

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université BLIDA 1

Faculté de Technologie
Département Génie des Procédés



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER EN GÉNIE DES PROCÉDÉS

Spécialité: Génie l'Environnement

Intitulé du Mémoire

Élaboration des biofilms pour emballage alimentaire à base d'une biomasse marine

Et le suivi de leur biodégradation dans l'eau de mer

Présenté par :

- Melle Bouabdellah Samah
- Melle Loubachria Imene
- Melle Mahdi Roumaissa Nour El-houda

Encadré par :

P.r Laribi Hassiba

Co-promoteur :

Moussoum Mohand Ouidir

Année Universitaire 2023/2024

Résumé

L'objectif de ce travail est de développer de nouveaux matériaux biodégradables pour la fabrication de film d'emballage alimentaire à base de Chitosane. Dans notre étude nous intéressons au premier lieu à l'extraction du Chitosane à partir de carapaces de la crevette par une série de processus chimiques : déminéralisation, déprotéinisation et désacétylation. Le produit obtenu a été caractérisé par la spectroscopie infrarouge (FTIR) avec DAA égal 87%. Nous avons étudié aussi le comportement antibactérien par la méthode des puits. Les résultats obtenus révèlent un effet antimicrobien important démontré vis-à-vis de plusieurs souches bactériennes.

Ensuite élaboration des films à base de Chitosane pure et de PVA pur, mélange du Chitosane avec le PVA à différents pourcentages et les mélanges PVA /Chitosane/Glycérol à différents pourcentages a été réalisé.

À la fin, un film a été sélectionné : un film plastifié (Chitosane 80%, PVA 20%, Glycérol 0.5%) souple et ne casse pas, qui a une bonne structure transparente, lisse.

Les mots clés : Chitosane – biodégradables – pouvoir antimicrobien – Extraction – carapaces

Substrat

The objective of this work is to develop new biodegradable materials for the production of food packaging films based on chitosan. In our study, we focus initially on the extraction of chitosan from shrimp shells through a series of chemical processes: demineralization, deproteinization, and deacetylation. The obtained product was characterized by infrared spectroscopy (FTIR) with a degree of acetylation (DA) of 87%. We also investigated the antibacterial behavior using the well diffusion method. The results reveal a significant antimicrobial effect against several bacterial strains. Next, we developed films based on pure chitosan, pure PVA, and mixtures of chitosan with PVA at different percentages, as well as PVA/chitosan/glycerol blends at varying ratios.

Finally, we selected a plasticized film (80% chitosan, 20% PVA, 0.5% glycerol) that exhibited a good .transparent, smooth, flexible structure that does not break

The keywords : Chitosan – biodegradable – antimicrobial activity – extraction – shells

ملخص

يهدف هذا العمل إلى تطوير مواد جديدة قابلة للتحلل الحيوي لإنتاج أفلام تغليف المواد الغذائية تعتمد على الكيتوزان. في دراستنا، ركزنا في البداية على استخراج الكيتوزان من قشور الروبيان من خلال سلسلة من العمليات الكيميائية: إزالة المعادن، إزالة البروتين، وإزالة الأسيتيل. تم تحليل المنتج الناتج باستخدام مطياف الأشعة تحت الحمراء (FTIR) حيث كانت نسبة إزالة الأسيتيل 87%. كما درسنا السلوك المضاد للبكتيريا باستخدام طريقة الانتشار في الأبار. كشفت النتائج عن تأثير مضاد للميكروبات مهم ضد عدة سلالات بكتيرية

بعد ذلك، قمنا بتطوير أفلام تعتمد على الكيتوزان النقي، و PVA النقي، ومزج الكيتوزان مع PVA بنسب مختلفة، بالإضافة إلى خلطات PVA/كيتوزان/جلسيرول بنسب مختلفة.

وأخيراً، اخترنا فيلماً مضافاً إليه ملدن (80% كيتوزان، 20% PVA، 0.5% جلسيرول) والذي أظهر بنية جيدة شفافة، ناعمة، مرنة ولا ينكسر.

Remerciements

On remercie dieu le tout puissant de nous
Avoir donné la santé et la volonté d'entamer
Et de terminer ce mémoire

Nos remerciements s'adresse à Mme LARIBI-
.HASSIBA pour son aide et ses encouragements

On remercie Pr.BADIS ABDELMALEK le responsable -
.du Master génie de l'environnement

On remercie aussi tous nos professeurs pour-

.Leur enseignement et leur conseils

Les membres des jurys qui ont accepté
.d'examiner notre travail

Enfin, nous exprimons nos vifs remerciements à -
tous ceux qui ont contribué, de près ou de
.loin, à la réalisation de ce mémoire

Dédicace

Ja dédie ce modeste travail à:

Of l'homme de ma vie, mon soutien moral mon cher père
Ibrahim qui m'a soutenu éternellement at

Qui a consacré sa via afin de faire de

.Moi ce que je suis

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir,
qui n'a jamais dit non à mes exigences, et qui n'a
épargné aucun effort pour me rendre heureuse imon
.adorable mère Fouzia

A mes chères sœurs, source d'espoir et de motivation:
Sirine et Jasnim. A mes chères frères, mon bras droit
.Djalil, mon champignon Monçif, et mon cœur Rahim

.Au cœur de ma grande-mère

A tous les membres de ma famille et à toute personne
.qui occupe une place dans mon cœur

:Je ne saurai terminer sans citer mes meilleures amies

Wissam, Ikram. Chahra

A tous mes amis que j'aime et que je respecte chacun
.un son nom

Et tout la promo de Génie d'environnement 2023/2024
pour les bons moments passés ensemble tout au long mes
.études

Je tiens à adresser des remerciements très chaleureux
à madame Laribi. pour tous ces conseils et leur
.soutien moral

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin
pour que ce projet soit

.Possible, je vous dis merci

Roumaïssa

Dedicates

C'est avec un grand plaisir que je dédie
ce modeste travail à la plus proche qui
m'a beaucoup encouragé et qui m'a donné
l'amour c'est grâce à toi chère
maman...merci et que dieu te garde Je
dédie mon cher père et ma sœur pour votre

amour Je dédie ma grand-mère allah
.yrhamha

Et bien sûr son oublié à adresser à
madame laribi pour tout les conseils et
leur soutien moral

Imene

Dedicates

Je dédie tout ce travail

À ma chère mère et mon père bouabdallah youcef, pour leur amour inconditionnel, leur soutien et leurs encouragements constants. Merci de m'avoir inculqué des valeurs de persévérance et de travail acharné. Vous êtes ma source d'inspiration et de force

À mes sœurs hanan, wiaam et ma petite soeurs alaa et frères nadhir et khalil, pour leur soutien et leur compréhension tout au long de ce parcours. Merci pour votre patience, vos conseils et pour avoir toujours .cru en moi

Je le dédie également à Mme l'Araibi, qui nous a .guidé tout au long de ce travail par ses conseils

Samah

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1: La structure de l'alcool vinylique; (b) Le PVA est synthétisé par hydrolyse
D'acétate de polyvinyle

Figure 2.1: production mondiale de produits de la mer (poisson, crustacés, mollusques).....7

Figure 2.2: la structure chimique de la chitine

Figure 2.3: la structure chimique du chitosane

Figure 2.4: principales étapes d'extraction de la Chitine et sa transformation en chitosane...11

Figure 3.1: A temps quelconque Représentation de l'essai de traction, Eprouvette a l'état initial ($t=0$)
et déformée

Figure 4.1: Schéma du prétraitement des carapaces de crevettes

Figure 4.2: L'étape de déminéralisation la carapace **Figure 4.3:** la réaction du Chitosane et PVA

Figure 5.1: Caractéristique visuelle de la chitine et chitosane (originale)

Figure 5.2: Spectre IR du chitosan

LISTE TABLEAUX

Tableau 1.1: Comparaison des caractéristiques des différents types de polymères.....5

Tableau 2.1: Applications du chitosane

Tableau 4.1: les différents formulations Chitosane/PVA

Tableau 4.2: les différents formulations Chitosane/PVA/Glycérol

Tableau 5.1: Test de solubilité du chitosane extrait et du chitosane. Commercial

Tableau 5.2: Résultats du test de solubilité du chitosane extrait et Commerciale à différentes concentrations d'acide acétique...

