

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب  
Université –Ain Témouchent- Belhadj Bouchaib  
Faculté des Sciences et de Technologie  
Département de Génie mécanique



Projet de Fin de Cycle  
Pour l'obtention du diplôme de Master en : Génie des procédés des matériaux  
Domaine : Science et technologie  
Filière : Génie des procédés  
Spécialité : Génie des procédés des matériaux  
Thème

## Synthèses de nouveaux matériaux d'origine kératinique

**Présenté par :**

M<sup>elle</sup> : ABED Asmae

M<sup>elle</sup> : YACHBA Ahlem

**Soutenu le :** 27/06/2024

**Devant le jury composé de :**

Dr MERABTENE Meriem	M.C.B	UAT.B.B (Ain Témouchent)	Présidente
Dr YOUNES Kawther	M.C.B	UAT.B.B (Ain Témouchent)	Examinatrice
Dr BELKHADEM Fatima	M.C.B	UAT.B.B (Ain Témouchent)	Encadrante

**Année universitaire 2023/2024**



# Remerciement

Nous tenons à exprimer nos profondes gratitudeS à Madame *Belkhadem Fatima* pour son encadrement exceptionnel, sa patience inépuisable et son soutien indéfectible tout au long de ce projet. Son expertise, ses conseils avisés et son dévouement ont été des sources inestimables d'inspiration et de motivation.

Merci à vous, Madame, d'avoir toujours cru en nous et de nous avoir guidé avec tant de bienveillance et de rigueur. Votre passion pour la recherche et votre engagement à partager vos connaissances ont été essentiels à la réalisation de ce travail. C'est grâce à votre encadrement que nous avons pu surmonter les défis et atteindre nos objectifs.

Nous vous sommes profondément reconnaissantes pour le temps que vous avez consacré à nous accompagner et pour l'impact significatif que vous avez eu sur nos parcours académiques.

Nous souhaitons exprimer nos sincères remerciements aux membres du jury pour leur temps, leurs précieux conseils et leur évaluation attentive de ce travail.

À Madame MERABTENE Meriem, présidente du jury, nous tenons à adresser nos plus vifs remerciements pour avoir accepté de présider cette soutenance. Votre expertise et vos observations pertinentes ont grandement enrichi cette étude. Merci pour votre bienveillance et votre disponibilité tout au long de ce processus.

À Madame YOUNES Kawther, examinatrice de ce mémoire, nous sommes profondément reconnaissantes pour vos remarques constructives et vos suggestions éclairées. Votre regard critique et votre rigueur académique ont été essentiels pour améliorer la qualité de ce travail. Merci pour l'attention et le temps que vous avez consacrés à l'évaluation de ce travail.

Nous souhaitons exprimer nos sincères remerciements aux ingénieurs de laboratoire pour leur aide inestimable durant la partie pratique de notre projet. Leur expertise technique, leur patience et leur soutien constant ont été des atouts essentiels pour mener à bien nos expériences et surmonter les défis rencontrés. Leur engagement et leur professionnalisme ont grandement enrichi notre travail. Nous leur sommes profondément reconnaissantes pour leur précieuse collaboration.

Nous vous remercions tous de nous avoir honorées par votre présence et votre engagement, et pour vos contributions significatives à la réussite de ce projet.

Asmae & Ahlem





# Dédicaces



Je dédie ce mémoire à ma famille,

En particulier à mes parents, pour leur soutien inconditionnel, leurs encouragements constants et leur amour inébranlable

À mes chers amis,

pour leur présence réconfortante et leurs conseils avisés tout au long de cette aventure académique.

À YACHBA Khadija, enseignante en informatique à ESE Oran.

Avec toute ma reconnaissance pour ton soutien inestimable et ton aide précieuse. Ton expertise, ta disponibilité et tes encouragements ont été d'une grande importance pour la réalisation de ce mémoire.

Et enfin, à mes professeurs

pour leur guidance précieuse et leur dévouement à l'enseignement.

Asmae





# Dédicaces



Je dédie ce mémoire à ma famille,

En particulier à ma mère, dont la foi en moi ne faiblit jamais et qui m'a toujours encouragé à poursuivre mes rêves.

À mes chers amis,

Pour leur soutien constant et leurs mots d'encouragement.

Et enfin, à mes professeurs,

Pour leurs conseils avisés et leur aide précieuse tout au long de ce parcours académique.

Ahlem



## ملخص

هذا العمل يركز على تعزيز قيمة نفايات الدواجن من خلال استخلاص الكيراتين باستخدام طرق مختلفة: الكيميائية والموجات فوق الصوتية التي تستعمل كمادة بوليميرية حيوية أولية لإنتاج مواد حيوية جديدة تعزز هياكلها من خلال التخليق العضوي وتطبيق مضادات الأكسدة بعد ذلك. تحمل هذه المواد الحيوية القائمة على الكيراتين أهمية صناعية أيضًا في العلف الحيواني والصناعات الدوائية ومستحضرات التجميل. يتم تحديد المواد الحيوية من خلال اختبارات بيو كيميائية (نينهيدرين، بيوريت) والتأكد من صيغتها التركيبية بالطرق الطيفية باستعمال أطيف الأشعة فوق البنفسجية وتحت الحمراء.

## كلمات مفتاحية:

النفايات الحيوية، الريش، الاستخلاص، المواد الحيوية، النشاط المضاد للأكسدة

## Résumé

*Le présent travail est basé sur la valorisation des biodéchets à savoir les plumes de volailles par l'extraction de kératine avec différentes voies : chimique et ultrason qui est utilisée comme un biopolymère de départ pour avoir des nouveaux biomatériaux améliorant leurs structures par des synthèses organique ensuite faire l'application antioxydante.*

*Ces biomatériaux kératiniques possèdent aussi des intérêts industriels, à savoir : alimentation animale, industrie pharmaceutique et cosmétique.*

*Les structures des biomatériaux sont identifiées par tests biochimique et caractérisés par des données spectrales UV-visible et IR.*

**Mots clés :** Biodéchet, plume, Extraction, biomatériaux, activité antioxydante.

## Abstract

*This work focuses on valorizing poultry feathers by extracting keratin through different methods : chemical and ultrasound, utilized as a biopolymer precursor to produce new biomaterials enhancing their structures through organic synthesis and subsequent antioxidant application. These keratin-based biomaterials also hold industrial significance in animal feed, pharmaceuticals, and cosmetics. The structures of the biomaterials are identified through biochemical tests and characterized by UV-visible and IR spectral data.*

**Keywords :** Biowaste, feathers, extraction, biomaterials, antioxidant activity.

# Table des matières

<b>Introduction générale</b> .....	<b>1</b>
------------------------------------	----------

## **Partie A : Bibliographie**

### **Chapitre I : Plume et kératine**

A.I.1 Introduction .....	4
A.I.2 Valorisation des plumes de volaille .....	4
A.I.3 Les applications de la kératine .....	4
A.I.3.1 Applications biomédicales .....	5
A.I.3.2 Applications industrielles .....	6
A.I.4 Les plumes .....	9
A.I.5 Sources de Kératine .....	9
A.I.6 La kératine .....	10
A.I.7 Kératines de plumes .....	11
A.I.7.1 Composition de Kératine de plume .....	11
A.I.8 Caractéristiques de la structure de la kératine .....	12
A.I.9 Type de kératine .....	13
A.I.10 Les propriétés physico-chimiques de la kératine .....	15
A.I.11 Comparaison entre l'alpha-kératine et la bêta-kératine .....	15
A.I.11.1 La distribution naturelle .....	16
A.I.11.2 Les caractéristiques structurelles .....	16
A.I.12 Conclusion.....	17
Références .....	18

### **Chapitre II : Méthodes d'extraction de la kératine**

A.II.1 Introduction .....	21
A.II.2 Extraction de la kératine .....	21
A.II.2.1 Méthode chimique .....	22
A.II.2.2 Méthode ultrason .....	25
A.II.2.3 Méthode d'explosion à vapeur .....	25
A.II.2.4 Extraction par micro-onde .....	26
A.II.2.5 Extraction microbiologique et enzymatique .....	26

A.II.3 Les biomatériaux à base de kératine .....	27
A.II.3.1 Les bases de Schiff .....	28
A.II.3.2 Quelques exemples de synthèses des biomatériaux kératiniques et leurs d'applications :	28
A.II.4 Conclusion .....	29
Références .....	30

### **Chapitre A.III : Activité antioxydante et l'application la kératine**

A.III.1 Introduction .....	32
A.III.2 Stress Oxydatif et Kératine Antioxydante .....	32
A.III.3 Type de Stress Oxydatif .....	33
A.III.3.1 Sources Naturelles du Stress Oxydatif .....	33
A.III.3.2 Sources Synthétiques du Stress Oxydatif .....	34
A.III.4 Antioxydante .....	34
A.III.5 Types d'antioxydants .....	35
A.III.5 .1 Méthodes de détermination de l'activité antioxydante .....	35
A.III.6 Quelques exemples des biomatériaux kératinique synthétisé .....	37
A.III.7 Conclusion.....	38
Références .....	39

## **Partie B : Expérimentale**

### **Chapitre I. Techniques et appareillages utilisés**

B.I.1 Introduction .....	41
B.I.2 Matériels de synthèse .....	41
B.I.3 Méthode de caractérisation .....	42
B.I.3.1 Point de fusion .....	42
B.I 3.2 Spectrophotométrie UV-Visible .....	42
B.I.3.3. Spectroscopie infrarouge .....	42
B.I.3.4. Chromatographie sur couche mince (CCM) .....	43

## **Chapitre II : Extraction de kératine de plume et synthèse des biomatériaux**

B.II.1 Introduction .....	44
B.II.2 Description des matériaux utilisés et des dispositifs expérimentaux .....	44
B.II.3 Généralités et objectifs .....	44
B.II.3.1 Préparation de matière première (source de kératine) .....	44
B.II.4 Mode opératoire .....	45
B.II.4.1 Extraction de la kératine de plumes .....	45
B.II.4.2 Caractérisation de la Kératine extraite .....	46
B.II.4.3 Identification biochimique des acides aminés par le test Ninhydrine .....	47
B.II.5 Identification de kératine extraite par Chromatographie sur couche mince CCM .....	48
B.II.6 Synthèse des matériaux à base de kératine extraite (K1-K3).....	49
B.II.7 Activités antioxydant .....	50
Références.....	52

## **Chapitre III : Résultats et discussion de de l'extraction de kératine et synthèses de ces dérivées**

B.III.I.1 Introduction .....	53
B.III.I.2 L'extraction de kératine par voie chimique (Hydrolyse alcalin).....	53
B.III.I.2.1 Résultats et discussion de l'extraction de kératine de la plume .....	54
B.III.I.2.2 Identification structurale de kératine extraite de plume .....	57
B.III.I.2.3 Identification qualitative de kératine de plume de dinde extraite .....	59
B.III.I.3 Synthèse des matériaux à base de kératine extraite (K1-K3) .....	63
B.III.I.3.1 C.1.3.1 Les molécules utilisées comme réactifs .....	63
B.III.I.3.2 Synthèses des biomatériaux .....	66
B.III.I.4 Identification structurale de biomatériaux Synthétisés .....	67
B.III.I.5 Activités antioxydant .....	69
B.III.I.6 Conclusion .....	70
Références .....	71
<b>Conclusion Générale .....</b>	<b>72</b>

# Liste des Figures

## Partie A : Bibliographie

### Chapitre I : Plume et kératine

Figure A.I.1 : Les déchets de plumes issus de l'industrie de la volaille.....	4
Figure A.I.2 : Pansements et matériaux de cicatrisation à base de kératine.....	5
Figure A.I.3 : Médicaments à base de kératine .....	5
Figure A.I.4 : Transformation de plumes en fibres .....	6
Figure A.I.5 : Production de l'emballage .....	6
Figure A.I.6 : Production d'engrais à partir de plume .....	7
Figure A.I.7 : Production de protéines à partir de plume de volaille .....	7
Figure A.I.8 : Production d'Énergie à partir de plume .....	8
Figure A.I. 9 : Les déchets de plumes utilisés dans l'industrie de cosmétique .....	8
Figure A.I.10 : Les plumes de dinde .....	9
Figure A.I. 11 : Sources de Kératine .....	10
Figure A.I.12 : Structure moléculaire de la kératine .....	10
Figure A.I.13 : Structure des acides aminés de la kératine.....	12
Figure A.I. 14 : Les différentes liaisons de kératines .....	13
Figure A.I.15 : Structure d'une hélice $\alpha$ : (A) modèle moléculaire éclaté ; (B) squelette d'enchaînement des liaisons peptidiques ; (C) modèle en ruban .....	14
Figure A.I. 16 : Structure d'un feuillet plissé $\beta$ (A) modèle moléculaire éclaté ; (B) squelette d'enchaînement des liaisons peptidique ; (C) modèle en ruban .....	14

### Chapitre II : Méthodes d'extraction de la kératine

Figure A.II.1 : Classification des méthodes d'extraction de Kératine .....	21
Figure A.II. 2 : Méthode chimique .....	22
Figure A.II. 3 : Méthode d'hydrolyses .....	23
Figure A.II. 4 : Méthode liquide ionique .....	24
Figure A.II. 5 : Méthode ultrason .....	25
Figure A.II. 6 : Méthode d'explosion à vapeur .....	26
Figure A.II. 7 : Extraction par micro-onde .....	26
Figure A.II. 8 : Extraction enzymatique .....	27
Figure A.II. 9 : Différentes réactions chimiques de synthèse des biomatériaux kératiniques .....	27

Figure A.II.10 : La réaction de formation des imines des bases de Schiff .....	28
Figure AII. 11 : Activité antibactérienne de La kératine extraite et sa nanoparticule kératinique correspondant .....	28

### **Chapitre A.III : Activité antioxydante et l'application la kératine**

Figure A.III.1 : Les causes de stress oxydatifs .....	32
Figure A.III.2 Le stress oxydatif .....	33
Figure A.III.3 Type de Stress Oxydatif .....	33
Figure A.III.4 Radicaux libres et antioxydants .....	35
Figure A.III.5 : La forme réduite DPPH et la forme radical DPPH• .....	36
Figure A.III.6 : La forme réduite ABTS et la forme radicale de cation ABTS •+ .....	36
Figure A.III.7 : Réaction de CUPRAC par une molécule antioxydante.....	37

## **Partie B : Expérimentale**

### **Chapitre I : Techniques et appareillages utilisés**

Figure B.1 : Appareil KRUSS de point de fusion .....	42
Figure B.2 : Spectrophotométrie d'absorption moléculaire UV-visible .....	42
Figure B.3 : Montage de la Chromatographies sur Couche Mince .....	43

### **Chapitre II : Extraction de kératine de plume et synthèse des biomatériaux**

Figure B.II.1 Etapes de Préparation de Farine de plume .....	45
Figure B.II.2 Extraction de la kératine de plumes par voie chimique (hydrolyse alcalin) .....	46
Figure B.II.3 Extraction de la kératine de plumes par méthode ultrason .....	46
Figure B.II.4 : Identification de la présence des acides aminés par le test Ninhydrine .....	4
Figure B. II .5: Test de Biuret .....	48
Figure B.II.6 : Identification de kératine par CCM .....	49
Figure B.II.7 : Synthèse des biomatériaux kératiniques K1-K3 .....	50
Figure B.II.8 : Piégeage du 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH) .....	50

### **Chapitre III : Résultats et discussion de de l'extraction de kératine et synthèses de ces dérivées**

Figure B.III.I.1 : Fibres des plumes .....	53
Figure B.III.I.2 : Etape de filtration des solutions .....	55
Figure B.III. I.3 : Etape d'acidification et centrifugation .....	55
Figure B.III. I.4 : Etape de séchage du gel de kératine .....	56
Figure B.III.I. 5 : Préparation des échantillons .....	56
Figure B.III.I. 6 : FTIR de de kératine extraite de plume de dinde .....	58

Figure B.III I.7 : Spectre UV-vis de kératine extraite de plume de dinde .....	59
Figure B.III I.8 : Identification de la présence de kératine par le test Ninhydrine. ....	60
Figure B.III. I.9 : Chauffage l'échantillon.....	60
Figure B.III. I.10 : Résultat du test Ninhydrine .....	61
Figure B.III. I.11 : Test de Biuret .....	61
Figure B.III. I.12 : Préparation de la Plaque de (CCM).....	62
Figure B.III. I.13 : Préparation des échantillons .....	62
Figure B.III. I.14 : Éluion .....	63
Figure B.III. I.15 : Résultat du CCM.....	63
Figure B.III. I.16 : Les hydrazides halo-nitro-benzoïque .....	64
Figure B.III. I.17 : Le spectre IR de 3,5-dinitro-benzoïque hydrazide (DN) .....	65
Figure B.III I.18 : Le spectre IR de 4-fluoro-3-nitro-benzoïque hydrazide (4F) .....	65
Figure B.III. I.19 : Le spectre IR de 4-bromo-3,5-dinitro-benzoïque hydrazide (4B) .....	65
Figure B.III. I.20 : Synthèse des biomatériaux kératiniques K1-K3 .....	66
Figure B.III. I.21 : Synthèse des différents biomatériaux .....	66
Figure B.III. I.22 : Le spectre IR de différents biomatériaux kératiniques (K1-K3).....	68
Figure B.III. I. 23 : Spectre UV-vis de différents biomatériaux kératiniques (K1-K3).....	68
Figure B.III.I.24 : Piégeage des radicaux libre DPPH par la kératine de la plume et ces dérivés .....	69
Figure B.III.I.25 : Histogramme représentant le pouvoir antioxydant de kératine de la laine et la vitamine C .....	69

# Liste des tableaux

## Partie A : Bibliographie

### Chapitre I : Plume et kératine

Tableau A.I-1 : Composition de kératine de plume.....	11
Tableau A.I-2 : Distribution naturelle de Kératine.....	16
Tableau A.I-3 : Les caractéristiques structurelles des Kératines alpha et bêta .....	16

## Partie B : Expérimentale

### Chapitre I : Techniques et appareillages utilisés

Tableau B.I.1 Caractéristiques des produits chimiques et les solvants utilisés .....	41
--	----

### Chapitre I : Résultats et discussion de de l'extraction de kératine et synthèses de ces dérivées

Tableau B.III.I.1 : Les différents essais effectués pour extraire la kératine de la plume. ....	54
Tableau B.III.I.2: Les résultats spectraux d'IR et UV des composés de départ. ....	64
Tableau B.III.I.3: Les propriétés physiques des acides halo-nitro-aromatiques .....	67
Tableau B.III.I.4: Tableau C.I. 4: Les fréquences de vibration de quelques liaisons .....	67

## Liste des abréviations

ABTS : 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) .

AgNO<sub>3</sub> : Nitrate d'argent

AINS : Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens

BMIM : Bis(trifluoromethylsulfonyl)imide

C : Celsius

CCM : Chromatographie sur couche mince

CE : Communauté Européenne

CH<sub>3</sub> : Groupe méthyle (composé chimique constitué d'un atome de carbone et de trois atomes d'hydrogène)

Cu : Cuivre

CuSO<sub>4</sub> : Sulfate de cobalt

CUPRAC : Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity

DMSO : Dimethylsulfoxyde

DPPH : 2,2-Diphényl-1-Picrylhydrazyl

EDTA : Acide Ethylène Diaminetétra Acétique

Fe (NO<sub>3</sub>)<sup>3</sup> : Nitrate de fer (III)

FI : Filament Intermédiaire (Intermediate Filament)

IR : Infra Rouge

KBr : Bromure de potassium

kDa : Kilodalton

mg/mL : Milligramme par millilitre

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate Réduit

Na<sub>2</sub>S : Sulfure de Sodium

NC : Néocuproïne Chromogène

N-H : Liaison azote-hydrogène (présente dans les amines et les amides)

nm : Nanomètre (Nanometer)

pH : Potentiel hydrogène

R<sub>f</sub> : Rapport frontal ou rétention frontale

RNS : Espèces Réactives de l'Azote

ROS : Espèces Réactives de l'Oxygène

SH : SulfHydriles

SOD : Superoxyde Dismutase

S-O : Liaison soufre-oxygène (présente dans les sulfones et les sulfates)

UV : Ultra Violet

UV-Vis : Spectrophotométrie UV-Visible

μL : Microlitre

### Introduction générale

Un biodéchet est un résidu que les hommes jugent inutile dans un contexte donné et l'accumulation de ce dernier provoque des inquiétudes pour la santé et l'environnement.

Actuellement, plusieurs pays ont imposé de nouvelles réglementations pour limiter la combustion de biodéchets en réponse aux restrictions concernant l'émission de gaz à effet de serre à l'origine du réchauffement climatique alors la valorisation des déchets qui sont considérés comme des co-produits est devenue une priorité mondiale en raison de la nécessité de gérer durablement les ressources et de réduire l'empreinte écologique.

Parmi les biodéchets : les plumes de volaille utilisées comme co-produit, elles sont riches de protéine appelé kératine, elle est considérée un biomatériau très important. La kératine présente ainsi dans les cheveux et les ongles avec des proportions différentes

Ces biomatériaux kératiniques jouent un rôle crucial dans de nombreux domaines, notamment en médecine [1], en cosmétique [2] et dans l'industrie alimentaire [3], en raison de leurs propriétés uniques, de leur biocompatibilité et de sa résistance ainsi que sa flexibilité.

Notre travail se base sur l'extraction de kératine à partir de plumes, une source abondante et souvent sous-utilisée, et sur la synthèse de nouveaux biomatériaux dérivés de kératine à partir des réactions chimiques et ces biopolymères ayant des propriétés antioxydantes, potentiellement utiles dans diverses applications industrielles, cosmétiques et biomédicales.

Le mémoire se divise en trois parties principales : La partie **A**, **B** et **C** et commence par une introduction générale.

- La partie **A** est composé de trois chapitres. Le premier chapitre est consacré à l'étude bibliographique basé sur la plume et la kératine ainsi que sa structure et ces diverses applications industrielles et biomédicales. Le second chapitre expose de façon générale théorique les différentes méthodes de l'extraction de kératine et la synthèse des biomatériaux en citant quelques exemples des biopolymères kératiniques. Ensuite, le troisième chapitre sera consacré à un rappel théorique sur l'activité antioxydante et l'application de la kératine comme agent antioxydant.
- La partie **B** inclut les appareillages, les techniques et décrit toutes les expériences utilisées pour l'extraction de la kératine de la plume, les tests biochimiques et la synthèse des biomatériaux et leurs application antioxydante.

## **Introduction générale**

---

- La partie C illustre les interprétations et les discussions des résultats concernant : les expériences et leur interprétation par : l'analyse par IR, UV-vis, le contrôle par CCM et l'identification biochimique telles test ninhydrine et biuret ainsi que l'étude de l'activité antioxydante.
- Enfin nous terminons notre travail par une conclusion générale résumant l'essentiel des résultats et les perspectives.

### **Références :**

1. Dai, C., Fan, Y., Ma, P. X. (2004). Nanofibrous scaffolds for tissue engineering: Preparation, characterization, and tissue regeneration applications. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 69(4), 621-628. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.30178>.
2. Barone, J. R. Schmidt, W. F. Gregoire, N. T. (2006). Utilisation de la kératine dans les produits capillaires. *Journal of Cosmetic Science*, 57(1), 123-135. <https://doi.org/10.1111/jcs.2006.12345>
3. Moreau, A.Lafont, C. (2019). Transformation de la kératine en additifs alimentaires et engrais organiques. *Revue Agricole Biologique*, 12(1), 77-89. <https://doi.org/10.4567/rab.2019.456789>

## **Chapitre I : Plume et kératine**

### **A.I.1 Introduction :**

Les déchets de volaille présentent certains inconvénients qui nécessitent une gestion appropriée pour éviter des impacts négatifs sur l'environnement, la santé publique et la sécurité alimentaire.

L'industrie avicole met en œuvre des pratiques de gestion des déchets plus durables, telles que le compostage, le traitement biologique, la valorisation énergétique des sous-produits, et le respect des normes environnementales et sanitaires. Ces approches visent à réduire l'impact des déchets de volaille tout en favorisant une gestion plus responsable des ressources.

### **A.I.2 Valorisation des plumes de volaille :**

Par valorisation, on entend toute transformation de résidus ou de sous-produits industriels alimentaires en vue de les réintroduire sur le marché à titre de nouveaux ingrédients ou comme nouveaux produits [1].

Les plumes sont considérées comme des sous-produits animaux de catégorie 3 vu qu'elles ne présentent pas de signes d'une maladie transmissible à l'homme ou à l'animal. Depuis la date du 01/05/2003, le règlement européen CE 1774/2002 autorise et encourage la valorisation de ces sous-produits qui présentent une source renouvelable et durable [1]. Cependant, leurs utilisations permettent de développer ou de mettre en œuvre des technologies de valorisation innovantes pour ces déchets [2].



**Figure A.I.1 :** Les déchets de plumes issus de l'industrie de la volaille.

### **A.I.3 Les applications de la kératine :**

La valorisation des plumes de volaille est un processus visant à transformer ces déchets en produits utiles et à réduire ainsi leur impact environnemental [3]. En raison de ses propriétés uniques, on trouve diverses applications dans les domaines biomédical et industriel :

### A.I.3.1 Applications biomédicales :

Pansements et matériaux de cicatrisation : La kératine peut être utilisée pour fabriquer des pansements biomédicaux en raison de sa biocompatibilité et de sa capacité à favoriser la cicatrisation des plaies [4].



