Expert® Software
 Factor Coding: Actual

 Degree of substitution DS
 0,031 0,141

 X1 = B: reaction time
 X2 = C: catalyst

 Actual Factor
 A: temperture = 90,4


$$-0.023125X_3^2 \quad (R^2 = 0.9866) \quad (5)$$

The analysis of variance (ANOVA) has been also performed to verify the significance of the adjustment of the second-order polynomial equation for the experimental data, and the obtained results are presented in Table 3.

The higher F -value of the model is 57.26 and the lower p -value ($p < 0.0001$) indicates that the coefficients are highly significant and that the evolved model has the best fit.

For p -values smaller than 0.05, the model terms are statistically significant. In this case, X_1 , X_2 , X_3 , X_1X_3 , X_2X_3 , X_1^2 , X_2^2 , X_3^2 represent the significant model terms, whereas for

p -values above 0.1000, it implies that the model terms are not significant. The lack-of-fit F -value of 1.26 means that the latter is not significant in comparison to the pure error. There is a 39.90% chance that such a high lack-of-fit F -value occurs due to noise.

The goodness-of-fit of the model has been optimized by computing the coefficient (R^2). Thus, the coefficient (R^2) is found to be 0.9866. This means that the model of regression can account for 98.66% of the variance and that the model is reliable. Furthermore, the value of the modified determination coefficient ($R^2_{Adj} = 0.9694$) is high, suggesting a high applicability of the model [44]. The expected coefficient of

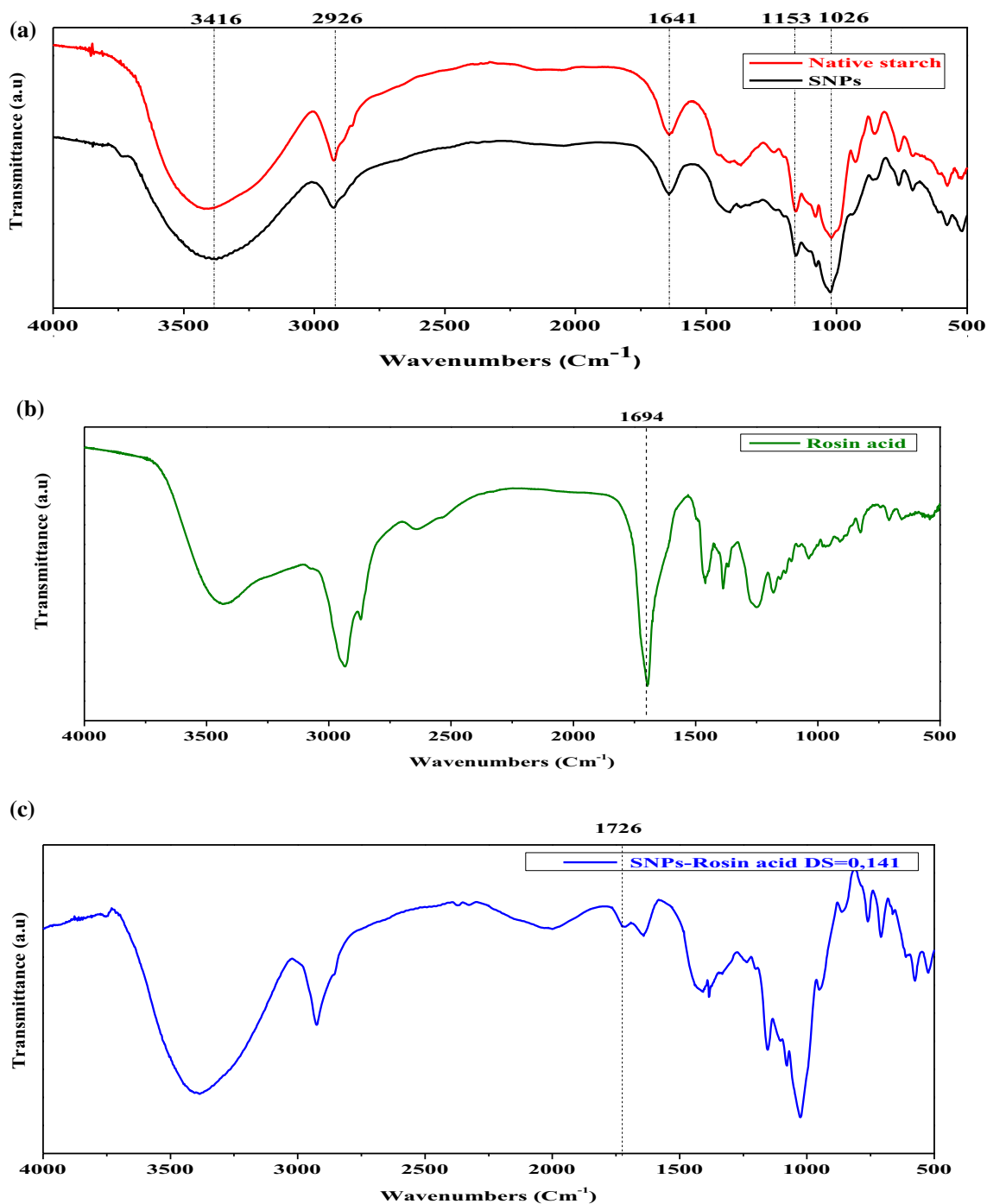


Fig. 3 FTIR spectra of a starch and starch nanoparticles, b rosin acid, and c esterified starch nanoparticles

determination ($R^2_{Pred} = 0.8849$), which provides details of the expected response value of the model, is found in good agreement with the R^2_{Adj} . Besides, the coefficient of variance ($CV = 7.71\%$) is low, implying that the experiments are quite precise and reliable [45].

In Fig. 2a, the predicted and actual Y values for the DS for esterified SNPs are found to be well correlated. The predicted values as provided by the models and the actual values

for a specific run represent the determined response data. It can be concluded that the estimated values correspond satisfactorily with the actual values. The diagonally distributed points indicate that an adequately precise representation of the experimental data is given by the regression model equation.

The response surface and contour lines created based on the adopted polynomial model as well as the representation expressed by equation (Eq. 4) can be considered as insightful approaches. Additionally, they demonstrate effectiveness for analyzing the interactions between two factors alongside the influence of the experimental variables on the responses, for a better understanding of the reaction system [44]. The response surface and contour lines of two variables are presented in Fig. 2b–d with the functions of the other two variables at the central level. It can be noticed that the value of DS as a function of temperature (X_1), reaction time (X_2), and amount of catalyst (X_3) reveals 2D and 3D plots of the response surface. The response surfaces are a downward convex line curve which indicates a maximum response value (DS). It also shows the influence of reaction time and temperature as well as amount of catalyst and their interactions on the evolution of DS of the esterified SNPs. It is observed that the DS value increases with increasing the reaction time up to 23 h and increasing the percentage of catalysis up to 23.78% and the maximum temperature reaches 85.7 °C for a maximum DS value of 0.142.

3.2 Structural and Morphological Properties

3.2.1 FTIR Analysis

The FTIR spectra for native starch and SNPs look identical (Fig. 3a), and similar to previous study on nanostarch synthesis [46]. Both peaks located at 1026 and 1079 cm^{-1} correspond to the stretching vibrations of glucose unit's C–O [47]. The broad peak at 3383 cm^{-1} (setting in the range 3000 and 3600 cm^{-1}) is assigned to the stretching of O–H hydrogen bonds [48]. The peak at 1350 cm^{-1} is related to deformations in C–O–H groups. The peak at 1641 cm^{-1} is associated with water molecules adsorbed by the starch,

whereas the peak at 2930 cm^{-1} is related to the vibrations of C–H bonds [49]. However, the peak corresponding to the OH stretching vibration at 3395 cm^{-1} of SNPs upon reaction with rosin acid (Fig. 3c) manifests a decrease in intensity compared to native starch and SNPs. This means that parts of the OH stretching vibration undergo interaction during the esterification of SNPs with rosin acid. Furthermore, in the rosin acid molecule (Fig. 3b), the 1694 cm^{-1} peak corresponding to the carboxyl group disappears in the spectrum of esterified SNPs [28, 50]. Meanwhile, a new intense peak of 1726 cm^{-1} corresponding to the C=O stretch in the ester group is detected. This confirms that SNPs were successfully synthesized with rosin acid [48, 51].

3.2.2 XRD Analysis

The XRD patterns of native starch, SNPs before and after esterification with rosin acid recorded in the 2θ range 10°–70°, are displayed in Fig. 4. The native starch exhibits a high intensity and relatively broad diffraction peaks located approximately around 15.10°, 17.08°, 19.14°, 22.22°, and 23.88° associated with the B-type polymorph [52–54]. This is an indication of its semicrystalline nature: the presence of both crystalline and amorphous phases. No significant difference can be observed between XRD patterns of SNPs and native starch, except a slight reduction of peaks' relative intensity. The linear amylose compound α -1, 4-glucopyranose is responsible for the appearance of the amorphous phase. While the crystalline phase contributes to the large amylopectin consisting of both α -1,4 and α -1,6 glucopyranose, the strongly ordered crystal structure is due to intra- and intermolecular hydrogen bonds [55, 56]. Much of the hydroxyl groups of SNPs are replaced by carboxyl groups, notably, there has been less formation of intermolecular hydrogen bonds [41]. Further and as expected, after

Fig. 4 X-ray diffraction patterns of native starch and starch nanoparticles (SNPs) before and after esterification

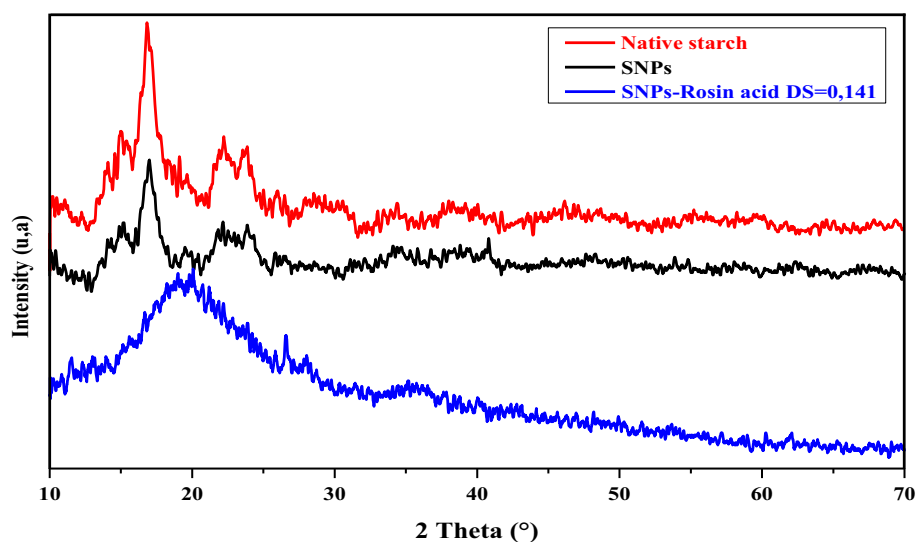
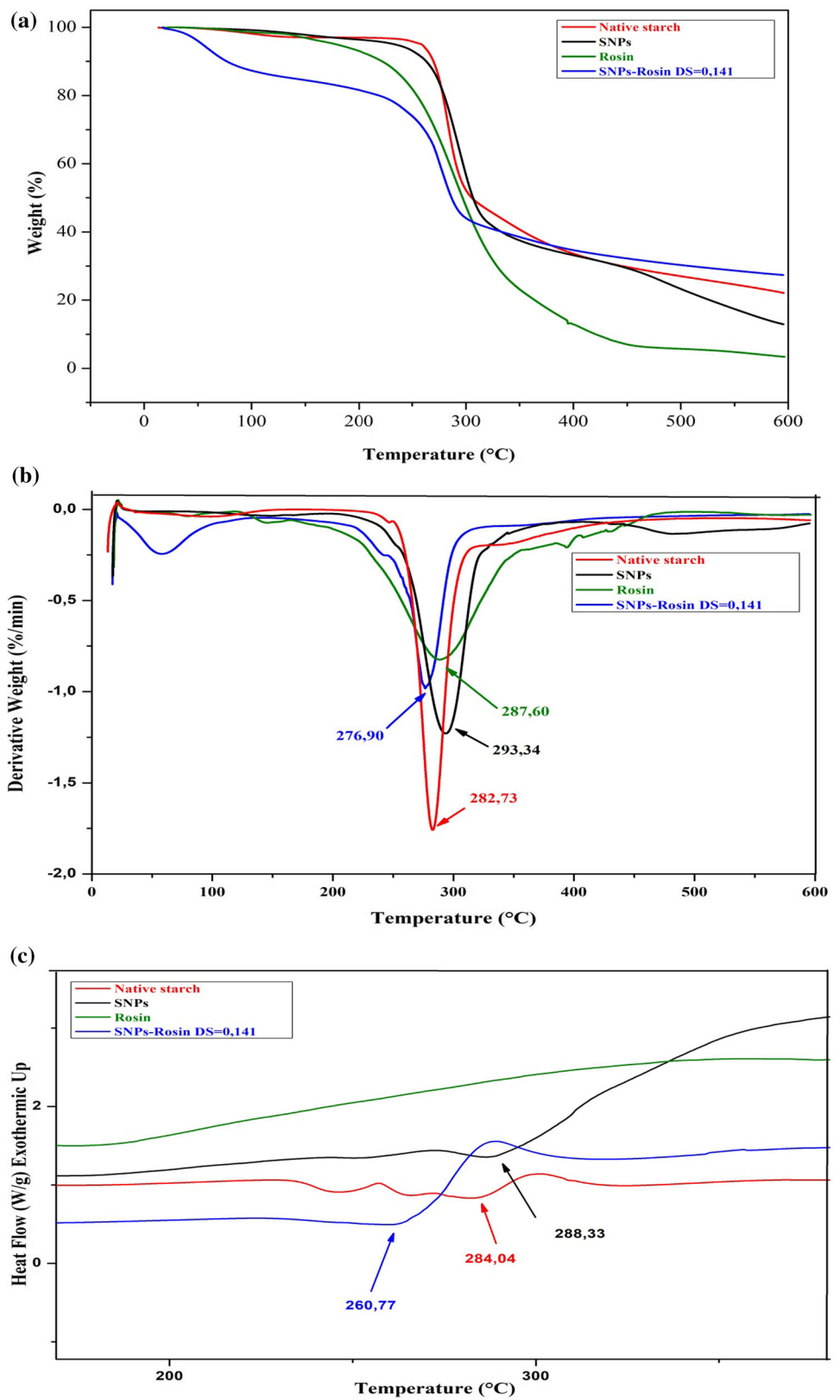


Fig. 5 a Thermogravimetric analysis (TGA) curves, **b** derivative of the TGA curves—DTG, and **c** and differential scanning calorimetric (DSC) curves of native starch, starch nanoparticles (SNPs) before and after esterification with rosin acid



esterification of SNPs, the XRD pattern is composed a main very broad diffraction peak located around 19.7° , indicating the full transformation into amorphous phase.

