

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE AHMED DRAIA ADRAR  
FACULTE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE  
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MATIERE



MEMOIRE DE FIN D'ETUDE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME  
DE MASTER EN CHIMIE D' ENVIRONNEMENT

## Thème

L'acide sorbique et leurs dérivés; synthèses et analyses  
spectroscopiques

Soutenu le: 07 /06 /2015

**Présenté par :**

Melle. Laroussi Zeyneb

Mme. Oubeidi Hasna

**Encadré par :** Mr. *HABCHI Abdelmadjid*

**Co-encadreur :** Mr. *Slimani Said*

**Président :** Dahou Med EL-Amine

**Examineurs:** Mekki Khalifa



## *REMERCIEMENTS*

*Avant tout en tient nos remerciements à notre DIEU tout puissant de nous avais donné la fois, la force et le courage.*

*Nous saisons cette occasion pour adresser nos remerciements les plus profonds à notre encadreur Mr. HABCHEI Abdelmadjid et notre Co-encadreur Mr. Slïmani Saïd.*

*Nous exprimons notre gratitude à l'équipe de laboratoire interne d'hôpital Ben Sina d'Adrar pour leurs aides.*

*Merci également à l'ensemble des enseignants de la faculté des sciences et science de l'ingénierie et plus spécialement pour les enseignants de chimie.*

*Un spécial remerciement à Mr : BOUKHETACHE Ishak.  
Merci à tout personne que nous a aidés.*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail*

*A mes très chères parents qui m'ont soutenues et encouragées durant toute la période de mes études que dieu les protège et me donne la force pour que je puisse les rendre un petit peu de ses bien faits malgré que je ne peux jamais arriver à faire ça.*

*A mon frère, et toute ma famille.*

*A tous Mes amies pour tous les bons moments passés ensemble*

*A toute la promo de Chimie de l'environnement 2015*

*Merci à tous*

*Zeyneb*

*✍*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail :*

*A ma très chère mère qui m'a soutenue et  
encouragée durant toute la période de mes études que  
dieu la protège et me donne la force pour que je puisse la  
rendre un petit peu de ses bien faits malgré que je ne peux  
jamais arriver à faire ça.*

*à l'esprit de mon père,*

*A mon cher Mari*

*A mes frères, mes sœurs, leurs fils et toute ma famille.*

*A tous Mes amies pour tous les bons moments passés  
ensembles*

*A toute la promo de Chimie de l'environnement 2015*

*Merci à tous*

*Hasna*

## Liste des schémas

<b>Schéma 01</b> : La formule développée de l'acide 2,4-hexadiénoïque .....	5
<b>Schéma 02</b> : Nucléophile attaque la molécule de l'acide sorbique .....	6
<b>Schéma 03</b> : Alkylation du NBP par l'acide sorbique .....	6
<b>Schéma 04</b> : Complexe de l'acide 2,4-hexadiénoïque avec du chlorure de palladium .....	6
<b>Schéma 05</b> : Hydrogénation de l'acide 2,4-hexadiénoïque : (1) l'acide sorbique; (2) cis-hex-3-énoïque; (3) trans-hex-3-énoïque; (4) trans-hex-2-énoïque; (5) l'acide hexanoïque .....	7
<b>Schéma 06</b> : La réaction enzymatique de l'acide 2,4-hexadiénoïque .....	8
<b>Schéma 07</b> : L'oxydation de l'acide sorbique. (b) des produits de dégradation de l'acide sorbique: crotonaldéhyde (R: = CH <sub>2</sub> ), malonaldéhyde (R: = O). .....	9
<b>Schéma 08</b> : L'estérification de l'acide 2,4-hexadiénoïque en présence H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	10
<b>Schéma 09</b> : Estérification de l'acide 2,4-hexadiénoïque par SOCl <sub>2</sub> .....	10
<b>Schéma 10</b> : Préparation des amides .....	10
<b>Schéma 11</b> : Cyclisation de l'acide 2,4-hexadiénoïque .....	11
<b>Schéma 12</b> : L'acide sorbique .....	16
<b>Schéma 13</b> : Synthèse de l'ester .....	18
<b>Schéma 14</b> : Formation du 2,4-hexadiénoate d'hydrazide .....	18

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Résultat des testes de solubilité de l'acide 2,4-hexadiénoïque .....	16
<b>Tableau 2</b> : Résultats de l'examen bactériologique .....	21
<b>Tableau 3</b> : Résultats de l'examen bactériologique sur les dérivés de l'acide sorbique .....	25
<b>Tableau 4</b> : Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des produits testés .....	27
<b>Tableau 5</b> : Liste des produits chimiques utilisés .....	28
<b>Tableau 6</b> : Les types de chromatographies .....	30

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Résultats obtenus sur les boites pétrie de <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Streptococcus B</i> .....	22
<b>Figure 02</b> : Résultats obtenus sur la boîte pétrie d' <i>Escherichia coli</i> .....	23
<b>Figure 03</b> : Révélation par UV .....	31
<b>Figure 04</b> : La spectroscopie IR .....	32
<b>Figure 05</b> : Le réfractomètre .....	32
<b>Figure 06</b> : Valence à précision.....	34
<b>Figure 07</b> : Montage de l'estérification.....	34
<b>Figure 08</b> : Neutralisation du mélange réactionnel .....	35
<b>Figure 09</b> : La séparation liquide-liquide .....	35
<b>Figure 10</b> : La procédure de filtration .....	36
<b>Figure 11</b> : L'extraction de l'ester à l'aide du rota-vapeur .....	36
<b>Figure 12</b> : Montage de formation de l'hydrazide .....	37
<b>Figure 13</b> : Photo de Popinel (l'appareil de stérilisation).....	40
<b>Figure 14</b> : L'inoculum a réparti sur l'ensemble de la surface. ....	41
<b>Figure 15</b> : Les disques saturés déposés à la surface du milieu gélosé MH dans les boites pétri.....	41
<b>Figure 16</b> : Etuve de l'incubation.....	42



## Abréviations

**NBP:** 4-(p-nitro-benzyl) pyridine

**CLHP :** La chromatographie liquide à haute pression

**DMSO :** Diméthylsulfoxyde .

**CCM :** Chromatographie sur couche mince

**CGL :** Chromatographie gaz-liquide

**CG :** Chromatographie en phase gazeuse

**SM :** La spectrométrie de masse

**UV :** Ultraviolet

**mg :** Milligramme

**pH:** Potentiel d'hydrogène

**IR:** Infrarouge

**mm :** Millimètre

**Rf:** Rapport frontal

**g :** Gramme

**MH:** Gélose Mueller Hinton

**CMI:** Concentration minimale inhibitrice

**USTO.MB :** Université des sciences et de la technologie d'Oran Mohamed Boudiaf

## Sommaire

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

### Partie A (Théorie)

#### Chapitre A-I généralité sur l'acide 2,4-hexadiénoïque (l'acide sorbique)

I.1. Introduction .....	3
I.2. Définition de l'acide carboxylique .....	4
I.3. Définition des acides gras .....	4
I.4. Définition de l'acide 2,4-hexadiénoïque (l'acide sorbique).....	4
I.5. La chimie de l'acide 2,4-hexadiénoïque .....	5
I.5.1. Oxydation de l'acide 2,4-hexadiénoïque .....	5
I.5.2. Alkylation du NBP par L'acide 2,4-Hexadiénoïque.....	6
I.5.3. Formation de complexe .....	6
I.5.4. Hydrogénation de l'acide 2,4-hexadiénoïque .....	6
I.6. Détermination de l'acide 2,4-hexadiénoïque dans les produits alimentaires .....	7
I.7. Détermination enzymatique de l'acide sorbique .....	7
I.8. Dégradation de l'acide 2,4-hexadiénoïque .....	8
I.9. Dérivées de l'acide 2,4-hexadiénoïque .....	9
I.9.a) Estérification .....	9
I.9.b) Préparation des amides .....	10
I.9.c) Cyclisation de l'acide 2,4-hexadiénoïque .....	10

#### Chapitre A-II : L'activité biologique

II.1. Introduction .....	12
II.2. L'activité biologique de l'acide sorbique et ses sels .....	13

II.3. La toxicité et le métabolisme de l'acide 2,4-hexadiénoïque.....	13
II.4. Mécanisme d'action de l'acide 2,4-hexadiénoïque.....	13
II.5. Les gènes spécifiques de l'acide 2,4-hexadiénoïque .....	14
II.6. L'activité biologique de quelques dérivées de l'acide sorbique .....	15
II.6.1. L'activité biologique de 2,4-hexadiénoate d'éthyle.....	15
II.6.2. L'activité biologique de 2,4-hexadiénoate d'hydrazide .....	15

## Partie B (Résultats et discussions)

### Chapitre B-I Synthèses des dérivés de l'acide sorbique

I.1. Introduction .....	16
I.2. Synthèse des dérivés .....	16
I.2.a) L'acide 2,4-hexadiénoïque (ou l'acide sorbique) .....	16
I.2.b) Synthèse du 2,4-hexadiénoate d'éthyle.....	17
I.2.c) Synthèse du 2,4-hexadiénoate d'hydrazide .....	18

### Chapitre B-II l'activité biologique des composés synthétisés

II.1 Introduction.....	20
II.2. Evaluation de l'effet antibactérien.....	20
II.3. Interprétation des résultats.....	21
II.3.a) Effet des produits testés sur <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Streptococcus B</i> .....	22
II.3.b) Effet des produits testés sur <i>Escherichia coli</i> .....	23
II.3.c) Effet des produits testés sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	23
II.4. Interprétation générale .....	24
II.5. Comparaison avec les études précédentes au niveau de laboratoire interne de l'E.P.H de Reggane .....	24
II.6. détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) .....	26

## Partie C (Expérimentale)

### Chapitre C-I Matières et appareillages

I.1. Introduction .....	28
I.2. Les réactifs et les solvants utilisés .....	28
I.3. Techniques et appareillages .....	29
I.3.a) La chromatographie sur couche mince (CCM) .....	29
I.3.b) Spectroscopie infrarouge .....	32
I.3.c) L'indice de réfraction .....	32
I.4. Caractéristique de l'acide 2,4-hexadiénoïque (sorbique) .....	33

### Chapitre C-II Synthèse des dérivées de l'acide sorbique

II.1. Synthèse des composés organique .....	34
II.1.a) Synthèse du 2,4-hexadiénoate d'éthyle .....	34
II.1.b) Synthèse du 2,4-hexadiénoate d'hydrazide .....	37

### Chapitre C-III l'activité biologique

III.1. Introduction .....	39
III.2. Principe .....	39
III.3. Les bactéries utilisées .....	39
III.4. Modes opératoire .....	39
III.5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) .....	42
<b>Conclusion générale</b> .....	44
<b>Bibliographie</b> .....	46
<b>Annexes</b>	

# Introduction générale

### Introduction générale

Le développement industriel s'est accompagné du développement du transport des aliments entre régions productrices et consommatrices, réduisant dans certains cas la nécessité de la conservation.