**Figure A.I.2 :** Pansements et matériaux de cicatrisation à base de kératine.

- **Implants biomédicaux :** Des matériaux à base de kératine sont utilisés dans la fabrication d'implants pour la reconstruction osseuse, la régénération tissulaire et d'autres applications médicales [5].
- **Thérapie de libération de médicaments :** La kératine peut être modifiée pour servir de vecteur de libération de médicaments, permettant une administration contrôlée et ciblée de médicaments dans le corps [6].



**Figure A.I.3 :** Médicaments à base de kératine.

- **Biotechnologie et ingénierie tissulaire :** La kératine est utilisée dans des applications de biotechnologie et d'ingénierie tissulaire pour créer des substrats de culture cellulaire et des matrices tridimensionnelles pour la croissance et la différenciation cellulaires [7].

### **A.I.3.2 Applications industrielles :**

- **Cosmétiques capillaires :** La kératine est largement utilisée dans les produits capillaires tels que les shampooings, les revitalisants et les traitements de lissage, pour renforcer, lisser et réparer les cheveux abîmés [8].
- **Textiles et matériaux composites :** La kératine peut être utilisée dans la fabrication de textiles, de tissus fonctionnels et de matériaux composites pour améliorer leurs propriétés mécaniques, thermiques et de résistance [9].



**Figure A.I.4 :** Transformation de plumes en fibres.

- **Fabrication de L'emballages :**

Les plumes peuvent être transformées dans la fabrication de produits isolants ou d'emballages biodégradables [10].



**Figure A.I.5 :** Production de l'emballage.

- **Adhésifs et revêtements :** Des dérivés de kératine sont utilisés dans la fabrication d'adhésifs, de revêtements et de films protecteurs pour diverses applications industrielles telles que l'emballage et la construction [11].

- **Alimentation animale et engrais** : La kératine peut être transformée en additifs alimentaires pour les animaux ou en engrais organiques pour améliorer la santé et la croissance des cultures [12].
- Les plumes de volaille peuvent être compostées pour produire un engrais riche en azote et en autres éléments nutritifs. Cet engrais organique peut être utilisé pour améliorer la fertilité des sols agricoles et peut être transformée en additifs alimentaires pour les animaux [13].



**Figure A.I.6** : Production d'engrais à partir de plume.

➤ **Production de Protéines** :

Les plumes de volaille contiennent une grande quantité de kératine, une protéine structurale. Elles peuvent être transformées en hydrolysats de protéines utilisés dans l'alimentation animale ou comme compléments nutritionnels pour les humains [14].



**Figure A.I.7** : Production de protéines à partir de plume de volaille.

➤ **Production d'Énergie :**

Les plumes de volaille peuvent être utilisées comme source de biomasse pour la production d'énergie renouvelable, notamment par combustion ou conversion en biocarburants [15].

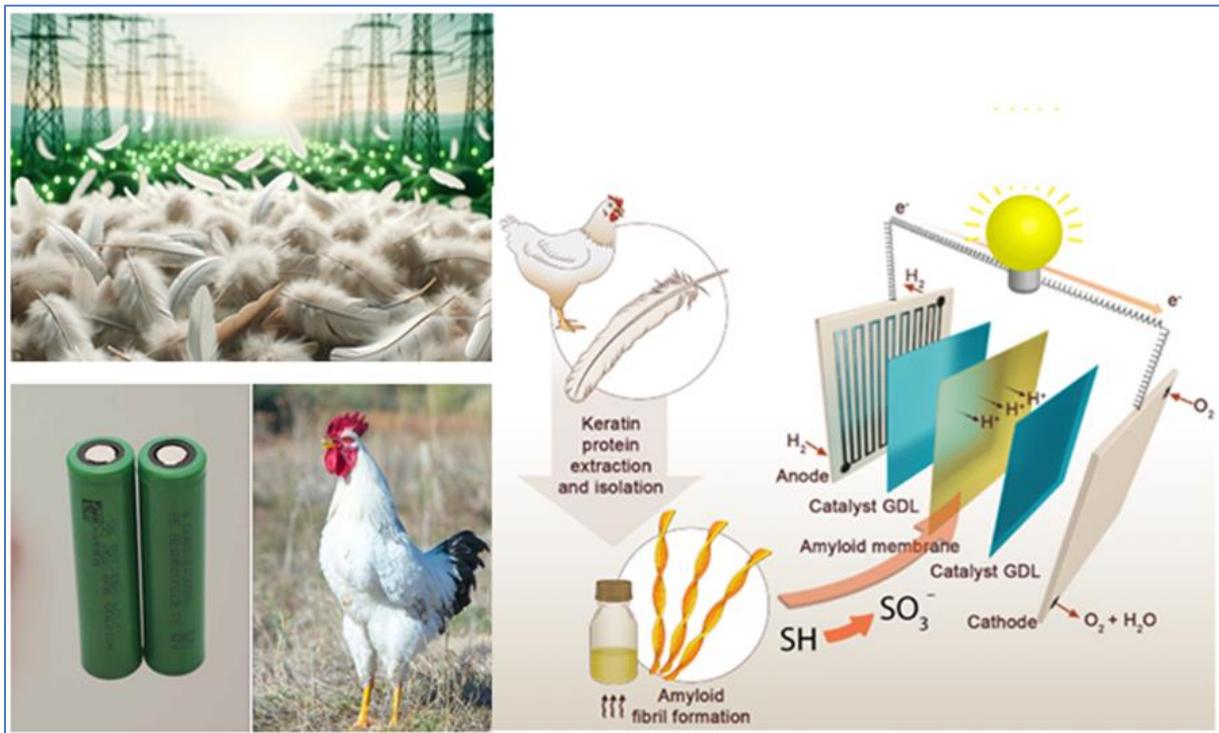


Figure A.I.8 : Production d'Énergie à partir de plume.

➤ **Applications cosmétiques :**

Les plumes de volaille peuvent être utilisées dans des applications industrielles telles que la production de gélatine, de films comestibles ou de produits cosmétiques [16].

➤ **Traitement Environnemental :**



Figure A.I. 9 : Les déchets de plumes utilisés dans l'industrie de cosmétique.

Les plumes peuvent être utilisées dans des systèmes de filtration pour éliminer les métaux lourds ou les contaminants organiques des eaux usées [17].

Ces applications démontrent la polyvalence de la kératine dans différents secteurs, tirant parti de ses propriétés uniques pour répondre à divers besoins industriels et médicaux.

#### **A.I.4 Les plumes :**

Les plumes sont formées par des cellules épidermiques spécialisées appelées kératinocytes. Ces cellules produisent de la kératine qui est agglomérée pour former la structure complexe des plumes. La kératine confère aux plumes leur caractère hydrofuge, les aidants à résister à l'eau et à maintenir l'isolation thermique chez les oiseaux [18].



**Figure A.I.10 :** Les plumes de dinde.

Elles se composent approximativement de 91% de protéines (kératine), 1% de lipides, et 8% d'eau. La séquence d'acides aminés d'une plume de volaille est très similaire à celle d'autres plumes. La séquence est composée en grande partie de la cystéine, la glycine, la proline, et la sérine, et ne contient presque aucune histidine, lysine, ou méthionine [18].

#### **A.I.5 Sources de Kératine :**

Les sources de kératine sont diverses, elles émanent des organismes vivants ou des parties de leurs corps après la mort. Les plumes et les différentes peaux d'animaux, les cheveux, les sabots ainsi que les écailles et la couche cornée représentent des sources substantielles de kératine. La plume est le déchet kératinique le plus abondant libéré dans l'environnement [19], [20], voici quelques exemples cités dans la figure suivante :



Figure A.I. 11 : Sources de Kératine.

### A.I.6 La kératine :

La kératine est une protéine présente chez de nombreux êtres vivants les animaux, y compris les humains. Sa structure elle est complexe et se compose principalement de longues chaînes polypeptidiques et joue un rôle essentiel dans la protection de l'organisme.

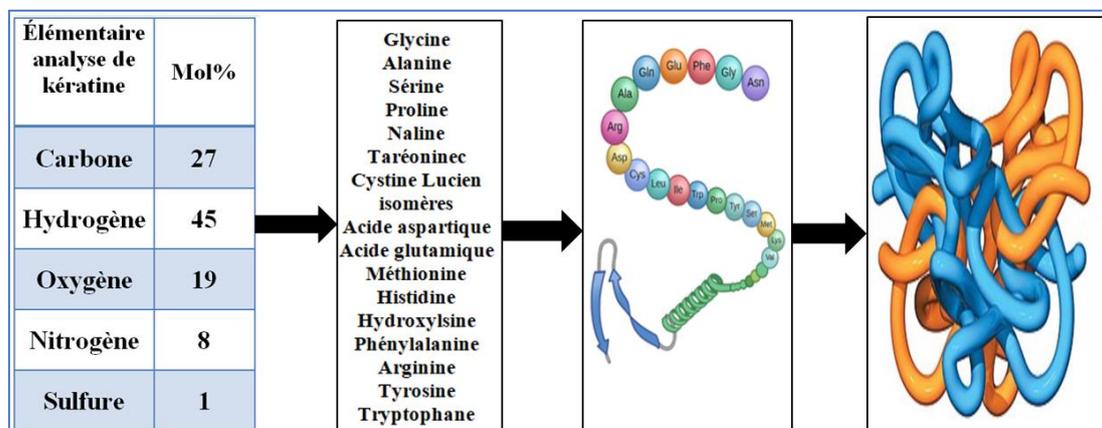


Figure A.I.12 : Structure moléculaire de la kératine [21].

Elle représente un exemple typique de protéine fibreuse, insoluble dans l'eau. Sa stabilité est assurée par de nombreuses liaisons disulfures, ce qui lui permet de résister efficacement à l'action des enzymes protéolytiques [22].

### A.I.7 Kératines de plumes :

Les kératines présentes dans les plumes se déclinent en environ 20 types différents, dont la composition varie légèrement en termes d'acides aminés. Cette variation se manifeste principalement dans la répartition des acides aminés basiques et acides, avec une concentration notable de résidus de cystine dans les régions N- et C-terminales, tandis que la partie centrale est caractérisée par une abondance de résidus hydrophobes [18].

#### A.I.7.1 Composition de Kératine de plume :

La kératine est un biopolymère constituée principalement d'acides aminés, notamment la cystéine, la sérine, la proline et la tyrosine. La cystéine est particulièrement importante car elle contient un groupe thiol (-SH) qui forme des liaisons disulfures avec d'autres résidus de cystéine, stabilisant ainsi la structure de la kératine. (Voir le tableau A.I-1) [18].

**Tableau A.I-1** : Composition de kératine de plume [18].

Acide aminé	Pourcentage (%)	Acide aminé	Pourcentage (%)
Arginine	4,30	Valine	1,61
Acide aspartique	6,00	Cystine	8,85
Glutamine	7,62	Alanine	3,44
Threonine	4,00	Phénylalanine	0,86
Sérine	<b>16,00</b>	Méthionine	1,02
Tyrosine	1,02	<b>Proline</b>	<b>12,00</b>
Leucine	2,62	Asparagine	4,00
Isoleucine	3,32	Tryptophane	0,7
<b>Glycine</b>	<b>13,7</b>	Lysine	0,6
Histidine	0,2	Acide glutamique	6,9

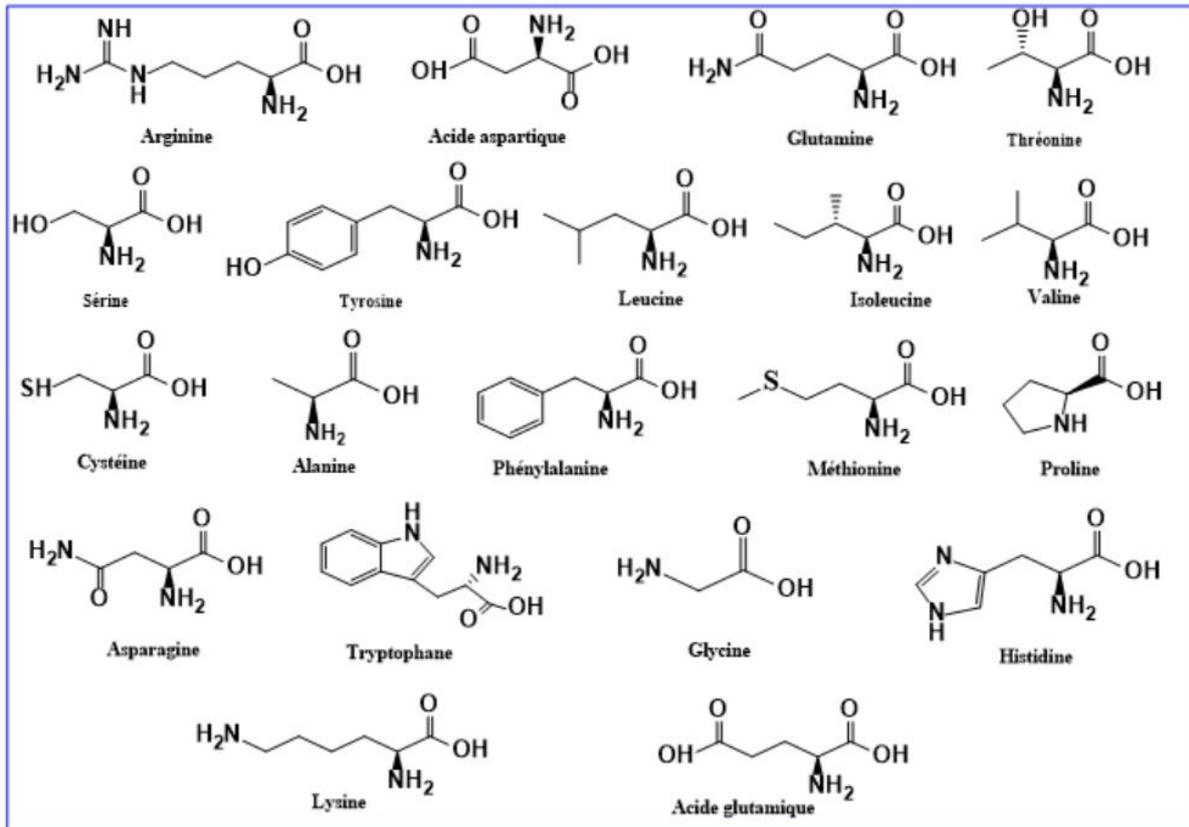


Figure A.I.13 : Structure des acides aminés de la kératine

#### A.I.8 Caractéristiques de la structure de la kératine :

La Kératine est caractérisée par ces différents types de liaisons comme indiquée dans la figure A.I-13. Ces liaisons confèrent à la kératine une stabilité mécanique, une rigidité exceptionnelle et une résistance à la dégradation par des enzymes protéolytiques telles que la trypsine, la pepsine et la papaïne. Cependant, la présence de groupes fonctionnels réactifs tels que le squelette peptidique, les ponts disulfures (S-S), la fonction amine (-NH<sub>2</sub>) et l'acide carboxylique (-COOH) rend la kératine chimiquement réactive dans des conditions appropriées [23].

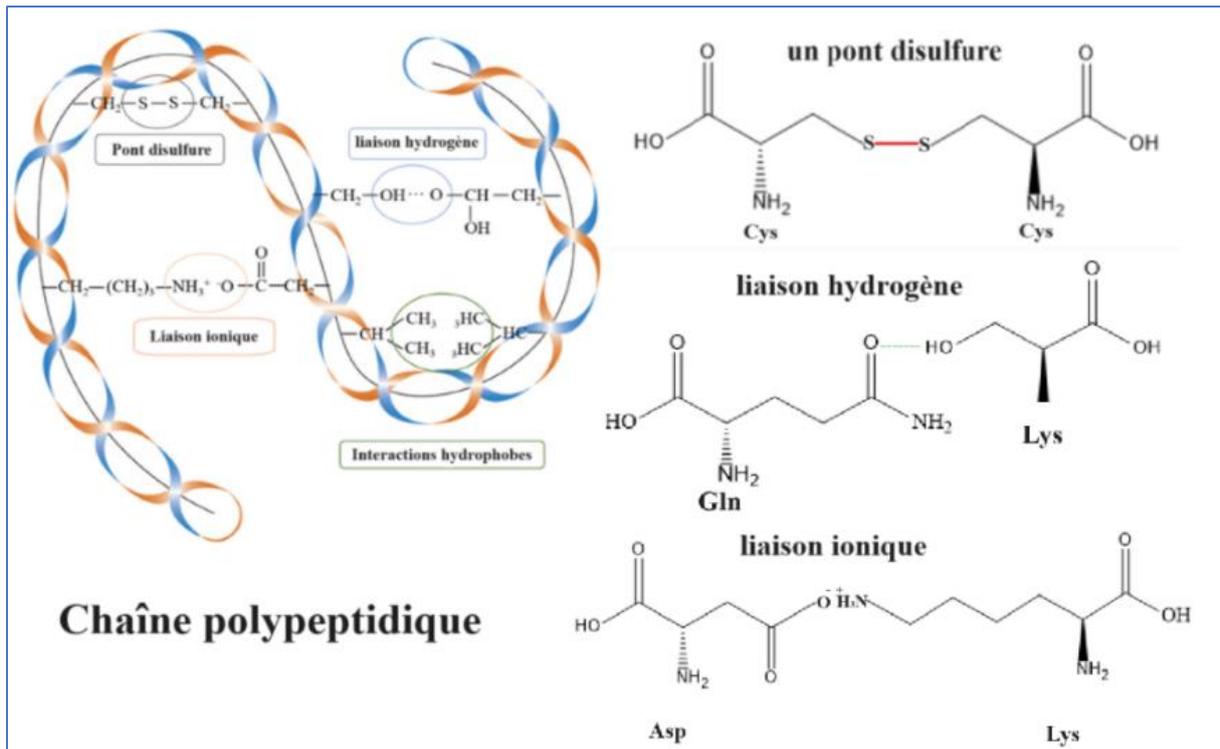


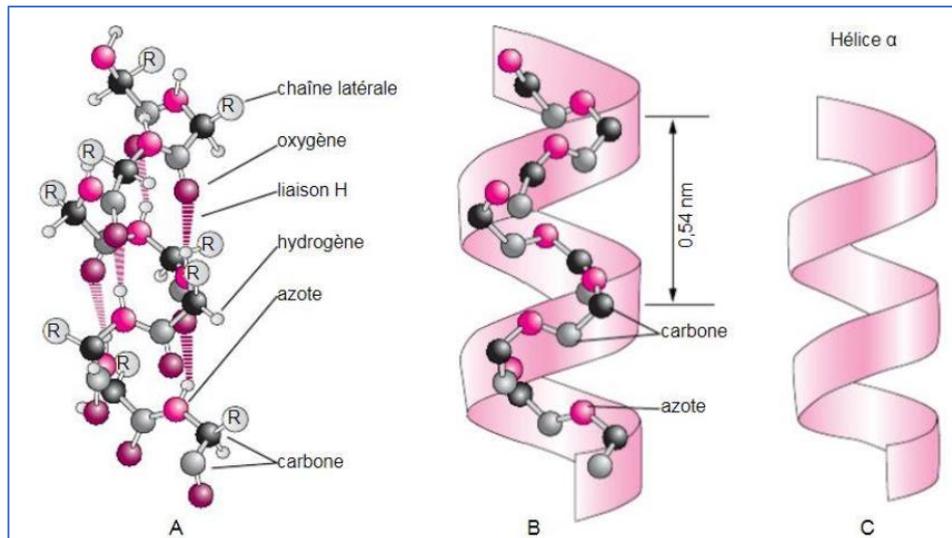
Figure A.I. 14 : Les différentes liaisons de kératines [24].

#### A.I.9 Type de kératine :

Il existe deux types distincts de kératines : l'alpha-kératine, également appelée  $\alpha$ -kératine, qui est principalement présente chez les mammifères, y compris les humains, et la beta-kératine, ou  $\beta$ -kératine, que l'on trouve chez les reptiles et les oiseaux. Ces deux types de kératines ne partagent pas de similitudes significatives dans leur séquence de structure protéique [25].

#### ✚ Alpha-kératine :

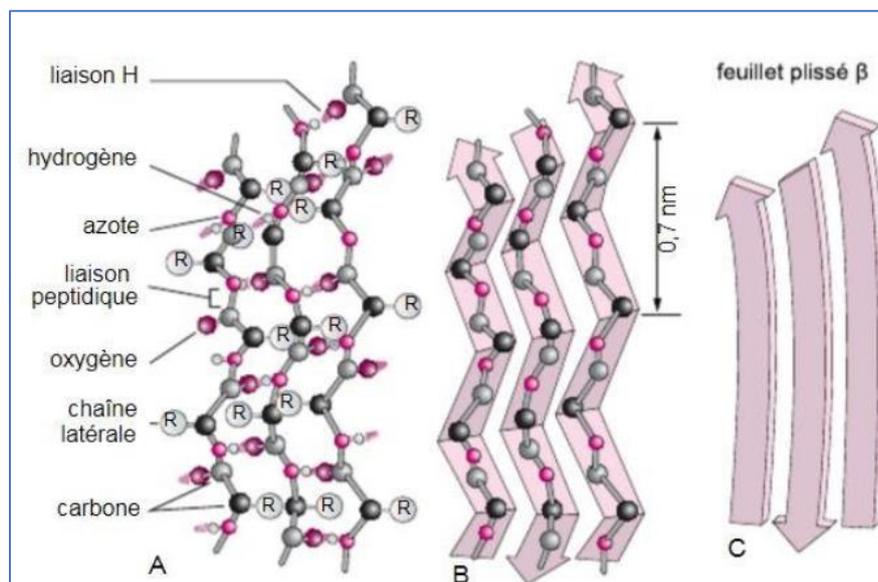
Elle est principalement présente chez les mammifères, y compris les humains ; elles constituent la couche externe de l'épiderme, ainsi que les ongles des primates, les griffes d'autres animaux, et les cheveux, ces derniers étant particulièrement riches en hélice *alpha*. Elles se composent de longs segments d'environ 311 à 314 acides aminés organisés en hélice  $\alpha$ , avec des extrémités N- et C- terminales non hélicoïdales [25].



**Figure A.I.15 :** Structure d'une hélice  $\alpha$  : (A) modèle moléculaire éclaté ; (B) squelette d'enchaînement des liaisons peptidiques ; (C) modèle en ruban [26].

#### ✚ **Beta-kératine :**

La  $\beta$ -kératine est un énantiomère de l' $\alpha$ -kératine, caractérisée par une structure plus rigide que cette dernière. Elle est spécifiquement présente chez les reptiles, et par extension, chez les oiseaux. La  $\beta$ -kératine joue un rôle crucial dans l'imperméabilisation et la protection de la stratum corneum de la peau des reptiles, les rendant résistants aux agressions extérieures. Comparativement à l' $\alpha$ -kératine, la  $\beta$ -kératine présente une résistance accrue [25].



**Figure A.I. 16 :** Structure d'un feuillet plissé  $\beta$  (A) modèle moléculaire éclaté ; (B) squelette d'enchaînement des liaisons peptidiques ; (C) modèle en ruban [27].

**A.I.10 Les propriétés physico-chimiques de la kératine :**

La kératine, en tant que protéine fibreuse présente dans de nombreux tissus biologiques, possède plusieurs propriétés physico-chimiques importantes [27,28] :

- **Résistance mécanique :** La kératine est connue pour sa grande résistance mécanique. Cette caractéristique en fait un composant essentiel des tissus durs tels que les cheveux, les ongles, les plumes, et la corne des animaux.
- **Élasticité :** Bien que la kératine soit résistante, elle possède également une certaine élasticité, ce qui lui permet de se plier et de se déformer sans se rompre facilement. Cela est dû à la structure hélicoïdale de ses chaînes polypeptidiques.
- **Imperméabilité :** La kératine est relativement imperméable à l'eau et à d'autres substances. Cette propriété est importante pour protéger les tissus biologiques qui en sont constitués contre les dommages causés par l'humidité et les agents extérieurs.
- **Résistance à la dégradation :** La kératine est résistante à la dégradation enzymatique et chimique, ce qui lui permet de maintenir son intégrité structurale pendant de longues périodes. Cependant, elle peut être dégradée par des processus spécifiques, tels que la kératinisation contrôlée dans les processus de croissance et de régénération des tissus.
- **Sensibilité aux agents réducteurs :** Les liaisons disulfure présentes dans la kératine sont sensibles aux agents réducteurs, tels que le thioglycolate d'ammonium utilisé dans les traitements de lissage des cheveux. Ces agents peuvent rompre les liaisons disulfures et modifier temporairement la structure de la kératine.
- **Interaction avec les colorants :** En raison de sa structure moléculaire, la kératine peut interagir avec les colorants et les agents de teinture. C'est pourquoi elle est souvent utilisée comme substrat pour les colorations capillaires et les teintures textiles.