3.2.3 Thermal Stability Analysis

The thermal properties of native potato starch, SNPs, and esterified SNPs have been studied by thermogravimetric analysis, as shown in Fig. 5a. It can be deduced that SNPs begin to lose weight at a temperature slightly lower than the native starch. This indicates that SNPs possess a high number of hydroxyl groups on their surface which facilitates the thermal degradation. Similar results have already been reported for starch nanoparticles prepared by acid hydrolysis [57]. In the case of SNPs, the main mass loss 94.90–40.79% occurs around 235–329 °C while the temperature corresponding to the high heat decomposition is approximately 293.94 °C (Fig. 5b) with a melting temperature (T_p) of 288.33 °C (Fig. 5c). Furthermore, the decomposition of esterified SNPs

(DS 0.141) begins at much lower temperature compared to SNPs. The main mass loss of 78.58–43.15% for esterified SNPs is observed around 230–305 °C. The observed maximum decomposition temperature for SNPs esterified is around 276.90 °C (Fig. 5b) with a melting temperature (T_p) of 260.77 °C (Fig. 5c). Consequently, the thermal stability of the SNPs is then reduced with the modification by rosin acid. This may be due to the deformation of the crystalline regions of SNPs following the modification upon post-treatment with rosin acid. The molecules of rosin acid are introduced into the molecular chain of SNPs, hence altering the hydrophobicity of SNPs and hydrogen bonding and consequently decreasing the interactions between SNPs resulting in lowering the thermal stability [41].

3.2.4 SEM Observations

Figure 6a represents the SEM micrograph of the native potato starch, composed mainly of irregular-shaped granules with

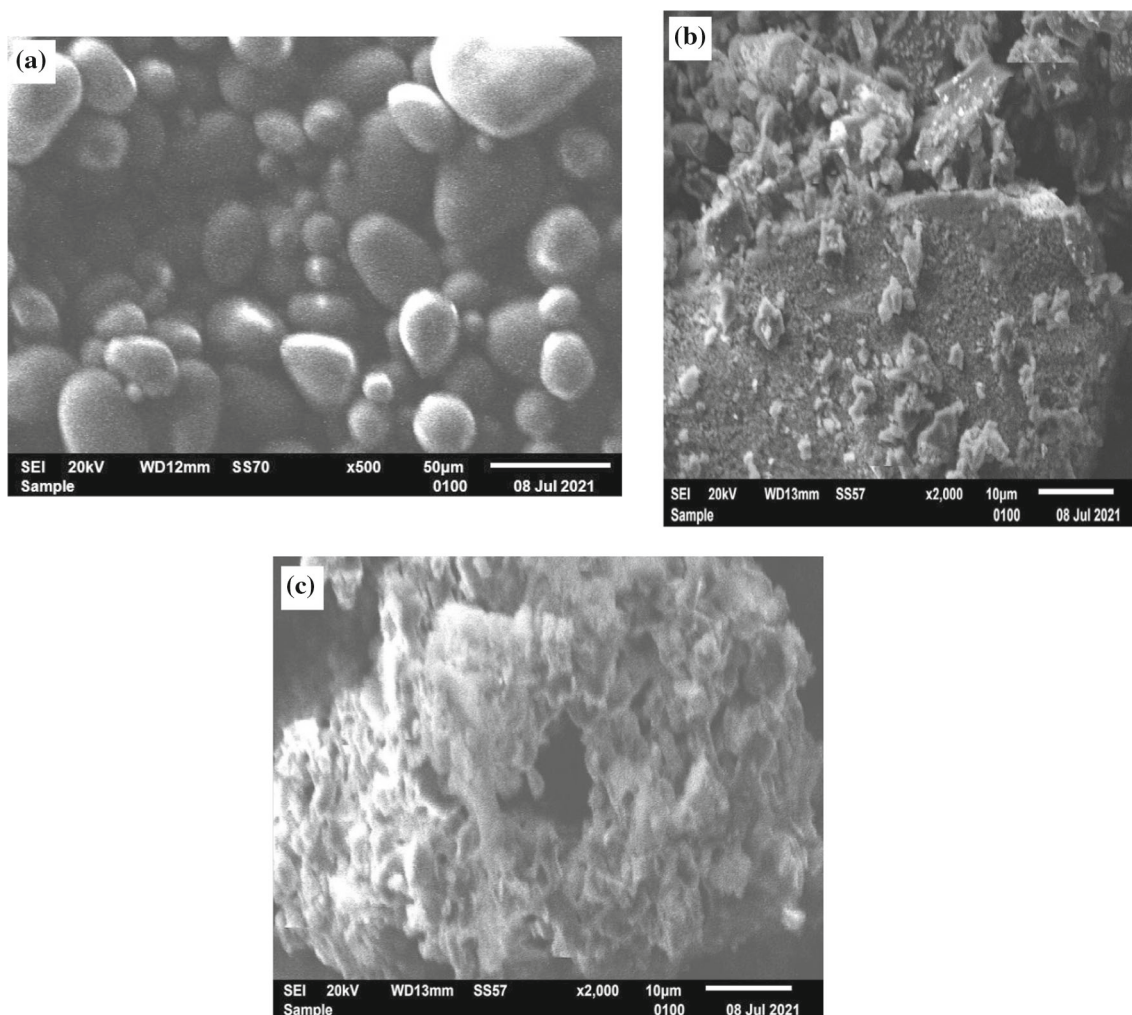


Fig. 6 SEM images of **a** native starch, **b** starch nanoparticles (SNPs), and **c** starch esterified nanoparticles (DS = 0.141)

smooth surface and broad size distribution in the 2–50 μm. The granular structure of the starch has been completely disrupted by the hydrolysis by HCl solution to form a homogeneous starch. Subsequently, nanoparticles of starch are formed with particles size between 200 and 800 nm, as shown in Fig. 6b. The influence of esterification on starch nanoparticles morphology is further elucidated in Fig. 6c. After the incorporation of rosin acid into starch nanoparticles, the esterification caused total structural disturbances inducing a complete local atomic/molecules disorder, and as a result the formation of an amorphous structure. It can be concluded that both XRD and SEM studies clearly demonstrate that the inclusion of rosin acid in starch nanoparticles transformed the latter into a new nanomaterial without crystallization.

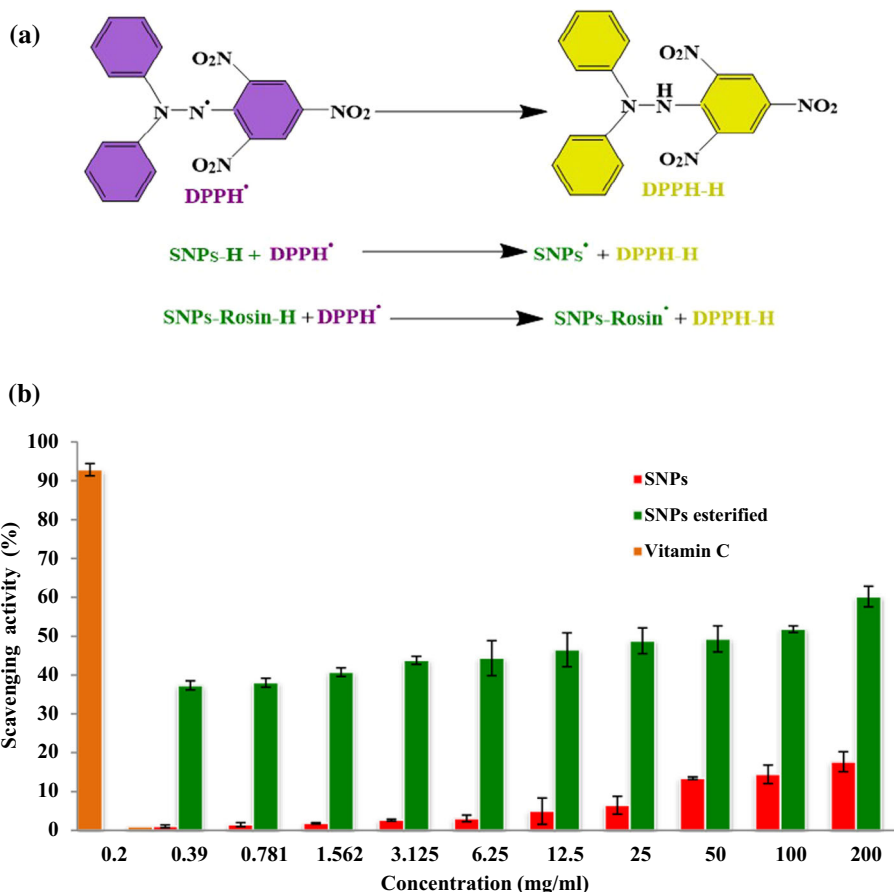
3.3 Antioxidant Activity

The stable free radical 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl is reduced by receiving hydrogen or electrons from the donor (Fig. 7a) [58, 59]. Also, ascorbic acid (vitamin C) as a natural antioxidant has been extensively used as a reference for evaluating the antioxidant efficiency.

When compared to esterified potato starch nanoparticles (esterified SNPs) with starch nanoparticles (SNPs), the former exhibit remarkable scavenging activity (Fig. 7b). The inhibition rate increases significantly from 1.03 ± 0.606 up to $17.68 \pm 4.559\%$ for SNPs with increasing SNPs concentration and 37.35 ± 1.992 up to $62.91 \pm 4.560\%$ for SNPs and esterified SNPs with increasing of SNPs esterified concentration. Further, the rate of DPPH scavenging reaches $92.86 \pm 2.735\%$ for vitamin C.

The antioxidant activity is found to increase gradually with increasing the concentration of esterified SNPs, reaching a maximum value ($17.68 \pm 4.559\%$ and $62.91 \pm 4.560\%$) at 200 mg/mL. The enhancement in the DPPH activity can be attributed to the occurrence of chemical modifications during the grafting of SNPs by rosin acid. Indeed, starch nanoparticles fabricated from innovative processes including ultrasonication, alkaline, and acid hydrolysis increase the ability of DPPH radical scavenging. According to the literature, the low molecular weight and monosaccharide content of polysaccharides can contribute to their antioxidant activity [60]. The production of nanoparticles results in a reduction in molecular weight, which improves the antioxidant potential. Rosin acid demonstrates a good antioxidant activity which enhances the antioxidant activity of SNPs with EC₅₀ about

Fig. 7 a Reaction mechanism of DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) with antioxidant and b DPPH scavenging activity of SNPs and esterified SNPs



of 100 mg/mL due to the carbon double bonds contained in rosin [61, 62]. The EC₅₀ value is commonly used to convey the outcome, which is defined as the concentration of antioxidant that induces a 50% drop in DPPH absorbance [63, 64].

4 Conclusion

The Box–Behnken's response on face approach was harnessed to optimize the reaction conditions for the synthesis of rosin acid esterified starch nanoparticles. The optimized conditions were as follows: reaction time 23 h, reaction temperature 85.7 °C, and Maghnite-H⁺ catalyst amount 23.78% (by weight SNPs). FTIR spectroscopy identified the functional groups before and after esterification of starch nanoparticles. SEM and XRD analyses indicated that the esterification of starch nanoparticles affected the crystalline structure, and an amorphous phase was obtained, whereas the thermal stability was improved. Rosin acid appears to have a good antioxidant function that boosts the antioxidant activity of esterified starch nanoparticles with an EC₅₀ of almost 100 mg/mL.

Acknowledgements The authors are grateful for the substantial financial support provided by the General- Direction of Scientific Research and Technology Development (DGRSDT, MESRS, Algeria).