Des agents conservateurs provenant de sources naturelles ou artisanales sont utilisées depuis longtemps : dicarbonate de diméthyle utilisé surtout pour les boissons; antibiotique dans les fromages ; antimicrobien, antioxydant, certains acides ; l'acide sorbique et ses dérivés sont qui nous intéressent dans notre travail.

L'acide sorbique (ou l'acide 2,4-hexadiénoïque ) se produit naturellement dans de nombreuses plantes ; leur formule chimique est  $C_6H_8O_2$ , c'est un acide gras insaturé  $CH_3-CH=CH-CH=CH-COOH$  qui se présente sous la forme d'un solide blanc cristallin légèrement soluble dans l'eau, par contre ses sels, les sorbates, sont bien plus solubles.

Le but de cette étude consiste à synthèses des dérivées de l'acide 2,4-hexadiénoïque et l'étude de leurs activités biologiques contre certaines souches bactérienne à gram positive et négative.

Le travail présenté dans ce mémoire se devisé en trois parties détaillées avec une conclusion générale, référence bibliographie et annexes :

*La première partie (A)* de ce travail est consacrée à l'étude bibliographique qui se divise en deux chapitres, le premier chapitre est concerné par l'étude de l'acide 2,4-hexadiénoïque (l'acide sorbique) et ses dérivés, tandis que le deuxième chapitre est comporté l'activité biologique de l'acide sorbique et leurs dérivés.

*Dans la deuxième partie (B)*, qui est compris la partie des résultats et discussions, on explique les résultats obtenus au cours de la synthèse organique et de l'examen bactériologie.

*Dans la troisième partie (C)*, qui est compris la partie expérimentale de ce travail, on regroupe les matières, et les modes opératoires utilisés dans la synthèse organique et l'examen bactériologie, et ainsi les analyses physico-chimiques effectués.

En fin, dans la conclusion générale nous présentons un résumé sur l'ensemble des résultats obtenus, suivie par une référence bibliographie et annexes entourent ce mémoire

## **Partie A (théorie)**



# **Chapitre A-I**

## **Généralités sur l'acide sorbique**

**I.1. Introduction :**

L'acide sorbique a été isolé à partir de l'arbre de sorbier des oiseleurs par AW Hoffmann, un chimiste allemand, en 1859.

Le pouvoir conservateur antimicrobien de l'acide sorbique n'a été découvert qu'en 1939-1940.

Après cela, l'efficacité de l'acide sorbique comme agent de conservation et son innocuité physiologique ont été minutieusement étudiées.

Dès 1955, à la fois l'acide sorbique et sorbate de potassium ont été prouvés pour être sûrs et inoffensifs, depuis ce temps, sorbates ont été approuvés pour être utilisés comme conservateurs alimentaires dans presque tous les pays du monde. [01]

## I.2. Définition de l'acide carboxylique:

L'acide carboxylique est une molécule comprenant un ou plusieurs groupements carboxyles, c'est-à-dire un groupe d'atomes particulier, composé de carbone, d'oxygène et d'hydrogène (sous la forme -COOH).

Les acides carboxyliques peuvent être de nature liquide ou solide, en fonction du nombre des atomes de carbone.

Ils sont très répandus dans la nature notamment les acides gras, constituants les lipides.

On les utilise de manière importante en chimie industrielle qui soit comme des solvants ou textiles pour la fabrication. [02]

## I.3. Définition des acides gras :

Les acides gras sont des acides carboxyliques à chaîne aliphatique hydrophobe saturée ou insaturée.

Appartenant à la catégorie des lipides, ils font l'objet de plusieurs nomenclatures : la nomenclature internationale normalisée, une nomenclature communément appelée «oméga» et une nomenclature usuelle.

Les acides gras sont des constituants majeurs des huiles et des graisses.

Parmi les acides gras saturés, ceux en C12, C16 et C18 sont les plus largement distribués, alors que parmi les acides gras insaturés, ceux en C18 pourvus de 1, 2 ou 3 doubles liaisons sont les plus importants au sein du monde végétal et Animal terrestre.

Les acides gras à 4 ou plus de 4 doubles liaisons et 20 à 24 atomes de carbone sont quant à eux majoritaires dans le monde marin. [03]

## I.4. Définition de l'acide 2,4-hexadiénoïque (l'acide sorbique) :

L'acide Sorbique est un acide gras insaturé, son poids moléculaire est 112,13 g/mol et sa formule demi-développée :



L'acide sorbique est commercialisé sous forme de poudre cristalline ou granulés blancs et caractérisé par une odeur âcre et un goût acide. [04]

L'acide sorbique est caractérisé par :

- Un point de fusion de 134 °C
- Un point d'ébullition de 228 °C
- Un pKa de 4,76 [05].

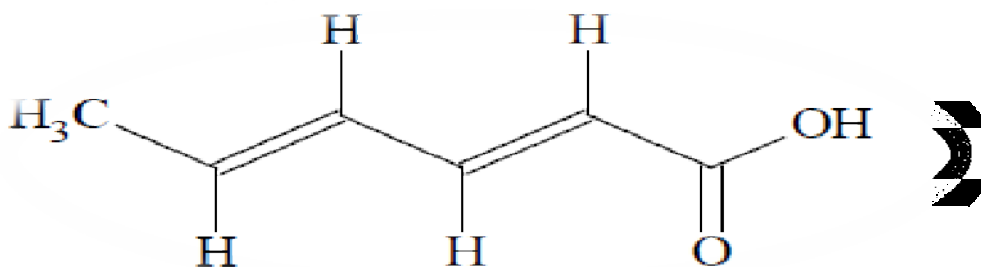


Schéma 01 : La formule développée de l'acide 2,4-hexadiénoïque

### I.5. La chimie de l'acide 2,4-hexadiénoïque :

L'acide 2,4-hexadiénoïque constitue de groupe carboxyle (COOH) et un système des doubles liaisons conjuguées, ce qui le rend capable de subir des réactions d'addition avec certaines fonctions. [06]

La fonction carboxylique de l'acide 2,4-hexadiénoïque peut réagir avec des réactifs différents pour former les esters, les amides et les sels de calcium, de sodium et de potassium. [04]

Le sel de potassium de l'acide 2,4-hexadiénoïque est commercialement disponible sous forme de poudre ou des granules, son poids moléculaire est 150,22 g/mol et il est très soluble dans l'eau. [04]

#### I.5.1. Oxydation de l'acide 2,4-hexadiénoïque :

L'acide sorbique est oxydé rapidement en présence de composés oxygénés et des peroxydes.

Les produits décomposés indiquent que la double liaison la plus éloignée du groupe carboxyle est la plus oxydée. [05]

### I.5.2. Alkylation du NBP par L'acide 2,4-Hexadiénoïque :

Le NBP, 4-(*p*-nitro-benzyl) pyridine attaque l'acide 2,4Hexadiénoïque (Addition nucléophile) dans le carbone cinq selon la réaction suivante [07] :

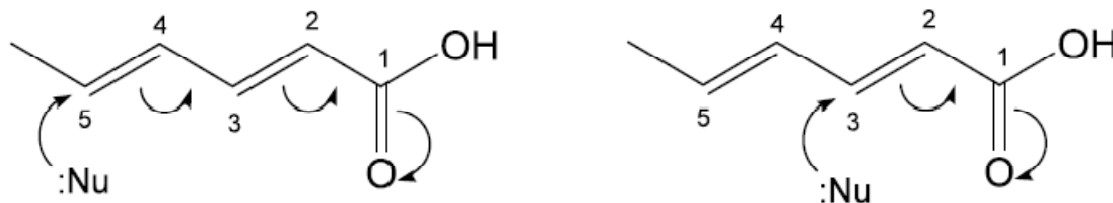


Schéma 02 : Nucléophile attaque la molécule de l'acide sorbique.

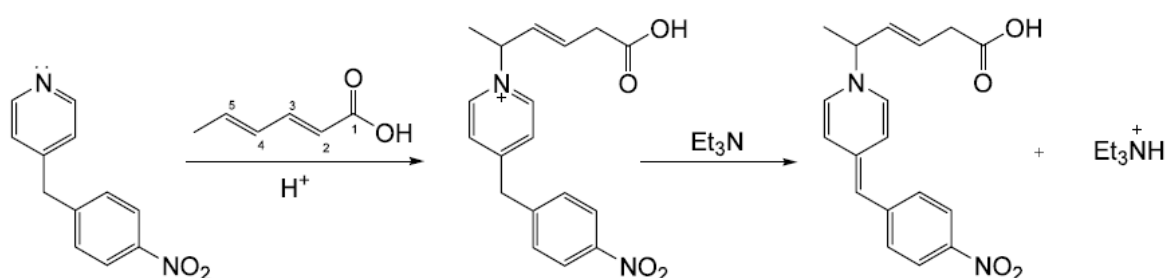


Schéma 03 : Alkylation du NBP par l'acide sorbique.