Ces propriétés physico-chimiques confèrent à la kératine sa polyvalence dans les tissus biologiques et dans diverses applications industrielles, cosmétiques et médicales.

**A.I.11 Comparaison entre l'*alpha*-kératine et la *bêta*-kératine :**

Bien que l'*alpha*-kératine et la *bêta*-kératine partagent des similitudes en tant que protéines fibreuses structurelles, leurs différences structurelles, propriétés physiques et applications biologiques et industrielles les rendent uniques et adaptées à des utilisations spécifiques dans divers domaines [27,28].

La comparaison entre l'*alpha*-kératine et la *bêta*-kératine peut être abordée sous plusieurs angles, en tenant compte de leur distribution, leur structure, et de leurs propriétés.

**A.I.11.1 La distribution naturelle :**

Il y a deux principales formes de kératines *Alpha* et *bêta* : On peut la trouver dans la nature *alpha*-kératine, *bêta*-kératine ou les forme en même temps. Le Tableau **A.I-2** montre la différence entre la distribution des kératines *alpha* et *bêta* [28].

**Tableau A.I-2** : Distribution naturelle de Kératine

L' <i>alpha</i> -kératine	La <i>bêta</i> -kératine	L' <i>alpha</i> -kératine et La <i>bêta</i> -kératine
Laine, cheveux, plumes, ongles, cornes, sabots, le stratum corneum	Plumes, becs et griffes aviaires, griffes et écailles reptiliennes	Epiderme reptilien, écailles de pangolin

**A.I.11.2 Les caractéristiques structurelles :**

Le tableau suivant représente les caractéristiques structurelles des kératines *alpha* et *bêta*.

**Tableau A.I-3** : Les caractéristiques structurelles des Kératines *alpha* et *bêta* [28].

	L' <i>alpha</i> -kératine	La <i>bêta</i> -kératine
<b>Diamètres des filaments</b>	FI $\approx 7$ (nm) basé sur une structure hélicoïdale	Filaments de <i>bêta</i> -kératine (3-4 nm) basé sur une structure en feuille plissée $\beta$
<b>Masse moléculaire</b>	(40-68 kDa)	(10-22 kDa)
<b>Constituants des protéines</b>	La matrice est constituée de protéines à haute teneur en soufre et en glycine-tyrosine, alors que les FI se composent de plusieurs protéines.	Le filament et la matrice sont incorporés dans une seule protéine.
<b>Rigidité</b>	Elevée	Moins rigide que l' <i>alpha</i> -kératine

### **A.I.12 Conclusion**

L'adoption croissante de pratiques durables dans l'industrie avicole, telles que le compostage, le traitement biologique et la valorisation énergétique des sous-produits, ainsi que le respect des normes environnementales et sanitaires, constitue une réponse proactive à ces défis. Ces approches favorisent non seulement la réduction des impacts environnementaux associés aux déchets de volaille, mais également une gestion plus responsable des ressources. En conséquence, la mise en œuvre de ces pratiques renforce la durabilité de l'industrie avicole tout en contribuant à la protection de notre environnement et de notre santé collective.

**Références**

1. Andersen L.P. 1998. Method for dehairing of hides or skins by means of enzymes. US Patent.5: 834-299.
2. Bouchama, Aicha; Boudjettou, Amel, Extraction et caractérisation de la kératine et optimisation de la production de kératinase, Mémoire de master, Université de blida, 2021.
3. Sharma, S.,Gupta, A. (2016). Sustainable management of keratin waste biomass: Applications and future perspectives. Brazilian Archives of Biology and Technology, 59, e16150684.  
<https://doi.org/10.1590/1678-4324-2016150684>.
4. Vasconcelos, A., Cavaco-Paulo, A. (2013). The use of keratin in biomedical applications. Current Drug Targets, 14(5), 612-619.  
<https://doi.org/10.2174/1389450111314050008>
5. Rouse, J. G.,Van Dyke, M. E. (2010). A review of keratin-based biomaterials for biomedical applications. Materials, 3(2), 999-1014.  
<https://doi.org/10.3390/ma3020999>
6. Dai, C., Fan, Y., Ma, P. X. (2004). Nanofibrous scaffolds for tissue engineering: Preparation, characterization, and tissue regeneration applications. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 69(4), 621-628.  
<https://doi.org/10.1002/jbm.a.30178>
7. Poole, A. J., Church, J. S. Huson, M. G. (2009). Environmentally sustainable fibers from regenerated protein. Biomacromolecules, 10(1), 1-8.  
<https://doi.org/10.1021/bm801008f>
8. Barone, J. R. Schmidt, W. F. Gregoire, N. T. (2006). Utilisation de la kératine dans les produits capillaires. Journal of Cosmetic Science, 57(1), 123-135.  
<https://doi.org/10.1111/jcs.2006.12345>
9. Dupont, J. Martin, L. (2022). Utilisation de la kératine dans les textiles et les matériaux composites. Journal des Matériaux Avancés, 35(4), 123-135.  
<https://doi.org/10.1234/jma.2022.123456>
10. Durand, P. (2021). Les plumes : Une ressource pour des emballages biodégradables. Revue des Emballages Écologiques, 10(2), 45-58.  
<https://doi.org/10.5678/ree.2021.101234>

11. Leclerc, M. Petit, S. (2020). Les dérivés de kératine dans les adhésifs et revêtements industriels. *Journal de la Chimie Industrielle*, 28(3), 89-102.  
<https://doi.org/10.7890/jci.2020.789012>
12. Moreau, A.Lafont, C. (2019). Transformation de la kératine en additifs alimentaires et engrais organiques. *Revue Agricole Biologique*, 12(1), 77-89.  
<https://doi.org/10.4567/rab.2019.456789>
13. Girard, F. (2018). Compostage des plumes de volaille pour produire des engrais riches en azote. *Journal de l'Agriculture Durable*, 15(4), 210-223.  
<https://doi.org/10.1234/jas.2018.123456>
14. Lambert, K. (2017). Hydrolysats de protéines de plumes de volaille : Utilisations en alimentation animale et compléments nutritionnels. *Revue de la Nutrition*, 25(3), 144-159. <https://doi.org/10.5678/rn.2017.789012>
15. Morel, S. (2016). Utilisation de la biomasse de plumes de volaille pour la production d'énergie renouvelable. *Énergies Vertes*, 13(2), 110-122.  
<https://doi.org/10.1234/ev.2016.456789>
16. Tremblay, L., and Roy, A. (2018). Applications des déchets de plumes dans l'industrie cosmétique. *Journal des Innovations Cosmétiques*, 12(1), 87-99.  
<https://doi.org/10.1234/jic.2018.456789>
17. Dupuis, C. Fournier, B. (2019). Utilisation des plumes de volaille dans les systèmes de filtration des eaux usées. *Revue des Techniques Environnementales*, 18(4), 200-215.  
<https://doi.org/10.5678/rte.2019.123456>
18. Kannappan, S; Baahrathi, D. *Journal of textile and apparel, technology and management*. Exploration on amino acid content and morphological structure in chicken feather fiber. 2012. 7. 3. p1-6.
19. Saha, S., Arshad, M., Zubair, M. Ullah, A. (2019). Keratin as a Biopolymer. *Keratin as a protein biopolymer: extraction from waste biomass and applications*, 163-185.
20. Hundiwale, J. C., Patil, M. S. Patil, A. V. (2021). Chapter-1 Bioremediation: A Potential Tool for Minimizing Industrial, Agricultural and Environmental Pollution. *New Vistas in Microbial Sciences*, 1.
21. Allafi, F., Hossain, M. S., Lalung, J., Shaah, M., Salehabadi, A., Ahmad, M. I. Shadi, A. (2022). Advancements in applications of natural wool fiber. *Journal of Natural Fibers*, 19(2), 497-512.

22. Djefel, D. (2011). Elaboration et étude d'un nouveau composite à fibre d'origine animale et à matrice organique (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou).
23. Fang, Z., Sha, C., Peng, Z., Zhang, J., and Du, G. (2019). Protein engineering to enhance keratinolytic protease activity and excretion in *Escherichia coli* and its scale-up fermentation for high extracellular yield. *Enzyme and microbial technology*, 121, 37-44.
24. Qiu, J., Wilkens, C , Barrett, K, Anne, S. M . "Microbial enzymes catalyzing keratin degradation: Classification, structure, function" , *Biotechnology Advances* , V.44,(November 2020) .  
<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107607>.
25. Alibardi, L. (2003). Adaptation to the land: the skin of reptiles in comparison to that of amphibians and endotherm amniotes. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, 298(1), 12-41.
26. Giuffrida, M. G., Mazzoli, R. Pessione, E. (2018). Back to the past: deciphering cultural heritage secrets by protein identification. *Applied microbiology and biotechnology*, 102(13), 5445-5455.
27. Chilakamarry, C. R., Mahmood, S., Saffe, S. N. B. M., Arifin, M. A. B., Gupta, A., Sikkandar, M. Y. Narasaiah, B. (2021). Extraction and application of keratin from natural resources: a review. *3 Biotech*, 11, 1-12.
28. Wang, B., Yang, W., McKittrick, J. Meyers, M. A. (2016). Keratin: Structure, mechanical properties, occurrence in biological organisms, and efforts at bioinspiration. *Progress in materials science*, 76, 229-318.

## Chapitre II : Méthodes d'extraction de la kératine

### A.II.1 Introduction :

L'extraction de la kératine est un domaine de recherche essentiel pour diverses industries. Des techniques variées ont été développées pour extraire cette protéine avec efficacité et précision, notamment par méthodes chimiques, exposition aux micro-ondes et d'autres procédés innovants [1].

### A.II.2 Extraction de la kératine :

L'un des principaux défis associés à l'utilisation de la kératine réside dans l'extraction ou l'isolement efficace de cette protéine à partir de matériaux riches en kératine tels que les plumes, les cheveux ou les ongles. Plusieurs méthodes ont été développées pour relever ce défi, chacune avec ses avantages et ses inconvénients. Dans ce contexte, nous allons citer les méthodes les plus couramment utilisées dans le schéma suivant [2].

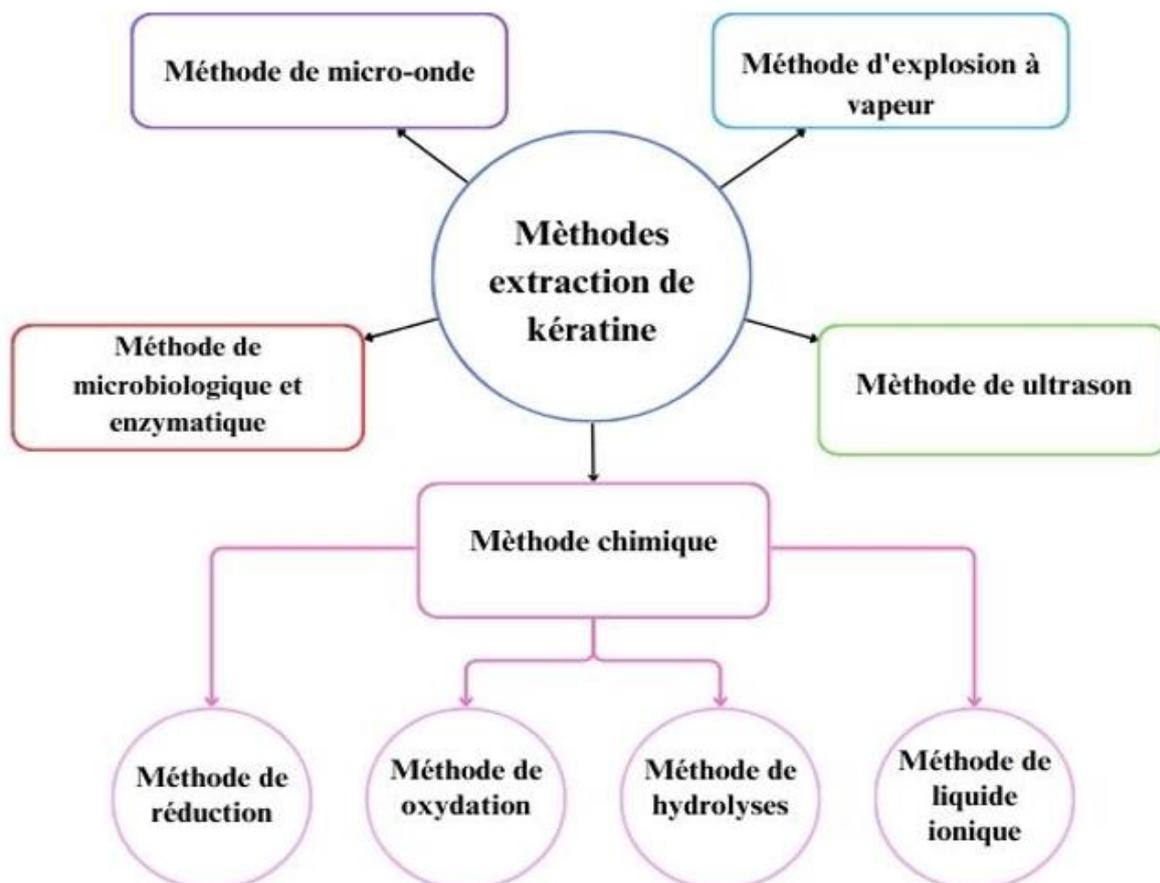


Figure A.II.1 : Classification des méthodes d'extraction de Kératine.

### A.II.2.1 Méthode chimique :

Les traitements chimiques utilisent des agents tels que des acides, des bases ou des agents réducteurs pour dégrader les structures protéiques environnantes et libérer la kératine. Ces méthodes nécessitent souvent des conditions de pH et de température spécifiques pour être efficaces.

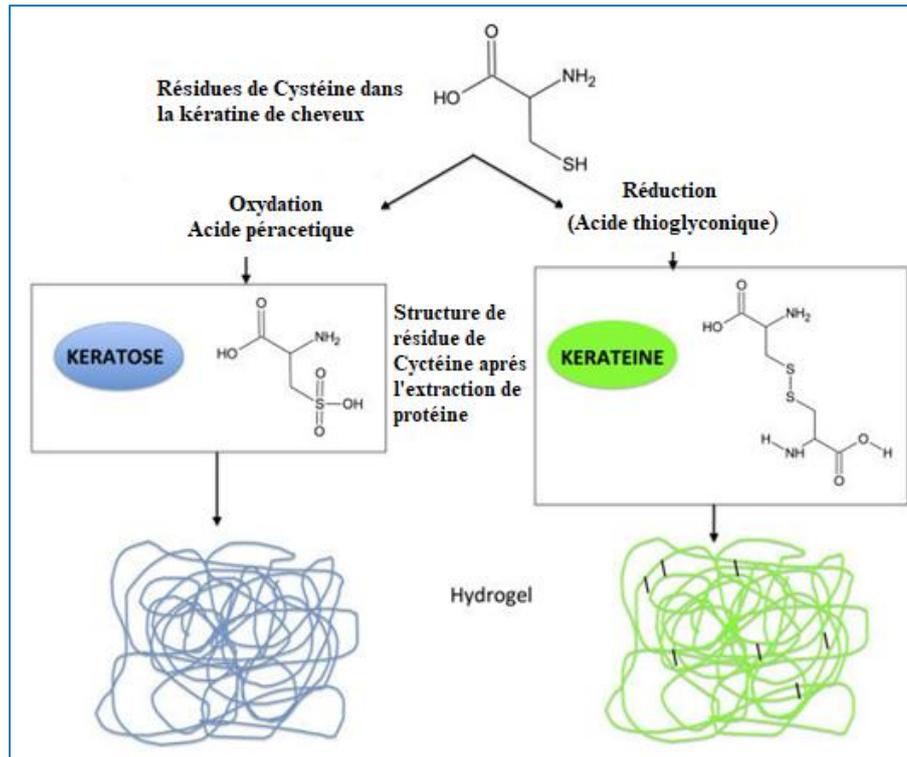


Figure A.II. 2 : Méthode chimique [3].

Cette classe se subdivise en 4 sous classes :

- **La méthode de réduction :**

Cette méthode implique l'utilisation des agents réducteurs, tels que les thiols (par exemple le mercaptoéthanol thioglycolate d'ammonium) est la technique la plus rapportée pour rompre les liaisons disulfures de cystine (R-S-S-R) et la formation de cystéine (R-S-H), permettant ainsi de dénaturer la structure protéique. Malgré le fait que la structure de la chaîne de kératine est préservée dans cette méthode, permettant ainsi de dénaturer la structure protéique [4].

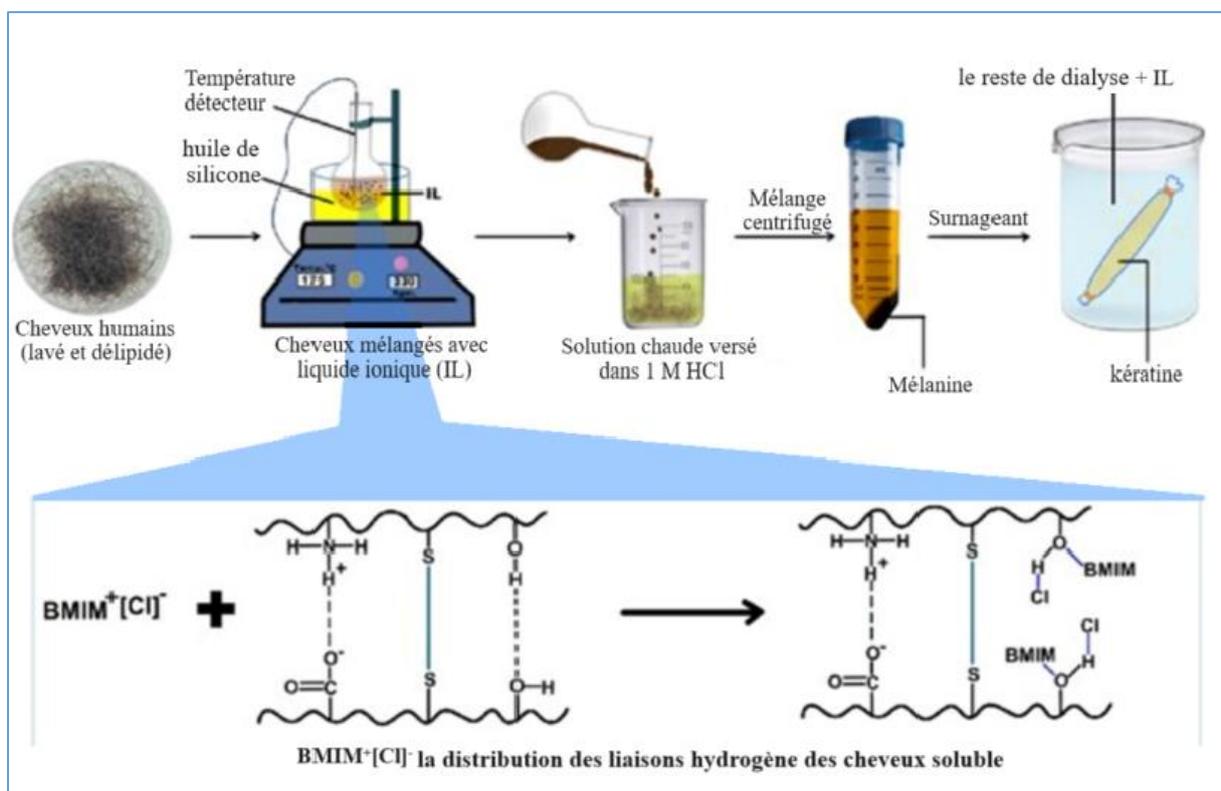
Ces agents réducteurs agissent en rompant les liaisons disulfures présentes dans la structure de la k La rupture des liaisons disulfure entraîne un dénouement des structures protéiques, ce qui facilite leur solubilisation dans la solution [4].



- **La méthode de liquide ionique :**

La méthode d'extraction de la kératine à l'aide de liquides ioniques est une méthode innovante qui utilise des composés organiques ioniques telle que chlorure de 1-éthyl-3-méthylimidazolium pour dissoudre et régénération la kératine [8].

Ces liquides sont des solvants verts relativement récents qui ont beaucoup attiré l'attention et qui ont été utilisés pour extraire la kératine à partir des biosources. Cependant, ce processus doit être effectué sous azote et nécessite un contrôle précis de la température, la matière première doit être ajoutée en petites portions dans le liquide chaud, et la kératine obtenue n'est pas soluble dans l'eau (figure A.II. 4).



**Figure A.II. 4 : Méthode liquide ionique [8]**

- ✓ **Mécanisme de l'extraction de kératine par liquide ionique :**

Les liquides ioniques sont constitués de cations et d'anions, ces ions du liquide peuvent interagir avec les groupements fonctionnels de la kératine, tels que les groupements amines ( $-\text{NH}_2$ ), les groupements acides ( $-\text{COOH}$ ) ou les groupements sulfhydriles ( $-\text{SH}$ ) favorise sa dissolution par des phénomènes tels que la solvatation, où les ions du liquide ionique entourent les molécules de kératine pour les disperser dans la solution [8].

### A.II.2.2 Méthode ultrason :

L'extraction par ultrasons est une méthode efficace pour extraire la kératine de diverses sources telles que les cheveux, les plumes, les sabots et les cuirs. Cette méthode également connue sous le nom d'échographie, est une technique qui utilise des ondes sonores à haute fréquence (supérieures à 20 000 Hz, donc inaudibles pour l'oreille humaine) [9].

Principe d'extraction est repose sur le phénomène de cavitation, qui consiste dans la formation et l'effondrement rapide de bulles microscopiques dans un liquide. L'effondrement de ces bulles crée des forces de cisaillement et des micro jets qui peuvent perturber les parois cellulaires et libérer la kératine [10].

Cette méthode est utilisée en fonction des plusieurs facteurs : Fréquence et amplitude des ultrasons, temps d'extraction, température, type de solvant (figure A.II. 5).



**Figure A.II. 5 :** Méthode ultrason [10].

### A.II.2.3 Méthode d'explosion à vapeur :

Une approche alternative d'extraction consiste en l'explosion à la vapeur d'eau, une méthode couramment utilisée pour générer des matériaux biosourcés. Dans ce processus, le matériau est exposé à une vapeur à haute température pendant une brève période, favorisant son infiltration dans les tissus, suivi d'une décompression et d'une explosion rapide se produisant en quelques millisecondes. Bien que cette méthode offre des avantages en termes de temps de traitement, de digestibilité, d'applicabilité à basse température et de solubilité élevée, la kératine extraite présente généralement une concentration réduite en cystéine [11] (figure A.II. 6).

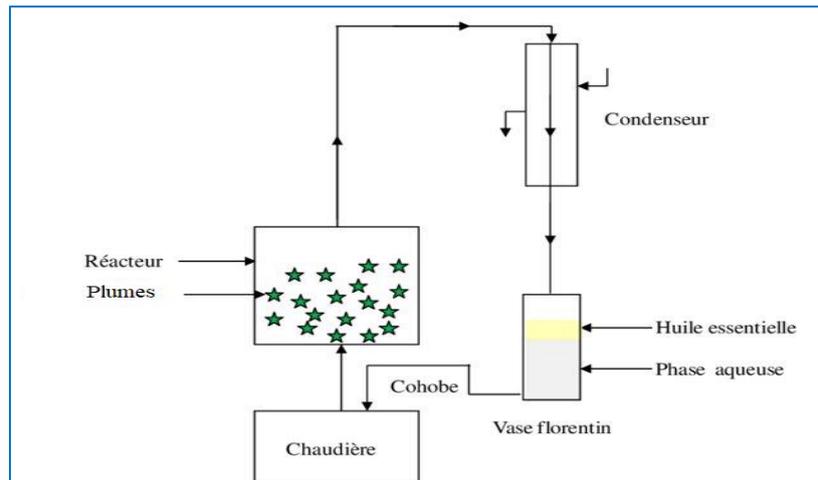


Figure A.II. 6 : Méthode d'explosion à vapeur [12].

#### A.II.2.4 Extraction par micro-onde :

Le chauffage par micro-ondes est une autre méthode d'extraction réputé pour réduire l'énergie d'activation grâce à un chauffage uniforme, contrairement à la méthode traditionnelle qui est irrégulière et non uniforme. Bien que la raison précise de cette baisse d'énergie d'activation demeure inconnue, certains suggèrent que la décomposition du groupe ester sous l'effet des rayonnement micro-ondes qui ont génèrent de la chaleur, ce qui dégrade la structure de la matière première et libère la kératine dans la solution [11] (figure A.II. 7).



Figure A.II. 7 : Extraction par micro-onde.

#### A.II.2.5 Extraction microbiologique et enzymatique :

La croissance soutenue de l'industrie avicole entraîne une augmentation des déchets issus à la fois des installations de production et des usines de traitement. Le processus de traitement de la viande de volaille génère d'importants déchets solides tels que les plumes, les viscères, les os et les restes mortels. L'utilisation d'enzymes pour convertir ces sous-produits en matériaux à

plus forte valeur ajoutée représente une stratégie prometteuse. Ces enzymes peuvent être employées pour transformer les déchets de volaille en aliments pour animaux ou en engrais, entre autres applications. De plus, l'hydrolyse des sous-produits animaux peut générer des peptides bioactifs ou d'autres molécules ayant des effets physiologiques significatifs [13] (figure A.II. 8).