Tableau 5.3: les zones de l'activité antimicrobienne

Tableau 5.4: l'activité antibactérienne du chitosane à 1%

Tableau 5.5: Les aspects films préparés (Cs/PVA)

Tableau 5.6: Les aspects des film (CS/PVA/GLY

Tableau 5.7: taux de gonflement de différents films préparés

Tableau.5.9: Activité antimicrobienne du Film

Tableau 5.8: Activité antibactérien du Film

SIGLES ET ABREVIATIONSSIGLES ET ABREVIATIONS

AA: Acide Acétique

CS: chitosane

DDA: degrés de désacétylation.

GN: gélose nutritive

H₂O₂: eau l'oxygénée

HCl: Acide chlorhydrique

PH: Potentiel D'hydrogène

PVA: Alcool Polyvinylique

NaOH: L'hydroxyde de sodium

MH: gélosé Mueller-Hinton

TABLES DES MATIERES

RESUME

REMERCIEMENTS

DEDICACE

LISTES DES FIGURES

LISTES DES TABLEAUX

LISTE ABREVIATION

INTRODUCTION GENERALE¹

| | |
|--|----|
| CHAPITRE I: BIOPOLYMERE..... | 3 |
| I. Définition..... | 3 |
| I.1 Biopolymères issus de ressources renouvelables..... | 3 |
| I.1.1 Biopolymères d'origine bactérienne..... | 3 |
| I.1.2 Biopolymères synthétiques non issus de la pétrochimie..... | 3 |
| I.1.3 Biopolymères issus de la biomasse..... | 4 |
| I.2 Biopolymères issus de la pétrochimie..... | 4 |
| I.3 Polymères Biodégradables..... | 6 |
| I.3.1 Définition et la structure de PVA..... | 6 |
| CHAPITRE II : LA CHITINE ET CHITOSANE..... | 7 |
| II.1 Généralité..... | 7 |
| II.1.1 Pollution des déchets de crustacés dans l'environnement..... | 7 |
| II. 2. La Chitine..... | 8 |
| II.2.1 Définition de la chitine..... | 8 |
| II.2.2 Source de la chitine..... | 8 |
| II.2.3 Extraction de la chitine..... | 8 |
| II.2.3.1 Déminéralisation..... | 8 |
| II.2.3.2. Déprotéinisation..... | 9 |
| II.2.3.3 Blanchiment..... | 9 |
| II.3 Le chitosane..... | 9 |
| II.3.1 Définition et la structure du chitosane..... | 9 |
| II.3.2 Production de chitosane à partir de la chitine (Processus de désacétylation)..... | 10 |
| II. 4 Les propriétés physico-chimiques du Chitosane..... | 11 |
| II.4.1 Degré de désacétylation (DD)..... | 11 |
| II.4.2. Viscosité..... | 12 |
| II.4.3. Masse molaire..... | 12 |

| | |
|---|-------------------------------------|
| II.4.4. Solubilité | 12 |
| II.5 Propriétés de biocompatibilité du chitosane : | 13 |
| II.5.1 Biodégradabilité : | 13 |
| II.5.2 Cytocompatibilité : | 13 |
| II.6 Propriétés biologiques | 14 |
| II.6.1 Propriétés antibactériennes du chitosane : | 14 |
| II.7 les domaines d'applications du chitosane..... | 14 |
| II.8 Application de chitosane dans l'emballage alimentaire : | 15 |
| CHAPITRE III : LES BIOFILMS | 17 |
| III. Généralités | 17 |
| III.1 Etude des méfaits des déchets plastiques sur l'environnement et la santé | 17 |
| III.2 Films à base de biopolymères naturels..... | 17 |
| III. 2. 1 Films à base de polysaccharides : | 18 |
| III. 3 Les Mélanges Chitosane/Polymères Biodégradables | 18 |
| III. 4 Additifs | 18 |
| III.4.1 Glycérol | 19 |
| III.4.2 Polyéthylène Glycol (PEG) | 19 |
| III. 5.Caractérisations et méthodes d'évaluations des films bioplastiques | 19 |
| III.5.1 Epaisseur des films : | 19 |
| III.5.2 Teneur en eau : | 19 |
| III.5.3 tests de gonflement : | 20 |
| III.5.4 Analyse Solubilité des films dans l'eau : | 20 |
| III.5.5 Propriétés mécaniques des films bioplastique : | 20 |
| CHAPITRE IV : MATERIEL ET METHODE | 21 |
| IV.1 Matériels et solutions utilisées | Error! Bookmark not defined. |
| IV.1.1 Les produits et le matériel utilisés durant cette recherche sont : | 21 |
| IV.1.2 Appareillage | 22 |
| IV.2 L'extraction de la chitine à partir des carapaces de crevettes | 22 |
| IV.2.1 Préparation de la poudre de carapace..... | 22 |
| IV.2.1 Déminéralisation | 22 |
| IV.2.2 Déprotéinisation : | 23 |
| IV.2.2 Blanchiment : | 23 |
| IV.2.3 Préparation du chitosane: (par désacétylation de la chitine)..... | 24 |
| IV.3 les caractérisations physico-chimiques du Chitosane : | 24 |
| IV.3.1 La solubilisation du Chitosane : | 24 |
| IV.3.2 Détermination du degré de desacétylation DDA par le Spectroscopie infrarouge | 24 |

| | |
|---|----|
| IV.3.3 Méthode d'analyse par spectroscopie infrarouge IR : | 24 |
| IV.3.3.1 Principe de fonctionnement : | 24 |
| IV.3.3.2 Mode opératoire : | 25 |
| IV.3.4 Activité Antibactérienne du Chitosane | 25 |
| IV.3.4.1 Méthode de diffusion en puits AWDT (Agar Well Diffusion Test) | 25 |
| IV.3.4.2 Méthode de diffusion en puits AWDT(Agar Well Diffusion Test) | 26 |
| IV.3.5 Activité antifongique du chitosane | 26 |
| IV.4 Préparation des films | 26 |
| IV.4.1 Préparation des films à base de chitosane | 26 |
| IV.4.1 Préparation des films de PVA | 27 |
| IV.4.1.1 Préparation des films du PVA pur | 27 |
| IV.4.1.2 Préparation des films du mélange chitosane/PVA | 27 |
| IV.4.1.3 Préparation des films Chitosane / PVA/ Glycerol | 28 |
| IV.4.2 Caractérisation phisico-chimique des films | 29 |
| IV.4.2.1 Test de solubilité des films | 29 |
| IV.4.2.2 Test de gonflement | 29 |
| IV.4.2.3 Analyse spectroscopique des films bioplastique par spectroscopie infrarouge a transformée de Fourier : | 30 |
| IV.4.2.4 Activité antibactérienne des films | 30 |
| IV.4.2.5 Activité antifongique du chitosane | 30 |
| CHAPITRE V: RESULTATS ET DESSCUSIONS | 31 |
| V. Résultat de l'extraction du chitosane | 31 |
| V.1 Caractérisation visuel de la chitine et de chitosane : | 31 |
| V.2 caractérisation physico-chimique du chitosane | 32 |
| V.2.1 Détermination de la solubilité | 32 |
| V.2.3 Détermination du degré de desacétylation par le Spectroscopie infrarouge : | 33 |
| V.2.3.1 La structure de chitosane obtenu : | 33 |
| V.2.3.2 Détermination du degré d'acétylation du chitosane obtenu | 33 |
| V.2.4 Activité antibactérien du chitosane | 34 |
| V.2.4.1 Pouvoir antibactérien du chitosane, agent antimicrobien industriel par la méthode des puits AWDT | 34 |
| V.2.5 Caractérisations des films plastifiés | 37 |
| V.2.5.1Aspect de Films préparées | 37 |
| CONCLUSION GENERALE : | 47 |
| BIBLIOGRAPHIE | 49 |

INTRODUCTION GENERALE

Avec la croissance de la population au cours des dernières décennies, l'utilisation croissante des matières plastiques représente un facteur principal de la pollution de l'environnement. D'un autre côté, deux problèmes majeurs se manifestent par la présence de matériaux d'emballage en plastique dans les décharges. Premièrement, ces emballages se dégradent à peine dans les décharges (long temps de vie) et deuxièmement leur accumulation continue diminue l'espace dans les décharges [1].