### I.5.3. Formation de complexe :

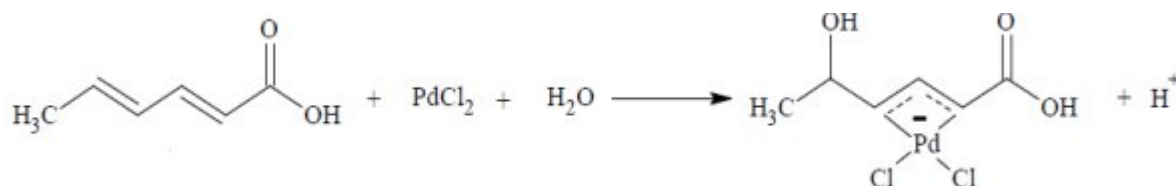


Schéma 04 : Complexe de l'acide 2,4-hexadiénoïque avec du chlorure de palladium. [08]

### I.5.4. Hydrogénation de l'acide 2,4-hexadiénoïque :

L'hydrogénation de l'acide 2,4-hexadiénoïque est fait à l'aide des catalyseurs métalliques standard avec une grande sélectivité (Pd/C, Ni/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) [09].

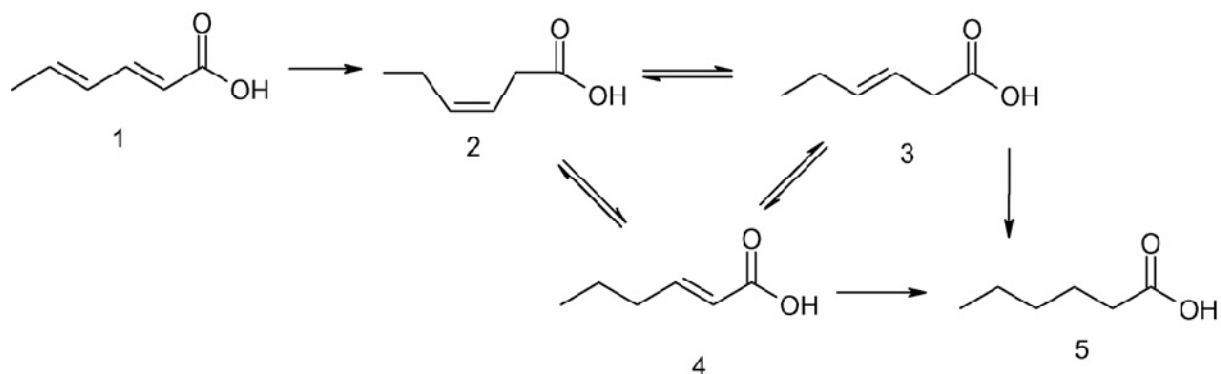


Schéma 05 : Hydrogénation de l'acide 2,4-hexadiénoïque : (1) l'acide sorbique; (2) cis-hex-3-énoïque; (3) trans-hex-3-énoïque; (4) trans-hex-2-énoïque; (5) l'acide hexanoïque.

### I.6. Détermination de l'acide 2,4-hexadiénoïque dans les produits alimentaires :

L'acide sorbique et le sorbate de potassium sont principalement analysés par chromatographies techniques, y compris la chromatographie liquide à haute pression (CLHP) chromatographie sur couche mince (CCM), Chromatographie gaz-liquide (CGL), chromatographie en phase gazeuse (CG) et la spectrométrie de masse (SM), et spectrométrie ultraviolet (UV).

L'acide sorbique et sorbate de potassium peuvent être identifiés de près l'appariement des spectres infrarouge standard avec pas indication de corps étrangers. [10]

### I.7. Détermination enzymatique de l'acide sorbique :

Le procédé enzymatique est utilisé pour déterminer l'acide sorbique par une mesure spectrophotométrique de sorbyle coenzyme A (CoA sorbyle) à 300 nm.

L'acide sorbique est converti en sorbyle CoA avec l'acyl-CoA synthétase en présence du coenzyme A et de l'adénosine-triphosphate-5b.

La réaction est réalisée de manière irréversible par hydrolyse quantitative le pyrophosphate formé lors de la réaction d'acylation au phosphate en présence d'une pyrophosphatase inorganique.

L'absorbance mesurée à 300 nm est spécifique de sorbyle CoA, qui sa valeur est proportionnelle de la quantité de l'acide sorbique dans l'échantillon.  
[11]

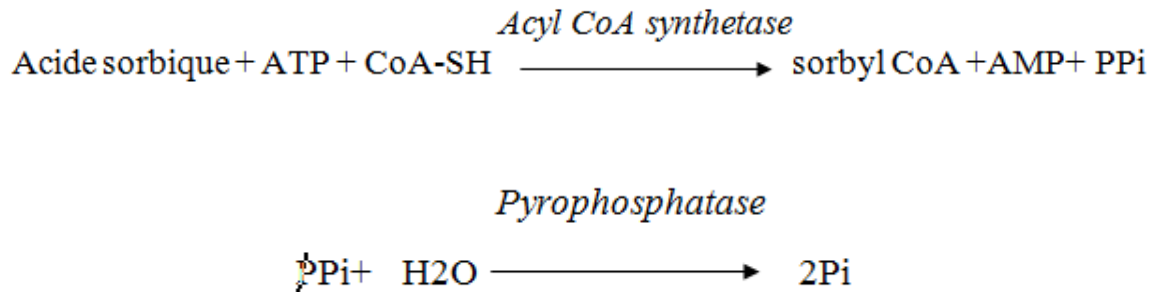


Schéma 06 : La réaction enzymatique de l'acide 2,4-hexadiénoïque

### I.8. Dégradation de l'acide sorbique :

Les expériences électrochimiques dans des solutions de l'acide sorbique ont montré son oxydation au niveau des électrodes de carbone.

L'oxydation a lieu à des doubles liaisons entre C2-C3 ou C4-C5.

La double liaison entre C2 et C3 est proche du groupement carboxyle et son oxydation peuvent être protégés, par conséquence, plus difficiles à oxyder.

Le mécanisme d'oxydation de l'acide sorbique proposé, « le schéma 07 » ; implique la rupture de la double liaison entre C4 et C5 avec addition de OH à la position C5, suivie par déprotonation chimique du produit d'oxydation.

[12]

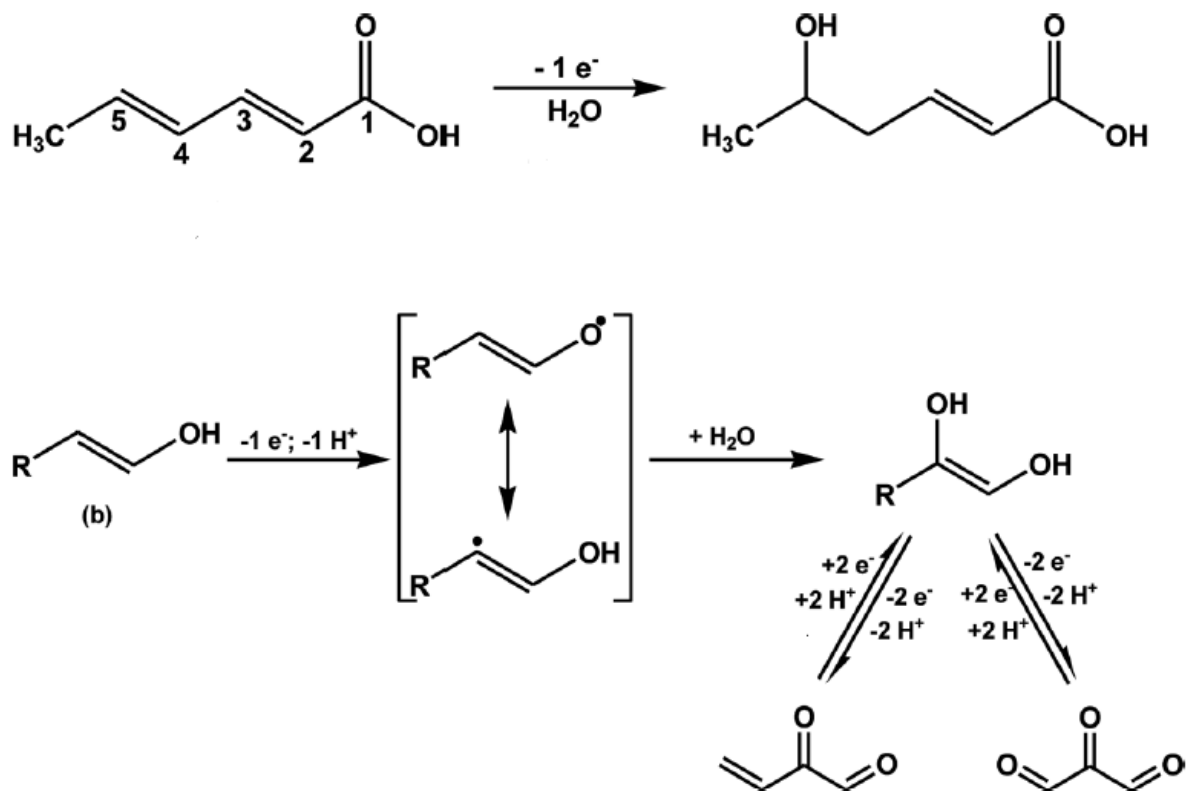


Schéma 07 : L'oxydation de l'acide sorbique. (b) des produits de dégradation de l'acide sorbique: crotonaldéhyde (R: = CH<sub>2</sub>), malonaldehyde (R: = O).