Declarations

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Hulwani, A.; Zain, M.: Biodegradation behaviour of thermoplastic starch: the roles of carboxylic biodegradation behaviour of thermoplastic starch: the roles of carboxylic acids on cassava starch. *J. Polym. Environ.* (2018). <https://doi.org/10.1007/s10924-017-0978-5>
- Odian, G.: Principles of Polymerization. Wiley, Hoboken (2004)
- Zhu, F.: Encapsulation and delivery of food ingredients using starch based systems. *Food Chem.* (2017). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.101>
- Bule, A.: Starch granules: structure and biosynthesis. *Int. J. Biol. Macromol* **23**, 85–112 (1998)
- Eerlingen, R.C.; Delcour, J.A.: Formation, analysis, structure and properties of type III enzyme resistant starch. *J. Cereal Sci.* **22**, 129–138 (1995)
- Masina, N., et al.: A review of the chemical modification techniques of starch. *Carbohydr. Polym.* (2016). <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.09.094>
- Topping, D.L.; Clifton, P.M.: Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiol. Rev.* **81**(3), 1031–1064 (2018)
- Pe, S.: The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: a comprehensive review. *Starch-Stärke* **62**, 389–420 (2010). <https://doi.org/10.1002/star.201000013>
- Hoover, R.: Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. *Carbohydr. Polym.* **45**, 253–267 (2001)
- Bras, J.; Dufresne, A.: Starch nanoparticles: a review. *Biomacromol* **11**, 1139–1153 (2010)
- Xie, F.; Pollet, E.; Halley, P.J.; Avérous, L.: Progress in polymer science. *Prog. Polym. Sci.* **38**(10–11), 1590–1628 (2013). <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2013.05.002>
- Bel Haaj, S.; Magnin, A.; Pétrier, C.; Boufi, S.: Starch nanoparticles formation via high power ultrasonication. *Carbohydr. Polym.* **92**(2), 1625–1632 (2013). <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.11.022>
- Kim, H.; Park, S.S.; Lim, S.: Preparation, characterization and utilization of starch nanoparticles. *Colloids Surf. B Biointerfaces* (2014). <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.11.011>
- Campelo, P.H.; Sant'Ana, A.S.; Pedrosa Silva Clerici, M.T.: Starch nanoparticles: production methods, structure, and properties for food applications. *Curr. Opin. Food Sci.* **33**(1), 136–140 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.04.007>
- Avella, M.; De Vlieger, J.J.; Emanuela, M.; Fischer, S.; Vacca, P.; Grazia, M.: Food chemistry biodegradable starch/clay nanocomposite films for food packaging applications. *Food Chem.* **93**, 467–474 (2005). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.024>
- Jiang, S.; Liu, C.; Wang, X.; Xiong, L.; Sun, Q.: Physicochemical properties of starch nanocomposite films enhanced by self-assembled potato starch nanoparticles. *LWT Food Sci. Technol.* **69**, 251–257 (2016). <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.01.053>
- Rodrigues, A.; Emeje, M.: Recent applications of starch derivatives in nanodrug delivery. *Carbohydr. Polym.* **87**(2), 987–994 (2012). <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.09.044>
- Fan, Y.; Picchioni, F.: Modification of starch: a review on the application of 'green' solvents and controlled functionalization. *Carbohydr. Polym.* **241**, 116350 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116350>
- Chen, Q., et al.: Recent progress in chemical modification of starch and its applications. *RSC Adv.* **5**(83), 67459–67474 (2015). <https://doi.org/10.1039/c5ra10849g>
- Ashogbon, A.O.; Akintayo, E.T.: Recent trend in the physical and chemical modification of starches from different botanical sources: a review. *Starch-Stärke* **66**, 41–57 (2014). <https://doi.org/10.1002/star.201300106>
- Alcázar-alay, S.C.; Angela, M.; Meireles, A.: Physicochemical properties, modifications and applications of starches from different botanical sources. *Food Sci. Technol.* **35**(2), 215–236 (2015)
- Din, Z.; Xiong, H.; Fei, P.: Physical and chemical modification of starches: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **57**(12), 2691–2705 (2015). <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1087379>
- Byrne, F.P., et al.: Tools and techniques for solvent selection: green solvent selection guides. *Sustain. Chem. Process.* **4**, 1–24 (2016). <https://doi.org/10.1186/s40508-016-0051-z>
- Syahaariza, Z.A.; Li, E.; Hasjim, J.: Extraction and dissolution of starch from rice and sorghum grains for accurate structural analysis. *Carbohydr. Polym.* **82**(1), 14–20 (2010). <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.04.014>
- Liu, X.; Zhang, R.; Zhu, J.; Jiang, Y.: Synthesis and properties of full bio-based thermosetting resins from rosin acid and soybean oil: the role of rosin acid derivatives. *Green Chem.* (2013). <https://doi.org/10.1039/c3gc00095h>
- Wilbon, P.A.; Chu, F.; Tang, C.: Progress in renewable polymers from natural terpenes, terpenoids, and rosin. *Macromol. Rapid Commun.* **34**(1), 8–37 (2013)
- Division, P.M.; Centre, M.S.: Rosin: a renewable resource for polymers and polymer chemicals. *Prog. Polym. Sci.* **14**, 297–338 (1989)



28. Zaoui, A.; Mahendra, V.; Mitchell, G.; Cherifi, Z.; Harrane, A.: Design, synthesis and thermo-chemical properties of rosin vinyl imidazolium based compounds as potential advanced biocompatible materials. *Waste Biomass Valorization* (2019). <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00691-0>
29. Kherroub, D.E.; Belbachir, M.; Lamouri, S.; Chikh, K.: Cationic ring opening polymerization of octamethylcyclotetrasiloxane using a cost-effective solid acid catalyst (maghnite-H+). *Iran. J. Sci. Technol. Trans. A Sci.* **43**(1), 75–83 (2019). <https://doi.org/10.1007/s40995-017-0269-y>
30. Yahiaoui, A.; Belbachir, M.; Hachemaoui, A.; De Chimie, L.; De Chimie, D.: An acid exchanged montmorillonite clay-catalyzed synthesis of polyepichlorhydrin. *Int. J. Mol. Sci.* **4**, 548–561 (2003)
31. Sinha Ray, S.; Okamoto, M.: Polymer/layered silicate nanocomposites: a review from preparation to processing. *Prog. Polym. Sci.* **28**(11), 1539–1641 (2003). <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2003.08.002>
32. Harrane, A.; Belaouedj, M.A.; Meghabar, R.; Belbachir, M.: Bulk polycondensation of lactic acid by Maghnite-H+ a non-toxic catalyst. *J. Polym. Res.* **19**(2), 1–5 (2012). <https://doi.org/10.1007/s10965-011-9785-1>
33. Peng, X.; Yang, G.; Shi, Y.; Zhou, Y.; Zhang, M.; Li, S.: Box-Behnken design based statistical modeling for the extraction and physicochemical properties of pectin from sunflower heads and the comparison with commercial low-methoxyl pectin. *Sci. Rep.* **10**(1), 1–10 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60339-1>
34. Abd, G.; Mahmoud, E.; Ryhan, S.: Nitrogen, amino acids, and carbon as control factors of riboflavin production by *Novosphingobium panipatense*-SR3 (MT002778). *Curr. Microbiol.* **78**(4), 1577–1589 (2021). <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02376-1>
35. Arun, V.V.; Saharan, N.; Ramasubramanian, V.; Rani, A.M.B.; Salin, K.R.: Multi-response optimization of *Artemia* hatching process using split-split-plot design based response surface methodology. *Sci. Rep.* (2017). <https://doi.org/10.1038/srep40394>
36. Solomon, D.; Kiflie, Z.; Van Hulle, S.: Using Box-Behnken experimental design to optimize the degradation of Basic Blue 41 dye by Fenton reaction. *Int. J. Ind. Chem.* (2020). <https://doi.org/10.1007/s40090-020-00201-5>
37. Gülcin, I.: Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Arch. Toxicol.* **86**(3), 345–391 (2012). <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0774-2>
38. Dai, J.; Mumper, R.J.: Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules* **15**, 7313–7352 (2010). <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>
39. Draoua, Z.; Harrane, A.; Belbachir, M.: Amphiphilic biodegradable poly(ϵ -caprolactone)-poly (ethylene glycol)-poly(ϵ -caprolactone) triblock copolymer synthesis by maghnite-H+ as a green catalyst. *J. Macromol. Sci. A Pure Appl. Chem.* **52**(2), 130–137 (2015). <https://doi.org/10.1080/10601325.2015.980763>
40. Putaux, J.; Molina-boisseau, S.; Momaur, T.; Dufresne, A.: Platelet nanocrystals resulting from the disruption of waxy maize starch granules by acid hydrolysis. *Biomacromol* **4**, 1198–1202 (2003)
41. Lin, R.; Li, H.; Long, H.; Su, J.; Huang, W.: Synthesis of rosin acid starch catalyzed by lipase. *Biomed. Res. Int.* (2014). <https://doi.org/10.1155/2014/647068>
42. Almeida, M.; Erthal, R.; Padua, E.; Silveira, L.; Am, L.: response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta* **76**, 965–977 (2008). <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.05.019>
43. Krishnaiah, D.; Sarbatly, R.; Nithyanandam, R.: A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food Bioprod. Process.* **89**(3), 217–233 (2011). <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2010.04.008>
44. Nasir, N.M.; Abdulmalek, E.; Zainuddin, N.: Preparation and optimization of water-soluble cationic sago starch with a high degree of substitution using response surface methodology. *Polymers (Basel)* **12**(11), 1–13 (2020). <https://doi.org/10.3390/polym12112614>
45. Ahmad, A., et al.: Box-Behnken response surface design of polysaccharide extraction from rhododendron arboreum and the evaluation of its antioxidant potential. *Molecules* **25**(17), 3835 (2020). <https://doi.org/10.3390/molecules25173835>
46. Qin, Y.; Liu, C.; Jiang, S.; Xiong, L.; Sun, Q.: Characterization of starch nanoparticles prepared by nanoprecipitation: influence of amylose content and starch type. *Ind. Crop. Prod.* **87**, 182–190 (2016). <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.04.038>
47. Wang, S.; Li, C.; Copeland, L.; Niu, Q.; Wang, S.: Starch retrogradation: a comprehensive review. *Rev. Food Sci. Food Saf.* **14**, 568–585 (2015). <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12143>
48. Xin, J.; Wang, Y.; Liu, T.; Lin, K.; Chang, L.; Xia, C.: Biosynthesis of corn starch palmitate by lipase novozym. *Int. J. Mol. Sci.* **13**(6), 7226–7236 (2012). <https://doi.org/10.3390/ijms13067226>
49. Pozo, C.; Rodríguez-llamazares, S.; Bouza, R.; Barral, L.; Castaño, J.; Müller, N.: Study of the structural order of native starch granules using combined FTIR and XRD analysis study of the structural order of native starch granules using combined FTIR and XRD analysis. *J. Polym. Res.* **25**, 1–8 (2018). <https://doi.org/10.1007/s10965-018-1651-y>
50. Winarti, C.; Suroño, I.S.; Uswah, M.: Effect of acid and hydrolysis duration on the characteristics of arrowroot and taro starch nanoparticles. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* **309**(1), 012039 (2019). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/309/1/012039>
51. Miskeen, S.; Hong, J.S.; Choi, H.; Kim, J.: Fabrication of citric acid-modified starch nanoparticles to improve their thermal stability and hydrophobicity. *Carbohydr. Polym.* **253**, 117242 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117242>
52. Cheetham, N.W.H.; Tao, L.: Variation in crystalline type with amylose content in maize starch granules: an X-ray powder diffraction study. *Carbohydr. Polym.* **36**, 277–284 (1998)
53. Ahmed, I.; Jabeen, M.; Geelani, H.; Ahmad, F.; Saba, I.; Muzaffar, S.: Effect of gamma irradiation on physicochemical properties of Indian Horse Chestnut (*Aesculus indica* Colebr.) starch. *Food Hydrocoll.* **35**, 253–263 (2014). <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.06.002>
54. Zhang, K.; Zhao, D.; Huang, Q.; Huang, J.; Wen, Q.: Physicochemical, structural properties and in vitro digestibility of A- and B-type granules isolated from green wheat and mature wheat starch. *Starch-Stärke* (2021). <https://doi.org/10.1002/star.202100065>
55. Bertoft, E.: Understanding starch structure: recent progress. *Agronomy* **7**, 56 (2017). <https://doi.org/10.3390/agronomy7030056>
56. Spinozzi, F.; Ferrero, C.; Perez, S.: The architecture of starch blocklets follows phyllotaxic rules. *Sci. Rep.* **10**(1), 1–16 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72218-w>
57. Lamanna, M.; Morales, N.J.; Lis, N.; Goyanes, S.: Development and characterization of starch nanoparticles by gamma radiation: potential application as starch matrix filler. *Carbohydr. Polym.* **97**(1), 90–97 (2013). <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.04.081>
58. S. S. Nanoparticles. An investigation of antioxidant and cytotoxic properties of green. no. August 2017 (2015)
59. Huang, D.; Ou, B.; Prior, R.L.: The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.* **53**, 1841–1856 (2005)
60. Ahmad, M.; Gani, A.; Hassan, I.; Huang, Q.; Shabbir, H.: Production and characterization of starch nanoparticles by mild alkali hydrolysis and ultra-sonication process. *Sci. Rep.* **10**(1), 1–11 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60380-0>
61. Roche, F.H.: Natural antioxidants exploited commercially (1990)
62. Cuzzucoli, V., et al.: Intermolecular interaction and solid state characterization of abietic acid/chitosan solid dispersions possessing antimicrobial and antioxidant properties. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **125**, 114–123 (2018). <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2018.01.012>



63. Sridhar, K.; Charles, A.L.: Department of tropical agriculture and international cooperation, national pingtung. *Food Chem.* (2018). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.040>
64. Cuvelier, M.E.; Berset, C.: Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT Food Sci. Technol.* **30**, 25–30 (1995)



Nanoarchitectonics of Starch Nanoparticles Rosin Catalyzed by Algerian Natural Montmorillonite (Maghnite-H⁺) for Enhanced Antimicrobial Activity

Mohammed Amin Bezzekhami¹ · Mahmoud Belalia¹ · Djahira Hamed² · Mohamed Bououdina³ · Bendhiba Badredine Berfai⁴ · Amine Harrane^{1,5}

Received: 31 July 2022 / Accepted: 3 September 2022

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2022

Abstract

In this work, potato starch was hydrolyzed by acid (HCl) to form nanoparticles (SNPs) that were esterified with acid Rosin using a green heterogeneous catalyst based on Algerian montmorillonite clay known as “Maghnite”. It has a similar activity to the classical Brønsted (H₂SO₄) and Lewis (Al₂O₃) acids, which implies that it can replace homogeneous acid catalysts. Particular emphasis was devoted to investigate the influence of temperature, reaction time, and amount of catalyst on the degree of substitution (DS) on the reaction conditions to achieve a high DS. Fourier Transform Infrared analysis confirms the esterification of SNPs by the appearance of new bands at 1724 cm⁻¹ assigned to ester group. X-ray diffraction and scanning electron microscopy indicate that the esterification reaction reduces the crystallinity while the morphology changes from SNPs nanoparticles to a completely destroyed form. Besides, the thermal stability of esterified SNPs has been slightly reduced compared to unmodified starch. The volumetric assay was used to evaluate the DS of the products and the effects of the rosin/glucose anhydrous acid unit in the molar ratio. It is found that DS increases with increasing the molar ratio and reaches its maximum value of 0.135 at a molar ratio of 4:1. Furthermore, antimicrobial activity study of SNPs esterified with rosin acid (DS between 0 and 0.141), revealed that the esterified SNPs were effective against all the tested bacterial strains. Moreover, the DS is directly proportional to the zone of inhibition. This research showcases the importance of the newly designed SNPs-Rosin formulation in the biomedical and food industries.