Les emballages antimicrobiens sont divisés en deux catégories principales : les emballages biodégradables et les emballages non biodégradables. Des polymères non biodégradables ayant de bonnes propriétés telles que des propriétés barrières élevées, une résistance mécanique élevée, une faible densité et un coût faible sont reconnus comme des candidats pour les matériaux d'emballage alimentaire. Cependant, les polymères non biodégradables issus de la pétrochimie, tels que le polyéthylène (PE), le polypropylène (PP), le polystyrène (PS), le polychlorure de vinyle (PVC) et le polyéthylène téréphtalate (PET), présentent un impact négatif sur l'environnement en raison de leur accumulation croissante dans les décharges.

Plusieurs matériaux ont été traditionnellement appliqués pour les emballages alimentaires tels que le métal, le verre, le carton, le papier et les plastiques ou la combinaison de plusieurs matériaux comme les composites. La non-réutilisation et la non-biodégradabilité de ces matériaux d'emballage ont été les raisons principales pour développer des matériaux alternatifs à base de ressources renouvelables [2] [3].

Par conséquent, protéger l'environnement en développant des matériaux biodégradables est devenu un sujet principal pour de nouvelles investigations. Les polymères biodégradables ont démontré une efficacité raisonnable pour surmonter la restriction des ressources pétrochimiques à l'avenir. Ces polymères sont divisés en trois grands groupes : i) les polymères biodégradables obtenus par synthèse chimique, ii) les polymères biodégradables produits par fermentation de microorganismes et iii) les polymères biodégradables issus de produits naturels chimiquement modifiés [4],[5].

Parmi les autres applications des matériaux biodégradables, les emballages alimentaires sont reconnus comme une industrie importante. Ces matériaux, contrairement aux matériaux issus de ressources non renouvelables, ont un grand potentiel de réduction de la pollution de l'environnement en réduisant l'incinération. Par conséquent, de nombreux efforts ont été

déployés en développant des matériaux d'emballage à partir de ressources naturelles qui répondent aux attentes des consommateurs (aliments plus sûrs et de meilleure qualité). Les emballages alimentaires ont deux objectifs principaux : i) préserver la qualité et la sécurité des aliments et ii) protéger les aliments contre les altérations chimiques, physiques et biologiques.

Au cours des dernières décennies, le mélange de polymères est devenu l'une des techniques les plus classiques pour produire de nouveaux matériaux polymères biodégradables ayant de bonnes propriétés mécaniques, chimiques, et particulièrement de bonnes propriétés barrières à l'oxygène. Il est donc considéré comme une technique prometteuse pour diminuer la destruction de l'environnement (déchets polymères) [6],[7].

Donc l'objectif est de fabriquer de tels films bioplastiques à partir de matières premières renouvelables et préférablement résiduelles. Les chercheurs ont étudié l'utilisation de polymères glucidiques tels que la cellulose, le chitosane, l'amidon, la pectine et l'alginate pour développer des films biodégradables. Le défi consiste à fabriquer des revêtements qui sont résistants et qui étanches au pétrole et à l'eau.

Le nouveau plastique est composé de deux polymères le PVA et la chitine, le composant principal des carapaces des crabes, des crevettes et des homards. La chitine pourrait provenir des tonnes de carapaces jetées générées par l'industrie alimentaire. Les chercheurs ont fabriqué le plastique avec des parties presque égales de PVA et de chitosane, qui est dérivé de la chitine.

CHAPITRE I: BIOPOLYMERE

I. Définition

Les biopolymère sont des polymères présents dans des organismes vivants ou synthétisés par ceux-ci, c'est-à-dire ce sont des polymères provenant de ressources renouvelables qu'on peut polymériser pour fabriquer des bioplastiques [8], Et ils sont des matériaux biodégradables capables de se dégrader par attaque microbienne (micro-organismes)[9]. Les biopolymères peuvent être regroupés en deux catégories, en fonction de l'origine des matières premières et des voies de synthèse : les biopolymères issus de l'industrie pétrochimique et les biopolymères issus de ressources renouvelables.

I.1 Biopolymères issus de ressources renouvelables

Ces biopolymères sont une réponse élégante et innovante pour remplacer les produits dérivés du pétrole et s'adaptent à une démarche de développement durable réel. Trois grands groupes composent ce type de biopolymères : les biopolymères d'origine bactérienne, les biopolymères synthétiques non issus de la pétrochimie et les biopolymères issus de la biomasse [10].

I.1.1 Biopolymères d'origine bactérienne

Les biopolymères produits par des micro-organismes sont issus de la fermentation microbienne qui consiste à la fabrication « in situ » de polymères qui s'accumulent dans le cytoplasme de certaines bactéries en état de fermentation, qui utilisent principalement des matières fermentescibles comme le sucre et l'amidon, pour produire des polyesters [11,12]. Parmi ces polymères on a les biopolymères à base de PHA ont d'excellent caractère hydrophobe et non hydrosoluble, des bonnes propriétés barrières à l'eau et aux gaz, ils ont d'excellentes propriétés filmogènes, et son facilement industrialisables, la seule limite à leur utilisation est leur coût de production à cause de l'étape de purification après réaction dans le fermenteur [13]

I.1.2 Biopolymères synthétiques non issus de la pétrochimie

Ce sont des polymères obtenus par voie fermentaire. Leur mode de fabrication consiste en une polymérisation de monomères naturels ou identiques aux naturels. Ces polymères s'appellent synthétiques ou chimiosynthétiques, Il existe deux catégories de biopolymères

synthétiques : les biopolymères biodégradables comme le Polyacide lactique biopolymères non (PLA) et les biodégradables comme PE [14][15].

I.1.3 Biopolymères issus de la biomasse

Ce sont des matériaux extraits de la biomasse (végétaux, animaux et micro-organismes). Les polysaccharides tels que l'amidon (manioc, maïs, pomme de terre, ...), la cellulose, la lignine, le chitosane (chitine des crustacées) en constituent la famille la plus importante. Une autre famille est constituée de protéines et de lipides issus des animaux (caséine, collagène, gélatine), et de plantes (colza, tournesol, soja, gluten, zéine) [10].

I.2 Biopolymères issus de la pétrochimie

Ce sont des polymères fabriqués à partir de monomères non renouvelables issus de ressources fossiles obtenus par des procédés industriels de synthèse [8][16]. Dans cette catégorie, on a des matériaux biofragmentables, des matériaux fragmentables et des matériaux biodégradables. Les principales caractéristiques des biopolymères et celles des polymères synthétiques sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau1.1: Comparaison des caractéristiques des différents types de polymères [17].

| | | | | | |
|--------|------------------------------------|--|---|---|-----|
| Malgré | Composition | Polymères synthétiques | Polymères biodégradables (Polymères synthétiques +naturels) | Polymers biodegradables (Polymères naturels) | les |
| | Matière première | Renouvelable | Seule une infime partie est renouvelable | Plastiques à base de cellulose, plastiques à base d'amidon | |
| | Exemples | Polyéthylène (PE), polypropylène, polystyrène, etc. | PE +Amidon +PE +cellulose, etc. | Plastiques à base de cellulose, plastique à base de d'amidon | |
| | Biodégradabilité | Pas du tout ou très mauvaise | Seuls les polymères naturels sont attaqués par des micro-organismes | Excellente | |
| | Photo-dégradabilite | Addition de pro-dégradants qui favorisent une faible attaque chimique | Addition de pro-dégradants qui provoquent la rupture chimique et permettent l'attaque des polymères naturels par des micro-organismes | Peut contribuer a la biodégradabilité ou l'accélérer | |
| | Prix | Très bonne marche pour les produits courants | Moyen | Très cher actuellement mais s'améliorent avec les capacités de production | |
| | Propriétés physiques et mécaniques | Très bonnes a très variables | Variables | Bonnes et variables selon les applications | |
| | Pendant la combustion | Des polluants toxiques peuvent être produits | Des polluants toxiques peuvent être produits | Des polluants toxiques ne devraient pas être produits | |
| | Compostabilité | Nulle | Faiblement compostable | Majoritairement compostable | |
| | Dans les décharges | Stable, possibilité de production de polluants ou d'effluents toxiques | Moins stable, possibilités de production de polluants ou d'effluents toxiques | Instable. des polluants ou effluents toxiques ne devraient pas être produites | |
| | Recyclage | Bon | Mauvais | Plutôt mauvais, mais peut être amélioré | |

multiples avantages que présentent les biopolymères naturels (excellente biodégradabilité, absence de polluants toxiques, renouvelabilité,...) par rapport aux polymères synthétiques, ils présentent une mauvaise recyclabilité et sont encore très chers.