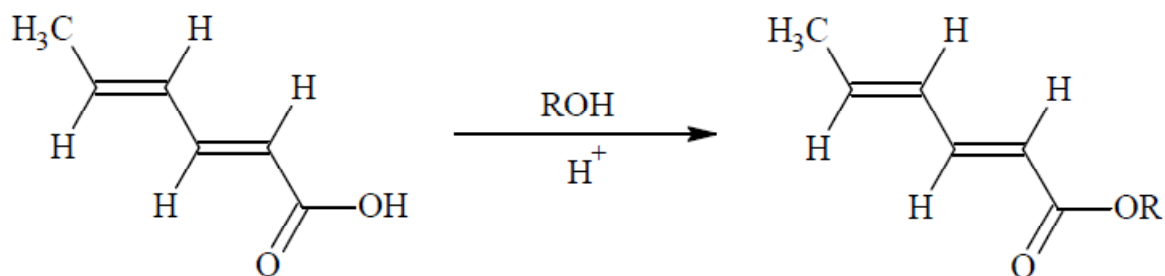
## I.9. Dérivés de l'acide 2,4-hexadiénoïque :

### I.9.a). Estérification :

- Cas 01 :

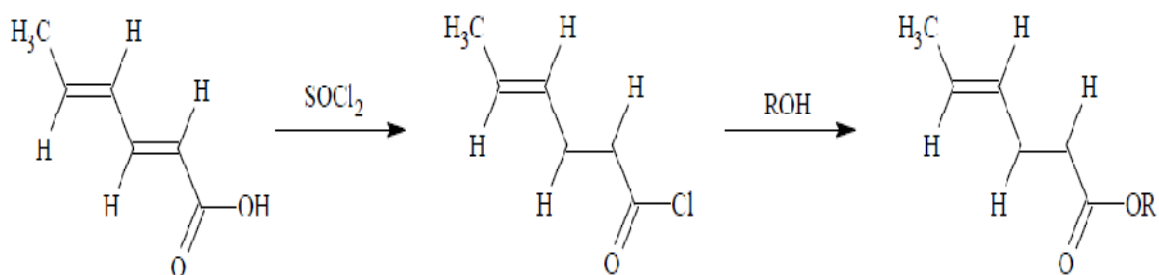
L'acide 2,4-hexadiénoïque avec l'alcool à l'aide d'un acide sulfurique H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sont chauffés sous reflux jusqu'à la formation de l'ester 2,4- hexadiénoate d'alkyle. [14]



Schéma 08 : L'estérification de l'acide 2,4-hexadiénoïque en présence  $H_2SO_4$ 

- **Cas 02 :**

L'acide 2,4-hexadiénoïque réagit avec un chlorure de thionyle, donné chlorure de 2,4-hexadiénoyle, ce dernier réagit avec l'alcool pour obtenir finalement l'ester 2,4-hexadiénoate d'alkyle. [13]

Schéma 09: Estérification de l'acide 2,4-hexadiénoïque par  $SOCl_2$ .

### I.9.b) Préparation des amides :

Le chlorure de 2,4-hexadiénoyle traité par la solution d'aniline ou d'amine en présence de l'éther à une température ambiante. [13]

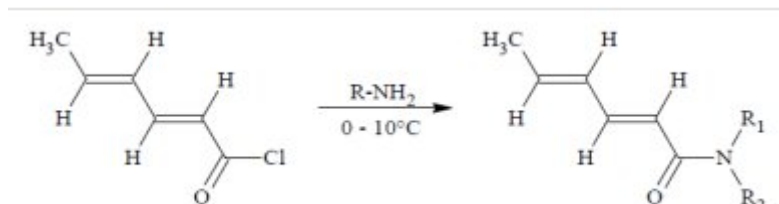


Schéma 10 : Préparation des amides.

**I.9.c) Cyclisation de l'acide 2,4-hexadiénoïque :**

Cyclisation de l'acide 2,4-hexadiénoïque par l'addition nucléophile des amines est la suite : [06]

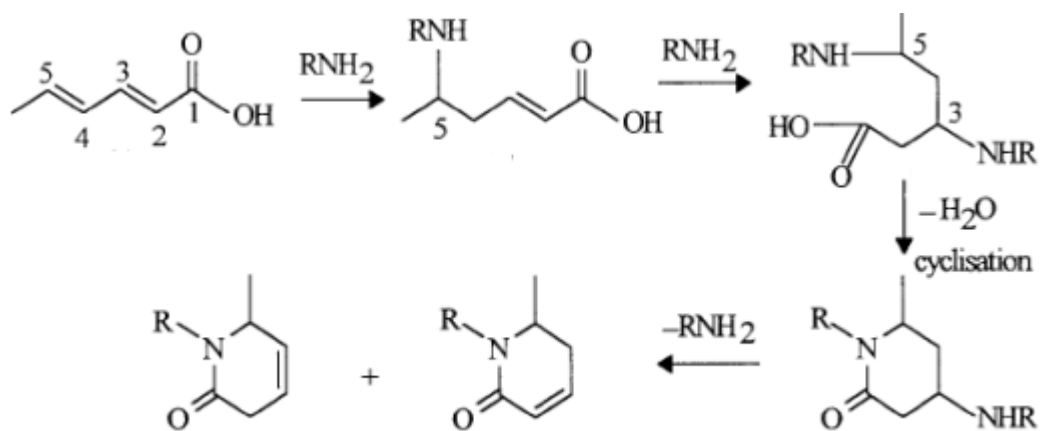


Schéma 11 : Cyclisation de l'acide 2,4-hexadiénoïque.

# **Chapitre A-II**

## **L'activité biologique**

## II.1. Introduction :

L'acide sorbique et ses sels sont très efficaces pour inhiber les micro-organismes les plus courants qui causent aliments gâché.

Ces conservateurs sont principalement efficaces contre certaines souches de levures et de moisissures, et ils fonctionnent en inhibant les enzymes dans les cellules microbiennes.

## II.2. L'activité biologique de l'acide sorbique et ses sels :

L'acide sorbique et le sorbate de potassium sont utilisés comme des agents de conservateur excellents dans les produits cosmétiques et les produits de soins [01] et les produits alimentaires et aliments pour animaux et les produits du tabac [05], avec un pH inférieur à 6,5, depuis le début de l'année 1960. [01]

Ils ont bonne compatibilité de la peau et sont faciles à utiliser, en particulier le sorbate de potassium sous forme de sel. [01]

## II.3. La toxicité et le métabolisme de l'acide 2,4-hexadiénoïque :

L'acide 2,4-hexadiénoïque, un acide gras insaturé, métabolise dans une manière similaire aux autres acides gras. En présence d'adéquat métabolisme, les produits finaux majeurs sont le CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O. [14]

L'acide 2,4-hexadiénoïque possède une toxicité très faible, cette toxicité peut être expliquée par le fait qu'il est rapidement métabolisé par de voie semblable aux autres acides gras. [14]

Il n'a pratiquement aucun effet sur le goût et l'odeur des produits alimentaires, et non toxique sur les êtres vivants à des concentrations inférieures à 0,2%. [15]

L'acide 2,4-hexadiénoïque est récemment déterminé dans l'urine. Après administration orale de 447 mg d'acide 2,4-hexadiénoïque, la concentration urinaire moyenne a augmenté 20 fois. [16]

## II.4. Mécanisme d'action de l'acide 2,4-hexadiénoïque :

Une des stratégies utilisées pour prévenir l'altération des produits est l'ajout des acides faibles conservateurs tels que l'acide 2,4-hexadiénoïque, l'acide acétique et l'acide benzoïque.

Ces composés ont été utilisés dans les produits alimentaires depuis des décennies et ont été très efficaces (en particulier à pH faible), malgré leurs mécanismes d'action ne sont pas complètement connus.

En général, dans une solution à pH faible, ces acides faibles sont principalement trouvés dans leur forme non dissociée, qui leur permet de diffuser librement à travers la membrane cellulaire (ex: l'acide 2,4-hexadiénoïque a une valeur de pKa 4,76, et dans une solution à pH 4,2 il sera en sa forme non dissociée).

Dans la cellule, les acides faibles rencontrent un pH plus élevé, qui leur permet dissocié pour produire des protons et des anions, puis acidifient le cytoplasme. [17]

Ensuite, l'acide 2,4-hexadiénoïque conduit à l'inhibition de la croissance (rupture de la membrane), l'inhibition des réactions métaboliques essentielles comme la glycolyse et l'accumulation d'anions toxiques. [18]

## II.5. Les gènes spécifiques de l'acide 2,4-hexadiénoïque :

Approximativement ; environ 10 pour cent des gènes spécifiques de l'acide 2,4-hexadiénoïque sont impliqués dans le transport des protéines, des sucres et des oligopeptides, et aussi dans la synthèse et le transport des acides aminés tels que l'histidine et l'arginine.