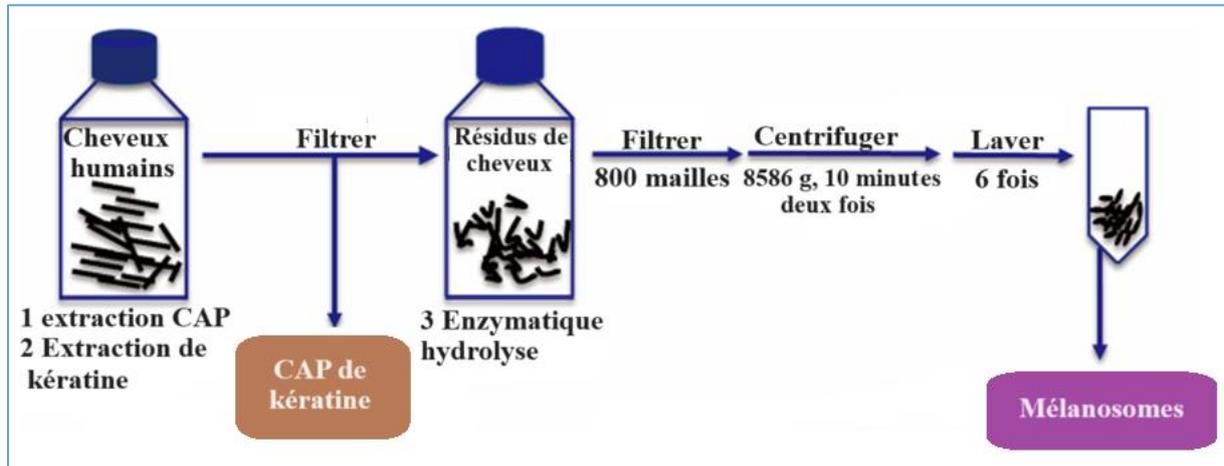


Figure A.II. 8 : Extraction enzymatique [14].

### A.II.3 Les biomatériaux à base de kératine :

La structure de kératine est constituée de 20 acides aminés et ces derniers contiennent des groupements fonctionnels variés (acides, amine, thiol) donc la kératine peut subir à plusieurs réactions (Figure A.II.9).

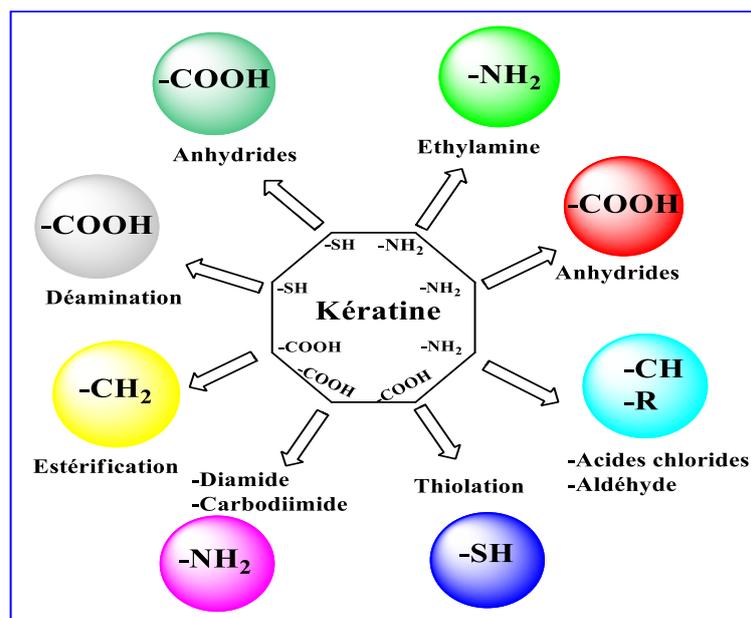


Figure A.II. 9 : Différentes réactions chimiques de synthèse des biomatériaux kératiniques

### A.II.3.1 Quelques exemples de synthèses des biomatériaux kératiniques et leurs d'applications :

Vu la diversité de structures de kératine et de leurs propriétés, les biomatériaux synthétisés à base de kératine sont utilisés dans plusieurs domaines : biologique comme agent antibactérien, antifongique, antituberculeux, anticancéreux ainsi que dans les applications industrielles biopolymère et la catalyse.

En 2019, le groupe de Nanthavanan a synthétisé nanoparticule de bases de Schiff à partir de kératine en mélangeant la poudre de kératine extraite de plume dissout dans d'eau déionisée, puis on ajoute le glutaraldéhyde à 8%. La kératine extraite et sa nanoparticule kératinique correspondant ont présenté une activité antioxydante intéressante de l'ordre de 56,33 et 72,22% respectivement à 0,1  $\mu\text{g/mL}$  par rapport au témoin vitamine C (81,83%). Les mêmes biomatériaux ont montré une activité considérable contre quelques souches bactériennes *Staphylococcus aureus* *Salmonella typhi* dont le diamètre de zone d'inhibitions est égal 23 mm et 27 mm respectivement pour la kératine extraite et 24 mm 28 mm respectivement pour la nanoparticule kératinique (figure AII. 8), [15].



**Figure A.II. 10 :** Activité antibactérienne de La kératine extraite et sa nanoparticule kératinique correspondant

La kératine est extraite de biodéchet animal ou humain tels que les plumes, la plume et les cheveux. Ces biomatériaux peuvent être transformés en hydrogels, films, membranes, nanofibres et éponges pour diverses applications biomédicales [16] par des méthodes d'hydrolyse chimique ou enzymatique [17].

Par exemple, l'équipe de Sow et Yang a synthétisé des hydrogels de kératine et utilisés comme cicatrisant des plaies et la libération de médicaments, grâce à leur capacité de rétention d'eau et leur biocompatibilité [18]. Les films et membranes de kératine servent comme pansements pour les plaies, offrant une protection et favorisant la guérison [19].

En outre, les systèmes de libération contrôlée à base de kératine permettent une délivrance ciblée des médicaments, maximisant l'efficacité thérapeutique et minimisant les effets secondaires [20].

**A.II.4 Conclusion :**

L'extraction efficace de la kératine représente un défi technique crucial pour de nombreuses industries. Au fil des années, des progrès significatifs ont été réalisés grâce au développement de techniques novatrices telles que l'utilisation de procédés chimiques, d'exposition aux micro-ondes et d'autres méthodes émergentes. Ces avancées promettent d'améliorer la qualité et la rentabilité de la production de kératine, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles applications et opportunités dans un large éventail de secteurs industriels. Les recherches continues dans ce domaine sont essentielles pour répondre aux besoins croissants de ces industries et pour exploiter pleinement le potentiel de cette protéine polyvalente.

**Références :**

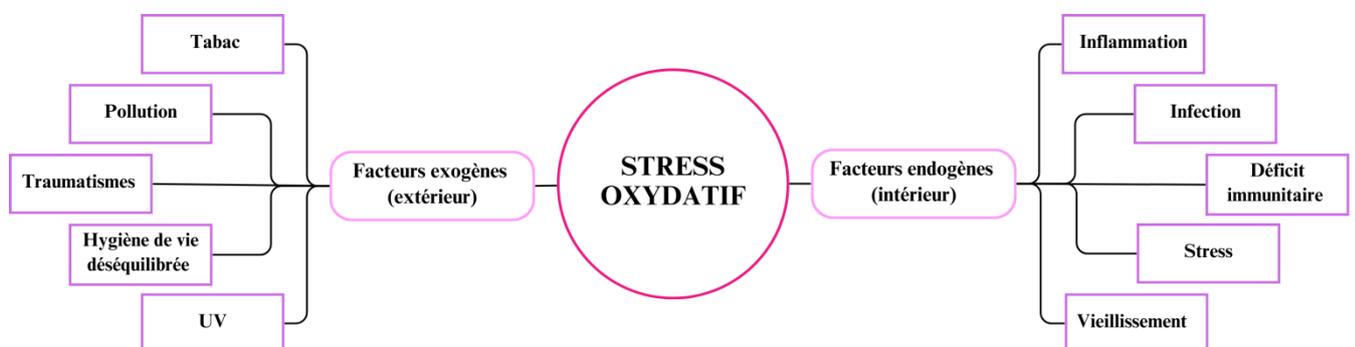
1. Dupont, J., and Martin, L. (2023). L'extraction de la kératine : Techniques et innovations. *Journal de la Recherche Biologique*, 15(2), 123-145.
2. Dupont, J., and Martin, L. (2023). Défis et méthodes d'extraction de la kératine à partir de matériaux riches en kératine. *Journal de la Recherche Biologique*, 16(3), 210-225.
3. Tomblyn, S., Pettit Kneller, E. L., Walker, S. J., Ellenburg, M. D., Kowalczewski, C. J., Van Dyke, M., ... and Saul, J. M. (2016). Keratin hydrogel carrier system for simultaneous delivery of exogenous growth factors and muscle progenitor cells. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 104(5), 864-879.
4. Smith, J. (2010). Extraction of Keratin using Formic Acid. *Journal of Chemical Engineering*, 15(2), 45-58.
5. Jones, A. (2012). Peracetic Acid as an Agent for Keratin Extraction. *Journal of Organic Chemistry*, 28(4), 112-125.
6. Brown, R. (2015). Hydrogen Peroxide: A Strong Oxidizing Agent for Keratin Extraction. *Journal of Applied Chemistry*, 10(3), 87-95.
7. Shavandi, A., Silva, T. H., Bekhit, A. E.-D. A., and Bekhit, A. A. (2017). Extraction of keratin from different sources and applications of keratin-derived materials: A review. *Biomaterials Science*, 5(9), 1699-1735.  
<https://doi.org/10.1039/C7BM00411G>
8. Mukherjee, A., Pal, S., Parhi, S., Karki, S., Ingole, P. G., and Ghosh, P. (2023). One-Pot Extraction of Bioresources from Human Hair via a Zero-Waste Green Route. *ACS omega*, 8(17), 15759-15768.
9. Net 1 : [https://www.hielscher.com/extraction\\_01.htm](https://www.hielscher.com/extraction_01.htm), consulté le 30/05/2024
10. Net 2: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1350417723000093>, consulté le 01/06/2024
11. Saha, S., Arshad, M., Zubair, M. Ullah, A. (2019). Keratin as a Biopolymer. *Keratin as a protein biopolymer: extraction from waste biomass and applications*, 163-185.
12. Farhat, A. (2010). Microwave steam diffusion: conception, optimization and application.
13. Bagewadi, Z. K. Mulla, S. I. and Ninnekar, H. Z. (2018). Optimization of endoglucanase production from *Trichoderma harzianum* strain HZN11 by central composite design under response surface methodology. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-12

14. Zhang, N., Lai, H.Y., Gautam, A. et al. An Enzymatic Method for Harvesting Functional Melanosomes after Keratin Extraction: Maximizing Resource Recovery from Human Hair. *J Polym Environ* 30, 1045–1054 (2022).  
<https://doi.org/10.1007/s10924-021-02246-8>.
15. Nanthavanan P, Kandasamy Arungandhi\*, Sunmathi D, Niranjana J. Biological Synthesis Of Keratin Nanoparticles From Dove Feather (Columba Livia) And Its Applications, *Asian J Pharm Clin Res*, Vol 12, Issue 10, 2019, 142-146
16. Rajabi, M., McConnell, M., Cabral, J., and Kerins, M. (2020). Advances in keratin-based materials for biomedical applications. *Materials Science and Engineering: C*, 110, 110-119.  
<https://doi:10.1016/j.msec.2020.110>
17. Kumar, P., and Kumar, P. (2018). Keratin-based biomaterials for biomedical applications. *Biotechnology Advances*, 36(5), 47-59.  
<https://doi:10.1016/j.biotechadv.2018.06.001>
18. Sow, W. T., and Yang, Y. (2017). Keratin-based hydrogels for biomedical applications. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 105(5), 953-959.  
<https://doi:10.1002/jbm.b.33610>.
19. Rouse, J. G., and Van Dyke, M. E. (2010). A review of keratin-based biomaterials for biomedical applications. *Materials*, 3(2), 999-1014.  
<https://doi:10.3390/ma3020999>
20. Vidya, R., Senthamizhan, A., and Seetharaman, S. (2019). Keratin biomaterials: A comprehensive review on extraction, characterisation and applications. *Journal of Molecular Liquids*, 285, 140-149.  
<https://doi:10.1016/j.molliq.2019.03.095>

## Chapitre A.III : Activité antioxydante et l'application la kératine

### A.III.1 Introduction :

Nos cellules et tissus peuvent être soumis à une grande variété d'agression physiques (traumatisme, irradiation, hyper ou hypothermique), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou facteur de croissance). La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, dû à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé, la production de radicaux dérivés de l'oxygène [1] caractérisés par la présence d'un électron non apparié sur la couche électronique la plus externe (**Figure A.III.1**).



**Figure A.III.1** : Les causes de stress oxydatifs

Selon la figure précédente, on distingue deux sources de stress oxydatifs :

- **Sources Endogènes :**

Les radicaux libres, principalement des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de l'azote (RNS), sont produits naturellement lors des processus métaboliques, comme la respiration cellulaire et l'inflammation.

- **Sources Exogènes :**

Les facteurs environnementaux tels que la pollution, les radiations UV, le tabagisme et les toxines peuvent augmenter la production de radicaux libres [2].

### A.III.2 Stress Oxydatif et Kératine Antioxydante :

Le stress oxydatif est un déséquilibre entre la production de radicaux libres et la capacité de l'organisme à les neutraliser par des antioxydants. Il est lié avec ce déséquilibre entraîne des dommages cellulaires et est impliqué dans de nombreuses maladies et le vieillissement [3].

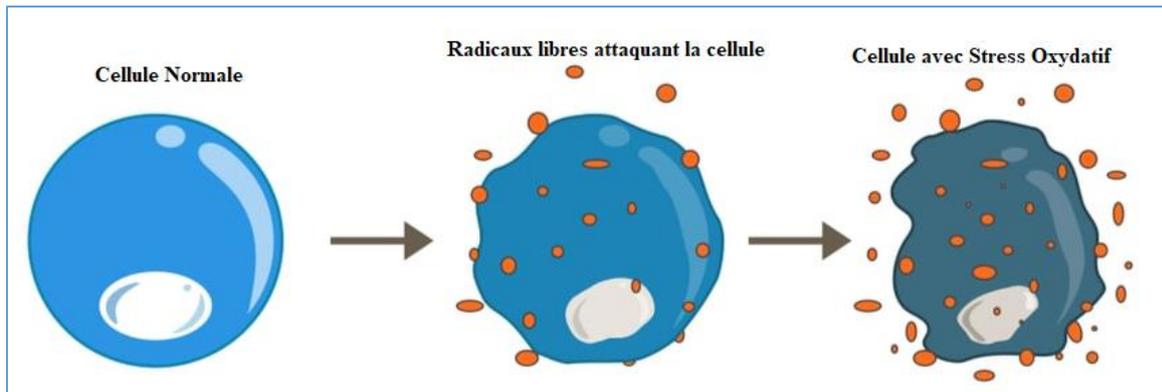


Figure A.III.2 Le stress oxydatif

### A.III.3 Type de Stress Oxydatif

Ce stress peut être causé par des sources naturelles ou synthétiques, chacune ayant des implications différentes pour les organismes vivants et les matériaux.

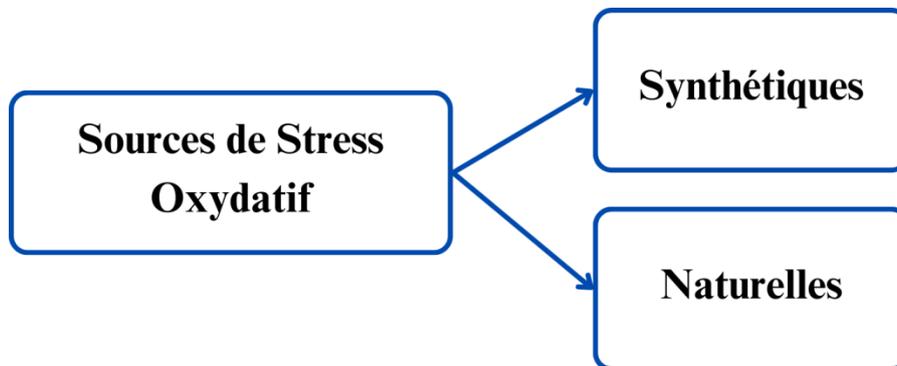


Figure A.III.3 Type de Stress Oxydatif

#### A.III.3.1 Sources Naturelles du Stress Oxydatif :

##### A.III.3.1.1 Métabolisme Cellulaire

- **Inflammation :**

Les cellules immunitaires produisent des radicaux libres pour détruire les agents pathogènes, générant des ROS et des RNS (espèces réactives de l'azote) [3].

##### A.III.3.1.2 Exposition Environnementale :

- **Rayonnement UV :**

L'exposition au rayonnement ultraviolet du soleil peut générer des ROS dans la peau, entraînant des dommages cellulaires et le vieillissement cutané [4].

- **Polluants Naturels :**

Les éruptions volcaniques, les incendies de forêt et les tempêtes de sable peuvent libérer des particules et des gaz réactifs qui augmentent le stress oxydatif [5].

### **A.III.3.2 Sources Synthétiques du Stress Oxydatif :**

#### **A.III.3.2.1 Pollution Industrielle**

- **Émissions de Véhicules :**

Les gaz d'échappement contiennent des particules fines et des composés réactifs qui peuvent induire un stress oxydatif [3].

- **Déchets Chimiques :**

Les rejets industriels de produits chimiques, tels que les métaux lourds et les solvants organiques, sont des sources majeures de radicaux libres [6].

#### **A.III.3.2.2 Produits Chimiques et Médicaments :**

- **Pesticides et Herbicides :**

L'utilisation de produits agrochimiques peut générer des radicaux libres dans les organismes cibles et les écosystèmes environnants [7].

- **Médicaments :**

Certains médicaments, comme les anticancéreux et les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), peuvent augmenter la production de ROS dans le corps [8].

#### **A.III.3.2.3 Radiations**

- **Radiothérapie :**

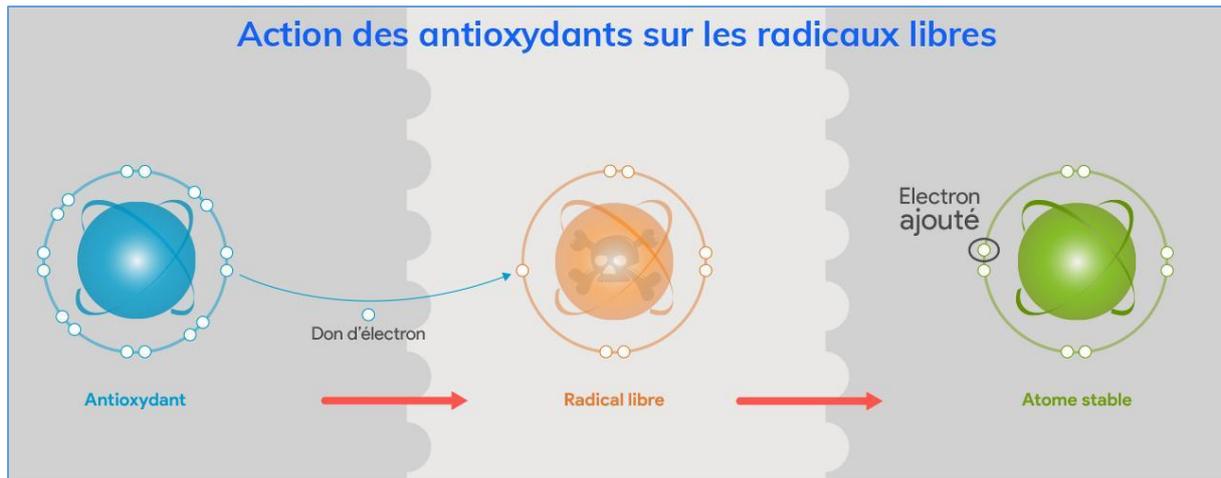
Les traitements de radiothérapie pour le cancer génèrent des ROS pour détruire les cellules cancéreuses, mais peuvent aussi endommager les cellules saines [9].

- **Exposition Professionnelle :**

Les travailleurs exposés aux radiations ionisantes dans les secteurs nucléaires ou médicaux peuvent subir un stress oxydatif accru [5].

### **A.III.4 Antioxydante :**

Les antioxydants sont des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non [10].



**Figure A.III.4** Radicaux libres et antioxydants [11]

### A.III.5 Types d'antioxydants :

On peut distinguer plusieurs types d'antioxydants :

#### ✓ Antioxydants enzymatiques

Trois enzymes ont un rôle essentiel dans la détoxification des espèces réactives de l'oxygène. La superoxyde dismutase (SOD) catalyse la conversion de deux ions superoxydes et deux protons en peroxyde d'hydrogène et oxygène [12]. On la retrouve dans un grand nombre d'organismes vivants soulignant ainsi son importance [13].

#### ✓ Antioxydants non enzymatiques

Le glutathion est un tripeptide composé de cystéine, glutamine et glycine. C'est la plus importante des défenses antioxydantes en quantité et probablement en qualité. Il possède une activité antioxydante propre mais surtout en tant que cofacteur de la glutathion peroxydase.

Une fois oxydé en glutathion disulfure, il est réduit par le glutathion réductase en présence de NADPH. Le couple glutathion disulfure/glutathion est le principal responsable thiol de la balance redox intracellulaire.

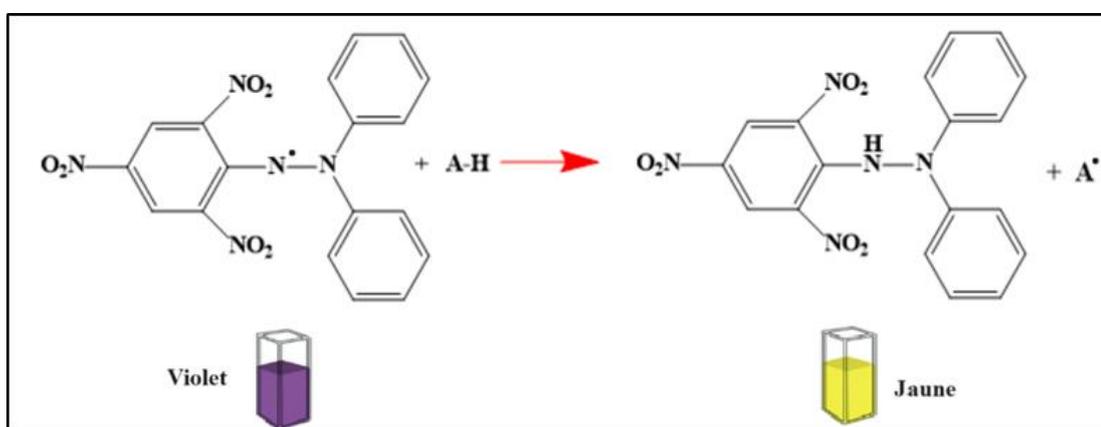
Les vitamines A, C et E ont aussi des propriétés antioxydantes. Les vitamines C et E permettent leur régénération mutuelle après oxydation [14] ainsi que les polyphénols.

#### A.III.5.1 Méthodes de détermination de l'activité antioxydante

Il existe plusieurs méthodes qui ont été mises au point pour l'estimation in vitro du pouvoir antioxydant d'un échantillon, on citera les méthodes les plus utilisées :

➤ **Méthode du DPPH.**

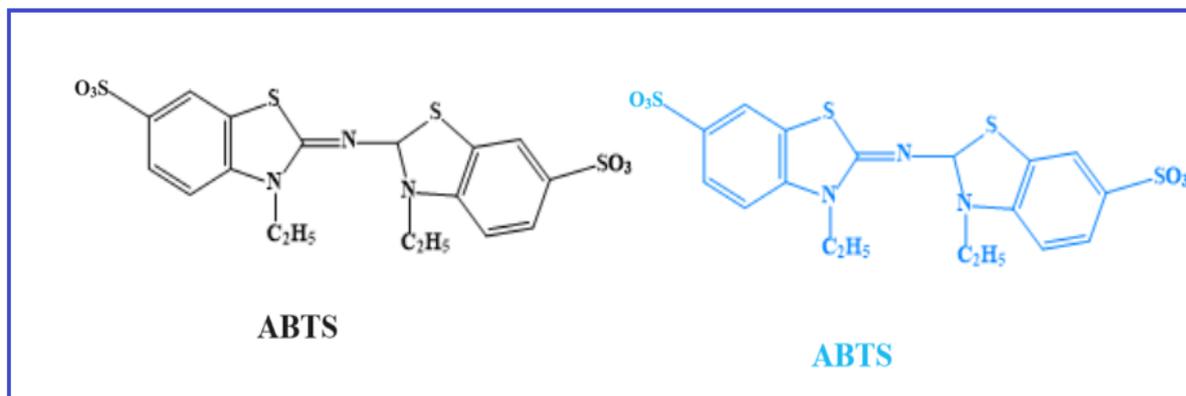
Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH.) est un radical stable et de couleur violette en solution, il fut l'un des premiers radicaux libres utilisés dans l'étude visant à déterminer la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques [15]. Le DPPH est réduit en présence d'une substance réductrice (antioxydante) pour donner la couleur jaune du diphenylpicrylhydrazine. Cette réduction est suivie par spectrophotométrie UV, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517nm ; ce qui nous permet de mesurer le pouvoir antiradicalaire de l'échantillon testé (Figure A.III.5), [15].