I.3 Polymères Biodégradables

Les matériaux biodégradables sont des matériaux qui sont aptes à subir un processus de décomposition sous forme de dioxyde de carbone, de méthane, d'eau, de composés non organiques ou de biomasse, le tout sous l'action enzymatique des micro-organismes. La biodégradabilité d'un matériau se définit, alors, comme la capacité intrinsèque du matériau à être dégradé par une attaque microbienne, pour simplifier progressivement sa structure et finalement se convertir en CO₂, H₂O et/ou CH₄ et une nouvelle biomasse [18].

I.3.1 Définition et la structure de PVA

Le PVA est un polymère d'alcool vinylique de formule moléculaire (C₂H₃OR)_n, où R peut être H ou COCH₃. En raison de l'instabilité de l'alcool vinylique, il est synthétisé à partir de l'acétate de vinyle, qui polymérise en acétate de polyvinyle. Ensuite, les esters d'acétate de polyvinyle sont hydrolysés en présence d'hydroxyde de sodium pour former l'alcool polyvinylique. Ce polymère est composé principalement de liaisons 1-3 diols. L'alcool polyvinylique peut former des films avec des capacités émulsifiantes et adhésives, capables de résister à de fortes contraintes. Il est également souple, hygroscopique et très soluble dans l'eau, avec des propriétés dépendant du degré d'hydratation [19] et sa structure est :

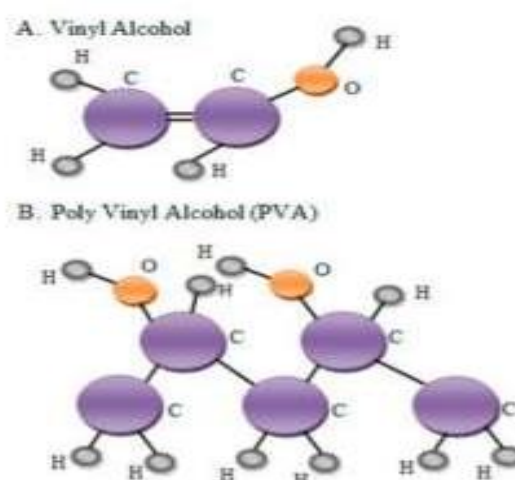


Figure1.1 : La structure de l'alcool vinylique ; (b) Le PVA est synthétisé par hydrolyse d'acétate de polyvinyle [20].

CHAPITRE II : LA CHITINE ET CHITOSANE

II.1 Généralité

II.1.1 Pollution des déchets de crustacés dans l'environnement

Environ 70% de la pêche marine sont utilisés pour l'industrie alimentaire, ce qui en résulte une quantité considérable de déchets [21]. Les rejets dépassent 20 millions de tonnes par an, qui est l'équivalent de 25% de la production annuelle totale. Pour les crustacés, les déchets représentent environ 45% en poids des coquilles, têtes jetées, thorax, et griffes [22].

En raison de leur nature hautement périssable, ces déchets chitineux sont considérés comme dangereux une fois disposés dans la nature [23]. Dans la mer, les déchets chitineux conduit rapidement à l'eutrophisation et peut fortement augmenter la demande en oxygène (DBO5). Tandis que sur terre, ces déchets sont rapidement colonisés par des organismes et des agents pathogènes provoquant des altérations environnementales [24].

La valorisation et l'exploitation des déchets d'industrie de la pêche, principalement les produits chitineux, seraient aussi un moyen de réduction du volume des déchets et une mesure de protection de l'environnement aquatique.

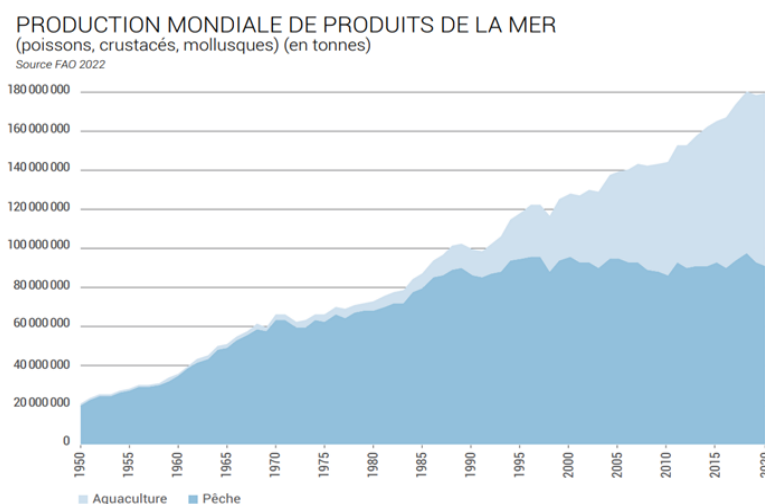


Figure 2.1 : production mondiale de produits de la mer (poisson, crustacés, mollusques).

II. 2. La Chitine

II.2.1 Définition de la chitine

La chitine est un polymère formé d'une répétition d'unités de N-acétyl-D glucosamine. C'est le second composé organique le plus abondant, après la cellulose, sur la Terre [25]. Ces chitines ont la structure α -cristallographique où les principales chaînes s'organisent dans une forte liaison hydrogène intermoléculaire [26]. Mais ce polymère n'est pas soluble dans les solvants usuels et pour son utilisation, par contre le chitosane dérivé préparé par modification chimique de la chitine est soluble dans les acides organiques dilués [27].

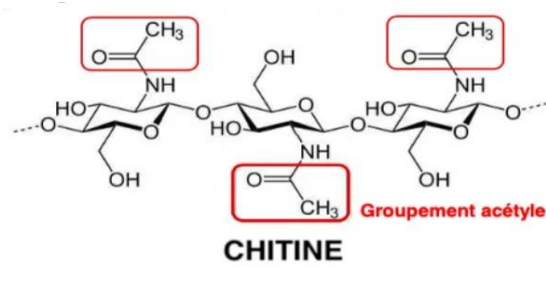


Figure 2.2 : la structure chimique de la chitine.

II.2.2 Source de la chitine

On retrouve la chitine chez les insectes (blattes, coléoptère, fourmis) ; les arachnides (scorpions, araignées) ; les animaux marins (crabes, crevettes, homards, langoustines, calamars) et les champignons [28].

II.2.3 Extraction de la chitine

De nombreuses méthodes ont été développées afin de préparer la chitine à partir des exosquelettes. De manière générale, elles consistent à éliminer les éléments minéraux (démminéralisation), les protéines (déprotéinisation) et la couleur (blanchiment).

II.2.3.1 Déminéralisation

Elle est, généralement, réalisée par un traitement acide sous agitation pour solubiliser le carbonate de calcium et le chlorure de calcium. Les acides les plus fréquemment utilisés sont

l'acide chlorhydrique et l'acide formique, à des concentrations variables de 1 à 10 mol/L. La durée du traitement acide est de l'ordre de 1 à 48 heures à la température ambiante [29].

II.2.3.2. Déprotéinisation

A l'état naturel, la chitine se présente en association avec la protéine (Chitinoprotéine). Ces protéines sont éliminées par un traitement basique en utilisant des solutions à base de NaOH, Na₂CO₃, NaHCO₃, KOH, K₂CO₃, Ca(OH)₂, Na₂SO₃, CaSO₃, ou Na₃PO₄, à des concentrations variables de 0,1 à 5 mol/L. La solution d'hydroxyde de sodium (~10 % massique) est la plus souvent utilisée pour solubiliser les protéines. La durée du traitement basique est de l'ordre de 0,5 à 72 heures à des températures (65- 100°C) [30].