La plupart des gènes nécessaires à la biosynthèse de la chaîne ramifiée des acides aminés tels que leucine, l'histidine, l'arginine et la valine ont également régulés spécifiquement sous l'influence de l'acide 2,4-hexadiénoïque. [19]

## II.6. L'activité biologique de quelques dérivées de l'acide sorbique :

### II.6.1. L'activité biologique de 2,4-hexadiénoate d'éthyle :

Le 2,4-hexadiénoate d'éthyle a présenté une bonne activité contre les bactéries *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, et une activité modérée contre les bactéries *Enterococcus faecalis* et *Pseudomonas aeruginosa*. [14]

### II.6.2. L'activité biologique de 2,4-hexadiénoate d'hydrazide :

2,4-hexadiénoate d'hydrazide ne possède aucune activité biologique contre les bactéries à gram positif ; *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis* et les bactéries à Gram négatif ; *Escherichia Coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. [14]

## **Partie B (Résultats et discussions)**



**Chapitre B-I**  
**Synthèses des dérivés de l'acide**  
**sorbique**

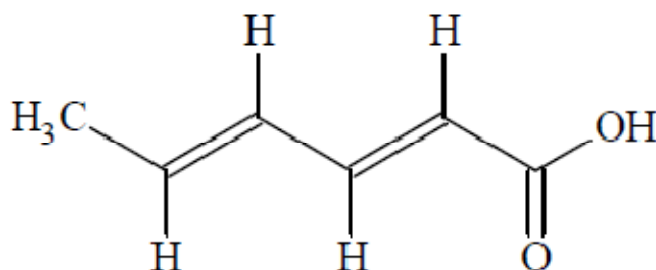
### **I.1. Introduction :**

Notre travail décrit la synthèse, les caractéristiques et les propriétés de l'acide sorbique et leurs dérivés (2,4-hexadiénoate d'éthyle et 2,4-hexadiénoate d'hydrazide) les deux réactions ont été réalisées sous l'hoût par chauffage à reflux.

### **I.2. Synthèse des dérivés :**

Parmi les techniques d'analyses utilisées, dans notre travail, pour concevoir les composés synthétisés est la spectroscopie (IR).

#### **I.2.a) L'acide 2,4-hexadiénoïque (ou l'acide sorbique) :**



**Schéma 12 : L'acide sorbique.**

#### **❖ Test de solubilité de 2,4-hexadiénoïque :**

Dans un cristallisateur on dépose une petite quantité de l'acide sorbique puis on ajoute un volume de solvant ; les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 01 : Résultat des tests de solubilité de l'acide 2,4-hexadiénoïque**

	A temperature ambiante	A l'effet de chaleur
L'eau distillée	Non soluble	Non soluble
Méthanol	Soluble	-
Ethanol	Soluble	-
Hexane	Non soluble	Non soluble
Benzene	Peu soluble	Soluble

Dichlorométhane	Soluble	-
Acetate d'éthyle	Peu soluble	Soluble
2-Butanol	Peu soluble	Soluble
1-Butanol	Non soluble	Soluble
Ether diéthylique	Soluble	-
1-Propanol	Non soluble	Soluble
2-Propanol	Peu soluble	Soluble
Ether de pétrole	Non soluble	Non soluble
Chloroforme	Soluble	-
Tétrachlorure	Non soluble	Soluble

❖ **L'analyse du spectre IR:**

D'après l'analyse de l'acide 2,4-hexadiénoïque dans la spectroscopie IR on obtient les bandes suivantes :

Une bande d'absorption au groupement carbonyle C=O à environ 1698,33  $\text{cm}^{-1}$  et groupement C-H à environ 2833,02  $\text{cm}^{-1}$  et on a une large bande d'absorption importante à environ 3024,48  $\text{cm}^{-1}$  due à la fonction hydroxyde O-H et pour la double liaison C=C on a une absorption près de 1636,74  $\text{cm}^{-1}$  et on a une bande 1327,5  $\text{cm}^{-1}$  due au groupement  $\text{CH}_3$ . (Annexe).

**I.2.b) Synthèse du 2,4-hexadiénoate d'éthyle:**

La voie de préparation du 2,4-hexadiénoate d'éthyle est décrite dans le schéma suivant. [14] L'estérification de l'acide 2,4-hexadiénoïque avec l'alcool (éthanol) en présence de l'acide minéral (acide sulfurique  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), conduit à la formation de l'ester (2,4-hexadiénoate d'éthyle). [13]

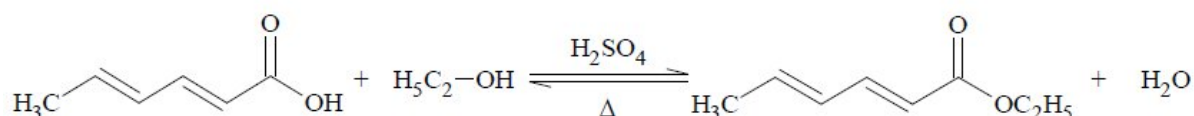


Schéma 13 : Synthèse de l'ester.

❖ L'analyse du spectre IR:

Le composé 2,4-hexadiénoate d'éthyle est caractérisé par un spectre IR présentant une bande d'adsorption à environ 2981.11 cm<sup>-1</sup> attribuée le groupement C-H.

Les bandes d'adsorptions des groupes (C=O), (C=C) et (C-O) ont observées à environ 1715.89 cm<sup>-1</sup>, 1646.17 cm<sup>-1</sup> et 1243.73 cm<sup>-1</sup> respectivement. (Annexe)

I.2.c) Synthèse du 2,4-hexadiénoate d'hydrazide :

La voie de formation du 2,4-hexadiénoate d'hydrazide est décrite dans le schéma suivant. [14] L'hydrazide est préparé par traitement de l'ester avec l'hydrate d'hydrazine N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O dans l'éthanol sous chauffage à reflux. [20]

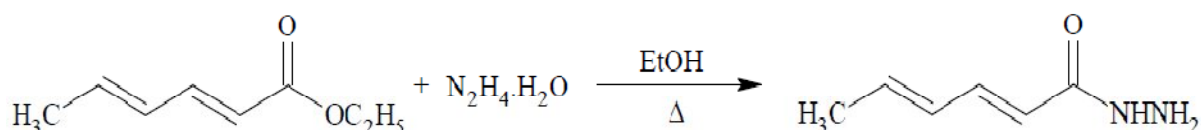


Schéma 14 : Formation du 2,4-hexadiénoate d'hydrazide

❖ **L'analyse du spectre IR:**

L'analyse de spectre IR du 2,4-hexadiénoate d'hydrazide donne les bandes d'absorptions à environ  $1617,9\text{ cm}^{-1}$  et  $3280,8\text{ cm}^{-1}$  pour élongation de groupement carbonyle C=O et groupement NH respectivement.

La bande d'adsorption observée à environ  $1090,4\text{ cm}^{-1}$  est caractérisée la liaison C-N ; caractéristique de l'hydrazide.

**Chapitre B-II**  
**L'activité biologique des composés  
synthétisés**

## II.1. Introduction :

L'activité antibactérienne des produits chimiques synthétisés ; l'**acide 2,4-hexadiénoïque, 2,4-hexadiénoate d'éthyle, 2,4-hexadiénoate d'hydrazide** ont été l'objet des études biologiques, en raison de leurs activités biologiques.

Pour savoir l'activité antibactérienne des composés nouvellement synthétisés, nous avons testés tous les composés contre:

- Bactéries à gram positif :
  - *Staphylococcus aureus*.
  - *Streptococcus B*.
  
- Bactéries à gram négatif :
  - *Escherichia coli*.
  - *Pseudomonas aeruginosa*.

## II.2. Evaluation de l'effet antibactérien :

- ✓ Pour chaque espèce bactérienne, on utilise une boîte de pétri.
- ✓ Les produits synthétisés ; l'**acide 2,4-hexadiénoïque, 2,4-hexadiénoate d'éthyle, 2,4-hexadiénoate d'hydrazide** sont placés dans les boîtes de pétri sous forme des disques de papier.
- ✓ Après l'incubation à 37°C pendant 24 heures, il est possible de voir les zones circulaires d'inhibition de la croissance bactérienne de chaque disque.
- ✓ La mesure du diamètre de la zone claire autour du disque permet d'évaluer l'activité inhibitrice du produit vis-à-vis de la bactérie.

Les zones d'inhibition sont définies comme suit : [14]

- Le produit est actif pour un diamètre > 15 mm

- Le produit est modérément actif pour un diamètre compris entre 8 et 15 mm
- Le produit est inactif pour un diamètre < 8 mm

Les résultats obtenus de l'examen bactériologique sont regroupé dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 02: Résultats de l'examen bactériologique.**

	Les bactéries utilisées			
	Gram +		Gram -	
Les produits Chimiques	<i>Staphylococcus Aureus</i>	<i>Streptococcus B</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>
<b>l'acide 2,4-hexadiénoïque</b>	*	*	*	*
<b>2,4-hexadiénoate d'éthyle</b>	*	*	12	*
<b>2,4-hexadiénoate d'hydrazide</b>	*	*	*	16

\* : Produit inactif et les zones d'inhibition sont données en mm.

### II.3. Interprétation des résultats :

Les composés chimiques nouvellement synthétisés ont montrés une activité antibactérienne entre bonne activité et modérée sauf **l'acide 2,4-hexadiénoïque**.



### II.3.a) Effet des produits testés sur *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus B* :

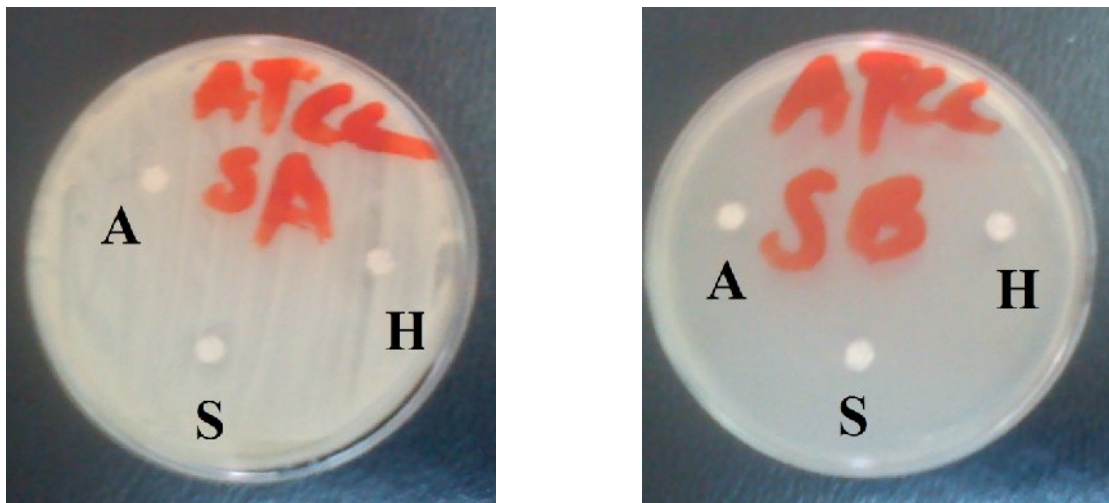


Figure 01 : Résultats obtenus sur les boîtes pétrie de *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus B*

A partir des résultats démontrés dans les figure ci-dessus, il est observé que les composés l'acide 2,4-hexadiénoïque, 2,4-hexadiénoate d'éthyle, 2,4-hexadiénoate d'hydrazide ne possédés aucune activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus B*.