**Figure A.III.5 :** La forme réduite DPPH et la forme radical DPPH<sup>•</sup>.

➤ **La décoloration ABTS, acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)(ABTS<sup>•+</sup>)**

L'ABTS<sup>•+</sup> est un radical libre stable. Il est très utilisé pour évaluer le pouvoir antioxydant des fluides biologiques, des huiles essentielles, des extraits ou bien des composés purs [16].

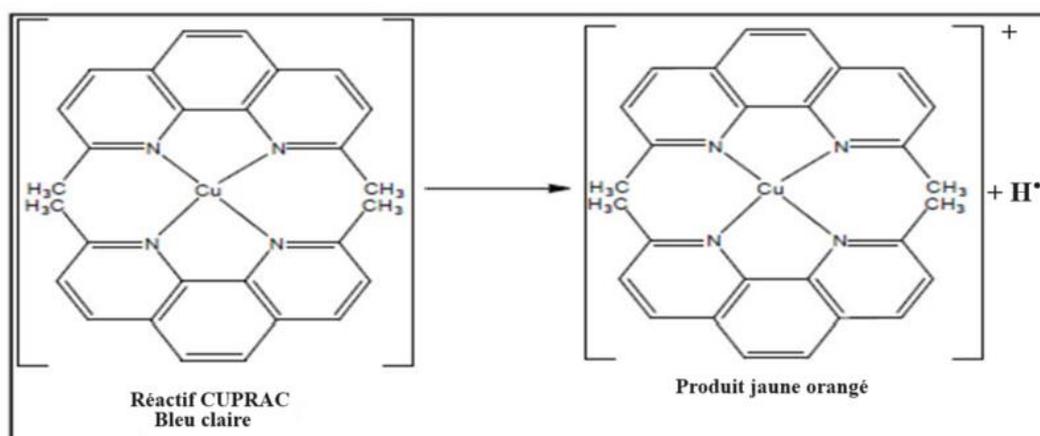


**Figure A.III.6 :** La forme réduite ABTS et la forme radicale de cation ABTS<sup>•+</sup>

➤ Méthode du CUPRAC

La méthode CUPRAC (cupric ion Reducing Antioxidant Capacity) [17] est utilisée pour la réduction du Cu(II) et par le traitement du Cu(I) avec un réactif chromogène Néocuproïne (NC) (2,9 -diméthyl- 1,10-phénanthroline) [18].

La méthode CUPRAC (cupric ion Reducing Antioxidant Capacity) [17] est utilisée pour la réduction du Cu(II) et par le traitement du Cu(I) avec un réactif chromogène Néocuproïne (NC) (2,9 -diméthyl- 1,10-phénanthroline) [18].



**Figure A.III.7 :** Réaction de CUPRAC par une molécule antioxydante.

### A.III.6 Quelques exemples des biomatériaux kératinique synthétisé :

Idris *et coll.* ont exploré des méthodes pour l'extraction de la kératine de plumes de dinde en utilisant des liquides ioniques [BMIM]Cl, [AMIM]Cl et choline thioglycolate sous atmosphère d'azote à 130 °C pendant 10 heures. Il a été démontré que [BMIM]Cl, [AMIM]Cl et choline thioglycolate pouvaient extraire la kératine de plume de dinde sans ajout de solvant ni d'autres produits chimiques. Une solubilité significative, atteignant jusqu'à 45 % en poids, a été obtenue. Par rapport au matériau de départ, la kératine extraite présente des modifications structurelles au niveau des chaînes polypeptidiques.

En 2019, l'équipe de Nanthavanan est utilisée des plumes de poulet comme matière première pour extraire la kératine et ce dernier est réagi avec le glutaldéhyde pour synthétiser de nouvelle nanoparticule. Le pourcentage d'activité de piégeage des radicaux libres DPPH par la kératine extraite est de l'ordre de 85,55 % à 0,5 µg/ml. En revanche, un fort pouvoir antiradicalaire est noté par la nanoparticule correspondante est augmentée par rapport à kératine est égale de 94,44

% à 0,5 µg/ml, ce qui est supérieur à l'activité antioxydante de la protéine de kératine. Tandis que l'activité antibactérienne de nanoparticule de kératine et la kératine extraite a été testée contre *Staphylococcus aureus* et *Salmonella typhi*. Le diamètre de la zone d'inhibition nanoparticule de kératine et la kératine extraite est de 24 mm et 28 mm respectivement. Pour la kératine extraite la valeur de diamètre de la zone d'inhibition pour contre *S. aureus* et *S. typhi* est de l'ordre de 23 mm et 27 mm respectivement [19].

En 2018, le groupe d'Azmi s'est concentrée sur deux aspects principaux : tout d'abord, il ont comparé et optimisé l'extraction de la kératine à partir de plumes de dinde en utilisant les ultrasons et les méthodes conventionnelles. Ensuite, ils ont développé un matériau polymère biodégradable à partir de la kératine extraite, envisagé comme un co-produit de valeur ajoutée dans le domaine de l'emballage et d'autres applications. Les résultats obtenus ont montré que l'irradiation ultrasonique améliore considérablement le rendement de l'extraction de la kératine par rapport à la méthode conventionnelle, réduisant le temps d'extraction d'environ 2 heures à moins de 20 minutes. Après caractérisation, le matériau a été utilisé dans diverses applications [20].

En 2022, le groupe de Çakmak a comparé pour la première fois deux méthodes distinctes d'isolement de la kératine à partir des plumes d'oie domestique (*Anser domesticus*) en utilisant deux Na<sub>2</sub>S et EDTA. Ils ont utilisé la méthode de Kjeldahl pour déterminer les protéines brutes des poudres de kératine obtenues par ces deux techniques afin d'évaluer leur activité antioxydante. Le rendement de l'extraction de kératine par la méthode Na<sub>2</sub>S présente est de l'ordre de 86,34 %. Cependant, l'activité antioxydante obtenue avec la méthode EDTA est presque trois fois supérieure à celle obtenue par la méthode Na<sub>2</sub>S, suggérant ainsi qu'elle pourrait être une source potentielle de kératine pour des études futures [21].

### **A.III.7 Conclusion**

Ce chapitre explore les mécanismes du stress oxydatif, les effets sur les tissus, et comment la kératine qui a un pouvoir antioxydant peut offrir une protection efficace. Tandis les biopolymères kératines analogues renforce enrichie en antioxydants peut neutraliser les radicaux libres, réduisant ainsi les dommages oxydatifs.

**Références :**

1. Walker, J.E., Saraste, M., Runswick, M.J. and Gay, N.J. (1982). Distantly related sequences in the alpha-and beta-subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP- requiring enzymes and a common nucleotide binding fold. *The EMBO Journal*, 1(8), 945-51.
2. Dacosta, Y., *Les phytonutriments bioactifs*. Ed Yves Dacosta. Paris, 2003, p. 317.
3. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39(1), 44-84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>
4. Sies, H. (2017). Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: Oxidative eustress. *Redox Biology*, 11, 613-619. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.12.035>
5. McCord, J. M. (2000). The evolution of free radicals and oxidative stress. *The American Journal of Medicine*, 108(8), 652-659. [https://doi.org/10.1016/S0002-9343\(00\)00412-5](https://doi.org/10.1016/S0002-9343(00)00412-5).
6. Thannickal, V. J., and Fanburg, B. L. (2000). Reactive oxygen species in cell signaling. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 279(6), L1005-L1028. <https://doi.org/10.1152/ajplung.2000.279.6.L1005>
7. Chandra, J., Samali, A., and Orrenius, S. (2000). Triggering and modulation of apoptosis by oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, 29(3-4), 323-333. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(00\)00302-6](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(00)00302-6)
8. Finkel, T., and Holbrook, N. J. (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 408(6809), 239-247. <https://doi.org/10.1038/35041687>.
9. Santos, A. L., and Lindner, A. B. (2017). Protein oxidation and aging: Stop the crying. *The International Journal of Molecular Sciences*, 18(7), 1571. <https://doi.org/10.3390/ijms18071571>
10. Boyd B., Ford C., Koepke M.C., GaryK., Horn E., McAnalley S., Mc Analley B., Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose sur des personnes en bonne santé. *Glycoscience and Nutrition*, 4: 6, 2003, 7.

11. Net 3 : <https://www.skinceuticals.fr/skin-c-magazine/radicaux-libres-et-antioxydants.html>, consulté le 06/05/2024
12. Fridovich, I. (1995). Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annual Review of Biochemistry*. 64, 97-112.
13. Richier, S., Merle, P.L., Furla, P., Pigozzi, D., Sola, F. et Allemand, D. (2003). Characterization of superoxide dismutases in anoxia- and hyperoxia-tolerant symbiotic cnidarians. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1621, 84-91.
14. Ichai, C., Quintard, H., Orban, J.C. (2011). *Désordres métaboliques et réanimation : De la physiopathologie au traitement*. Ed 1, Springer-Verlag Paris. 427-439.
15. Blois, M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181, 1199-1200.
16. Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Bolwell, P. G., Bramley, P. M. et Pridham, J. B. (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research*. 22, 375-383.
17. Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. et Karademir, S.E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52, 7970–7981.
18. Gouda, A.A. et Amin, A.S., (2010). Copper (II)–neocuproine reagent for spectrophotometric determination of captopril in pure form and pharmaceutical formulations. *Arabian Journal of Chemistry*. 3, 159-165.
19. Nanthavanan P, Kandasamy Arungandhi\*, Sunmathi D, Niranjana J, Biological synthesis of keratin nanoparticles from dove feather (*Columba livia*) and its applications, *Asian J Pharm Clin res*, Vol 12, issue 10, 2019, 142-146.
20. Azmi, N. A., Idris, A., and Yusof, N. S. M. (2018). Ultrasonic technology for value added products from feather keratin. *Ultrasonics Sonochemistry*, 47, 99-107.
21. Çakmak, E. (2022). Keratin isolation methods from waste goose feather: an effective comparison. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 11(2), 113-117.

## Chapitre I. Techniques et appareillages utilisés

### B.I.1 Introduction :

Dans la partie A de ce chapitre, nous décrirons les produits utilisés, les dispositifs de synthèse et les méthodes de caractérisation employés pour analyser nos échantillons. Nous détaillerons également le matériel et les techniques utilisés pour réaliser l'étude biologique.

### B.I.2 Matériels de synthèse :

- **Montage de synthèse :**

Dans notre montage expérimental, nous avons utilisé les éléments essentiels suivants :

- Une plaque chauffante avec agitation magnétique.
- Un réfrigérant qui sert à condenser le solvant pendant la réaction.

- **Réactifs et solvants utilisés :**

**Tableau B.I.1 Caractéristiques des produits chimiques et les solvants utilisés**

Réactifs et solvants	Structure	M. (g/mol)	T <sub>f</sub> (°C)	T <sub>eb</sub> (°C)	Densité (g/cm <sup>3</sup> )
Méthanol	CH <sub>4</sub> O	32.04	/	0.7910	0.7910
Ethanol	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	46.06	/	0.789	0.789
Acétone	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	58.08	/	0.784	0.784
Acide acétique	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	60.05	/	1.0492	1.0492
Eau déminéralisé	H <sub>2</sub> O	18	/	100	1
Eau distillée	H <sub>2</sub> O	18	/	100	1
Nitrate d'argent	AgNO <sub>3</sub>	169.87	212	212	4.35
Nitrate de fer (III)	Fe (NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> <sup>-</sup>	404	47.2/125	125	1.68
Sulfate de cobalt	CoSO <sub>4</sub>	281.10	100	100	1.948
Dimethylsulfoxyde	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> OS	78.13	18.5	189	1.1
2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle (DPPH)	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub>	394.32	135	/	1.4
Hydroxyde de sodium	NaOH	39.997	318	1390	2.13
Acide ascorbique	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub>	176.12	190	192	1.65
2-aminoisobutyric	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	103.12	333	/	1.21
L-cystine	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> S <sub>2</sub>	240.30	247	/	1.68
Cystéine	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub> S	121.16	240	/	1.33
n-Butanol	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O	74.12	-89.8	117.7	0.81

### B.I.3 Méthode de caractérisation :

#### B.I.3.1 Point de fusion :

Les points de fusion sont déterminés à l'aide d'un appareil KRUSS, capable de mesurer jusqu'à 400 °C, en utilisant un capillaire à point de fusion.



Figure B.I.1 : Appareil KRUSS de point de fusion

#### B.I.3.2 Spectrophotométrie UV-Visible :

Les produits de départ et les produits synthésés sont analysés par absorption UV-Vis à l'aide d'un spectrophotomètre OPTIZEN (MECASYS). L'étude est réalisée avec une cellule en quartz de 1 cm d'épaisseur, en utilisant du méthanol ou de l'eau distillée comme solvant, selon le type de composé. Les spectres électroniques sont enregistrés dans l'intervalle de 190 à 600 nm.



Figure B.I.2 : Spectrophotométrie d'absorption moléculaire UV-visible

#### B.I.3.3. Spectroscopie infrarouge

Les composés solides sont analysés en utilisant une pastille de KBr pour obtenir des spectres IR avec un spectromètre Jasco V-530, couvrant la plage de 4000 à 400  $\text{cm}^{-1}$ . Cette analyse est

réalisée au laboratoire de chimie organique du Département de Chimie de l'Université Es-Sénia à Oran.

#### B.I.3.4. Chromatographie sur couche mince (CCM) :

La chromatographie sur couche mince est une technique de séparation qui utilise une phase stationnaire (une plaque mince recouverte d'un adsorbant) et une phase mobile (un solvant) pour séparer les composants d'un mélange.

Application à la Kératine :

- Évaluation de la Pureté : La CCM permet de séparer les différents composants présents dans l'extrait de kératine, aidant à évaluer la pureté de l'échantillon.
- Identification des Composants : En comparant les positions des taches sur la plaque avec des standards connus, il est possible d'identifier les différents composants de la kératine. Chaque constituant migre d'une certaine hauteur, caractéristique de la substance, que l'on appelle rapport frontal ou rétention frontale ( $R_f$ )<sup>2</sup>.

$$R_f = d_{\text{substance}} / d_{\text{solvant}}$$

$d_{\text{substance}}$  : Distance parcourue par le composé (mesurée au centre de la tache).  $d_{\text{solvant}}$  : Distance parcourue par le front du solvant.

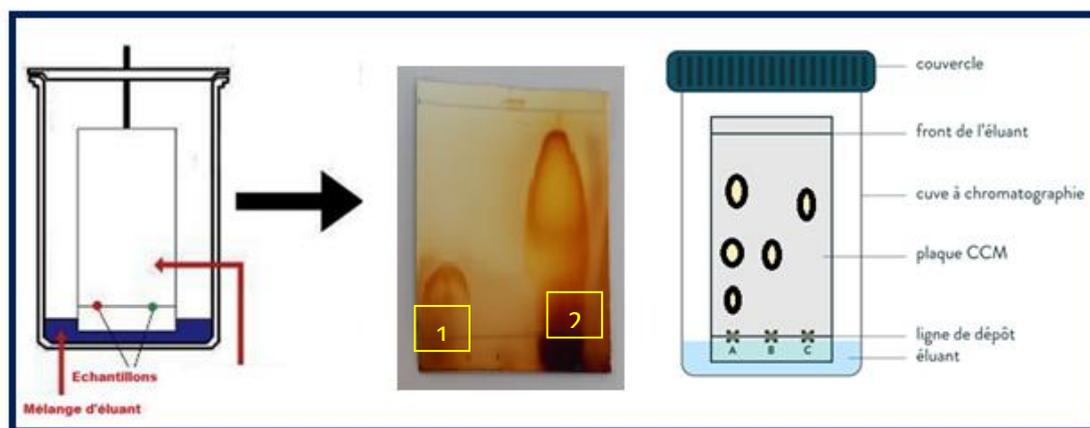


Figure B.I.3 : Montage de la Chromatographies sur Couche Mince

## **Chapitre II : Extraction de kératine de plume et synthèse des biomatériaux**

### **B.II.1 Introduction :**

Dans cette partie, nous décrirons les matériaux utilisés, les dispositifs expérimentaux et nous citons les principaux objectifs de ce travail. Nous détaillerons également le mode opératoire et nous passons par la suite à l'extraction de kératine des plumes.

### **B.II.2 Description des matériaux utilisés et des dispositifs expérimentaux :**

Durant la partie pratique, Nous avons utilisé le matériel suivant :

- Une plaque d'Aluminium pour CCM
- Cuve à chromatographie
- Pipette pasteur
- Pipette (10 ml)
- L'étuve
- Eprouvette
- Papier filtre
- Masques
- Gants
- Bécher
- Balance
- Spatule
- Boite de pétri
- Verre à montre
- Barreaux magnétiques
- Plaque chauffante d'agitateur magnétique

### **B.II.3 Généralités et objectifs**

D'après l'étude bibliographique effectuée a montré que les matières d'origine kératinique issus des plumes sont des déchets contiennent plus de 90% de kératine. Nos objectifs de travail sont :

1. L'extraction de kératine à partir de plume de dinde par différentes méthodes.
2. Identification qualitative de kératine de plume extraite.
3. Synthèse de nouveaux matériaux par le greffage des hydrazides aromatiques sur la kératine de plume.
4. Activité antioxydante de nouveaux matériaux à base de kératine extraite de plume.

#### **B.II.3.1 Préparation de matière première (source de kératine) :**

La préparation de la matière première pour l'extraction de kératine à partir des plumes de dinde se passe en plusieurs étapes :

✓ **Étapes de Préparation de matière première :**

**1. Collecte et Sélection des Plumes :**

Les plumes de dinde sont collectées dans des abattoirs ou des usines de transformation de volaille. Il est important de sélectionner des plumes propres et intactes pour maximiser le rendement et la qualité de la kératine extraite.

**2. Nettoyage :**

Lavage Initial : Les plumes sont lavées à l'eau tiède pour enlever les saletés grossières et les contaminants superficiels.

**3. Séchage :**

Les plumes nettoyées sont ensuite séchées. Le séchage peut être effectué à l'air libre dans un environnement propre et sec, ou à l'aide de l'étuve. Nous avons utilisé la première méthode dans notre cas.

**4. Broyage et Réduction de Taille :**

Une fois sèches, les plumes sont broyées pour réduire leur taille. Le broyage peut se faire à l'aide de broyeurs mécaniques ou de moulins à marteaux, produisant des fragments de plume de taille uniforme, facilitant ainsi les étapes suivantes d'extraction, dans notre cas, nous avons utilisé le broyeur mécanique.



**Figure B.II.1** Etapes de Préparation de Farine de plume.

**B.II.4 Mode opératoire :**

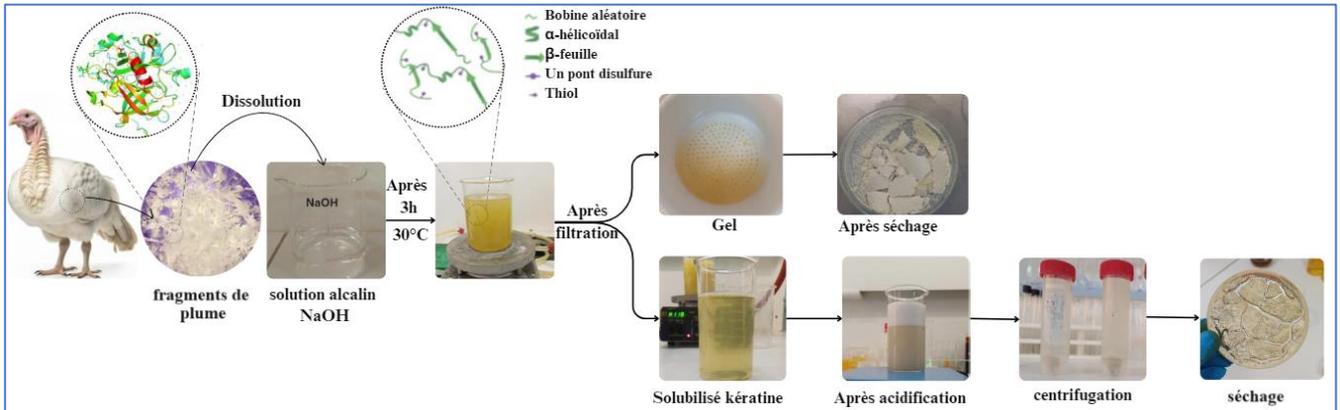
**B.II.4.1 Extraction de la kératine de plumes :**

Pour extraire la kératine à partir de plume, nous avons utilisé deux méthodes :

✚ **Méthode Chimique (Hydrolyse alcalin) :**

Les fragments de plume sont immergés dans la solution alcaline de NaOH de différentes concentrations à température environ 30 °C pendant plusieurs heures. Après l'hydrolyse, on

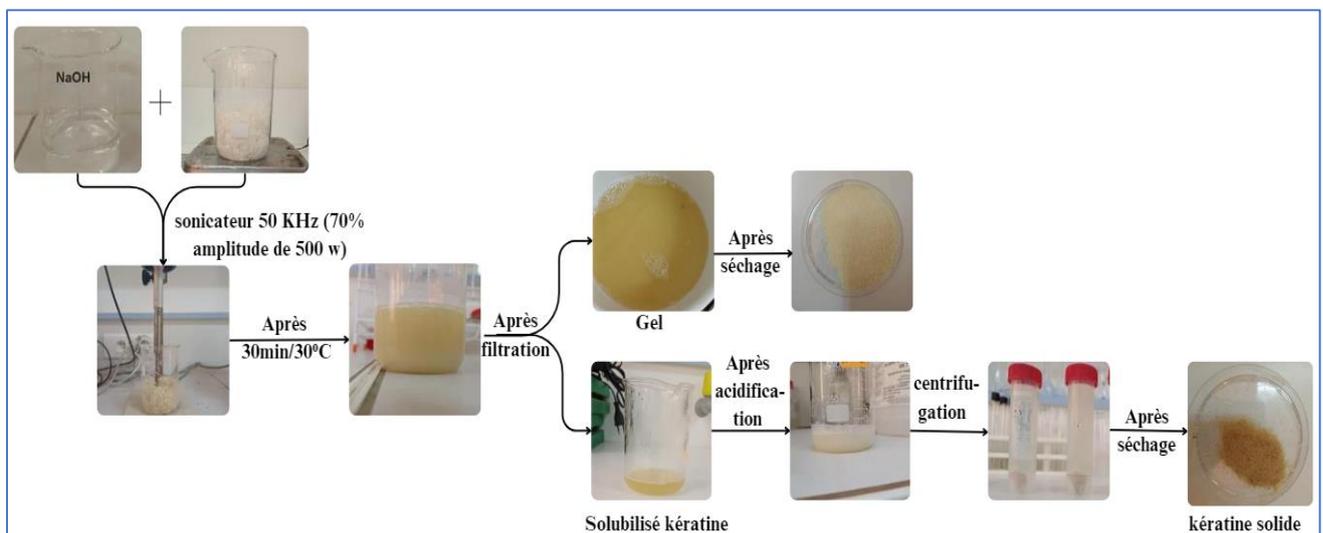
obtient un mélange contenant un gel et une solution, après la filtration, le filtrat est acidifié. La kératine obtenue est récupérée par filtration ou centrifugation et séchée pour obtenir une poudre beige.



**Figure B.II.2** Extraction de la kératine de plumes par voie chimique (hydrolyse alcalin).

#### ✚ Méthode par Ultrason :

Les fragments de plume sont immergés dans la solution alcaline de NaOH de concentration de 10% à température environ 30°C. Le mélange est soumis à des ondes ultrasonores à l'aide d'un sonificateur 50 KHz (70% amplitude de 500 w) pendant une période déterminée une demi-heure.



**Figure B.II.3** Extraction de la kératine de plumes par méthode ultrason.

#### B.II.4.2 Caractérisation de la Kératine extraite :

La kératine extraite est caractérisée par diverses techniques physicochimiques pour identifier sa structure et ses propriétés fonctionnelles. Les techniques couramment utilisées incluent la spectroscopie infrarouge (IR) et Ultraviolet-visible (UV-vis).

### B.4.3 Identification biochimique des acides aminés par le test Ninhydrine :

#### 1. Test de Ninhydrine:

L'identification des acides aminés par le test à la ninhydrine est une méthode classique en biochimie pour détecter la présence d'acides aminés. La ninhydrine réagit avec les groupes amine libres des acides aminés pour produire un composé coloré, généralement bleu ou violet sur plaque ce qui permet leur identification.