II.2.3.3 Blanchiment

Pour certaines applications industrielles (pharmaceutiques, cosmétiques, agroalimentaires, ...) la chitine obtenue à partir des ressources de crustacés doit être décolorée après les traitements acide et alcalin [29]. Le pigment dans les carapaces de crustacés forme un complexe avec la chitine. Le blanchiment est souvent réalisé par un traitement avec des agents oxydants (KMnO₄, NaOCl, SO₂, NaHSO₃, Na₂S₂O₄ ou H₂O₂). Ce traitement peut éliminer des traces de pigments résiduels, comme les Caroténoïdes. Durant le processus de blanchiment, le réactif utilisé ne doit pas avoir un effet négatif sur les propriétés physico-chimiques de la chitine et du chitosane [29].

II.3 Le chitosane

II.3.1 Définition et la structure du chitosane

La désacétylation de la chitine par l'hydroxyde de sodium va donc permettre

D'obtenir le chitosane de formule chimique poly(β-(1→4) -2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose. Le degré de désacétylation (DDA) va alors définir la proportion de groupements amines devant les groupements acétyles qui constituent les chaînes du chitosane. On pourra utiliser le terme de chitosane lorsque le DDA aura dépassé 50 %, en-dessous on parle toujours de chitine. Le chitosane est donc presque toujours un copolymère à moins que le DDA ne soit de 100 % [31].

La désacétylation en milieu basique de la chitine permet d'obtenir le chitosane qui est un copolymère linéaire à arrangement aléatoire d'unité D-glucosamine et d'unité N- acétyl-D-glucosamine relié par les liaisons β -(1 \rightarrow 4). Le chitosane est un polysaccharide appartenant à la famille des glycosaminoglycane [32]. Sa structure chimique idéale est un enchainement de monomères β -D-glucosamine reliés par une liaison glycosidique (1 \rightarrow 4). Le terme chitosane est habituellement utilisé quand les polymères sont solubles dans une solution d'acide dilué [33].

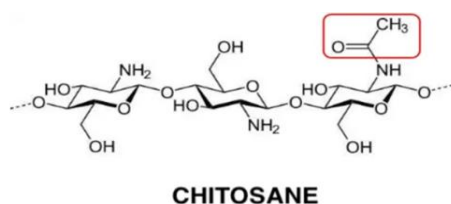


Figure2.3 : la structure chimique du chitosane

II.3.2 Production de chitosane à partir de la chitine (Processus de désacétylation)

L'extraction de la chitine est aujourd'hui facilement réalisable, l'étape la plus délicate reste la désacétylation qui nécessite de substituer suffisamment les groupements acétyle pour aboutir au chitosane, ce qui peut entraîner une réduction excessive de la longueur de chaîne du polymère. En jouant sur la durée du traitement alcalin et sur l'élévation de température, il est donc possible d'obtenir différents chitosanes à partir d'une même chitine [34]. Un degré d'acétylation (DA) inférieur à 10 % est rarement atteint par un procédé simple. [30]. La chitine peut être convertie en chitosane par une désacétylation alcaline homogène ou hétérogène, utilisant NaOH ou NH₂-NH₂ ou par une désacétylation enzymatique.

La désacétylation est, généralement, effectuée par traitement avec l'hydroxyde de sodium ou potassium concentré (40-50 %) à une température supérieure ou égale à 100°C, pendant au moins 30 minutes pour enlever certains ou tous les groupements acétyle de la chitine. La désacétylation ne peut pas être réalisée avec un réactif acide. Il y a plusieurs facteurs essentiels qui affectent le rendement de la désacétylation, comme la température, la durée de traitement, la concentration d'alcalin, les traitements préalables pour l'obtention de la chitine, l'atmosphère (air ou azote), la quantité de chitine par rapport à la solution alcaline, la densité de la chitine et la taille des particules [25]. Compte tenu de ces paramètres, l'objectif idéal de

la désacétylation est de préparer un chitosane qui est non dégradé et parfaitement soluble dans l'acide dilué (acides acétique, lactique, ou citrique,...) [34][35].

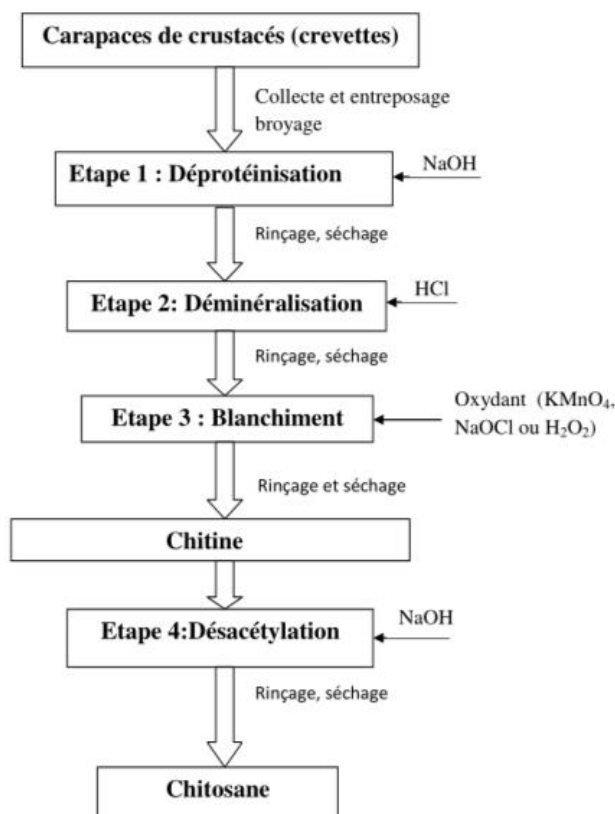


Figure 2.4 : principales étapes d'extraction de la Chitine et sa transformation en chitosane.

II. 4 Les propriétés physico-chimiques du Chitosane

Le chitosane est caractérisé physico-chimique par le degré de désacétylation, la masse moléculaire, la viscosité et la solubilité [36].

II.4.1 Degré de désacétylation (DD)

Le degré de désacétylation de la chitine influe sur toutes les caractéristiques physico-chimiques du chitosane (masse moléculaire, viscosité, solubilité). Le DD est la plus importante caractéristique du chitosane. Il existe quatre (04) méthodes de techniques d'analyses pour déterminer le DD [37] : Balayage par spectrophotomètre UV, Dosage FTIR, Dosage conductimétrique, Dosage pH-métrique

En général, une seule méthode analytique ou spectrométrique n'est pas suffisante pour caractériser les biopolymères chitine et chitosane. Le DD de la chitine varie de 60% à 100% selon les conditions de désacétylation utilisées [38].

II.4.2. Viscosité

Seul ici le chitosane est concerné par la viscosité en solution la chitine étant insoluble. La viscosité du chitosane dans une solution diluée d'acide acétique demeure très variable. Elle dépend notamment de quatre paramètres [39] :

Elle dépend notamment de quatre paramètres [39] :

- Degré de désacétylation : plus il est désacétylé, plus le nombre de groupement amine libre augmente entraînant ainsi une augmentation de sa solubilité et une grande viscosité.
- Concentration : la viscosité croît en fonction de la concentration.
- Température : la viscosité diminue lorsque la température augmente, comme pour tous les autres polysaccharides.
- PH : la viscosité est forte dans les domaines de pH acide.
- Masse molaire.

Il existe différentes méthodes pour déterminer la viscosité. La plus employée est « le viscosimètre ».

II.4.3. Masse molaire

Les chitosanes obtenus industriellement ont une masse molaire de l'ordre de 200 000 g.mol⁻¹ et un DA allant de 2 à 25% [40]. Pour le chitosane la masse molaire et la répartition des motifs N-acétylés, le long de la chaîne sont dépendantes de la méthode de désacétylation utilisée.

II.4.4. Solubilité

Le chitosane est typiquement insoluble dans l'eau et les solutions alcalines. Il est cependant, soluble dans les solutions minérales ou organiques diluées, excepté dans l'acide sulfurique et à un moindre degré dans l'acide phosphorique [41].