Keywords Rosin acid · Starch · Degree of substitution · Brønsted and Lewis acid catalyst · Antimicrobial activity

✉ Mohammed Amin Bezzekhami
mohammed.bezzekhami.etu@univ-mosta.dz

¹ Laboratoire Structure, Elaboration et Application des Matériaux Moléculaires (S.E.A.2M.), Department of Chemistry, Faculté de Sciences Exactes et de l'Informatique, University Abdelhamid Ibn Badis, 27000 Mostaganem, Algeria

² Laboratory of Beneficial Microorganisms, Functional Food and Health (LMBAFS), Faculty of Natural and Life Sciences, Abdelhamid Ibn Badis University, Mostaganem, Algeria

³ Department of Mathematics and Science, Faculty of Humanities and Sciences, Prince Sultan University, Riyadh, Saudi Arabia

⁴ I2E3—Institut d'Innovations en Écomatériaux, Écoproduits et Écoénergies à base de biomasse, Université du Québec à Trois-Rivières 3351, boul. des Forges, Trois-Rivières (Québec) G8Z 4M, Canada

⁵ Laboratoire de Chimie des Polymères, Department of Chemistry, Faculté de Sciences Exactes et Appliquées, University of Oran, 1 Ahmed Benbella, 31000 Oran, Algeria

1 Introduction

Starch is a bonded polysaccharide molecule called glucan that is synthesized and kept as a carbohydrate reserve by higher plants [1–3]. It is the second most prevalent organic component in nature after cellulose. Because of its simple availability as a feedstock and possible renewable nature when used as a biomaterial, as well as projections of future fossil-based product shortages [4, 5], starch applications have attracted great attention in recent years. Due to its biodegradability, cheap cost and widely accessible –OH groups that can be functionalized, starch, as a renewable biopolymer, is gaining popularity as an effective alternative raw material [6–8]. It consists mainly of two parts accounting for 99% of starch by weight, namely linear parts of amylose that are linked together by D(1,4)-glycosidic bonds and amylopectin as branched part. The latter is constituted by short linear chains of (1,4)-D-glucose

molecules linked together by (1,6)-D-glycosidic bonds [9–12].

Nanoparticles are colloidal or solid particles with sizes ranging from 1 to 1000 nm [13]. Nowadays, due to their small dimension, biodegradability, and high biocompatibility [14], starch nanoparticles (SNPs) offer a wide range of applications, such as many types of organic and inorganic acids, have been widely used to modify starch [15–17]. In this study, the HCl acid hydrolysis procedure has been adopted to prepare potato starch nanoparticles (SNPs) then subsequently esterified with rosin as a natural organic acid. Through a hydrolytic response, HCl alters the morphology of starch. It first changed to amorphous form by focusing along branched amylopectin molecules. However, it can also affect the α - (1,4) bonds that make up amylopectin and amylose molecules and break-down these compounds down into several smaller entities [18]. On the other hand, rosin is a natural organic acid composed of monocarboxylic acid and unsaturated double bonds (carbon–carbon) of rosin which is responsible for its chemical reactivity [19]. The latter mainly consists of abietic acid and few other isomeric acids [20, 21]. Rosin could be a renewable natural element provided by the gum of certain conifers, such as pines. It is a transparent (yellowish brown) non-volatile solid and essential in daily life [22]. Rosin esters, which are among the most frequent rosin derivatives, can be made by esterifying the carboxylic acid group of rosin with a variety of alcohols such as methanol, glycerol, pentaerythritol, and ethylene glycol, etc. [23–25]. This acid, as a starch-modifying agent, acts by carrying out an esterification process between the sensitive hydroxyls of the glycoses that make up the amylose and amylopectin molecules with the carboxylic acids present in the rosin structure. Indeed, rosin acts in the outer parts (surface) of starch nanoparticles (SNPs), mainly in the amorphous parts where it has a higher mobility. The performance of rosin in the modification process of the reaction depends on operating parameters such as process temperature, reaction time, the used catalyst, and the molar ratio (glucose/rosin) on the degree of substitution (DS).

In our research, we have been interested in the synthesis of SNPs esterified with rosin acid by the cationic solid catalyst, that is called “Maghnite-H⁺”. Maghnite-H⁺ is an environmentally friendly catalyst under the presence of solvent or bulk conditions in order to adhere to the green chemistry principles. Maghnite is a montmorillonite aluminosilicate clay with the fundamental repeating unit (Si₄O₁₀Al³⁺_(2-x)Mg²⁺_x(OH)₂) [26, 27]. This naturally occurring inorganic substance can be regarded as a long-term and low-cost source of protons. Montmorillonites are clays that include both Bronsted and Lewis acid sites, and their alteration under acidic conditions allows them to provide extremely active catalysts for acid-catalyzed reactions as well as solid

substrates for various inorganic and organic reagents [28, 29].

Current research has renewed interest in the encapsulation and packaging of antimicrobial polymers, particularly in the fields of healthcare, medicine, and food [30]. Antimicrobial biopolymer is one of the most attractive advanced active materials for protecting surfaces against microorganisms such as bacteria, germs, fungi, and parasites [31–33]. In recent years, there has been a lot of interest in the creation of antimicrobial materials based on starch, as well as their potential utilization in other fields. For the alteration of the surface of starch with antimicrobial properties, a variety of approaches have been proposed [34–36]. Zhao et al. reported on the modification of starch using polycaprolactone (PCL) for antimicrobial activity by fused deposition modeling process [37]. Another study reported on enhanced antimicrobial activity of bioactive silver nanoparticle (AgNPs) encapsulated with starch. However; although AgNPs have antibacterial potential, their usage is limited due to low stability or excessive toxicity [38]. As a result, it is critical to improve the antimicrobial properties of AgNPs by incorporating a biopolymer. In our work, we propose an ecofriendly facile method to produce SNPs modified with natural antimicrobial rosin.

This study aims to prepare a new bio-nanomaterial based on potato starch esterified by natural rosin using a natural catalyst “Maghnite-H⁺”. In particular, the effect of rosin on starch nanoparticles (SNPs) morphology, crystallization behavior, thermal properties, and most importantly, the enhancement of antimicrobial activity have been studied in detail. To the best knowledge of the authors, this the first study reporting on natural rosin reacting with starch nanoparticles using Maghnite-H⁺ as a green catalyst (Fig. 1). The obtained results indicate that the DS has a direct influence on the zone of inhibition which is responsible for antimicrobial activity.

2 Materials and Methods

The Gum Rosin acid was purchased at the local producers Costae Irmos, Leiria, Portugal and was used in the esterification reaction with potato starch. The latter was obtained from Youville Montreal, Quebec Canada. Dimethylsulfoxide (DMSO), methanol, ethanol, sulfuric acid, and hydrochloric acid were purchased from sigma Aldrich. The raw Maghnite clay (Algerian Montmorillonite) was obtained from “BENTAL” (Algerian Bentonite Company). It comes from a quarry in the region of Maghnia (in the northwest of Algeria). Gylose, Mueller–hinton, *Candida albicans* ATCC 10231, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Staphylococcus aureus* ATCC 33862, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 were obtained

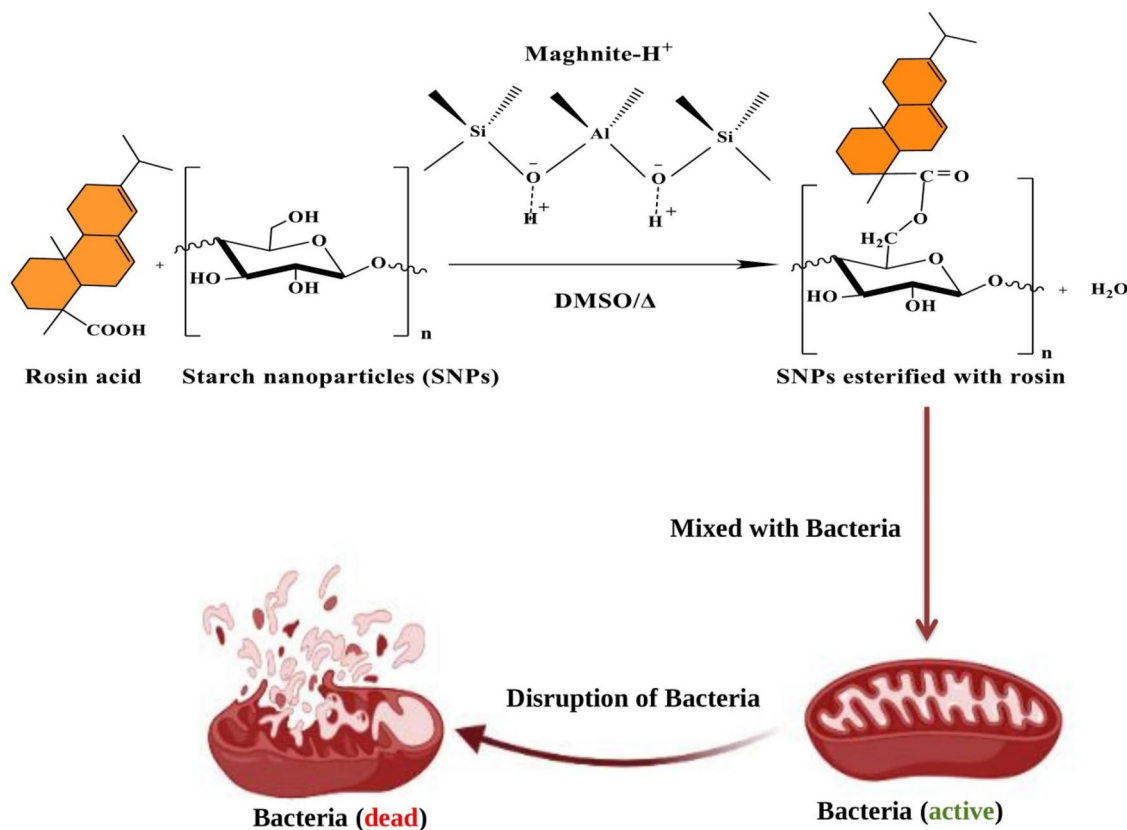


Fig. 1 The synthesis of starch nanoparticles (SNPs) esterified with rosin acid and its antibacterial mechanism

from the Institute of Microbial Technology (IMTECH), Chandigarh, India.

2.1 Preparation of Maghnite-H⁺

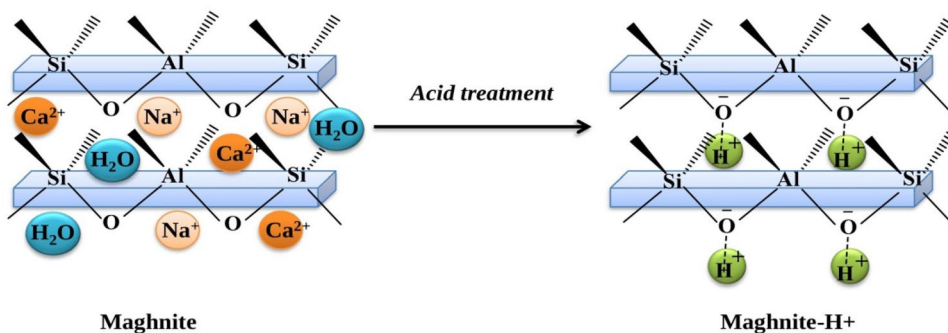
The Maghnite-H⁺ was prepared according to the process described elsewhere [39]. The raw Maghnite (Algerian Montmorillonite clay) is activated using a sulfuric acid solution to produce Maghnite-H⁺, which is a Maghnite that has been swapped with protons (Fig. 2). 40 g of the raw Maghnite was ground and dispensed into distilled water in an Erenmeyer flask (500 mL) for 2 h at room temperature

under continuous magnetic stirring. Then 0.25 M sulfuric acid solution was added dropwise to the mixture until saturation, and the stirring continued for 48 h at room temperature. The mineral was, therefore, rinsed several times with distilled water until the pH reached 7 and it became sulfates free, then it was finally dried in an oven at 105 °C for overnight.

2.2 Preparation of SNPs by Acid Hydrolysis

The acid hydrolysis process is used to synthesize starch nanoparticles, through the protocol reported in the literature [40,

Fig. 2 Procedure for the preparation of Maghnite-H⁺



41]. 50 g of potato starch was suspended in 400 mL of 2.2 N HCl in a water bath for 72 h at 40 °C. After hydrolysis, the starch suspension was centrifuged and rinsed several times with distilled water. The pH of SNPs was adjusted with NaOH solution until it reached 7.0. It was then washed with cold ethanol and distilled water, and dried for 48 h at 60 °C.