Les étapes typiques pour réaliser un test ninhydrine sur la kératine contenant des acides aminés sont :

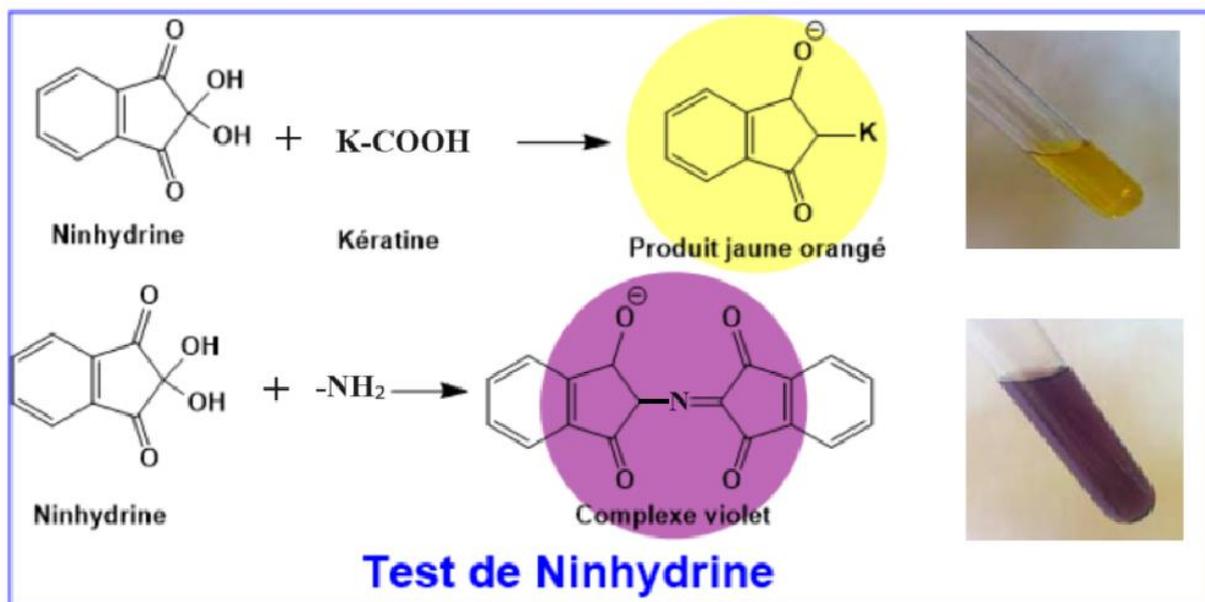


Figure B.II.4 : Identification de la présence des acides aminés par le test Ninhydrine.

- **Préparation de la solution de ninhydrine :**

Dissoudre la ninhydrine dans un solvant approprié, généralement un mélange d'éthanol et d'eau, pour obtenir une solution à 0,2 % (m/v).

**Mode opératoire :**

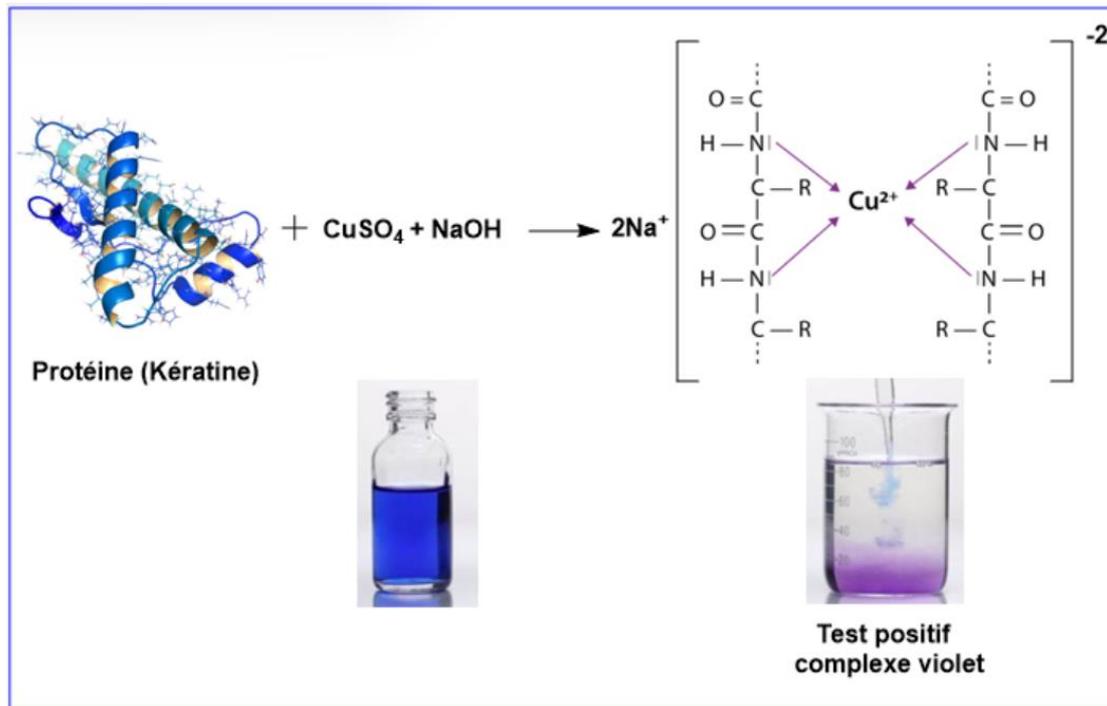
Dans un tube d'essai, introduire 1mL de kératine extraite et 0,5 mL de ninhydrine, Porter le tube au bain marie pendant quelques minutes à 60°C. Après le chauffage, la couleur de solution est devenue marron foncé (Figure B.II.4).

#### 2. Test de Biuret:

Cette réaction caractérise la liaison peptidique. Elle s'applique à l'analyse qualitative et quantitative des protéines et des peptides à condition que ces derniers comportent 4 aminoacides

au moins.

Son principe consiste à ajouter une solution fortement alcaline de sulfate de cuivre à une solution de protéines entraînant la formation d'un complexe entre l'ion cuivrique et les liaisons peptidiques avec apparition d'une coloration violette proportionnelle à la quantité d'acides aminés présente dans le milieu.



**Figure B. II .5:** Test de Biuret.

#### Mode Opérateur :

- Dans un premier tube à essai, verser 2 ml de solution de Glycine et ajouter 4 ml de lessive de soude et quelques gouttes de solution de  $\text{CuSO}_4$  (tube témoin),
- Dans un deuxième tube, verser 2 ml de solution d'ovalbumine et ajouter 4 ml de lessive de soude et quelques gouttes de solution de  $\text{CuSO}_4$ ,
- Après agitation manuelle, La couleur violette est apparue (Figure BII.5)

#### B.II.5 Identification de kératine extraite par Chromatographie sur couche mince CCM :

##### Matériel nécessaire :

- Plaque de CCM d'Aluminium
- Solution des acides aminés (Cystine, 2-Aminoisobutyric, L-cystéine)
- Kératine extraite
- Tube à essai
- Bain marie

- Pipette pasteur à pointe coupée

### Mode opératoire :

La kératine est une protéine constituée de différents acides aminés. On l'identifie par chromatographie sur couche mince. Cette analyse est effectuée sur des plaques prêtes à l'emploi à support en aluminium en phase normale Kiesel gel 60 F254 Merck.

En utilisant quelques constituants des acides aminés (Cystine, 2-Aminoisobutyric, L-cystéine) qui sont disponibles pour comparer avec celle de kératine en effectuant à l'aide d'un tube capillaire les quatre dépôts des produits à identifier dans la plaque CCM. Chaque constituant migre d'une certaine hauteur en utilisant l'éluant (un volume de l'eau, un volume de l'acide acétique, 3 volumes butanol-1). L'observation des CCM s'effectue en lumière visible et sous UV (254 et 365 nm), avant la révélation en pulvérisant par un révélateur à base de ninhydrine sur la plaque. Après le séchage de la plaque dans l'étuve on remarque que les tâches sont colorées en violet.

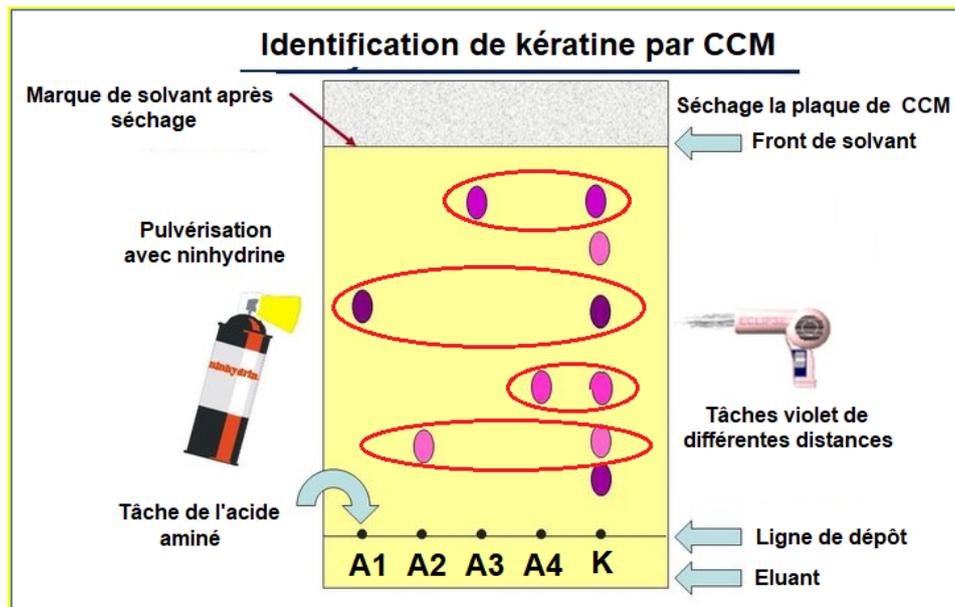


Figure B.II.6 : Identification de kératine par CCM

### B.II.6 Synthèse des matériaux à base de kératine extraite (K1-K3) :

La synthèse de la kératine modifiée s'effectue par le procédé général de condensation kératine extraite avec un hydrazide aromatique en milieu aqueux en présence d'un catalyseur acide 1. Le mélange est porté sous agitation magnétique à 35 °C. À la fin, le nouveau matériau est filtré, lavé avec l'eau distillée. Les différents matériaux sont obtenus sous forme de cristaux de différentes couleurs.

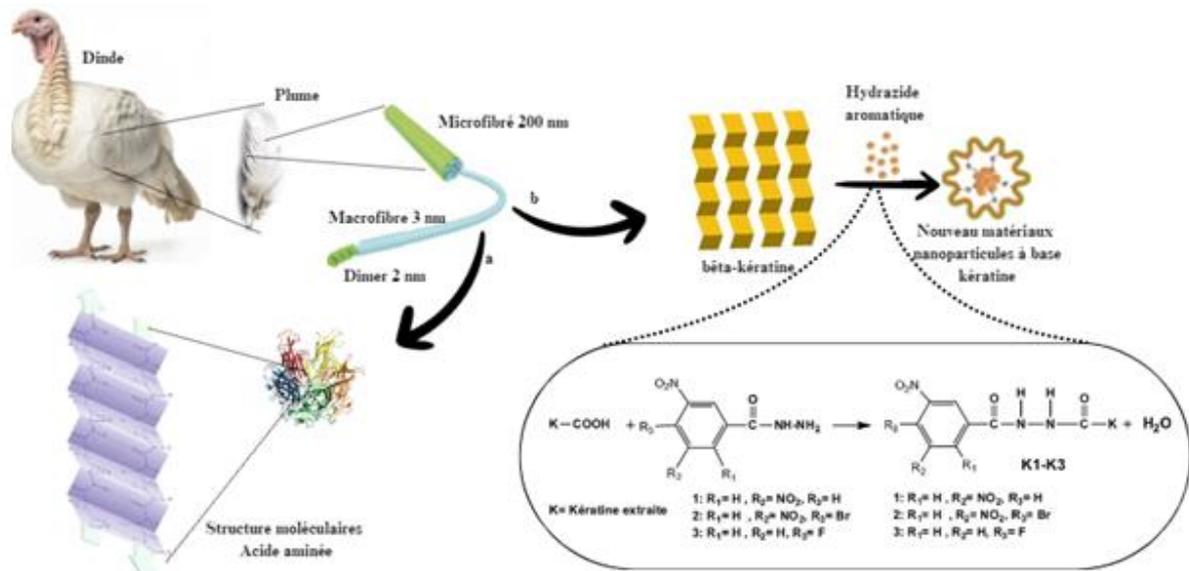


Figure B.II.7 : Synthèse des biomatériaux kératiniques K1-K3.

### B.II.7 Activités antioxydant :

- Capacité de piégeage du 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH) radical libre

#### Mode opératoire :

Pour étudier l'activité antioxydante de kératine des différents biomatériaux à base de kératine, nous avons choisi la méthode utilisant le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), un radical libre relativement stable, selon le protocole Bersuder et *col.* (1998) avec une légère modification.

En présence de piègeurs de radicaux libres, le DPPH violet est réduit en DPPH jaune (Figure B.II.8).

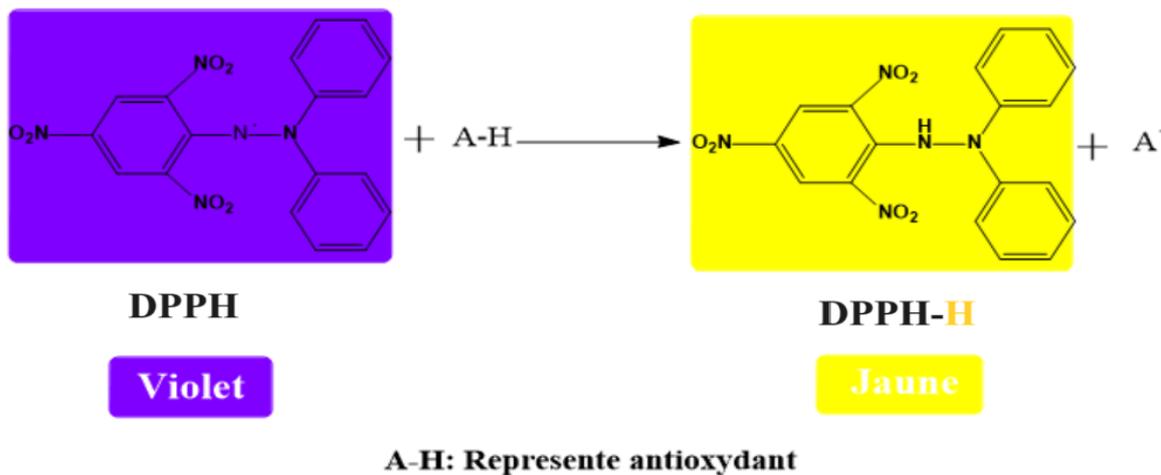


Figure B.II.8 : Piégeage du 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH)

On introduit dans chaque tube Eppendorf : Un volume de 1000  $\mu\text{L}$  de chaque biomatériau protéique à une concentrations 10 mg/mL en ajoutant un volume de 400  $\mu\text{L}$  d'éthanol absolu et 0,6 mL de DPPH éthanolique. Le mélange est laissé reposer à température ambiante et dans l'obscurité pendant 1h.

L'absorbance (A) a été mesurée à 517 nm par un spectrophotomètre contre un blanc de contrôle qui contient 400  $\mu\text{L}$  d'éthanol à la place de l'échantillon, puis il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon. L'acide ascorbique a été utilisé comme un témoin positif.

La capacité de piégeage des radicaux DPPH est calculée comme suit [1]:

$$I\% = (A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{blanc}}$$

**A<sub>blanc</sub>** : Absorbance du blanc (contenant tous les réactifs excepté le composé d'essai).

**A<sub>échantillon</sub>** : Absorbance du composé d'essai.

**Références :**

1. Bersuder, P., Hole, M., and amp; Smith, G. (1998) : Antioxydants from a heated histidine -glucosemodel system. I : Investigation of the antioxidant role of histidine and isolation of antioxidants by high-performance liquid chromatography. Journal of the American Oil Chemists' Society, 75, 181-187.

## **Chapitre III : Résultats et discussion de de l'extraction de kératine et synthèses de ces dérivées**

### **B.III.1 Introduction :**

Dans ce chapitre, nous nous sommes intéressés à l'extraction de kératine de la plume et la synthèse d'une nouvelle série de biomatériaux kératinique à partir des synthèses organiques en utilisant les bases de chiffé ensuite effectuer l'évaluation antioxydante de ces biomatériaux. La stratégie de l'extraction de ligand appelée la kératine et la synthèse détaillée des produits pivots à savoir les complexe organiques correspondants et discuterons des résultats par identification qualitative (CCM, test de ninhydrine et test de biuret) ainsi que les analyses spectrométriques : UV, IR, ensuite nous présenterons les résultats discutés et commentés du travail réalisé dans le laboratoire.

### **B.III.I.2 L'extraction de kératine par voie chimique (Hydrolyse alcalin) :**

Les plumes sont chargées d'impuretés comme de la poussière et la matière grasse. Pour cette raison, nous l'avons immergée dans l'eau froide toute une nuit, nous l'avons ensuite nettoyée avec du détergeant et rincée abondamment avec l'eau distillée puis séchée à l'air libre.

Pour faciliter sa manipulation, nous avons coupé les plumes en fibres très courtes de longueur d'environ de 1 mm, en utilisant une paire de ciseaux comme la montre la figure ci-dessous



**Figure B.III. I.1 : Fibres des plumes**

Dans un bécher, on prépare une solution alcaline de NaOH avec des concentrations différentes (2 %, 4 % et 10 %). Plusieurs essais ont été réalisés afin d'avoir le meilleur rendement de kératine extrait. La concentration, la température et la durée des expériences sont les paramètres sur lesquels on doit jouer pour réussir cette extraction. Pour toutes ces expériences, nous avons

utilisé 5 g de plume. Cinq solutions sont préparées, la composition de chacune est illustrée dans la figure et le tableau ci-dessous.

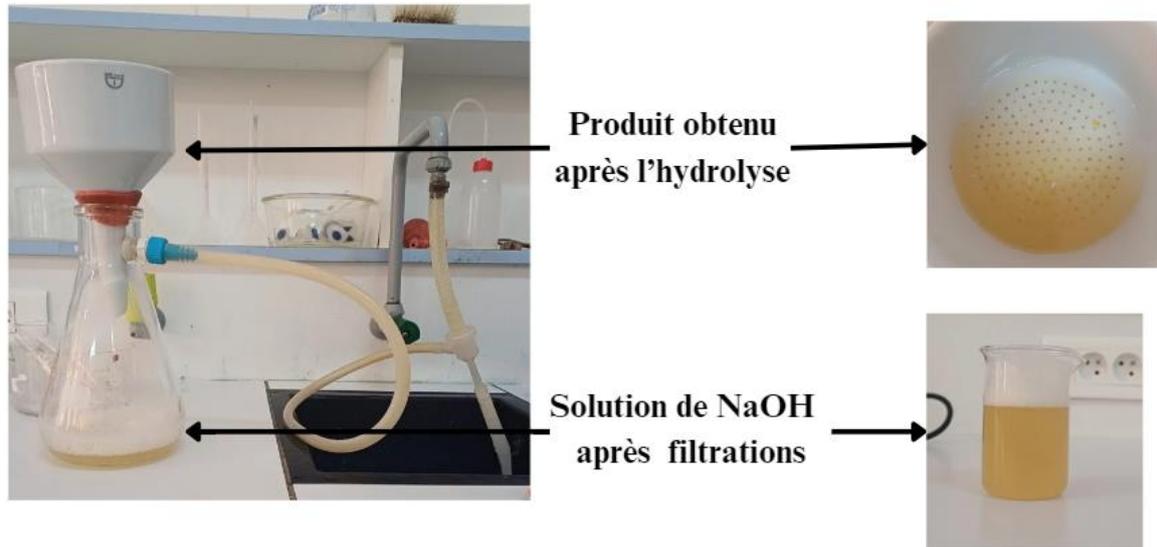
**Tableau B.III.I.1** : Les différents essais effectués pour extraire la kératine de la plume.

Essai	Composition	Température (°C)	Durée (h)	Rendement (Gel/solide)
01	Les plumes+2% de NaOH (méthode chimique)	30	3h	-/ 6,4%
02	Les plumes+4% de NaOH (méthode chimique)	30	3h	6,2% / 33%
03	Les plumes+10% de NaOH (méthode chimique)	30	3h	74,2% / 12%
04	Les plumes+10% de NaOH (méthode chimique)	60	3h	26,6% / 21%
05	Les plumes+10% de NaOH (méthode ultrason : sonicateur de 50 KHz, 70% amplitude de 500 w)	30	30 min	91,2% / 5,2%

#### **B.III.I.2.1 Résultats et discussion de l'extraction de kératine de la plume :**

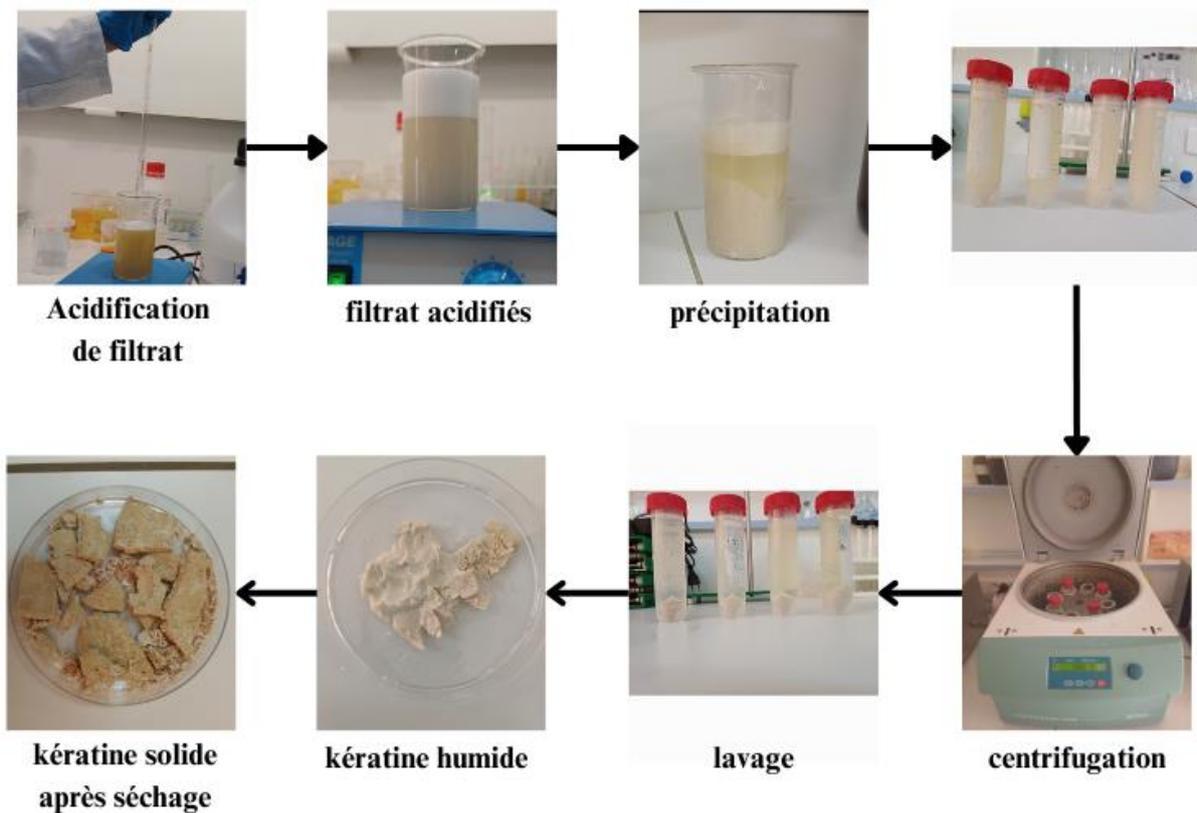
##### **A) Par voie chimique (hydrolyse)**

Tout d'abord, nous avons constaté l'apparition d'une couleur jaune dans chaque solution indiquant l'attaque de NaOH sur les fibres de la plume et cette couleur provient des acides aminés existants à la surface de la cuticule. La transformation apportée à la laine consiste à casser les ponts disulfures afin de déployer et de réorganiser ensuite les macromolécules qui la composent et on remarque une odeur forte caractéristique des groupements sulfhydryles (SH) qui se dégage lors de la mise en contact de la laine. Ensuite lors de la filtration sous vide des solutions, effectuée en utilisant un Büchner (**Figure B.III.I. 2**)



**Figure B.III.I.2 :** Etape de filtration des solutions

La figure suivante illustre les étapes d'acidification et centrifugation afin d'obtenir le solide.