**II.3.b) Effet des produits testés sur *Escherichia coli* :**

Figure 02: Résultats obtenus sur la boîte pétrie d'*Escherichia coli*.

Le composé **2,4-hexadiénoate d'éthyle** est modérément actif, par contre les composés **l'acide 2,4-hexadiénoïque**, **2,4-hexadiénoate d'hydrazide** ont montrés inactivité antibactérienne contre *Escherichia coli*.

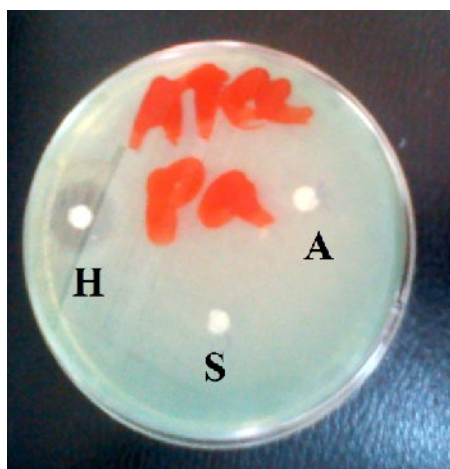
**II.3.c) Effet des produits testés sur *Pseudomonas aeruginosa* :**

Figure 03 : Résultats obtenus sur la boîte pétrie de *Pseudomonas aeruginosa* .

A l'exception de composé **2,4-hexadiénoate d'hydrazide** qui est actif, on constate que les composés **l'acide 2,4-hexadiénoïque**, **2,4-hexadiénoate d'éthyle** ont montrés aucune activité antibactérienne.

#### II.4. Interprétation générale :

Les composés chimiques nouvellement synthétisés sont testés pour leurs activités antibactériennes contre quatre exemplaires des souches bactéries *Staphylococcus aureus*, streptococcus B, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* à concentrations mère de 20 mg/ml pour **2,4-hexadiénoate d'éthyle**, **2,4-hexadiénoate d'hydrazide** et de 10 mg/ml pour **l'acide 2,4-hexadiénoïque**.

En conclusion, d'après les résultats indiqués dans le tableau et les figures ci-dessus, on conclue que :

- **l'acide 2,4-hexadiénoïque** a montrés aucune activité antibactérienne contre toutes les bactéries (gram + et gram -) utilisées.
- Le composé **2,4-hexadiénoate d'éthyle** a présenté une modérément activité contre *Escherichia coli*, et aucune activité antibactérienne contre streptococcus B, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* ; tandis que le composé **2,4-hexadiénoate d'hydrazide** a montré une bonne activité contre *Pseudomonas aeruginosa* et inactivité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, streptococcus B et *Escherichia coli*.

#### II.5. Comparaison avec les études précédentes au niveau de laboratoire de chimie organique bioactive – USTO.MB - :

Selon les études précédentes au niveau de laboratoire de chimie organique bioactive (USTO.MB) sur l'acide 2,4-hexadiénoïque et leurs dérivés où diméthylsulfoxyde (DMSO) est utilisé comme un solvant aux produits

synthétisés {pour la préparation des solutions avec une concentration 20 mg/ml}; on remarque que, à l'exception de **2,4-hexadiénoate d'hydrazide** qui a été inactif, les deux autres composés : {l'**acide 2,4-hexadiénoïque** et **2,4-hexadiénoate d'éthyle**} ont montrés une activité antibactérienne entre bonne activité et modérée sur les mêmes bactéries utilisées. [14]

**Tableau 03 : Résultats de l'examen bactériologique sur les dérivés de l'acide sorbique**

Les produits Chimiques	Les bactéries utilisées			
	Gram +		Gram -	
	<i>Staphylococcus Aureus</i>	<i>Enterococcus Faecalis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>
<b>l'acide 2,4-hexadiénoïque</b>	18	13	12	13
<b>2,4-hexadiénoate d'éthyle</b>	35	17	32	15
<b>2,4-hexadiénoate d'hydrazide</b>	*	*	*	*

\* : Produit inactif et les zones d'inhibition sont données en mm.

- **2,4-hexadiénoate d'hydrazide** ne possède aucune activité biologique contre les bactéries à gram positif; *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis* et les bactéries à Gram négatif; *Escherichia Coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

➤ **Sur *Staphylococcus aureus* :**

Le composé **2,4-hexadiénoate d'éthyle** a possédé une bonne activité antibactérienne et le composé **2,4-hexadiénoïque** a montré une activité antibactérienne modérée contre *Staphylococcus aureus*.

➤ **Sur *Enterococcus faecalis* :**

Le composé **2,4-hexadiénoate d'éthyle** a montré une bonne activité antibactérienne, tandis que le composé **2,4-hexadiénoïque** a montré une activité antibactérienne modérée.

➤ **Sur *Escherichia coli* :**

Le composé **2,4-hexadiénoate d'éthyle** a montré une bonne activité antibactérienne contre, tandis que le composé **2,4-hexadiénoïque** a exposé une activité antibactérienne modérée.

➤ **Sur *Pseudomonas Aeruginosa* :**

Les composés **2,4-hexadiénoïque** et **2,4-hexadiénoate d'éthyle** ont possédés une activité antibactérienne modérée.

## II.6. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est la plus petite concentration d'antibiotique qui inhibe toute culture visible d'une souche bactérienne après 18 heures de culture à 37°C. [23]

La concentration minimale inhibitrice (CMI) des produits chimiques synthétisés est effectuée par la méthode de dilution en série 1/2, 1/4, 1/6 et 1/8 de solution mère 20 mg/ml pour **2,4-hexadiénoate d'éthyle**, **2,4-hexadiénoate d'hydrazide** sur les quatre exemplaires bactériennes.

Les résultats des concentrations minimales inhibitrices (CMI) sont donnés dans le tableau ci-dessous:

	Les bactéries utilisées			
	Gram +		Gram -	
Les produits Chimiques	<i>Staphylococcus Aureus</i>	<i>Streptococcus B</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>
l'acide 2,4-hexadiénoïque	*	*	*	*
2,4-hexadiénoate d'éthyle	*	*	1/2	*
2,4-hexadiénoate d'hydrazide	*	*	1	1/4

Tableau 04 : Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des produits testés.

\* : Produit inactif

## **Partie C (expérimentale)**

**Chapitre C-I**  
**Matières et appareillages**



**I.1. Introduction :**

Dans ce travail en regroupe les réactifs utilisés dans la synthèse organique et les techniques de l'identification des produits synthétisés.

**I.2. Les réactifs et les solvants utilisés :**

La liste des produits chimique qui nous avons utilisés dans laboratoire de chimie organique de l'Université Ahmed Draya d'Adrar.

Les produits chimique	La formule Chimique	La pureté	La densité	T <sub>éb</sub> (C <sup>0</sup> )	La masse molaire	L'origine
Méthanol	CH <sub>3</sub> OH	99%	-	64-65	32.04	Biochem
Ethanol	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	96%	-	80	46.07	Biochem
Hexane	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub>	-	-	63-69	86.18	Biochem
Benzène	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	99%	0.875 - 0.879	78-81	78.11	Biochem
Acétate d'ethyle	CH <sub>3</sub> COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	99%	0.899- 0.902	76-78	88.11	Biochem
Dichlorométhane	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	99%	1.323- 1.327	38-41	84.83	Biochem
Tetrachloride	CCl <sub>4</sub>	99-98%	1592	76.5	153.82	
2-Butanol	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O	99%	0.805- 0.807	96-100	74.12	Biochem
1-Butanol	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O	99.9%	0.810	118	74.12	
Ether diéthylique	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O	98%	713-717	34-36	74.12	Biochem
1-Propanol	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O	99.5%	0.803- 0.805	96-98	60.10	Biochem
2-propanol	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O	98%	-	-	60.10	Biochem
Petroleum ether	Mélange des produits qui vaporisent 40-60 C° de petrol	-	1.474- 1.479	-	--	Biochem
Acide sulfurique	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	98%	-	-	-	Biochem

Sulfate de magnésium	MgSO <sub>4</sub>	99%	1.83		246.48	Biochem
Chloroform	CHCl <sub>3</sub>	90.4%	-	60—62	11.94	Biochem
Bicarbonate de sodium	Alimentaire					

Tableau 05 : Liste des produits chimiques utilisés.

### I.3. Techniques et appareillages :

#### I.3.a) La chromatographie sur couche mince (CCM) :

##### ✓ Définition :

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange des solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. [21]

##### ✓ Appareillage :

- Les cuves
- la phase stationnaire : les plaques ou l'aluminium contient une couche de gel de silice.
- l'échantillon : solution à analyser.
- l'éluant : un solvant pur ou un mélange : il migre lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échantillon.

✓ **Principe :**

La chromatographie d'adsorption est basée sur le partage des solutés entre l'adsorbant solide fixe et la phase mobile. Chacun des solutés est soumis à une force de rétention par adsorption et une force d'entraînement par la phase mobile. L'équilibre qui en résulte aboutit à une migration différentielle des solutés de l'échantillon à analyser, ce qui permet leur séparation.