II.5 Propriétés de biocompatibilité du chitosane :

La biocompatibilité d'un polymère est d'une importance fondamentale pour une utilisation thérapeutique [42]. Le chitosane est biocompatible c'est-à-dire que sa présence dans un organisme entraîne des réactions inflammatoires et des réactions de rejet très limitées (propriétés immunologiques). Il est bio-résorbable avec des cinétiques faibles et contrôlées [43].

La biocompatibilité du chitosane est caractérisée principalement par trois propriétés : sa non toxicité, sa cytocompatibilité et son hémocompatibilité.

II.5.1 Biodégradabilité :

La biodégradation du chitosane est assurée par des enzymes qui l'hydrolysent en Oligomères. Chez l'Homme et les mammifères, ce rôle est assumé principalement par Des lysozymes [44] qui dégradent les liaisons (1-4) glycosidiques des unités N- acétylglucosamine en des résidus N-acétylglucosamine et D-glucosamine, métabolisés Ensuite dans l'organisme. Un chitosane de DDA 50 % est ainsi facilement dégradé in Vivo dans le sang et les tissus, sans accumulation dans le corps [44].

La dégradation dépend de l'origine et des propriétés du polysaccharide (DDA, masse molaire...) [45]. Une étude plus approfondie a montré d'abord une augmentation de la susceptibilité enzymatique pour les DDA inférieure à 50 %, puis une augmentation avec le DDA, et finalement une absence de dégradation pour un chitosane de DDA 97% [46]. Cette influence du DDA est également constatée, in vitro (Dégradation par des lysozymes) et in vivo (implantation sous cutanée) [47], Un chitosane de DDA 50% semble donc permettre une dégradation optimale.

II.5.2 Cytocompatibilité :

La cytocompatibilité du chitosane vis-à-vis des fibroblastes, des kératinocytes, des Chondrocytes et des ostéoblastes a été démontrée in vitro. Lors de cultures cellulaires Sur un film de chitosane, la croissance des cellules dépend des caractéristiques et de la source du chitosane. Des travaux montrent que, quel que soit le DA (2-50 %), la mise en contact prolongée de films de chitosane avec les fibroblastes et les kératinocytes n'induit ni la destruction, ni la croissance anarchique de celles-ci, et qu'aucune substance cytotoxique n'est relarguée dans le milieu [48]. Le même comportement est constaté dans le cas de cultures de

chondrocytes et de kératinocytes sur un film de chitosane de DA 2,5 % [49] et de culture de chondrocytes et d'ostéoblastes sur une surface similaire de DA 10 % [50].

II.6 Propriétés biologiques

Le chitosane présente l'avantage de réunir des propriétés très intéressantes. En effet, il inhibe la croissance de nombreux parasites et il réduit le développement des Infections : c'est un bon agent antibactérien et antifongique [51]. De plus, le chitosane A des propriétés antitumorales, antivirales, ainsi que des propriétés cicatrisantes Remarquables [52]. Il augmente la vitesse de cicatrisation des plaies ouvertes et la Reconstruction des tissus tout en prévenant les infections microbiennes. Enfin, le chitosane non seulement stimule la croissance cellulaire, mais il peut également être Utilisé comme substrat pour la culture cellulaire (les cellules adhèrent au matériau et Le colonisent) [53].

II.6.1 Propriétés antibactériennes du chitosane :

Le chitosane est un matériau intéressant pour le domaine de l'emballage alimentaire de par ses propriétés antibactériennes ainsi que sa biodégradabilité et sa non toxicité. Il a été démontré que le chitosane à un effet antibactérien sur plusieurs bactéries, champignons ou [54][55] Plusieurs facteurs peuvent influencer l'activité antibactérienne du chitosane : l'aspect microbien (type de bactéries, l'âge des cellules), le chitosane lui-même (densité de charges positives, le poids moléculaire, le degré de désacétylation, la concentration, le caractère hydrophile ou hydrophobe ou la capacité de former des complexes), l'état physique (film, fibre, sphère ou hydrogel) et les facteurs environnementaux (le pH, la température, le temps ou la présence de cations métalliques) [37].

II.7 les domaines d'applications du chitosane

Les domaines d'applications du chitosane Les applications du chitosane sont variées et les nouvelles études pour en développer ne cessent de se multiplier grâce à ces propriétés physico-chimiques et biologiques intéressantes (non-toxique, biodégradable et versatile ...) qui en fait de lui un matériau de choix pour son utilisation dans de nombreux domaines industriels comme les secteurs biomédical, pharmaceutique, cosmétique, agroalimentaire et agricole [56].

Tableau 2.1: Applications du chitosane [57].

| Domaines d'exploitation | Applications |
|--------------------------------|---|
| Potential biomedical | Sutures chirurgicales Implants dentaires Peaux artificielles Reconstruction osseuses |
| Agriculture | Mécanisme défensive Stimule la croissance des plantes Enrobage (conservation) Libération de fertilisants et nutriments |
| Traitement des eaux | Polymère écologique Diminution de la turbidité Diminution des odeurs Bactéricides |
| Alimentaires | Hypocholestérolémiant Agent de conservation Stabilisateur Antimicrobien Enrobage des fruits et légumes |
| Cosmétique | Traitement de l'acné Produits hydratants Formulation de dentifrices Formation de champoings |
| Biopharmaceutique | Immunostimulants Anti tumoraux Anticoagulants Bactériostatique |

II.8 Application de chitosane dans l'emballage alimentaire :

En 1936, Rigby avait obtenu un brevet pour avoir fabriqué des films de chitosane et un deuxième brevet pour l'élaboration de fibres de chitosane. Les films obtenus étaient décrits comme flexibles, durs, transparent et incolore avec une résistance à la traction de 6210 kPa [58].

L'utilisation des films de chitosane pour prolonger la durée de vie et améliorer la qualité des aliments frais et congelés a été examinée [59][60], vu les excellentes propriétés de ces films. L'utilisation des films de N, O-carboxyle méthyle chitosane pour préserver les films pour une longue période a été approuvée au Canada et aux USA [61]. Grâce à sa capacité de former des films semi-perméables, le chitosane devrait pouvoir modifier l'atmosphère interne, réduire les pertes dues à la transpiration et retarder la maturation des fruits [62][63]. Les propriétés mécaniques, la perméabilité, le point de décomposition thermique, la stabilité chimique, etc.,

Sont des paramètres vitaux pour la sélection du film adéquat pour les applications spécifiques [64].

Les films de chitosane sont préparés en dissolvant le chitosane dans l'acide dilué et en l'étalant ensuite sur une surface plane pour le laisser sécher à la température ambiante. Les films peuvent aussi être séchés à 60°C dans un four en étalant la solution sur du plexiglas [65][66]. Ces procédés sont par contre demandeurs en temps

Les films à base de chitosane peuvent aussi être fabriqués par 'casting' suivi d'un séchage à l'infrarouge (IR) [67], lequel est plus rapide que les méthodes conventionnelles. Ces films n'ont pas de différences significatives dans les propriétés mécaniques et barrières par rapport aux films obtenus avec les méthodes conventionnelles de séchage [68].

Le monde est inondé de matériaux comme le plastique qui ne se dégradent pas facilement, entraînant une pollution environnementale croissante. L'épuisement des ressources fossiles et la pollution causée par ces matériaux ont conduit à la recherche de solutions durables. Le recyclage traditionnel des plastiques présente des limites, ce qui a poussé à explorer des alternatives comme les biopolymères naturels biodégradables. Ces derniers offrent un espoir pour réduire l'impact environnemental et résoudre le problème de la pollution plastique.

CHAPITRE III : LES BIOFILMS

III. Généralités

Le monde est inondé de matériaux comme le plastique qui ne se dégradent pas facilement, entraînant une pollution environnementale croissante. L'épuisement des ressources fossiles et la pollution causée par ces matériaux ont conduit à la recherche de solutions durables. Le recyclage traditionnel des plastiques présente des limites, ce qui a poussé à explorer des alternatives comme les biopolymères naturels biodégradables. Ces derniers offrent un espoir pour réduire l'impact environnemental et résoudre le problème de la pollution plastique.