2.3 Esterification SNPs with Rosin Acid

SNPs were dissolved in DMSO (5 mL) and then Rosin acid was added at different molar ratios ranging from 1 to 5 (relative to AUG). Various amounts of Maghnite-H⁺ ranging from 5 to 25% (m/m, compared to SNPs). The reaction was performed at various temperatures (40–100 °C) for variable periods of time (6–24 h). After removing Maghnite-H⁺ by filtering, the product was precipitated by progressively adding 25 mL methanol, then thoroughly washed three times with 15 mL of methanol and dried at 60 °C for 24 h.

2.4 Determination of the DS

The average molar ratio of bound Rosin acyl groups per anhydrous glucose unit (AGU) was calculated using the titration method [42]. 3 mL DMSO was used to dissolve 0.5 g of the sample. After that, 20 mL of 0.5 M NaOH was added, and the mixture was agitated for 4 h at 50 °C. Excess NaOH was dosed back with a 0.5 M HCl solution using phenolphthalein as an indicator.

The following formula was used to calculate the DS value of esterified-SNPs:

$$DS = \frac{162 \times C(V_0 - V)}{m - 285 \times C(V_0 - V)} \quad (1)$$

where 285 represents the molecular weight of Rosin acyl, 162 is the molecular weight of per anhydrous glucose unit, m is the amount of sample, V₀ and V are the titration volumes of HCl consumed in SNPs and esterified-SNPs respectively, and C is the molar concentration of HCl.

2.5 Study of the Antimicrobial Activity of SNPs—Rosin

2.5.1 Aromatogram Technique (Vincent's method)

The realization of this process is based on the concept of the antibiogram [43]. Sterile discs of Wattman paper (6 mm in diameter) containing 2 µL of each solution with a concentration of 100 mg in 1 mL of DMSO of each sample to be tested, are deposited using sterile forceps on the surface of an agar medium suitable for each strain previously inoculated with 100 µL of microbial suspension whose turbidity has been regulated to 10⁸ CFU mL⁻¹ for bacteria and

10⁶ CFU mL⁻¹ for yeasts [44]. DMSO has been used as a control. The Petri dishes were then closed and left 1 h for diffusion at room temperature before incubating at 37 °C for 24 h. The antimicrobial activity of each sample is measured by calculating the diameter of the inhibition zone formed around each disc.

2.6 Characterization

A differential thermal analysis coupled with thermogravimetry (TGA) SDT650 equipment was used to perform thermal analysis from 17 to 600 °C at a heating rate of 10 °C min⁻¹ under nitrogen atmosphere. A Shimadzu 1240 FT-IR spectrometer was used to record FTIR spectra in the range 4000–500 cm⁻¹. The powdered samples were dispersed in KBr and ground into thin disc pellets. To ascertain the crystalline structure and degree of crystallinity of the samples, X-Ray diffraction (XRD) experiment was carried out using a Bruker D8 diffractometer equipped with CuKα radiation and operating at 40 kV and 30 mA. The XRD patterns were recorded in the 2θ range 2°–30° and 10°–60° with a scanning rate 5° min⁻¹. FEI QUANTA 200 Scanning*Electron*Microscope*(SEM) operating at 15 kV was used to particles' morphology and size. The powdered samples were dispersed onto a conductive Silver (Ag) paint then subsequently coated with a thin layer of gold (Au).

3 Results and Discussion

3.1 Influence of Reaction Parameters on DS of SNPs-Rosin Esterified

For the molar ratio 1:1 (Fig. 3a), the DS value was exceedingly low, indicating that the esterification process took place very slowly. DS first increases with increasing the molar ratio and reaches its maximum value of 0.135 at a molar ratio of 4:1. The duration corresponding to molecules' collision between starch and rosin acid is also relatively low per unit time when the n-Rosin/n-SNPs ratio is smaller. The likelihood of an actual collision, on the other hand, is quite high. As the n-Rosin/n-SNPs ratio increases, the increase in DS can be due to a greater interaction between starch molecules and rosin acid.

With a reaction time of 24 h (Fig. 3b), the DS of the esterified SNPs reaches a maximum value of 0.140. Clearly, this is the exact duration for the esterification to be completed. It is worth noting that a certain amount of time is needed to achieve an adequate interaction between reagents, which leads to a much better homogeneity of the reagents. It is believed that enough time is necessary for the maximum collisions to occur, which may last up to 24 h. Because the reaction period is prolonged, the

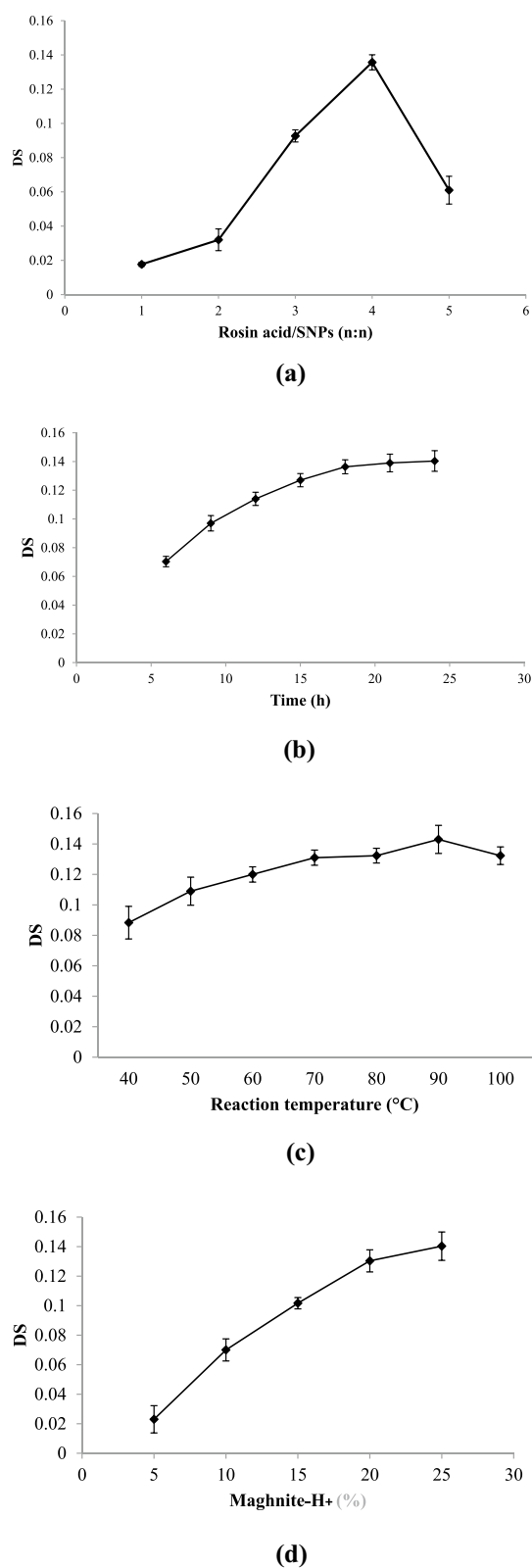


Fig. 3 The effect of substrate ratio (a), reaction time (b), temperature (c), and the percentage of Maghnite-H⁺ (m/m relative to SNPs) on the synthesis of SNPs-Rosin (d). All responses were performed three times and the average results were plotted

esterifying agent will sufficiently reach the inside of the starch during this period of time [45].

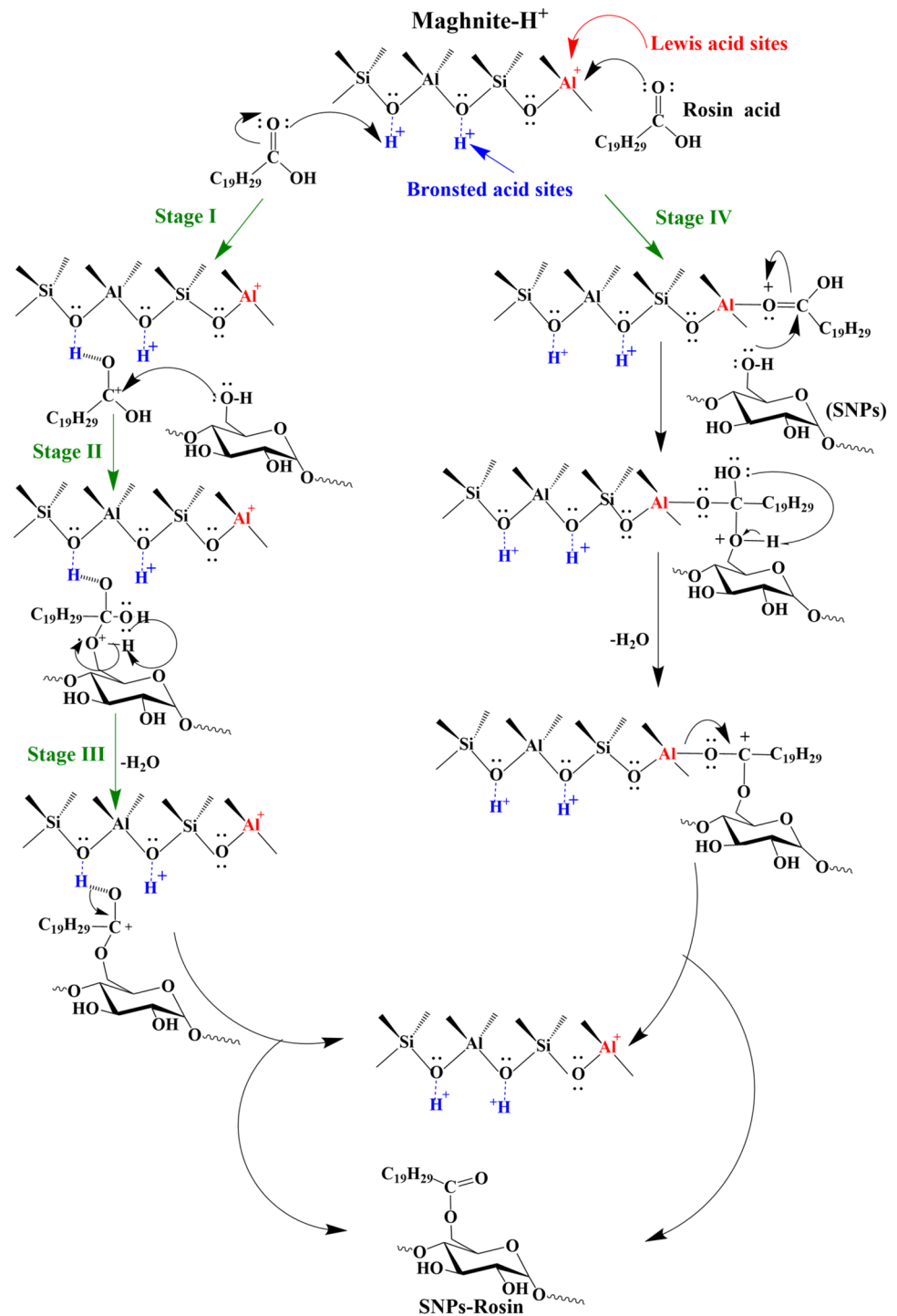
The reaction temperature has a substantial influence on the DS (Fig. 3c). The rise of the reaction temperature from 40 to 90 °C resulted in an increase in the DS value up to 0.143. In addition, the increase in the response temperature (over 90 °C) manifests a lower DS value. This is due to the fact that a higher temperature provides enough activation energy E_a for the reaction system to surpass the corresponding energy barrier [46]. When the reaction mixture produces water, the efficiency of the Maghnite-H⁺ decreases, because it absorbs the water and thus preventing the attack of the H⁺ cations during the reaction. There are mainly three explanations that the degree of reactivity is enhanced under these operating conditions: firstly, having enough energy ensured a fast. Secondly, because at relatively high temperature, the starch becomes partly gelatinized. Consequently, the starch particles crystal structure will be destroyed, and the rosin acid molecules are more likely to penetrate the particles for esterification. Thirdly, the reaction system is devoid of water, and that prevent side reactions of hydrolysis while promoting the process of positive esterification [46].

Furthermore, the value of DS is found to increase with the amount of Maghnite-H⁺ (Fig. 3d), i.e., varies between 5 and 25%. This is explained by an increase in the active acid centers which initiate the esterification process; more active centers favor more DS. This occurrence, however, is most likely the result of an overabundance of “active Brønsted and Lewis acid sites” on the surface of the catalyst layers, and that can induce significant increase of the DS.

3.2 The Mechanism of Reaction

As illustrated in Fig. 4, the Maghnite-H⁺ catalyst has both Brønsted (H⁺) and Lewis acid site (Al⁺). As a result, the reaction may involve two acidic sites. The catalytic process is faster at the Brønsted rate, besides the catalyst exhibits a stronger Brønsted acidity. The reaction is considered to be primarily a Brønsted acid-catalyzed reaction, in which (H⁺) is transferred from Brønsted acid sites of Maghnite-H⁺ to the carbonyl oxygen (the protonation of the carbonyl group) (Stage I), that is nucleophilically attacked by the oxygen of SNPs (Stage II). The ester (SNPs-Rosin) is formed after deprotonation and loss of H₂O (Stage III). Furthermore, the Lewis acid sites of the Maghnite-H⁺ catalyst may also contribute to the formation of SNPs-Rosin. The first step in the Lewis acid-catalyzed esterification process is the direct linking of rosin acid with the Lewis (Al⁺) sites (Stage IV). In the second and the third part, the reaction follows the same mechanism as the reaction that is catalyzed by Brønsted acid.