Les séparations sont basées sur le principe de *polarité*, c'est-à-dire l'existence de dipôles dans une structure moléculaire. [22]

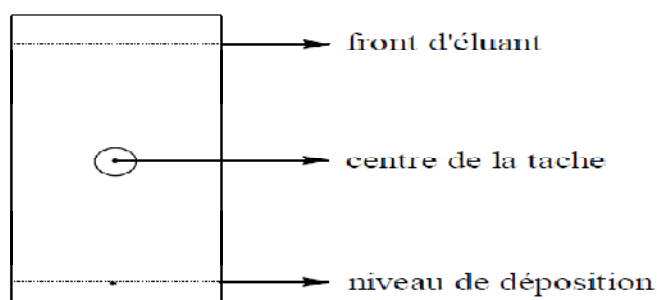
✓ **Types de chromatographies :**

Type	Critère de séparation
Adsorption	Polarité
Partage	Solubilité
Exclusion	Taille des molécules
Échangeuse d'ions	Charge ionique
Affinité	Structure des protéines

**Tableau 06: Les types de chromatographies.**

✓ **Calcul du rapport frontal  $R_f$  :**

Pour une phase stationnaire et une phase mobile données, chaque composé est caractérisé par son  $R_f$  :



$R_f = (\text{distance parcourue par le composé}) / (\text{distance parcourue par l'éluant})$

La distance parcourue par le composé est calculée à partir du niveau de déposition jusqu'au centre de la tache, tandis que la distance parcourue par l'éluant est calculée à partir du niveau de déposition de l'échantillon jusqu'au front de l'éluant, marqué à la fin de l'élution.

Le  $R_f$  est un nombre sans unités qui varie entre 0 et 1.

### ✓ Technique expérimentale :

Les principales étapes d'une chromatographie sur couche mince sont :

- Préparation de la plaque CCM : on utilise les plaques CCM de l'aluminium.
- Préparation de l'éluant et de la cuve
- Déposition des échantillons inconnus et des témoins (généralement on utilise comme témoins le composé synthétisé précédemment)
- Élution de la plaque
- Séchage de la plaque
- Révélation des taches par UV.



Figure 03: Révélation par UV.

- Calcul des  $R_f$  et interprétation des résultats.

### I.3.b) Spectroscopie infrarouge :

Pour l'identification structurale des composés synthétisée on utilisée La spectroscopie IR (KBr).

Les spectres IR des composés synthétisé ont été enregistrés par le spectrophotomètre IR de type Agilent Technologies FTIR Cary 660 entre 400 et 4000  $\text{cm}^{-1}$ , et l'analyse infrarouge a été réalisée au niveau de Laboratoire de Chimie, Université Ahmed Draya Adrar.



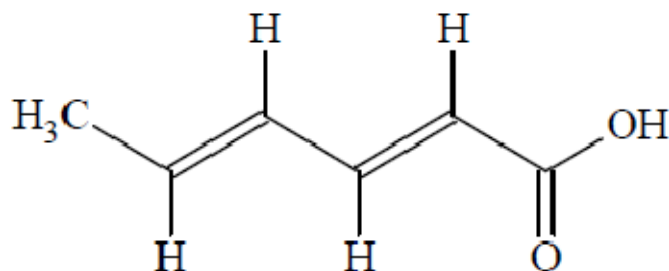
Figure 04: Le spectrophotomètre IR.

### I.3.c) L'indice de réfraction :

L'indice de réfraction de composé synthétisé a été mesuré dans un appareil du réfractomètre de type Abbe à 4 chiffre de précision au niveau de laboratoire de chimie organique, Ahmed Draya Adrar.



Figure 05: Le réfractomètre.

**I.4. Caractéristiques de l'acide 2,4-hexadiénoïque (sorbique) [05]****Schéma15 : L'acide sorbique.**

- Nom IUPAC : l'acide 2,4-hexadiénoïque
- Le nom commercial : l'acide sorbique
- L'état physique : solide
- L'aspect : poudre cristalline blanche
- L'odeur : âcre
- La formule brute :  $C_6H_8O_2$
- La masse molaire (MM) :  $112.13 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
- La température de fusion :  $133 - 135 \text{ }^\circ\text{C}$
- Le point d'éclair :  $127 \text{ }^\circ\text{C}$
- La masse volumique :  $1,2 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$
- pKa: 4.76
- $R_f = 0,56$  (éluant : Toluène/Chloroforme ; 7/3 ; V/V)
- IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3024,48 (O-H), 2833,02 (C-H), 1698,33 (C=O), 1636,74 (C=C). (Annexe).

**Chapitre C-II**  
**Synthèse des dérivés de l'acide**  
**sorbique**

## II.1. Synthèse des composés organiques :

### II.1.a) Synthèse du 2,4-hexadiénoate d'éthyle :

La réaction de l'estérification s'est effectuée par le mode opératoire suivant :

- On mesure 3g de l'acide sorbique.



Figure 06 : Balance .

- On ajoute dans un ballon mono-col la quantité mesurée de l'acide sorbique, l'éthanol en excès et quelques gouttes de l'acide sulfurique puis on commence l'agitation à chauffage.



Figure 07 : Montage de l'estérification.

- Après la fin de la réaction et le refroidissement, on neutralise le mélange réactionnel par la solution saturée de bicarbonate de sodium ( $\text{NaHCO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ ) jusqu'à  $\text{pH} = 7$ .





**Figure 08 : Neutralisation du mélange réactionnel.**

- Après la neutralisation on verse le mélange réactionnel dans l'ampoule à décanter et on ajoute le dichlorométhane ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) ; on obtient deux phases : une phase organique et l'autre aqueuse. La phase aqueuse constituée d'eau avec le sel et la phase organique constituée d'ester formé et dichlorométhane



**Figure 09 : La séparation liquide-liquide.**

- On isole la partie organique dans un bécher, puis on ajoute une quantité de sulfate de magnésium ( $\text{MgSO}_4$ ) pour éliminer les traces de l'eau.

- On filtre le mélange à l'aide d'un papier filtre ; la partie solide c'est le sulfate de magnésium hydrolysée, et la partie liquide contient l'ester, l'éthanol et dichlorométhane.



Figure 10 : La procédure de la filtration

- ✓ A l'aide du rota-vapeur on sépare l'éthanol et le dichlorométhane du mélange et il ne reste que l'ester synthétisé.



Figure 11 : L'extraction de l'ester à l'aide du rota-vapeur.

**✓ Caractéristiques du produit :**

- La masse molaire (MM): 140 g/mole
- La masse du produit: 2.43 g
- Rendement du produit: 64.97 %.
- Rapporte frontal  $R_f$  : 0.88 (L'acétate d'éthyle - Benzène : 4/1).
- L'indice de réfraction : 1.494.
- IR (KBr  $\text{cm}^{-1}$ ): 2981.11 (C-H), 1715.89 (C=O), 1646.17 (C=C), 1243.73 (C-O). (Annexe).

**II.1.b) Synthèse du 2,4-hexadiénoate d'hydrazide :**

On dissout 0.2 g de 2,4-hexadiénoate d'éthyle dans 10ml de l'éthanol puis on ajoute graduellement 2 ml de l'hydrazine hydratée (80%) avec l'agitation. Le mélange réactionnel est chauffé sous reflux pendant 06 heures.

Après refroidissement, et évaporation de solvant on obtient un composé chimique nommé 2,4-hexadiénoate d'hydrazide.



**Figure 12 : Montage de formation de l'hydrazide.**

✓ **Caractéristiques du produit :**

- La masse molaire (MM) : 126 g/mole
- La masse du produit : 0.15g
- Rendement du produit : 83.33%
- Rapport frontal  $R_f$  : 0.38 (Benzène-Acétate d'éthyle : 1/4)
- IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3280.8 (N-H), 1617.9 (C=O), 1090.4 (C-N). (Annexe)

# **Chapitre C-III**

## **L'activité biologique**

### III.1. Introduction :

L'activité antibactérienne des produits chimiques synthétisés l'**acide 2,4-hexadiénoïque, 2,4-hexadiénoate d'éthyle, 2,4-hexadiénoate d'hydrazide** est évaluée par différentes bactéries à gram positif (+) et à gram négatif (-).

L'examen bactériologie est effectué au niveau de l'hôpital ben sina d'adjar.

### III.2. Principe :

Le principe de cet examen consiste à déposer dans une boîte de pétrie contenant une gélose Mueller Hinton (MH) et inoculée par une souche bactérienne, des disques de papier imprègnent des produits chimiques synthétisés avec une concentration de 20 mg/ml pour **2,4-hexadiénoate d'éthyle, 2,4-hexadiénoate d'hydrazide** et de 10 mg/ml pour l'**acide 2,4-hexadiénoïque**.

### III.3. Les bactéries utilisées :

Les bactéries utilisées pour réaliser cet examen bactériologie sont :

- Bactéries à gram positif :
  - *Staphylococcus aureus*.
  - *Streptococcus B*.
- Bactéries à gram négatif :
  - *Escherichia coli*.
  - *Pseudomonas aeruginosa*.

### III.4. Modes opératoire :

- ✓ Toutes les verreries et les matériels utilisés sont stérilisés avant l'usage.
- ✓ L'eau distillée est utilisé comme un solvant aux produits synthétisés pour la préparation des solutions avec une concentration de 20 mg/ml pour **2,4-**

**hexadiénoate d'éthyle, 2,4-hexadiénoate d'hydrazide** et de 10 mg/ml pour l'**acide 2,4-hexadiénoïque**.

- ✓ Les souches bactériennes à gram positif ; (*Staphylococcus aureus*, *streptococcus B*) et à gram négatif ; (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) sont obtenus de l'E.P.H d'adrar.
- ✓ Les disques de papier sont stérilisés à 120 °C pendant 60 min



**Figure 13 : Popinel (l'appareil de stérilisation).**

- ✓ Les disques de papier sont introduits dans les solutions préparés jusqu'à la saturation ou l'imprégnation.