III.1 Etude des méfaits des déchets plastiques sur l'environnement et la santé

Les déchets plastiques, en raison de leur durabilité et de leur omniprésence, posent de sérieux problèmes environnementaux et sanitaires. Ils pénètrent dans le corps humain par ingestion, inhalation ou contact direct, causant divers effets négatifs sur la santé, tels que des impacts sur le système respiratoire et une augmentation des risques de cancers. Ils affectent également l'agriculture et la santé des sols, en contribuant à leur imperméabilisation et en réduisant la recharge des nappes phréatiques. La prise de conscience environnementale a encouragé le développement de matériaux biodégradables, notamment les biopolymères comme l'amidon et le chitosane, qui présentent des propriétés antibactériennes et antioxydantes [69][70].

III.2 Films à base de biopolymères naturels

Les biopolymères sont une alternative prometteuse aux plastiques traditionnels, répondant aux préoccupations environnementales et sanitaires tout en offrant une solution durable aux problèmes posés par les déchets plastiques. Ils allient des avantages environnementaux et sanitaires, tout en présentant des propriétés fonctionnelles adaptées à diverses applications. Une variété de biopolymères renouvelables, dérivés de ressources végétales et animales, ont été étudiés pour développer des matériaux d'emballage et des films comestibles ou biodégradables [71][72][73].

III. 2. 1 Films à base de polysaccharides :

Les films à base de polysaccharides, aussi appelés films à base d'hydrates de carbone, sont des polymères hydrophiles et présentent donc de très faibles propriétés barrières à l'humidité. Une variété de polysaccharides et leurs dérivés ont été utilisés comme matrices filmogènes biodégradables. Ils comprennent l'amidon et ses dérivés, la cellulose et ses dérivés, les alginates, les pectines, le carraghénane, le chitosane et diverses gommes [71] [72] [74].

III. 3 Les Mélanges Chitosane/Polymères Biodégradables

La préparation de mélanges de polymères vise à développer des matériaux aux propriétés améliorées, étant plus économique et moins aléatoire que la synthèse de nouveaux polymères. Ces mélanges permettent de produire rapidement et économiquement une gamme de matériaux avec diverses propriétés chimiques et mécaniques. En outre, ils favorisent la biodégradation des films composites, bien que la compatibilité des mélanges doive être étudiée pour éviter la séparation des phases. Le film de chitosane, bien que résistant aux gaz, présente une faible barrière à la vapeur d'eau et est cassant, limitant ainsi son utilisation en emballage. Pour améliorer ces propriétés sans perdre sa biodégradabilité, il est essentiel de combiner le chitosane avec d'autres polymères biodégradables. Les mélanges hydrophobes améliorent la résistance à la vapeur d'eau mais pas l'élasticité, tandis que les polymères hydrophiles augmentent l'élasticité du chitosane car ils jouent le rôle de plastifiants pour le chitosane, comme le PVA et le PEG. Pourtant, ils diminuent la performance de la barrière à la vapeur. [75][76][77][78].

III. 4 Additifs

Les plastifiants sont des additifs utilisés pour améliorer la flexibilité ou la plasticité des polymères, parfois même pour faciliter leur mise en forme [79]. Ils augmentent le volume libre ou la mobilité moléculaire dans la matrice polymère, réduisent la proportion des régions cristallines au profit des régions amorphes, et abaissent la température de transition vitreuse [80][81]. Des ingrédients supplémentaires tels que des antioxydants, des antimicrobiens, des nutraceutiques, des arômes et des colorants sont parfois ajoutés aux solutions filmogènes pour créer des emballages actifs [82]. Les plastifiants idéaux sont miscibles et compatibles en toute proportion avec les composants plastiques, et peuvent être ajoutés à la solution de polymères (technique de dispersion) ou après l'évaporation des solvants (technique d'absorption) [83]. Cependant, l'application des plastiques à base de biopolymères naturels est limitée en raison

de leurs propriétés mécaniques et de leur barrière à la vapeur d'eau, qui sont inférieures à celles des plastiques synthétiques dérivés de la pétrochimie [71].

III.4.1 Glycérol

Le glycérol se présente sous la forme d'un liquide transparent, visqueux, incolore, inodore, non toxique et au goût sucré. Le glycérol peut se dissoudre dans les solvants polaires grâce à ses 3 groupements hydroxyles. Il est miscible dans l'eau et l'éthanol ; et insoluble dans le benzène, le chloroforme et le tétrachlorométhane et c'est un plastifiant et lubrifiant utilisé dans la fabrication du papier [84].

III.4.2 Polyéthylène Glycol (PEG)

Le Polyéthylène Glycol (PEG) est un polymère hydrophile, constitué d'unités répétitives d'oxyde d'éthylène ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$). Il se présente sous forme de liquide clair, de pâte ou de solide cireux, selon la longueur de sa chaîne polymérique et son poids moléculaire et utilisé pour améliorer la flexibilité et la résistance à l'eau des films biodégradables [85].

III. 5. Caractérisations et méthodes d'évaluations des films bioplastiques

III.5.1 Epaisseur des films :

L'épaisseur des films biodégradables développés est déterminée en utilisant un micromètre manuel à partir de la moyenne d'au moins trois mesures aléatoires effectuées sur chaque film [86].

III.5.2 Teneur en eau :

L'humidité d'une manière générale englobe toutes les substances qui s'évaporent par chauffage en entraînant une perte de masse de l'échantillon. Le taux d'humidité des films, qu'on confond à la teneur en eau de ceux-ci, est déterminé en séchant de petits morceaux des films préparés dans une étuve jusqu'à l'obtention d'une masse constante [87], La teneur en eau est calculée en utilisant l'équation suivante :

$$\text{TE} = [(\text{Mi} - \text{Mf}) / \text{Mf}] \times 100 \dots\dots(1)$$

Où Mi et Mf sont respectivement la masse initiale et la masse finale (après séchage) des échantillons.

III.5.3 tests de gonflement :

Le taux de gonflement d'un film bioplastique dans l'eau est une mesure de sa capacité à absorber l'eau et peut fournir des informations sur sa structure et sa perméabilité. Voici comment réaliser cette évaluation [88].

III.5.4 Analyse Solubilité des films dans l'eau :

L'analyse de la solubilité des films bioplastiques dans l'eau est une méthode cruciale pour évaluer leur biodégradabilité et leur comportement en milieu humide. Cette caractéristique est particulièrement importante car elle permet de déterminer dans quelle mesure ces matériaux peuvent se décomposer lorsqu'ils sont exposés à des conditions naturelles. Le pourcentage de solubilité est calculé en utilisant la formule suivante [89] :

$$TS (\%) = [Mh/Ms] \times 100 \dots\dots(2)$$

Mh: masse matière humide

Ms: masse matières sèche

III.5.5 Propriétés mécaniques des films bioplastique :

Les propriétés mécaniques des films bioplastiques comprennent plusieurs caractéristiques importantes qui influencent leur utilisation et leurs performances dans diverses applications. Voici un aperçu des principales propriétés mécaniques:

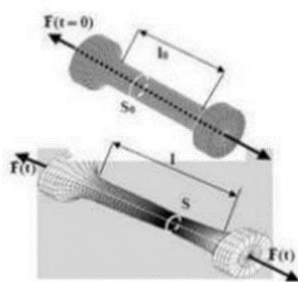


Figure 3.1 : Représentation de l'essai de traction, Eprouvette a l'état initial ($t=0$) et déformée a temps quelconque

- a) **Résistance à la traction :** La résistance à la traction d'un film bioplastique mesure sa capacité à résister à la force de traction appliquée avant de se rompre. Cette propriété est cruciale pour les applications où le film est soumis à des forces mécaniques, telles que l'emballage et l'agriculture [90][91].
- b) **Élongation à la rupture :** L'élongation à la rupture mesure la déformation maximale qu'un film bioplastique peut subir avant de se rompre. Une bonne élongation à la rupture est importante pour assurer la flexibilité et la résistance aux déchirures [92].
- c) **Module d'élasticité :** Le module d'élasticité, ou module de Young, mesure la raideur du film bioplastique. Il indique la capacité du matériau à revenir à sa forme d'origine après avoir été déformé sous une contrainte [93]

CHAPITRE IV : MATERIEL ET METHODE

Notre travail a été réalisé au niveau de laboratoire « » et Faculté ST université de Blida 1.