Fig. 4 Reaction mechanism of Starch nanoparticles rosin catalyzed by Maghnite- H^+



3.3 FTIR Analysis

FTIR spectroscopy has been carried out to confirm the change in the chemical structures of SNPs before and after esterification reaction, see Fig. 5. The bands located at 1154, 1078, and 1026 cm^{-1} are assigned to the C–O stretch vibrations of AUG [47], whereas the absorption bands at 928,

856, and 578 cm^{-1} correspond to the stretch vibrations of the whole glucose cycle [48]. The single band at 2930 cm^{-1} is ascribed to CH stretching and vibrations while the single band 1640 cm^{-1} is attributed to water strongly linked to starch [46]. Furthermore, the band at 1694 cm^{-1} corresponds to C=O stretching vibration of rosin acid [49, 50]. The spectra of the esterified SNPs and SNPs are relatively

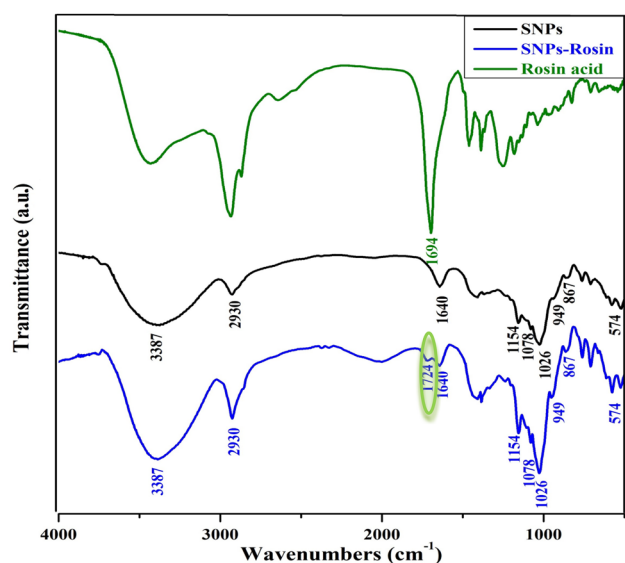


Fig. 5 IR spectra of SNPs, Rosin acid, and SNPs-Rosin

comparable. However, after esterification, the broad band at 3414 cm^{-1} in the spectrum of SNPs, corresponding to the stretching vibration of the OH group, decreases in intensity, indicating that parts of the OH group of starch reacted [51]. The emergence of a new band at 1724 cm^{-1} assigned to the carbonyl group is the most significant change in the rosin starch spectrum compared to that of the native starch [52–55]. The distinct ester group of rosin acid in the structure of esterified starch is related to this single absorption peak located at 1724 cm^{-1} .

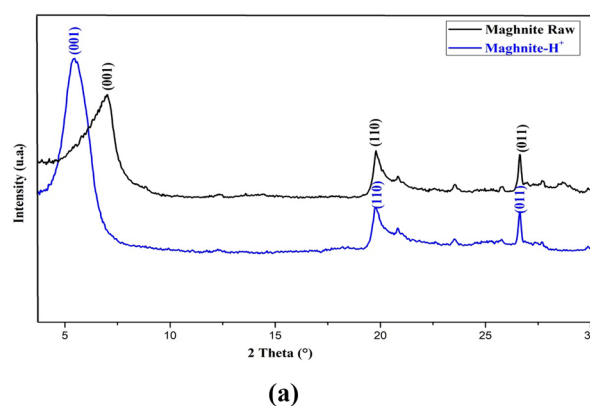
3.4 XRD analysis

From the XRD patterns displayed in Fig. 6a, it can be observed that raw and acid-treated Maghnite clay reveal three strongest peaks located at $2\theta = 7.02^\circ$, 19.79° , and 26.63° of the clay correspond to the reflections (001) and (110), belonging to the hexagonal crystal structure of montmorillonite phase, and (011) corresponding to quartz phase in agreement with JCPDS card No. 00-046-1045 [56]. The corresponding structural parameters are given in Table 1. After subtracting the sheets thickness, this distance can be used to deduce the sheet-to-sheet distance.

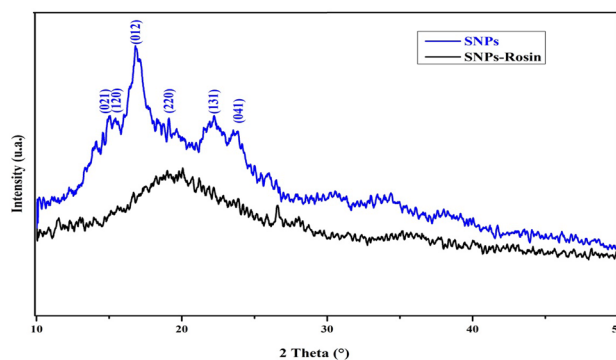
The XRD of the acid-treated Maghnite clay exhibits similar peaks as raw Maghnite, but both the peaks' position and broadening are influenced by the applied treatment. There is a clear shift of peaks' position towards lower 2θ angles, indicating an expansion of the unit cell lattice, thus confirmation the intercalation of (H^+) within the layers of the parent phase of Montmorillonite clay. From quantification point of view, the

interlayers distance has calculated and reported in Table. It can be noted that the interlayer distance $d_{(001)}$ increases significantly by almost 29%, i.e., from 12.5 to 16.1 Å for raw and treated Maghnite respectively. This can be interpreted by the assault of acidic protons with a relatively larger diameter to replace inter-lamellar cations in Maghnite.

The crystallite size (D) has been calculated using the well-known Scherrer equation [57] for each reflection and the corresponding values are given in Table 1:



(a)



(b)

Fig. 6 XRD patterns of a raw Maghnite and Maghnite treated with acid (H_2SO_4); b SNPs and SNPs-Rosin

Table 1 Structural and microstructural parameters of Maghnite and Maghnite- H^+

Sample	2θ ($^\circ$)	(hkl)	d_{001} (Å)	D (nm)
Maghnite	7.02	(001)	12.59	4.31
	19.76	(110)	4.49	13.91
	26.62	(011)	3.34	4.26
			$\bar{D} = 7.49$	
Maghnite- H^+	5.46	(001)	16.18	5.10
	19.76	(110)	4.49	10.57
	26.62	(011)	3.34	4.25
			$\bar{D} = 6.64$	

$$D = \frac{0.9\lambda}{\beta \cos\theta}$$

where λ is the X-ray wavelength (1.5418 Å), β the full width at half maximum of the diffraction peak, θ the diffraction angle of the peak, and 0.9 represents a constant depending on particles' shape. From the obtained mean value, it can be highlighted that after acid treatment, the mean crystallite size (D) of Maghnite decreases by 11.35%. This can be attributed to the chemical composition of the Maghnite layers which varies upon acid activation. Further, the size of quartz crystals remained stable, which shows that quartz is more resistant to acid treatment.

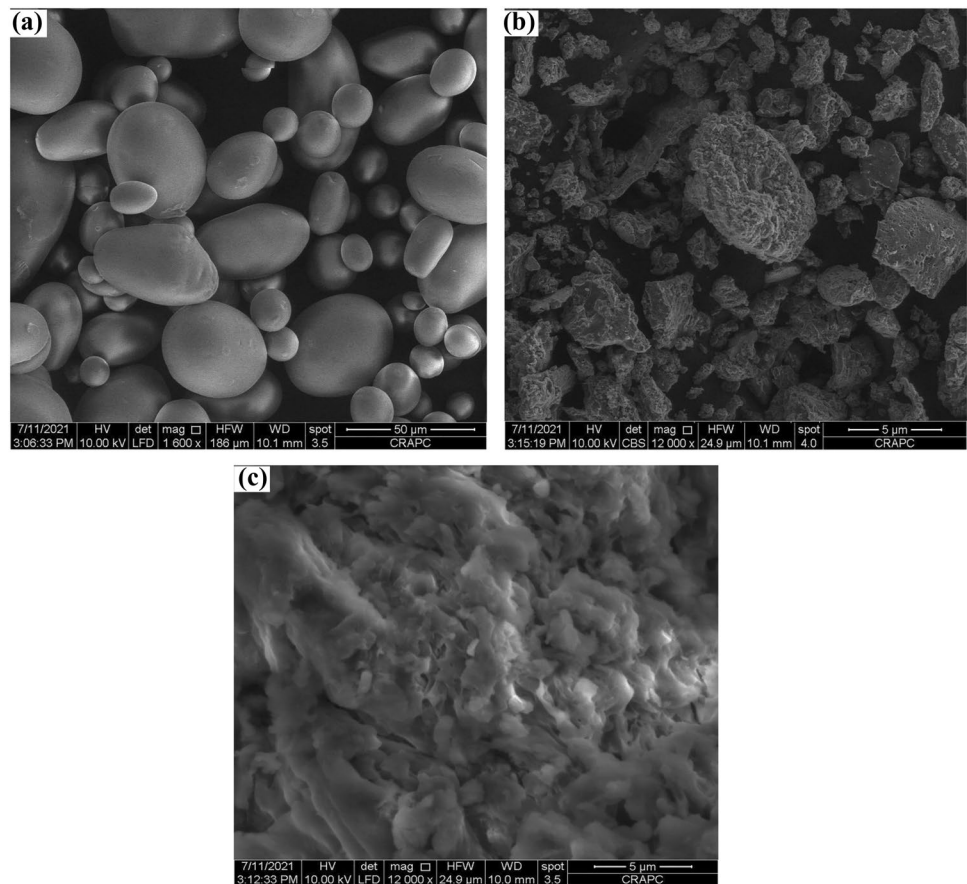
The difference in crystallinity between unmodified and modified SNPs is illustrated Fig. 6b. The XRD pattern of SNPs displays a halo with few diffraction peaks, an indication on the presence of amorphous and crystalline phases and this manifests the semi-crystalline nature of SNPs. The diffraction peaks located at 15.10°, 15.42°, 17.08°, 19.14°, 22.22°, and 23.88° are indexed as (021), (120), (012), (220), (131) and (041) of a typical type B structural model [58, 59]. The modified SNPs XRD pattern do not reveal any diffraction peaks, instead a large appears in the 2 θ range 15°–30°,

thus confirmation the existence of an amorphous phase and that esterification reaction has not result in the development of additional crystalline areas in the ester [42]. The presence of amorphous phase implies that following rosin acid alteration, the bonds have been destroyed. This is because rosin acid will cause the displacement of some of the hydroxyl clusters in SNPs during esterification. Consequently, there is a decrease in intermolecular hydrogen bonds, leading to the total deterioration of crystallinity relative to the structure of SNPs [60].

3.5 SEM Observations

The Fig. 7 presents SEM images of native potato starch, SNPs, and esterified SNPs. The particles of native starch have a spherical shape with smooth surface, and their size varies from 10 to 50 μm (Fig. 7a). The Fig. 7b indicates that the starch particle size is smaller than that of native starch due to the acid hydrolysis (after homogenization), which produces nanoparticles with sizes ranging from 200 to 500 nm following the decomposition of the starch. The intermolecular amylose and amylopectin

Fig. 7 SEM images of **a** native potato starch; **b** SNPs; and **c** SNPs-Rosin



bonds break during starch decomposition, so that the size and shape of the starch particles do not return to their original form. According to the SEM study of starch morphology, the starch particles after hydrolysis process are not totally separated and combined to form clumps because SNPs have a lot of hydrogen bonds on their surface, hence they prefer to merge altogether. The structure of SNPs has been completely damaged and distorted as a result of esterification with rosin, and now once can observe a new material with an amorphous structure (Fig. 7c).

3.6 Thermal Stability Analysis

Thermogravimetric analysis has been used to investigate the thermal characteristics of SNPs and rosin acid

esterified SNPs, as shown in Fig. 8. Under 600 °C, SNPs lost weight occurs in two steps (Fig. 8a). The first stage at ~100 °C with a main mass loss of 9.66% corresponds to the evaporation of water [61], whereas the second stage at ~283.50 °C with a mass loss 55.35% is attributed to the degradation of SNPs, which starts around 223.15 °C and revealing a maximum peak on the DTG curve. When comparing the DTG curves of the esterified and unesterified SNPs, it can be noted that the thermal stability of SNPs deteriorates considerably after its esterification (Fig. 8b). The measured maximum degradation temperature of the esterified SNPs is approximately 277.52 °C with a percentage mass loss of 58.51%. The esterification process has changed the semicrystalline structure of SNPs to an amorphous structure, as confirmed by SEM and XRD analyses, which resulted in a decrease in the stability temperature of the esterified SNPs. The primary components of rosin acid, such as abietic, pimaric, and levopimaric acids reach a peak of breakdown in the temperature range 277–297 °C [42], which is lower than SNPs. The decomposition of esterified SNPs occurring in the temperature range 230–305 °C is in fact the result of the decomposition of SNPs skeleton combined with the decomposition of the acid group of rosin crosslinked onto SNPs chain.

3.7 Antimicrobial Properties

Figure 9 illustrates the antibacterial activity of SNPs before and after esterification with rosin. The zones of inhibition in growth medium plates have been assessed; a distinct zone formed around the well confirming the antibacterial activity of the esterified SNPs. The growth plate of each microbial strain included wells with varying DS of SNPs esterified with rosin, i.e., 0, 0.034, 0.064, 0.094, 0.117, 0.123 and 0.141, as shown Fig. 9b. Statistical analysis demonstrates that when DS increased, the diameter of the zone of inhibition also increased (Fig. 8a) and that the unmodified SNPs (DS0) lack a zone of inhibition, and therefore, antibacterial activity. All strains manifest an inhibitory efficacy as illustrated in Fig. 9a, i.e., *Candida albicans* with a diameter of 8.67 (± 0.577)–14.00 (± 2.272) mm; *Bacillus cereus* with a diameter of 9.33 (± 3.055)–14.67 (± 0.577) mm; *Staphylococcus aureus* with a diameter of 9.33 (± 1.155)–15.00 (± 1.732) mm; *Pseudomonas aeruginosa* with a diameter of 11.33 (± 0.577)–18.66 (± 1.247) mm, and *Klebsiella pneumonia* with a diameter of 9.33 (± 0.577)–17.00 (± 2.000) mm.