- ✓ Chaque boîte de pétrie contenant un milieu gélosé MH est inoculée avec un boillon nutritif contenant une suspension bactérienne à l'aide d'un écouvillon.



**Figure 14 : L'inoculum a réparti sur l'ensemble de la surface.**

- ✓ Les disques de papier saturés sont déposés à la surface du milieu gélosé MH.



**Figure 15: Les disques saturés déposés à la surface du milieu gélosé MH dans les boîtes pétri.**



- ✓ L'incubation est à 37 °C pendant 24 heures.



**Figure 16: L'étuve de l'incubation.**

- ✓ La mesure du diamètre de la zone claire autour du disque permet d'évaluer l'activité inhibitrice des produits vis-à-vis de la bactérie choisie.

### **III.5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :**

La plus petite concentration d'antibiotique qui inhibe toute culture visible d'une souche bactérienne après 18 heures de culture à 37°C. [23]

La technique de dilution est utilisée pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) des composés synthétisés. [24]

Différentes dilutions sont préparées à partir d'une solution mère, selon les dilutions suivantes : 1/2, 1/4, 1/6 et 1/8.

Les résultats des concentrations minimales inhibitrices (CMI) sont donnés dans le tableau ci-dessous:

**Tableau 04 : Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des produits testées**

	Les bactéries utilisées			
	Gram +		Gram -	
Les produits Chimiques	<i>Staphylococcus Aureus</i>	<i>Streptococcus B</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>
l'acide 2,4-hexadiénoïque	*	*	*	*
2,4-hexadiénoate d'éthyle	*	*	1/2	*
2,4-hexadiénoate d'hydrazide	*	*	*	1/4

\* : Produit inactif

## Conclusion générale

## Conclusion générale

Ce travail est contenu une étude bibliographique et expérimentale sur l'acide 2,4-hexadiénoïque et leur dérivés.

Le travail présenté dans ce mémoire est basé sur la synthèse de nouveaux composés à partir de l'acide 2,4-hexadiénoïque: le 2,4-hexadiénoate d'éthyle et le 2,4-hexadiénoate d'hydrazide.

L'analyse de ces nouveaux composés a été réalisée par des méthodes physico-chimiques telles que : la chromatographie  $R_f$ , l'infrarouge **IR** et l'indice de réfraction.

Pour l'examen bactériologie, à l'exception du **l'acide 2,4-hexadiénoïque** qui est inactive, les deux autres composés synthétisés ont présentés une activité antibactérienne de bonne à modérée contre les quatre bactéries choisies.

- ✓ **l'acide 2,4-hexadiénoïque** a montré aucune activité antibactérienne contre toutes les bactéries (gram + et gram -) utilisées.
- ✓ Le composé **2,4-hexadiénoate d'éthyle** a présenté une modérément activité contre *Escherichia coli*, et aucune activité antibactérienne contre streptococcus B, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* ; tandis que le composé **2,4-hexadiénoate d'hydrazide** a montré une bonne activité contre *Pseudomonas aeruginosa* et inactivité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, streptococcus B et *Escherichia coli*.

Finalement, on conclue que les dérivés de l'acide sorbique sont des composés importants dans différents usages et possèdent un domaine de recherche très vaste.

## Bibliographie

- [01]: *Sorbic Acid and Potassium Sorbate as Cosmetic Preservatives*, Eastman Chemical Company. 1-16 (1998).
- [02] : P. Hordé, *Acide carboxylique - Définition*, *Sante-Medecine*, 1(2014).
- [03] : C. Christine, *Acides gras- nomenclature et sources alimentaires*, *Ann.Méd. Vét*, 148, 133-140 (2004).
- [04]: M. Dharmadhikari, *Am. J. Enol. Vitic.*, 26, 1-5 (1975).
- [05]: <http://www.chm.bris.ac.uk/webprojects2001/ghumra/contents.htm>
- [06] : C. Ferrand et al, *Amino Acids.*, 18, 251–263 (2000).
- [07] : M. T. Pérez-Prior, *J. Solution Chem.*, 37, 459–466 (2008).
- [08] : T. A. Morozova, A. P. Belov, A. V. Krylov, *J. Str. Chem.*, 45, No. 3, 410-416 (2004).
- [09]: E. Leitmannova, L. Cerveny, *J. Mol. Catal.*, 261, 242–245(2007).
- [10]: M. A. Liebert, *journal of the american college of toxicology*, Vol 7, 6,(1988).
- [11] : K. Hofer, D. Jenewein, *Eur. Food. Res. Technol.*, 211, 72–76 (2000).
- [12]: C. Ilanna et al, *Sorbic Acid and Its Degradation Products-Electrochemical Characterization* *Analytical Letters*, 45: 408–417, (2012)
- [13]: B. Narasimhan, et al, *Med Chem Lett.*, 17, 5836–5845 (2007).
- [14] : H. Abdelmadjid, *Synthèse des hétérocycles azotés à cinq chaînons dérivés de l'acide sorbique et détermination de leurs activités biologiques, mémoire de magister*, USTO., MB., 104 (2013).

- [15]: Ya. E. Sergeeva , et al, *Microbiology.*, 78, No. 5, 695–701 (2009).
- [16]: C. Aprea, and al, *Arch Environ Contam Toxicol.*, 55, 329–340 (2008).
- [17]: M.N.B. Papadimitriou, et al, *Int. J. Food Microbiology*, 113, 173–179 (2007).
- [18]: I. K. Cigic, et al, *J. Chromatogr.*, 905, 359–366 (2001).
- [19]: C.C.J. van Melis et al, *Food Microbiology*, 28, 275-283 (2011).
- [20]: J.C FIAUD, *Cyclisations radicalaires 5-endo-trig et Synthèses d'agents anticancéreux.* <https://pastel.archives-ouvertes.fr/pastel-00002296>, (2010).
- [21] : Anonyme, *CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE.* P : 4, (2004).
- [22] : Anonyme, *technique : principe de la chromatographe.* Univ Sherbrooke. p : 10, (2012).
- [23] : M. Archambaud, *Méthodes d'évaluation de l'activité des antibiotiques in vitro*, Laboratoire Bactériologie-Hygiène CHU Rangueil Toulouse, 29P,(2009).
- [24] : V. Gupta, S. K. Kashaw, V. Jatav, P. Mishra, *Med. Chem. Res.*, 17, 205–211 (2008).

## ملخص

حمض السوربيك ( حمض- 4,2 ايكسانويك )ومشتقاته هي عبارة عن مركبات جد معروفة ,وهذا بفضل استخدامها كعوامل وقاية ممتازة في مستحضرات التجميل، الرعاية، المنتجات الغذائية ومنتجات التبغ.

في هذه الأطروحة ,قمنا بشرح الطريقة المعتمدة في تحضير مشتقات حمض السوربيك ؛ 4,2 ايكسانوات الإيثيل و4,2 ايكسانوات الهيدرازيد و التي تم تركيبها بنجاح و درست لأجل فعاليتهم البكتيرية .هذه المركبات حضرت إنطلاقا من حمض السوربيك كمادة أولية.

تحديد تراكيب هذه المركبات المحضرة تم بواسطة الاعتماد على الفحص تحت الحمراء و التحليل على الطبقة الرقيقة .

تم اختبار المركبات مركبة للنشاط مضاد للجراثيم ضد المكورات العنقودية الذهبية، الزائفة الزنجارية، المكورات العقدية، الإشريكية القولونية و التي أظهرت نتائج جيدة.

### الكلمات المفتاحية :

حمض السوربيك، 2,4 ايكسانوات الإيثيل ، 4,2 ايكسانوات الهيدرازيد، اختبار مضاد لنشاط الجراثيم.



## Résumé

L'acide sorbique (l'acide 2,4-hexadiénoïque) et leurs dérivés sont bien connus pour leur utilisation comme des agents de conservateur excellents dans les produits cosmétiques, les produits de soins, les produits alimentaires, et les produits du tabac.

Dans ce mémoire, nous avons décrit les méthodes conventionnelles utilisées dans la synthèse des dérivés de l'acide sorbique ; **2,4-hexadiénoate d'éthyle** et **2,4-hexadiénoate d'hydrazide** ont été synthétisés avec succès et étudiés pour leur activité antibactérienne. Ces composés ont été préparés à partir de l'acide sorbique comme matière de départ.

La détermination structurale de ces composés a été faite sur la base de la spectroscopie infrarouge et la chromatographie sur couche mince.

Les composés synthétisés ont été testés pour l'activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus B.* et *Escherichia coli* et montrent des bons résultats.

### Mots clé :

L'acide sorbique, 2,4-hexadiénoate d'éthyle et 2,4-hexadiénoate d'hydrazide, activité antibactérienne.

## Abstract

Sorbic acid (2,4-hexadienoic acid) and their derivatives are well known for their use as preservative agents excellent in cosmetics, cure, food, and tobacco products.

In this brief, we have described the conventional methods used in the synthesis of derivatives of sorbic acid; 2,4-hexadienoate ethyl and 2,4-hexadienoate hydrazide were successfully synthesized and studied for their antibacterial activity. These compounds were prepared from sorbic acid as starting material.

The structure determinations of these compounds have been made on the basis of infrared spectroscopy and thin layer chromatography.

The synthesized compounds were tested for antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus B*, *Escherichia coli*. show good results.

### Key words:

Sorbic acid, 2,4-hexadienoate ethyl, 2,4-hexadienoate hydrazide, antibacterial activity.