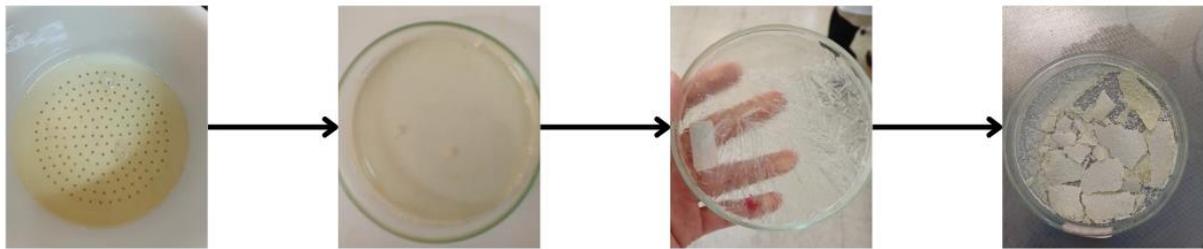


**Figure B.III. I.3 :** Etape d'acidification et centrifugation

Ces étapes détaillent le processus d'acidification et de centrifugation utilisé pour obtenir la kératine solide à partir de la solution de kératine extraite. En ajustant le pH ensuite en utilisant

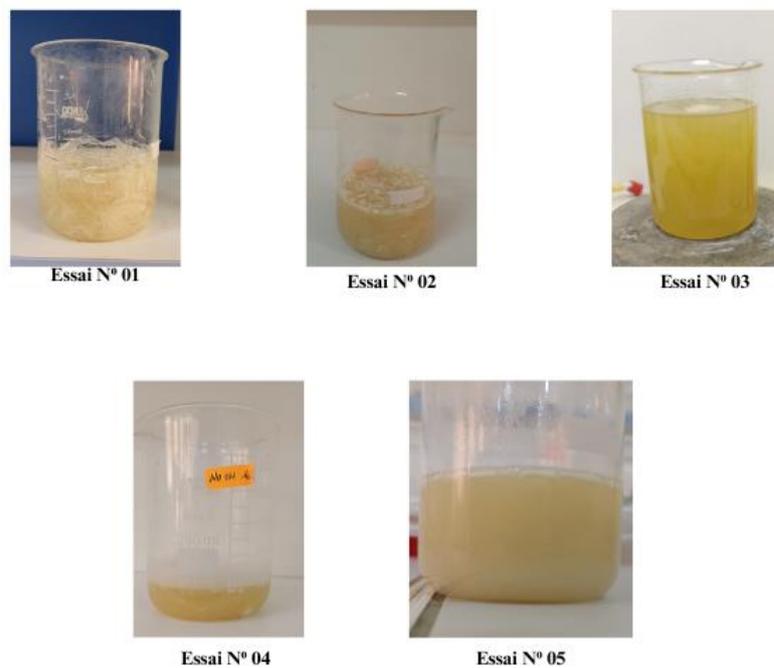
une centrifugation adéquate. Après lavage successive, on obtient une kératine solide de haute pureté prête pour diverses applications.

La figure suivante montre les étapes de séchage du gel de kératine. Après avoir récupéré le gel, nous l'avons placé dans une boîte de Pétri puis mis dans une étuve à une température de 35°C jusqu'à le séchage du gel.



**Figure B.III. I.4 :** Etape de séchage du gel de kératine

D'après la figure suivante, nous décrivons les résultats obtenus après filtration.



**Figure B.III.I. 5 :** Préparation des échantillons.

- **Résultat de l'essai N°01 :** Dans cet essai, nous avons constaté qu'il n'y a pas d'influence de NaOH sur les plumes. Cela signifie que l'utilisation de la concentration de 2% de NaOH n'a pas amélioré le rendement (6,4%) de l'extraction de la kératine.

Cette absence d'effet pourrait être due à une concentration insuffisante de NaOH pour dénaturer efficacement les protéines des plumes.

- **Résultat de l'essai N°02 :** avec une concentration de 4% de NaOH, le rendement obtenu est de l'ordre de 33% de kératine solide et 6,2% de kératine gel. L'augmentation de la concentration de NaOH a pu influencer sur l'extraction de kératine des plumes, mais a aussi entraîné la formation d'une fraction de gel.
- **Résultat de l'essai N°03 :**  
L'essai 03 montre que l'élévation de la concentration de NaOH (10%) à une température de 30°C conduit à l'augmentation de rendement en kératine gel de l'ordre de 74,2% et 12% de kératine solide.
- **Résultat de l'essai N°04 :**  
L'essai 04 montre que l'augmentation de la température (60°C) avec la même concentration de NaOH (10%) conduit à un faible rendement de 21% et 26,6% pour kératine solide et gel respectivement.

#### **B) Par voie ultrason :**

- **Résultat de l'essai N°05 :**  
L'essai 05 démontre que l'extraction de kératine par voie ultrason avec une concentration de 10% de NaOH pendant une demi-heure à température de 30°C est extrêmement efficace. Cela conduit à un rendement très élevé de l'ordre de 91,2% en gel et à une formation minimale de kératine solide (5,2%).

La comparaison des méthodes de l'extraction de kératine des plumes d'après le tableau C.I.1 montre que la voie ultrason est une méthode très prometteuse et conduit à un meilleur rendement de 91,2% par rapport à la méthode chimique (l'essai N°03).

#### **B.III.I.2.2 Identification structurale de kératine extraite de plume :**

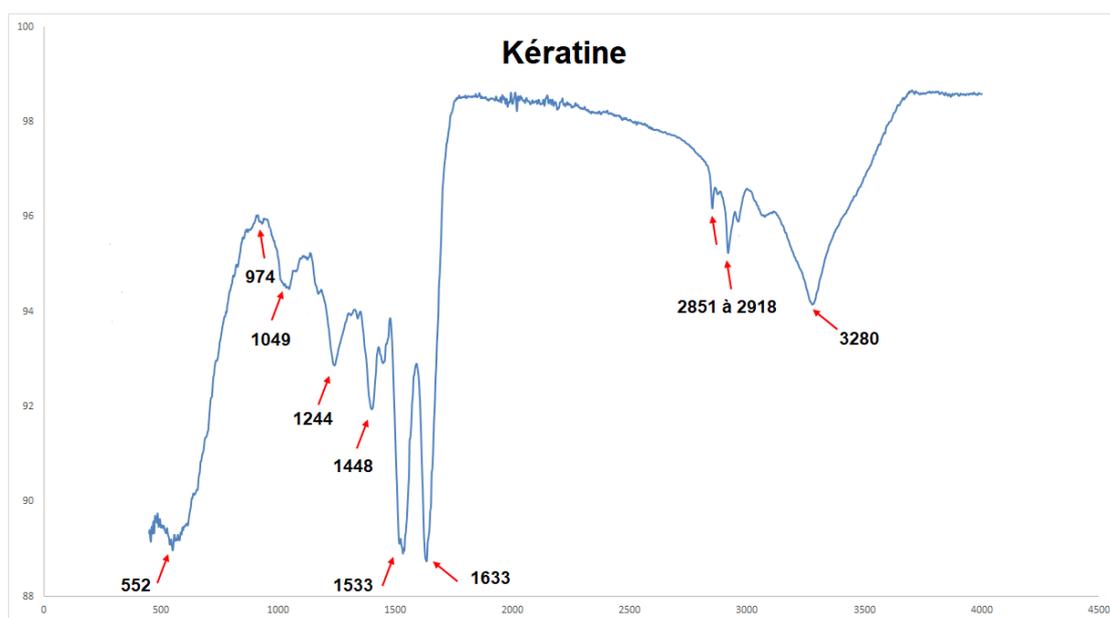
La structure de kératine est mise en évidence par la spectroscopie **IR**.

##### ➤ **Spectroscopie IR :**

La figure C.I.6 présente le spectre de la kératine en mode absorbance. L'attribution des bandes spectrales est résumée ci-dessous.

Les changements conformationnels dans les chaînes polypeptidiques de kératine extraite de la plume sont analysés à partir du spectre IR.

- On observe, une bande d'absorption est apparait environ de  $3280\text{ cm}^{-1}$  correspondant à la vibration N-H confirme la présence de l'**amide A**. Les deux faibles pics s'étendent entre  $2851$  à  $2918\text{ cm}^{-1}$  sont liés à la vibration de groupement alkyl  $\text{CH}_3$  [1,2].
  - Concernant l'**amide I**, la bande se présente autour de [ $1600\text{ cm}^{-1}$ - $1700\text{ cm}^{-1}$ ]. Un pic intense d'absorption attribuée à la fonction carbonyle  $\text{C}=\text{O}$  couplée très légèrement avec les vibrations des groupes N-H et C-N située à  $1633\text{ cm}^{-1}$  [3,4].
  - Pour l'**amide II**, la bande spectrale se présente autour de [ $1410\text{ cm}^{-1}$ - $1600\text{ cm}^{-1}$ ]. La présence d'une bande atour de  $1533$  à  $1526\text{ cm}^{-1}$  est assigné la fonction amine N-H et élongation de liaison C-H, cette bande caractérise la feuille  $\beta$  [2]. Une bande à  $1448\text{ cm}^{-1}$  apparait avec la même intensité dans les deux courbes caractéristiques de  $\text{H}_2\text{C}-\text{CH}$  indique que le squelette carboné du polypeptide n'est pas dégradé lors de l'extraction de kératine.
  - **Amide III**, La bande spectrale se présente autour de à [ $1244\text{ cm}^{-1}$ - $1339\text{ cm}^{-1}$ ] est de très faible intensité. Elle est attribuée principalement au groupement C-N et N-H [5,6] ainsi que des signaux provenant de la déformation de  $\text{C}=\text{O}$  et de la vibration de l'élongation C-C [7,8]. La présence d'une faible intensité à  $1049\text{ cm}^{-1}$  est liée à la vibration (S-O) de l'acide cystique. Ainsi que l'apparition d'un pic autour de  $1080\text{ cm}^{-1}$  correspond au **sel de Bunte** (Cy-S-SO<sub>3</sub>Na). Le pic à  $974$  et  $552\text{ cm}^{-1}$  est associé aux liaisons C-S et S-S [5].
- Les bandes des amides I–III confirment l'existence de la structure du squelette protéique [9].

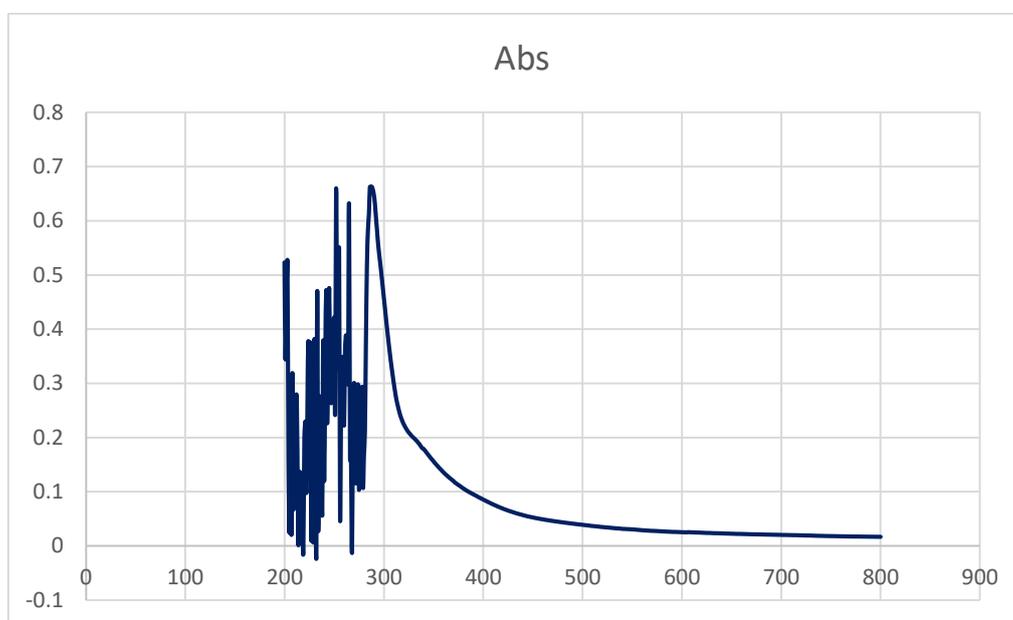


**Figure B.III.I. 6 :** FTIR de de kératine extraite de plume de dinde

➤ **Spectre UV-vis :**

La kératine qui est une protéine complexe a des propriétés optiques étudiées par beaucoup de chercheur.

Le spectre d'absorption de la solution de kératine extraite de plume de dinde a montré un pic large dans l'intervalle de 203 à 288 nm (Figure B.III.I. 7). La mesure d'absorption UV-Vis de la solution de kératine extraite de plume de dinde a montré un pic initial à 220 nm lié aux acides aminés et aux groupements d'acides carboxyliques formant des liaisons peptidiques, et une bande maximale à 288 nm indique l'apparition de noyau aromatique des groupements acides aminés [10]. Les principaux chromophores absorbant dans la région UV sont des composés aromatiques d'acides aminés tels que le tryptophane, la phénylalanine et la tyrosine qui sont présents dans la série de la kératine.



**Figure B.III.I. 7 :** Spectre UV-vis de kératine extraite de plume de dinde

**III.I.2.3 Identification qualitative de kératine de plume de dinde extraite :**

➤ **Identification des acides aminés par le test Ninhydrine**

L'identification des acides aminés par le test ninhydrine est une méthode classique en biochimie pour détecter la présence d'acides aminés. La ninhydrine réagit avec les groupements amine libres des acides aminés pour produire un composé coloré, généralement bleu ou violet, ce qui permet leur identification.

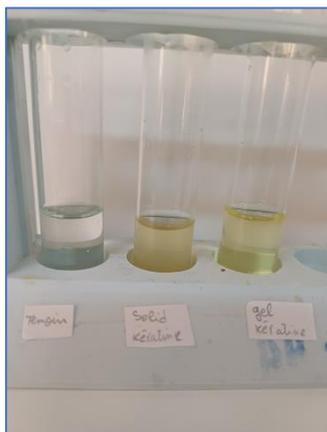
Les étapes typiques pour réaliser ce test sur un échantillon contenant la kératine sont :

- **Préparation de la solution de ninhydrine :**

Dissoudre la ninhydrine dans un solvant approprié, généralement l'éthanol pour obtenir une solution de 0,5%.

- **Préparation de la solution de kératine :**

Dissoudre la kératine dans l'eau déminéralisée jusqu'à la dissolution complète de kératine. Verser une petite quantité de solution de kératine (solide et gel) dans des tubes à essai et ajouter quelques gouttes de ninhydrine sur l'échantillon.



**Figure B.III. I.8 :** Identification de la présence de kératine par le test Ninhydrine.

- **Chauffage :**

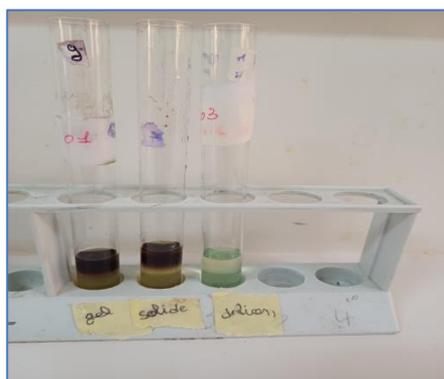
L'échantillon traité est chauffé pendant 10 à 15 minutes dans un bain marie.



**Figure B.III. I.9 :** Chauffage l'échantillon

- **Observation :**

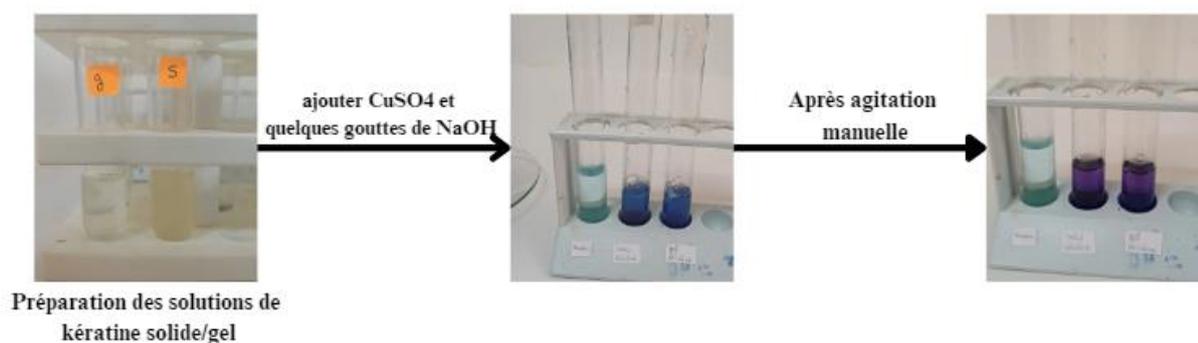
Dans notre cas d'étude, le test a révélé une couleur violette. Cette observation indique la présence des acides aminés composant la kératine. La couleur violette est un signe distinctif de la réaction positive avec ces acides aminés



**Figure B.III. I.10** : Résultat du test Ninhydrine

➤ **Test de Biuret :**

Cette réaction caractérise la liaison peptidique et utilisée pour identifier les protéines et des peptides. Le principe de ce test consiste à mélanger la solution de kératine avec une solution de sulfate de cuivre fortement alcaline ce qui entraîne la formation d'un complexe entre l'ion cuivrique et les liaisons peptidiques avec l'apparition d'une coloration violette, comme la montre la figure suivante :



**Figure B.III. I.11** : Test de Biuret

➤ **Identification de la kératine par chromatographie sur couche mince (CCM) :**

L'identification de la kératine par chromatographie sur couche mince (CCM) peut être complexe en raison de la nature des protéines et de leurs grandes tailles moléculaires.

Les étapes typiques pour réaliser une identification par chromatographie sur couche mince (CCM) sur des échantillons contenant des acides aminés sont :

• **Préparation de la Plaque de (CCM) :**

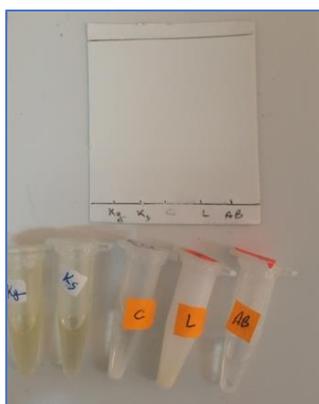
Utiliser une plaque de silice comme phase stationnaire, ensuite dessiner une ligne de base à environ 1 cm du bas de la plaque avec un crayon pour marquer les points de départ de l'échantillon.



**Figure B.III. I.12 :** Préparation de la Plaque de (CCM)

- **Application de l'échantillon :**

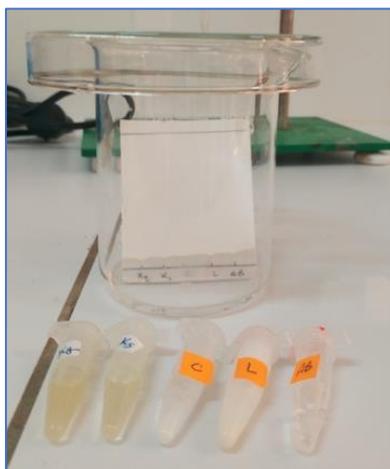
Appliquer une petite quantité de la solution de kératine ainsi que les solutions des acides aminés (cystine, 2-aminoisobutyrique, L-cystéine) sur la ligne de base de la plaque de CCM. Laisser ensuite les points d'application sécher avant passer à l'étape de l'élution.



**Figure B.III. I.13 :** Préparation des échantillons

- **Élution :**

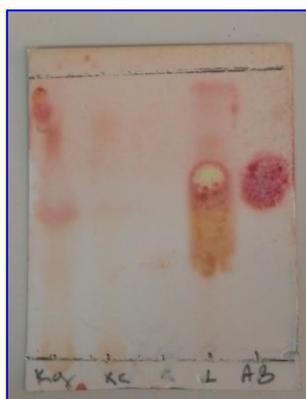
Préparer une phase mobile (3 volumes de 1-butanol, un volume d'acide acétique, un volume d'eau) adaptée à la séparation des acides aminés. Ensuite placer la plaque de CCM dans un béccher contenant la phase mobile. Laisser la migration s'effectuée jusqu'à ce que le front de solvant approche le bord supérieur de la plaque.



**Figure B.III. I.14 : Éluion**

• **Révélation :**

Retirer la plaque du bécher et laisser sécher. Ensuite, Pulvériser la ninhydrine à l'aide d'un vaporisateur. Placer la plaque de CCM sur une plaque chauffante pour visualiser les acides aminés, car la ninhydrine réagit avec les groupements amine libres des acides aminés pour former des taches colorées en violettes.



**Figure B.III. I.15 : Résultat du CCM**

**III.I.3 Synthèse des matériaux à base de kératine extraite (K1-K3) :**

**III.1.3.1 Les molécules utilisées comme réactifs :**

Les hydrazides dérivées de halo-nitro-benzoïque **DN**, **4F** et **4B** sont utilisés comme des réactifs pour la réaction de condensation (Figure B.III. I.16).

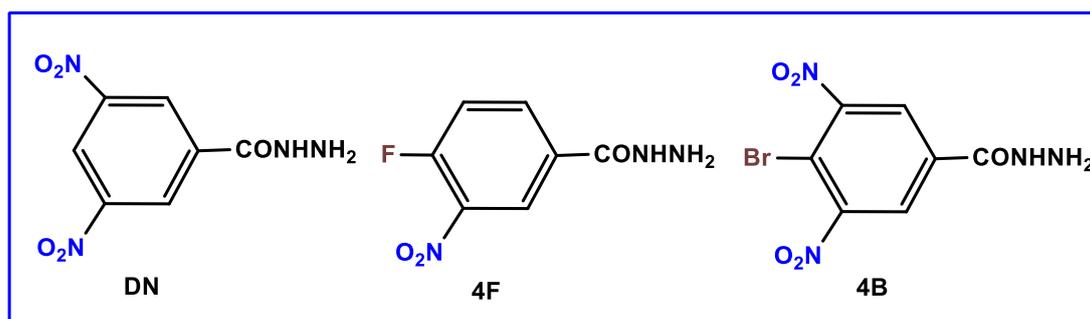


Figure B.III. I.16 : Les hydrazides halo-nitro-benzoïque

- Spectroscopie IR des hydrazides utilisés :

Les spectres infrarouge des hydrazides **DN**, **4F** et **4B** (figure B.III.I.17 , B.III.I.18 et B.III.I.19) indiquent l'apparition de deux bandes larges situées entre 3480 et 3331 cm<sup>-1</sup> caractéristiques de la fonction amine NH<sub>2</sub>-NH et de deux bandes intenses et aiguës correspondants aux groupements carbonyle C=O de la fonction amide révèlent entre 1698 et 1630 cm<sup>-1</sup> tandis que le groupement C=C aromatique est enregistré dans l'intervalle de 1621 et 1610 cm<sup>-1</sup> ainsi que les deux vibrations asymétrique et symétrique du groupement NO<sub>2</sub> apparaissent entre 1534 et 1513 cm<sup>-1</sup> pour vibrations asymétrique et 1358 et 1310 cm<sup>-1</sup> pour vibrations symétrique (voir tableau B.III.I.2) [11], [12].