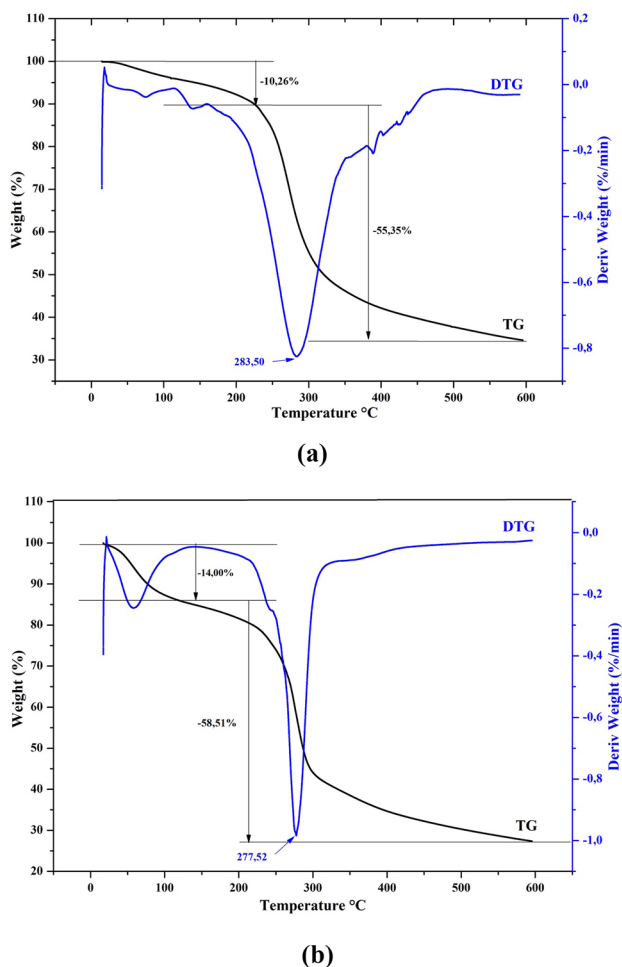
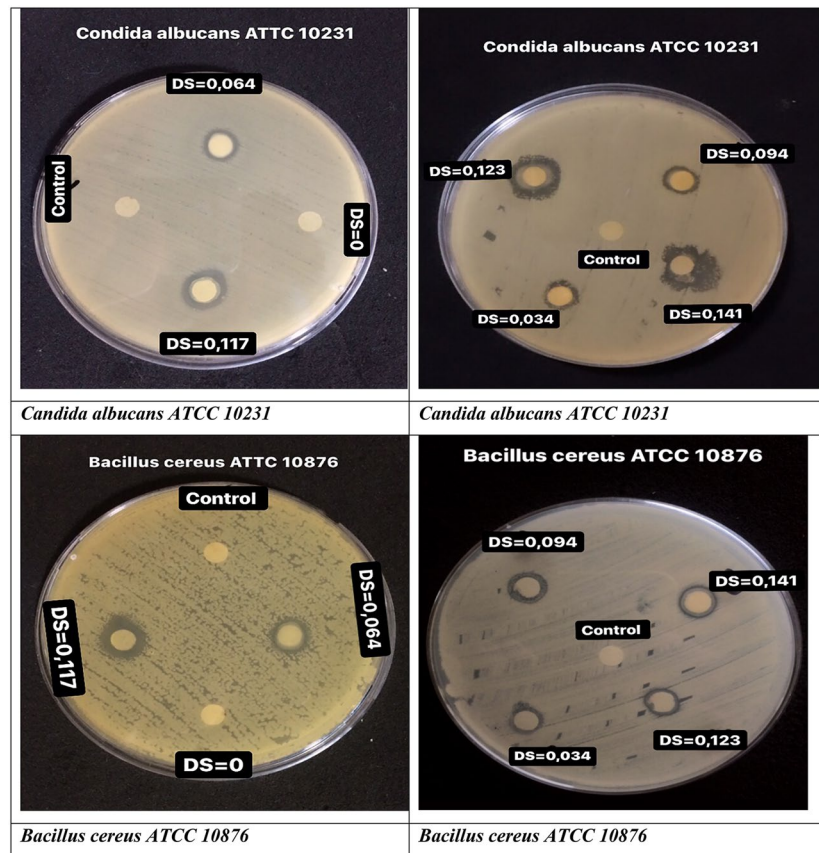


Fig. 8 DTG and TG curves of **a** SNPs and **b** modified SNPs

Fig. 9 Antibacterial activity of SNPs-Rosin on various bacterial strains with various degrees of substitution. **a** Antibacterial SNPs-Rosin activity against *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*. **b** The data are reported in standard deviations (\pm SE). Significant variations between zones of inhibition to distinct DS



It was discovered that rosin acid exhibits a high character of hydrophobicity and a unique structure that confers excellent antibacterial activity against bacteria [62]. The SNPs-Rosin is hydrophobic, thus it is expected to increase the penetration of SNPs-Rosin into the lipid and mitochondria of bacterial cell membranes, causing ion leakage into the cytoplasm and as a result, the bacteria's death [63].

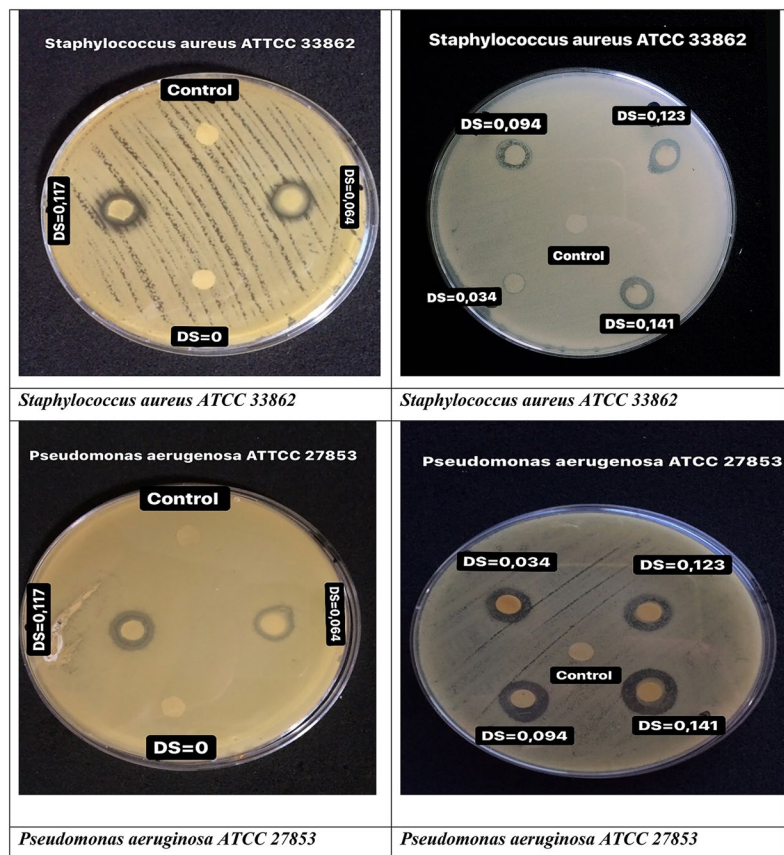
According to the literature, the antibacterial activity of cellulose nanofiber/polyvinyl alcohol–silver (CNF/PVA–Ag) composite against Gram-positive bacteria (*Bacillus subtilis*) and Gram-negative bacteria (*Escherichia coli*) was tested by the disc diffusion method. The results show that the CNF/PVA–Ag composite is effective against the tested bacteria

[64]. On the other hand, it is evident that the addition of essential oils to starch-based films is very effective against various bacteria, and that a higher essential oil content results in better inhibition [36]. Thus, the particle size and antibacterial activity of tripolyphosphate (TPP) crosslinked chitosan nanoparticles were found to be proportional to the degree of crosslinking [65].

4 Conclusion

In this study, starch-based antibacterial nanoparticles have been successfully synthesized by a sustainable and environmentally friendly method. The esterification of starch

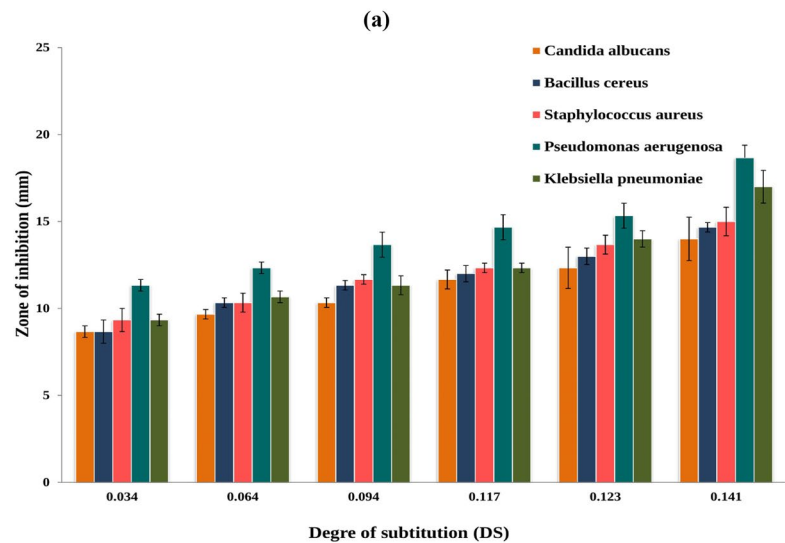
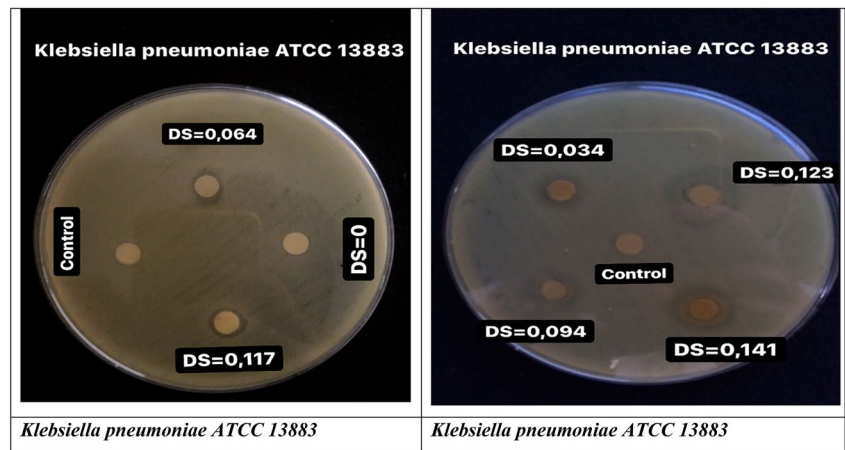
Fig. 9 (continued)



nanoparticles by natural chemicals compounds (Rosin acid) has been achieved and subsequently catalyzed by Maghnite- H^+ under optimum experimental conditions, i.e., Rosin acid/glucose anhydrous unit molar ratio of 4:1; reaction time 24 h; temperature 90 °C; and 25% Maghnite- H^+ (m/m, compared to starch nanoparticles). The high DS is determined to be 0.143. The modified starch nanoparticles demonstrate significant antibacterial activity against Gram-negative and Gram-positive of several bacterial

strains. This research paves the way for more reasonable starch nanoparticles esterified with rosin acid utilization in the realm of functional surfaces for drug delivery, thus offering potential applications in biomedical and pharmaceuticals fields such as artificial skin and for bioactive compound encapsulation, as well as a fungicide for wood protection and reinforcements in biodegradable packaging materials that fight microorganisms.

Fig. 9 (continued)



Acknowledgements The authors are grateful for the substantial financial support provided by the General—Direction of Scientific Research and Technology Development (DGRSDT, MESRS, Algeria).

Author Contributions A did the lab practice and wrote the manuscript. BEF performed and interpreted the physicochemical analyzes. C did an antibacterial activity in the lab. D corrected English and interpreted the DRX.

Declarations

Conflict of interest The authors have not disclosed any competing interests.

References

1. F. Zhu, Encapsulation and delivery of food ingredients using starch based systems. Food Chem. (2017). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.101>
2. R.C. Eerlingen, J.A. Delcour, Formation, analysis, structure and properties of type III enzyme resistant starch. J. Cereal Sci. **22**, 129–138 (1995)
3. Y. Zhu, C. Romain, C.K. Williams, Sustainable polymers from renewable resources. Nature (2016). <https://doi.org/10.1038/nature21001>
4. A.O. Ashogbon, E. Akintayo, A. Ekiti, Recent trend in the physical and chemical modification of starches from different botanical sources: a review. Starch (2014). <https://doi.org/10.1002/star.201300106>
5. L. Yu, K. Dean, L. Li, Polymer blends and composites from renewable resources. Prog. Polym. Sci. **31**, 576–602 (2006). <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.03.002>
6. A. Bule, Starch granules: structure and biosynthesis. Int. J. Biol. Macromol. **23**, 85–112 (1998)
7. A.O. Ashogbon, E.T. Akintayo, Recent trend in the physical and chemical modification of starches from different botanical sources: a review. Starch **66**, 41–57 (2014). <https://doi.org/10.1002/star.201300106>
8. A.N.E.H. Sid, B. Kouini, A. Hazourli, R. Djafar, N. Gherraf, M. Bououdina, The synergistic effect of algerian Na-bentonite/potato starch/grass powder on the enhancement of aged water-based

- drilling fluids. Arab. J. Sci. Eng. (2022). <https://doi.org/10.1007/s13369-021-06519-1>
9. N. Masina et al., A review of the chemical modification techniques of starch. Carbohydr. Polym. (2016). <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.09.094>
 10. D.L. Topping, P.M. Clifton, Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. Physiol. Rev. **81**(3), 1031–1064 (2018)
 11. R. Hoover, Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. Carbohydr. Polym. (2001). [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(00\)00260-5](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(00)00260-5)
 12. S. Pe, The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: a comprehensive review. Starch **62**, 389–420 (2010). <https://doi.org/10.1002/star.201000013>
 13. A. Rodrigues, M. Emeje, Recent applications of starch derivatives in nanodrug delivery. Carbohydr. Polym. **87**(2), 987–994 (2012). <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.09.044>
 14. B. Bhushan, *Introduction to nanotechnology* (Springer Handbooks, Berlin, 2017), pp.1–19
 15. Y. Fan, F. Picchioni, Modification of starch: a review on the application of ‘green’ solvents and controlled functionalization. Carbohydr. Polym. **241**, 116350 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116350>
 16. Q. Chen et al., Recent progress in chemical modification of starch and its applications. RSC Adv. **5**(83), 67459–67474 (2015). <https://doi.org/10.1039/c5ra10849g>
 17. A.S. Babu, R. Parimalavalli, K. Jagannadham, J.S. Rao, Chemical and structural properties of sweet potato starch treated with organic and inorganic acid. J. Food Sci. Technol. **52**(9), 5745–5753 (2015). <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1650-x>
 18. S. Maiti, S.S. Ray, A.K. Kundu, Rosin: a renewable resource for polymers and polymer chemicals. Progress Polym Sci **14**(3), 297–338 (1989)
 19. P.M. Division, M.S. Centre, Rosin: a renewable resource for polymers and polymer chemicals. Prog. Polym. Sci. **14**, 297–338 (1989)
 20. A. Zaoui, V. Mahendra, G. Mitchell, Z. Cherifi, A. Harrane, Design, synthesis and thermo—chemical properties of rosin vinyl imidazolium based compounds as potential advanced biocompatible materials. Waste Biomass Valoriz. (2019). <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00691-0>
 21. H. Derdar et al., Green nanocomposites from rosin-limonene copolymer and algerian clay. Polymers (Basel) **12**, 2020 (2017)
 22. P.A. Wilbon, F. Chu, C. Tang, N.E. NatuKochkina, Y. Khokhlova, Synthesis of silver nanoparticles in DMSO solutions of starch: a comparative investigation of native and soluble starches. Prog. Renew. Polym. (2015). <https://doi.org/10.17586/2220-8054-2015-6>
 23. Z. Xu, W. Lou, G. Zhao, M. Zhang, J. Hao, X. Wang, Pentaerythritol rosin ester as an environmentally friendly multifunctional additive in vegetable oil-based lubricant. Tribol. Int. (2019). <https://doi.org/10.1016/j.triboint.2019.02.038>
 24. A.M. Atta, I.F. Nassar, H.M. Bedawy, Unsaturated polyester resins based on rosin maleic anhydride adduct as corrosion protections of steel. React. Func. Polym. **67**, 617–626 (2007). <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2007.04.001>
 25. S. Karakus, M. Ilgar, I.M. Kahyaoglu, A. Kilislioglu, Influence of ultrasound irradiation on the intrinsic viscosity of guar gum-PEG/rosin glycerol ester nanoparticles. Int. J. Biol. Macromol. (2019). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.254>
 26. M. Akeb, M. Belbachir, A. Harrane, Polymerization of β -pinene by using natural montmorillonite clay as a green catalyst. Green Mater. **6**(2), 58–64 (2018). <https://doi.org/10.1680/jgrma.17.00040>
 27. S. Peng, X. Fan, J. Zhang, F. Wang, A highly efficient heterogeneous catalyst of Ru/MMT: preparation, characterization, and evaluation of catalytic effect. Appl. Catal. B. **140–141**, 115–124 (2013). <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2013.03.029>
 28. L. De Chimie, D. De Chimie, F. Sciences, Preparation of Poly(oxybutyleneoxymaleoyl) catalyzed by a proton exchanged montmorillonite clay. Molecules **9**, 968–977 (2004)
 29. S. Lycourghiotis, D. Makarouni, E. Kordouli, K. Bourikas, C. Kordulis, V. Dourtoglou, Transformation of limonene into high added value products over acid activated natural montmorillonite. Catal. Today **355**, 757–767 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2019.04.036>
 30. Y. Zhang, S. Li, Y. Xu, X. Shi, M. Zhang, Y. Huang, Engineering of hollow polymeric nanosphere-supported imidazolium-based ionic liquids with enhanced antimicrobial. Nano Res. **15**(6), 5556–5568 (2022)
 31. C. Vanlalveni, S. Lallianrawna, A. Biswas, M. Selvaraj, B. Changmai, S.L. Rokhum, Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts and their antimicrobial activities: a review of recent literature. RSC Adv. **11**, 2804–2837 (2021). <https://doi.org/10.1039/d0ra09941d>
 32. M.Z.I. Nizami, B.D.L. Campéon, A. Satoh, Y. Nishina, Graphene oxide-based multi-component antimicrobial hydrogels. Bull. Chem. Soc. Jpn. **95**(5), 713–720 (2022). <https://doi.org/10.1246/bcsj.20220017>
 33. J.P. Hill, R.G. Shrestha, J. Song, Q. Ji, K. Ariga, L.K. Shrestha, Monitoring the release of silver from a supramolecular fullerene C60-AgNO₃ Nanomaterial. Bull. Chem. Soc. Jpn. **94**(4), 1347–1354 (2021). <https://doi.org/10.1246/bcsj.20210028>
 34. A.S. Abreu, M. Oliveira, A. Sá, R.M. Rodrigues, M.A. Cerqueira, A.A. Vicente, A.V. Machado, Antimicrobial nanostructured starch based films for packaging. Carbohydr. Polym. **129**, 127–134 (2015). <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.04.021>
 35. M.B. Váscónez, S.K. Flores, C.A. Campos, J. Alvarado, L.N. Gerschenson, Antimicrobial activity and physical properties of chitosan—tapioca starch based edible films and coatings. Food Res. Int. **42**(7), 762–769 (2009). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.02.026>
 36. R. Syafiq, S.M. Sapuan, M.Y.M. Zuhri, R.A. Ilyas, A. Nazrin, S.F.K. Sherwani, Antimicrobial activities of starch-based biopolymers and biocomposites incorporated with plant essential oils: a review. Polymers (2020). <https://doi.org/10.3390/polym12102403>
 37. Y. Zhao, J. Yang, X. Ding, X. Ding, S. Duan, F. Xu, Polycaprolactone/polysaccharide functional composites for low-temperature fused deposition modelling. Bioact. Mater. **5**(2), 185–191 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.02.006>
 38. K. Saravanakumar et al., Synthesis, characterization, and cytotoxicity of starch-encapsulated biogenic silver nanoparticle and its improved anti-bacterial activity. Int. J. Biol. Macromol. **182**, 1409–1418 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.036>
 39. Z. Draoua, A. Harrane, M. Belbachir, Amphiphilic biodegradable poly(ϵ -caprolactone)-poly(ethylene glycol)—poly(ϵ -caprolactone) triblock copolymer synthesis by maghnite-H⁺ as a green catalyst. J. Macromol. Sci. A **52**(2), 130–137 (2015). <https://doi.org/10.1080/10601325.2015.980763>
 40. D. Le, H. Angellier-Coussy, Preparation and application of starch nanoparticles for nanocomposites: a review. React. Func. Polym. (2014). <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2014.09.020>
 41. C.S.W. Adhesive, Preparation and properties of normal temperature-cured starch-based wood adhesive. BioResources **11**(2), 4839–4849 (2016)
 42. R. Lin, H. Li, H. Long, J. Su, W. Huang, Structure and characteristics of lipase-catalyzed rosin acid starch. Food Hydrocoll **43**, 1–8 (2014). <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.06.008>

43. K. Wang, M. Nicholaou, Suppression of antimicrobial resistance in MRSA using CRISPR-dCas9. *Amer Soc Clin Lab Sci* **30**(4), 207–213 (2017)
44. F. Haddouchi, H.A. Lazouni, P. Naturels, D. De Biologie, F. Sciences, U.A. Belkaid, Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut Résumé. *Afrique Sci.* **05**(2), 246–259 (2009)
45. F. Han, C. Gao, M. Liu, F. Huang, B. Zhang, Synthesis, optimization and characterization of acetylated corn starch with the high degree of substitution. *Int. J. Biol. Macromol.* **59**, 372–376 (2013). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.04.080>
46. P. Li, X. He, Y. Zuo, X. Li, Y. Wu, Synthesis and characterization of lactic acid esterified starch by an in-situ solid phase method. *Int. J. Biol. Macromol.* **156**, 1316–1322 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.171>
47. A. Agi et al., Ultrasound-assisted weak-acid hydrolysis of crystalline starch nanoparticles for chemically enhanced oil recovery. *Int. J. Biol. Macromol.* (2019). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.099>
48. A.O. Odiongenyi, N.B. Essien, R.A. Ukpe, Corn starch as a substitute for commercial food starch: FT-IR and rheological characterization. *J. Sci. Eng. Res.* **3**(6), 494–501 (2016)
49. S. Na et al., Effect of Rosin modification on the visual characteristics of round bamboo culm. *Polymers* **13**(20), 3500 (2021)
50. K. Zhang et al., Synthesis of long-chain fatty acid starch esters in aqueous medium and its characterization. *Eur. Polym. J.* **119**, 136–147 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2019.07.021>
51. Y. Xu et al., Preparation and characterization of organic-soluble acetylated starch nanocrystals. *Carbohydr. Polym.* **80**(4), 1078–1084 (2010). <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.01.027>
52. S. Susanti, D. Al Karoma, D. Mulyani, M. Masruri, Physical properties and characterization of cassava peel waste modified by esterification. *J. Pure Appl. Chem. Res.* **6**(3), 255–260 (2017). <https://doi.org/10.21776/ub.jpacr.2017.006.03.346>
53. J. Xin, Y. Wang, T. Liu, K. Lin, L. Chang, C. Xia, Biosynthesis of corn starch palmitate by lipase novozym 435. *Int. J. Mol. Sci.* (2012). <https://doi.org/10.3390/ijms13067226>
54. R. Lin, H. Li, H. Long, J. Su, W. Huang, Synthesis of rosin acid starch catalyzed by lipase. *BioMed Res. Int.* (2014). <https://doi.org/10.1155/2014/647068>
55. M. Amin, B. Amine, M. Belalia, A. Mostefai, N. Leila, B.M. Bououdina, Green synthesis of starch nanoparticles (SNPs) by esterification with rosin acid catalyzed by maghnite-H + (Algerian montmorillonite) with enhanced antioxidant activity. *Arab. J. Sci. Eng.* (2022). <https://doi.org/10.1007/s13369-022-07033-8>
56. H. Sun, T. Peng, B. Liu, H. Xian, Effects of montmorillonite on phase transition and size of TiO₂ nanoparticles in TiO₂/montmorillonite nanocomposites. *Appl. Clay Sci.* **114**, 440–446 (2015). <https://doi.org/10.1016/j.clay.2015.06.026>
57. U. Holzwarth, N. Gibson, The Scherrer equation versus the 'Debye-Scherrer equation.' *Nat. Publ. Gr.* **6**(9), 534 (2011). <https://doi.org/10.1038/nnano.2011.145>
58. C. Costa, P.H. Campelo, S.M. De Souza, Rietveld-based quantitative phase analysis of B-type starch crystals subjected to ultrasound and hydrolysis processes. *J. Appl. Polym. Sci.* (2020). <https://doi.org/10.1002/app.49529>
59. K. Dome, E. Podgorbunskikh, A. Bychkov, O. Lomovsky, Changes in the crystallinity degree of starch having different types of crystal structure after mechanical pretreatment. *Polymers* (2020). <https://doi.org/10.3390/polym12030641>
60. T. Desalegn, I.J.V. Garcia, J. Titman, P. Licence, Y. Chebude, Synthesis of starch vernolate in 1-butyl-3-methylimidazolium chloride ionic liquid. *Starch* (2015). <https://doi.org/10.1002/star.201400114>
61. S. Jiang, L. Dai, Y. Qin, L. Xiong, Q. Sun, Preparation and characterization of octenyl succinic anhydride modified taro starch nanoparticles. *PLoS ONE* (2016). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150043>
62. F. Li et al., Bifunctional reinforcement of green biopolymer packaging nanocomposites with natural cellulose nanocrystals-rosin hybrids. *ACS Appl. Bio. Mater.* (2020). <https://doi.org/10.1021/acsbm.9b01100>
63. S. Ketkaew, P. Kasemsiri, S. Hiziroglu, Effect of oregano essential oil content on properties of green biocomposites based on cassava starch and sugarcane bagasse for bioactive packaging. *J. Polym. Environ.* (2017). <https://doi.org/10.1007/s10924-017-0957-x>
64. M.V. Limaye, V. Gupta, S.B. Singh, G.R. Paik, P. Singh, Antimicrobial activity of composite consisting of cellulose nanofibers and silver nanoparticles. *ChemistrySelect* **4**(41), 12164–12169 (2019). <https://doi.org/10.1002/slct.201901572>
65. C. Pan, J. Qian, C. Zhao, H. Yang, X. Zhao, H. Guo, Study on the relationship between crosslinking degree and properties of TPP crosslinked chitosan nanoparticles. *Carbohydr. Polym.* (2020). <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116349>

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Springer Nature or its licensor holds exclusive rights to this article under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s); author self-archiving of the accepted manuscript version of this article is solely governed by the terms of such publishing agreement and applicable law.