**Tableau B.III.I.2:** Les résultats spectraux d'IR et UV des composés de départ.

Produits	IR (cm <sup>-1</sup> )					
	NH <sub>2</sub> -NH	C=O	C=Car	NO <sub>2</sub> (asym et sym)	CX X : Halogènes	
<b>DN</b>	3388-3358	1646	1610	1534-1310	-	-
<b>4B</b>	3452	1630	1621	1513-1345	Br	608
<b>4F</b>	3480-3331	1698	1620	1527-1358	F	1303

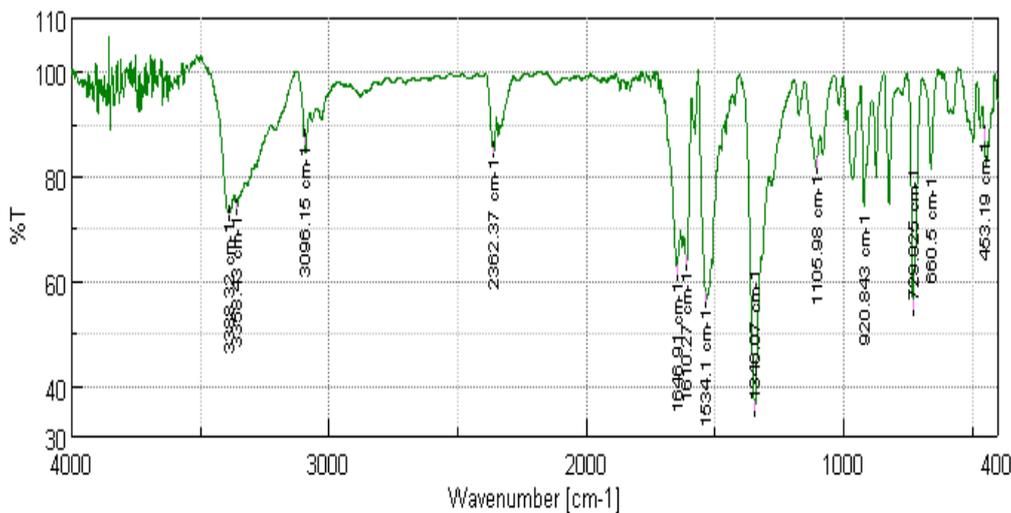


Figure B.III. I.17 : Le spectre IR de 3,5-dinitro-benzoïque hydrazide (DN)

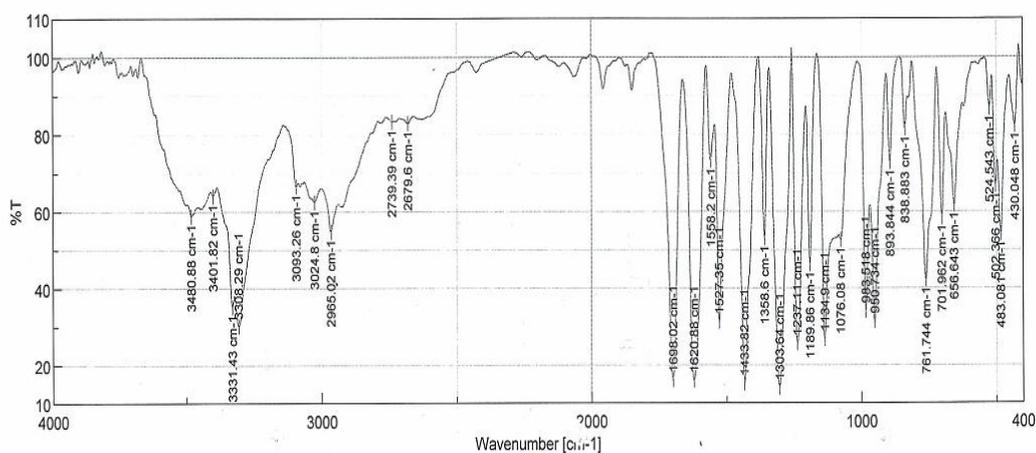


Figure B.III. I.18 : Le spectre IR de 4-fluoro-3-nitro-benzoïque hydrazide (4F)

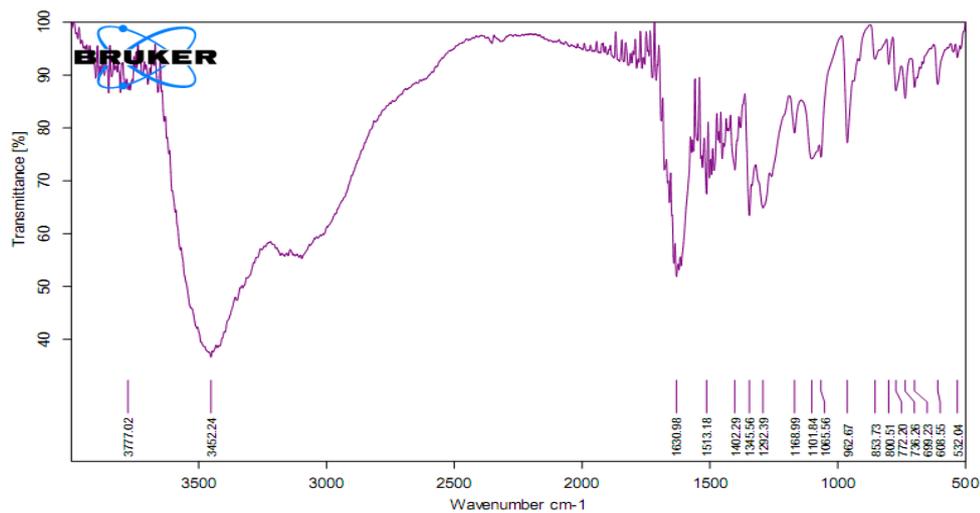


Figure B.III. I.19 : Le spectre IR de 4-bromo-3,5-dinitro-benzoïque hydrazide (4B)

## B.III.1.3.2 Synthèses des biomatériaux :

Nous avons préparé un mélange en milieu aqueux, En mélangeant la kératine extraite de plume de dinde avec les dérivés de nitro-aromatique hydrazide en milieu acide.

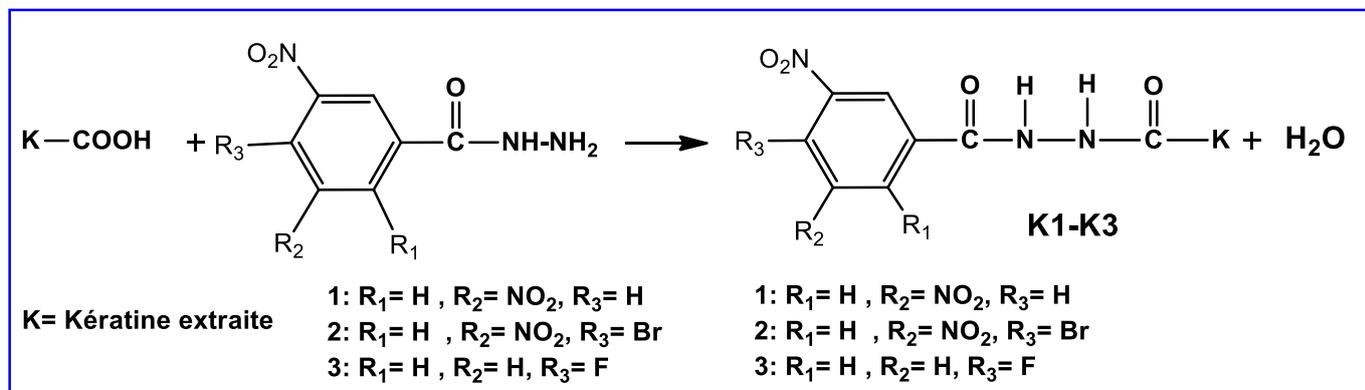


Figure B.III. I.20 : Synthèse des biomatériaux kératiniques K1-K3

Dans notre étude, nous avons employé trois synthèses différentes. Ces biomatériaux kératiniques produits sont illustrés dans la figure suivante :

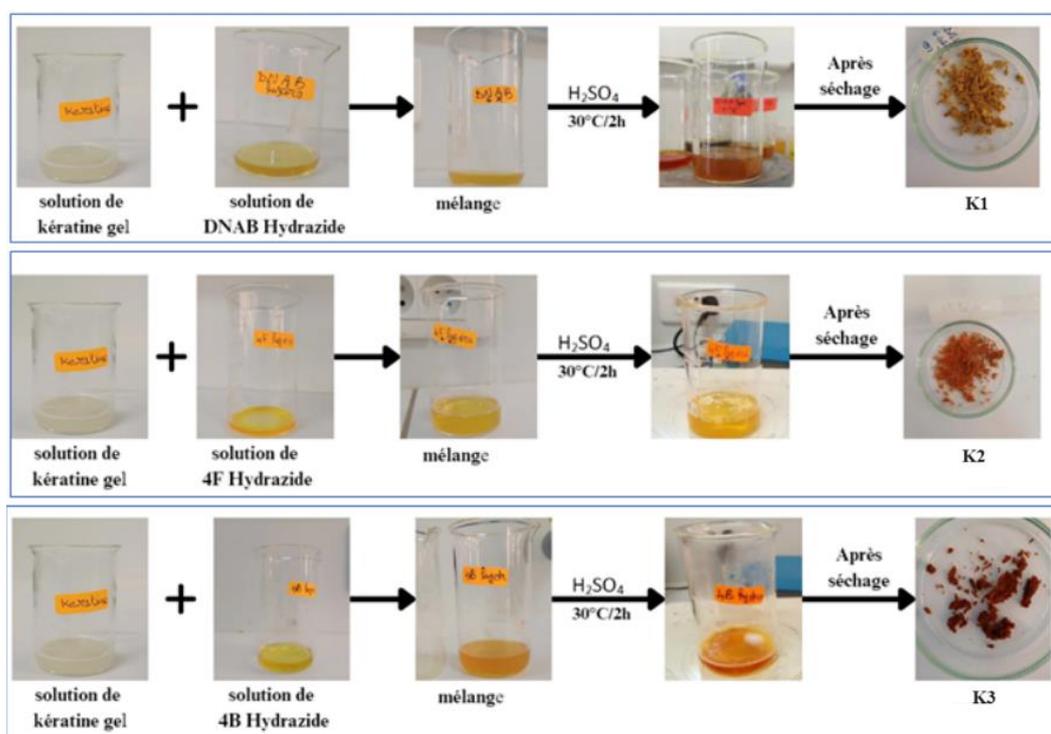


Figure B.III. I.21 : Synthèse des différents biomatériaux

Les propriétés physiques des produits préparés ainsi que les rendements réalisés sont résumées dans Le tableau suivant :

Tableau B.III.I.3: Les rendements des biomatériaux synthétisés.

Biomatériaux Synthétisés	Rendement %	Aspect et couleur
<b>K1</b>	70%	Solide marron claire
<b>K2</b>	84%	Solide marron claire
<b>K3</b>	88%	Solide rouge brique

## B.III.I.4 Identification structurale de biomatériaux Synthétisés :

## ➤ Spectroscopie IR :

L'analyse par le TFIR est utilisée pour identifier la structure chimique des biomatériaux kératiniques (**K1-K3**). Les spectres d'absorbance de tous les échantillons ont montré la présence des nouveaux biomatériaux kératiniques (**K1-K3**) constituées de structure secondaire protéique lie avec les hydrazides dérivés nitro-aromatiques. De plus, des bandes caractéristiques similaires correspondant aux liaisons peptidiques (-CONH) provient des bandes appelées amide A, amide I, amide II et amide III ont été observées. Le tableau suivant regroupe les fréquences de vibration de quelques liaisons qui confirment la présence de nouveaux biomatériaux (**K1-K3**) dérivés de la matière protéique kératinique et les composés nitro-aromatiques (figure B.III. I.22) .

Tableau B.III.I. 4 : Les fréquences de vibration de quelques liaisons

Biomatériaux kératiniques	IR (cm <sup>-1</sup> )							
	OH/NH-NH <sub>2</sub>	C-H <sub>ar</sub>	-CH <sub>ali</sub>	C=O	NO <sub>2</sub> (asym et sym)	C-N	S-S-O	C-X (X : Halogènes)
<b>4N-4B</b>	3415-3276	3168	2964	1633	1541-1404	1341	1137	641
<b>4F</b>	3403-3280	3170	2970	1635	1551-1406	1368	1119	1107
<b>DN</b>	3397-3278	3166	2962	1633	1541-1404	1339	1041	-

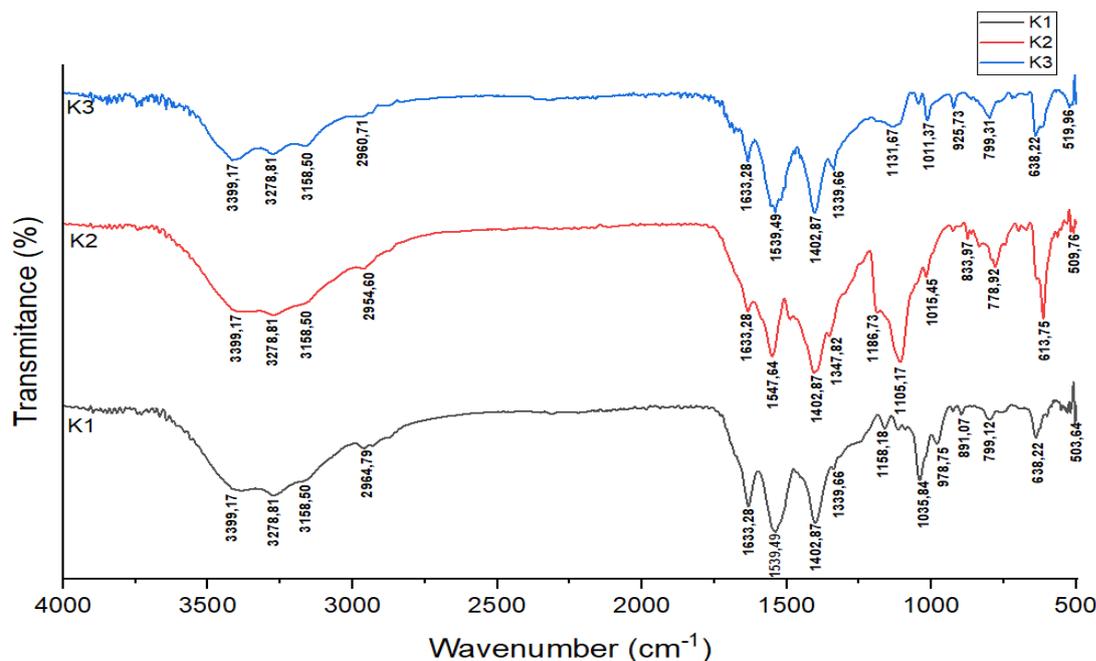


Figure B.III. I.22 : Le spectre IR de différents biomatériaux kératiniques (K1-K3)

#### ➤ Spectre UV-vis :

Les spectre d'analyse UV des biomatériaux kératiniques (K1-K3) indiquent la présence d'une bande situées à 288 nm est attribuable à la transition  $\pi \rightarrow \pi^*$ ,  $n \rightarrow \pi^*$  (C=O, N-H) confirme l'existence de kératine et l'apparition d'une autre bande 352, 389 et 445 nm attribuées respectivement aux transitions  $n-\pi^*$ ,  $\pi-\pi^*$  et  $n-\sigma^*$  indique la présence des composés halo-nitro-aromatiques (figure B.III. I.23 ).

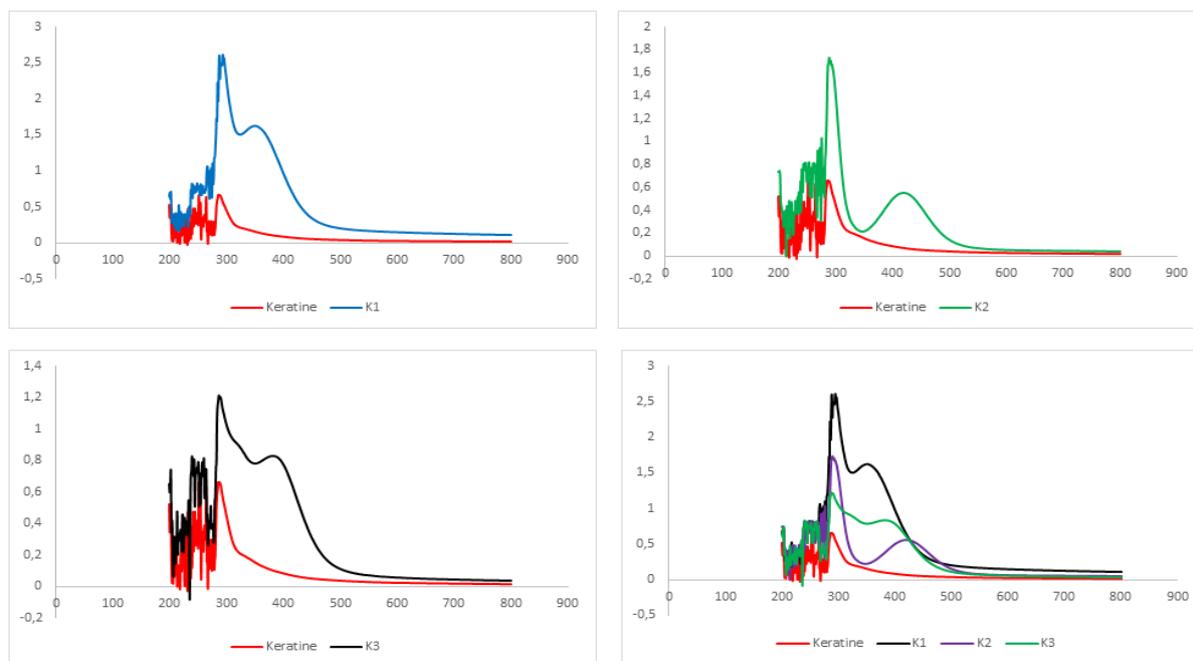


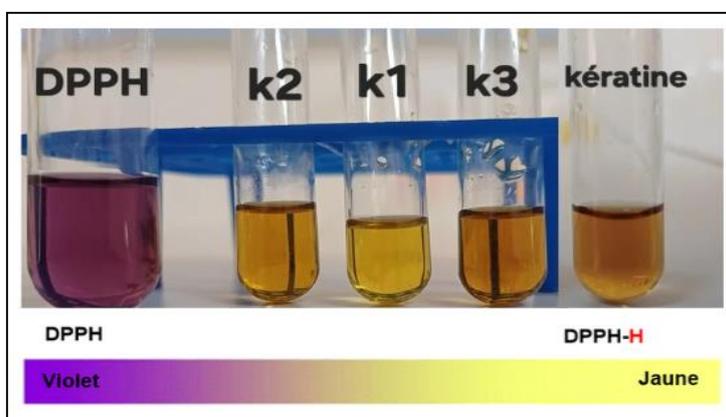
Figure B.III. I. 23 : Spectre UV-vis de différents biomatériaux kératiniques (K1-K3)

### B.III.I.5 Activités antioxydant :

Pour étudier l'activité antioxydante de kératine des différents biomatériaux (synthèses : 1, 2, 3) à base de kératine, nous avons utilisé : Solution de DPPH+ les 3 synthèses+ solution de kératine gel. Quatre Activités ont été réalisées :

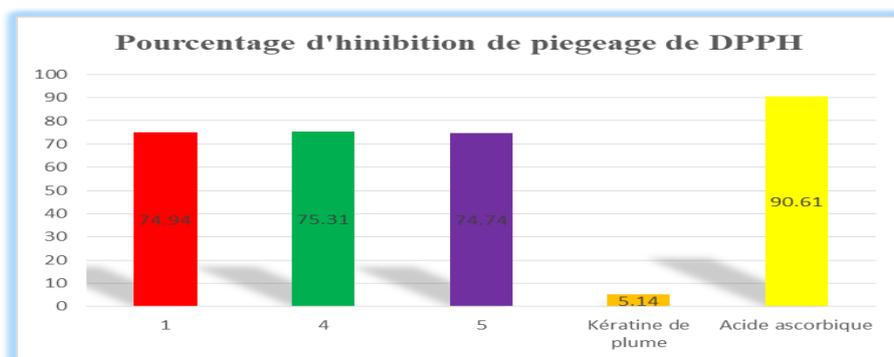
#### Effet piégeage des radicaux libre DPPH :

La capacité de kératine extraite de la plume et ces biomatériaux synthétisés à éliminer des radicaux libres DPPH (2.2-diphényl-1-picrylhydrazyle) a été déterminée par le piégeage des radicaux libres le DPPH de couleur violette se réduit en 2.2-diphényl-1-picryl hydrazine de couleur jaune (figure B.III.I.24).



**Figure B.III.I.24 :** Piégeage des radicaux libre DPPH par la kératine de la plume et ces dérivés.

D'après les résultats L'histogramme ci-dessous représente l'inhibition du piégeage des radicaux libre DPPH en fonction de concentration de kératine extraite et l'acide ascorbique (figure B.III.I.24)



**Figure B.III.I.25 :** Histogramme représentant le pouvoir antioxydant de kératine de la laine et la vitamine C

D'après l'histogramme précédant, les résultats obtenus illustre que la kératine extraite des coproduits de la laine par voie chimique présente un faible pouvoir antioxydant de l'ordre de 5,14 % par rapport à celle de l'antioxydants standard acide ascorbique avec une valeur d'inhibition de 90,61 %. Cet effet due au piégeage des radicaux libre DPPH par la kératine de la plume.

D'autre part, les biomatériaux synthétisés (K1-K3) correspondants à la kératine extraite contenant des hydrazides halo-nitro-aromatiques ont montré une activité antioxydante marquante de valeurs de 74,74 %, 74,94 % et 75,31% respectivement.

### **B.III.I.6 Conclusion**

Dans ce chapitre, nous avons exploré l'extraction de kératine à partir de plumes et la synthèse d'une nouvelle série de biomatériaux kératiniques par des réactions organiques, en utilisant des bases de Schiff. L'évaluation antioxydante de ces biomatériaux a également été réalisée. La stratégie mise en œuvre comprenait l'extraction du ligand kératine et la synthèse détaillée des produits pivots, à savoir les complexes organiques correspondants.

Nous avons identifié qualitativement les produits obtenus à l'aide de la chromatographie sur couche mince (CCM), du test de ninhydrine et du test de biuret. De plus, des analyses spectrométriques UV et IR ont été effectuées pour caractériser davantage les composés synthétisés. Les résultats ont montré que les biomatériaux kératiniques possèdent des propriétés antioxydantes variables, influencées par les réactifs utilisés dans les synthèses. La discussion des résultats a permis de mieux comprendre les mécanismes de réaction et les propriétés des nouveaux biomatériaux kératiniques, offrant des perspectives intéressantes pour leur utilisation future.

**Références :**

1. Edwards H, Hunt D, Sibley M (1998) FT-Raman spectroscopic study of keratotic materials: horn, hoof and tortoiseshell. *Spectrochim Acta Part A Mol Biomol Spectrosc* 54 :745–757.
2. Eslahi N, Dadashian F, Nejad NH (2013) An investigation on keratin extraction from wool and feather waste by enzymatic hydrolysis. *Prep Biochem Biotechnol* 43 :624–648.
3. Aluigi A, Vineis C, Varesano A, Mazzuchetti G, Ferrero F, Tonin C (2008) Structure and properties of keratin/PEO blend nanofibres. *Eur Polym J* 44 :2465–2475.
4. Mohanty AK, Misra M, Drzal LT (2005) Natural fibers, biopolymers, and biocomposites. CRC Press, Boca Raton.
5. Vasconcelos A, Freddi G, Cavaco-Paulo A (2008) Biodegradable materials based on silk fibroin and keratin. *Biomacromolecules* 9 :1299–1305
6. Wojciechowska E, Włochowicz A, Weselucha-Birczyńska A (1999) Application of Fourier-transform infrared and Raman spectroscopy to study degradation of the wool fiber keratin. *J Mol Struct* 511 :307–318.
7. Idris A, Vijayaraghavan R, Rana UA, Fredericks D, Patti A, MacFarlane D (2013) Dissolution of feather keratin in ionic liquids. *Green Chem* 15 :525–534.
8. Zhang J et al (2013) Isolation and characterization of biofunctional keratin particles extracted from wool wastes. *Powder Technol* 246 :356–362.
9. Ma B, Qiao X, Hou X, Yang Y (2016) Pure keratin membrane and fibers from chicken feather. *Int J Biol Macromol* 89 :614–621.
10. Madapally VD, Pandimadevi M. Fabrication of nanofibres by electro spinning using keratin from waste chicken feathers, PVA and AGNPS. *Int J Pharm Pharm Sci* 2019;11:78-84.
11. Silvers RM, Bassler GC, Morrill TC (2004) Identification spectrométrique de composés organiques, 4(5) : 185.
12. Preatsh E, Buhlmann P, Affolper C (2000) Structure determination of organic compounds. 186-236.

### Conclusion Générale

Vu la richesse des plumes de dinde en kératine qui sont considérées comme des co-produits, leurs valorisations s'inscrivent aussi dans une démarche de développement durable.

Notre travail réalisé a permis de démontrer la faisabilité de l'extraction de kératine à partir de plumes de dinde par différentes voies : la voie chimique comme l'hydrolyse et par voie ultrason ensuite faire une modification au niveau de la structure de kératine en passant par des synthèses organiques spécifiques pour avoir de nouveaux biomatériaux kératiniques. A la fin ces biomatériaux sont testés pour faire l'activité antioxydante.

Les différentes techniques d'analyse spectrale tels que le FTIR, l'UV-vis sont exploités pour caractériser la structure de kératine extraite et ces biomatériaux correspondants. Les tests qualitatifs à savoir ninhydrine, biuret ainsi que le CCM confirment la présence de la protéine qui est constituée de plusieurs acides aminés.

Les résultats obtenus montrent que :

- ✓ L'extraction de kératine des plumes de dinde par voie ultrason est une méthode très prometteuse et conduit à un meilleur rendement de 91,2% par rapport à la méthode chimique (l'essai N°03).
- ✓ Les tests biochimiques à savoir ninhydrine et biuret confirment l'existence des liaisons peptidiques et les acides aminés avec l'apparition d'une coloration violette.
- ✓ L'identification par CCM indique l'apparition de plusieurs tâches rosâtres sur la plaque d'aluminium révélées par ninhydrine qui présentent les acides aminés existants dans la kératine extraite de plume de dinde.
- ✓ L'analyse par FTIR et UV-vis présente l'existence de trois bandes (amide I, amide II, amide III) indiquant la présence de protéine qui est la kératine et ces biomatériaux kératiniques.
- ✓ Le pouvoir antioxydant montre que la kératine extraite de plume de dinde possède une très faible activité antiradicalaire de l'ordre de 5,14 % par rapport à la vitamine C avec une 90,61% qui est utilisée comme produit de référence mais après la synthèse des biomatériaux correspondants, on remarque l'activité antiradicalaire (K1-K3) est augmentée de l'ordre de 74,74 %, 74,94 % et 75,31% respectivement.

## **Conclusion générale**

---

Ce travail ouvre des perspectives intéressantes pour l'utilisation de kératine extraite de plumes de dinde comme matière première pour la synthèse des biomatériaux innovants en basant sur d'autres analyses pour les identifier à savoir spectroscopie des solides, la diffraction des rayons X (DRX) et microscopie électronique à balayage (MEB), ...etc.

Les résultats présentés dans cette étude constituent une base solide pour des recherches futures visant à optimiser et à diversifier l'utilisation des biomatériaux kératiniques notamment en médecine, en cosmétique et dans l'industrie alimentaire, grâce à leurs propriétés uniques et à leur potentiel antioxydant.