Dans ce contexte nous avons consacré cette partie de travail à la présentation de la méthode et matériels utilisés pour la préparation du chitosane au niveau de laboratoire, les résultats de la caractérisation seront bien exposés et expliqués.

Et comprend également : étude de l'effet antibactérien du chitosane extrait.

IV.1 Matériels et solutions utilisées

IV.1.1 Les produits et le matériel utilisés durant cette recherche sont :

- Les carapaces de crevettes, Acide chlorhydrique HCl, Hydroxyde de sodium NaOH.
- Acide Acétique AA, peroxyde d'hydrogène H₂O₂, l'eau distillée.

-Verrerie de laboratoire : béchers, entonnoir, erlen, éprouvette, fioles jugées, les tubes à essai, verre à montre, spatule, boîtes de pétris, pipette.

-Barreaux magnétique. -Tamis de 200 micromillimètres.

-PVA. Glycérol .

IV.1.2 Appareillage

Balance, Agitateur, Agitateur a plaque chauffante, pH mètre, Thermomètre, La hotte, Etuve, Spectroscopie infrarouge à transformation de Fourier FTIR.

IV.2 L'extraction de la chitine à partir des carapaces de crevettes

IV.2.1 Préparation de la poudre de carapace

Avant leur utilisation, les carapaces des crevettes sont débarrassées ensuite bouillies dans de l'eau, pendant 1h, et ce pour enlever le maximum de tissus. Puis, elles sont séchées dans l'étuve à l'air libre. Après séchage, les carapaces sont débarrassées d'éventuels tissus encore présents, par frottement. En dernier, les carapaces sont broyées à l'aide d'un mortier de laboratoire, sera soumise à un traitement qui repose sur trois étapes essentielles : à savoir l'étape de déminéralisation, puis une étape de déprotéinisation et en dernier une étape de blanchiment.



Figure 4.1 :Schéma du prétraitement des carapaces de crevettes

IV.2.1 Déminéralisation

Cette étape nécessite l'élimination des sels inorganiques principalement le carbonate de calcium et obtenir de la chitine brute, nous avons mélangé le produit broyé issu du prétraitement à une solution d'acide chlorhydrique HCl 1.5 M dans un rapporte 1/10 (poids du solide / volume du solvant) puis l'ensemble est soumis à une agitation pendant 1 h à une température ambiante afin d'éliminer les sels minéraux (figure 04). La solution est ensuite

filtrée et lavée plusieurs fois avec de l'eau distillée jusqu'à neutralisation et séchée à l'étuve à $> 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant 24 heures puis pesé la quantité de carapace obtenue.



Figure 4.2 : L'étape de déminéralisation la carapace

IV.2.2 Déprotéinisation :

Dans un Bécher, la quantité du filtrat obtenu subit un traitement par d'une solution de NaOH 2.5M de rapport (1 /10) (poids du solide : volume du solvant), sous agitation à température [40-60°C] pendant 18 heures. Le mélange ainsi obtenu, est filtré puis lavé plusieurs fois avec l'eau distillée pour éliminer les résidus de NAOH. Après 18h de séchage, la chitine a été tamis par un tamisage de 200 micromillimètre. à fin de récupérer un produit homogène. Le substrat est séché dans une étuve puis pesé la quantité de carapace obtenue.

IV.2.2 Blanchiment :

La quantité de chitine obtenue après la déminéralisation et la déprotéinisations De la carapace doit être décolorée, pour éliminer les pigments qui sont liés à la chitine selon les étapes suivantes : La quantité de chitine dé protéinée obtenue est trempée dans H₂O₂ pendant [1-3 heures], La chitine blanchie est ensuite filtrée puis rincé plusieurs fois avec de l'eau distillée jusqu'à pH neutre (pH=7). Enfin, sécher la chitine à l'étuve puis peser sa masse obtenue.

IV.2.3 Préparation du chitosane: (par désacétylation de la chitine)

C'est l'étape la plus délicate qui met en œuvre la substitution d'un nombre maximal et suffisant de groupements acétyles, pour aboutir au chitosane. La désacétylation est généralement effectuée par le traitement avec l'hydroxyde de sodium (NaOH) ou potassium (KOH) concentré (40-60 %) à une température ≥ 100 °C. Dans notre cas, on a choisi de travailler avec le NaOH concentré à [40-60 %] avec un rapport solide au solvant 1 :10 (w/v), dans lequel le mélange est chauffé à reflux ≥ 120 °C pendant 1h. On filtre puis on lave avec de l'eau distillée jusqu'à neutralité.

-A la fin notre échantillon a été séché dans l'étuve à 50C°, ensuite nous avons récupère l'échantillon, ce dernier est traité par un tamisage a 200 micromillimètres.

IV.3 les caractérisations physico-chimiques du Chitosane :

IV.3.1 La solubilisation du Chitosane :

Une masse de 1g de chitosane est introduite dans 100ml d'eau distillée, la réaction de dissolution du chitosane est réalisée par l'ajoute d'un volume de 1% d'acide acétique ; le mélange ainsi obtenu est maintenu sous agitation avec une température à 100 °C jusqu'à l'obtention d'un gel.

IV.3.2 Détermination du degré de desacétylation DDA par le Spectroscopie infrarouge

Le degré desacétylation a une influence sur toutes les propriété physicochimique (viscosité , solubilité ...) Plusieurs technique permettent de caractériser le DDA du chitosane , cependant les spectroscopie RMN et IR semblent les plus appropriées pour des caractérisation rapide et peu couteuses .

IV.3.3 Méthode d'analyse par spectroscopie infrarouge IR :

IV.3.3.1 Principe de fonctionnement :

La spectroscopie Infrarouge est utilisée pour la détermination des groupements fonctionnels permettant de figurer la structure. Chaque liaison présente des vibrations caractéristiques de fréquences bien déterminées.

Dans les conditions normales de température et de pression, les atomes et les groupements fonctionnels, constituant la matière, sont animés de mouvements vibratoires pour une fréquence bien déterminée. Lorsque ces constituants sont irradiés par un rayonnement électromagnétique dont la fréquence est proche de celle de leurs vibrations propres, ils entrent

en résonance, il y a alors absorption d'énergie qui s'accompagne d'une diminution de l'intensité réfléchié ou transmise.

Sous l'effet d'un rayonnement électromagnétique infrarouge, les liaisons moléculaires absorbent une partie de cette énergie et vibrent selon des mouvements de différents types (vibrations d'élongation ou de déformation). Le domaine infrarouge, dans lequel se trouvent les énergies de vibration des liaisons moléculaires, est divisé en trois régions [5] :

Le IR constitue une méthode de choix pour le calcul de DDA dans la présente étude le spectre infrarouge a été obtenu a l'aide d'un spectrophotomètre FTIR 8900 associé a un logiciel IRSolution.

IV.3.3.2 Mode opératoire :

La méthode consiste a formé des pastilles a l'aide d'un pastilleuse (broyer 2 mg de chitosane avec 250 mg de KBr) qui vont être placées dans le IR.

La détermination du degré de desacétylation (DDA %) s'effectue par l'analyse de spectre (FTIR) en utilisant la formule suivante ;

$$\text{DDA}\% = 100 - [(A_{1655\text{cm}^{-1}}/A_{3450\text{cm}^{-1}}) * 100/1.33]$$

Avec :

- $A_{1655\text{cm}^{-1}}$ Absorbance à 1660cm^{-1} de la bande d'amide primaire (Amide I).
- $A_{3450\text{cm}^{-1}}$ Absorbance à 3450cm^{-1} de la bande hydroxyle.
- Le facteur 1.33 représente $(A_{1655\text{cm}^{-1}}/A_{3450\text{cm}^{-1}})$ pour une chitine entièrement N-acétylée.

IV.3.4 Activité Antibactérienne du Chitosane

IV.3.4.1 Méthode de diffusion en puits AWDT (Agar Well Diffusion Test)

a) Les souches bactériennes utilisées

Escherichia-coli, Staphylococcus , Bacillus subtilis, Pseudomonas aeruginosa, salmonelle abo

b) Le renouvellement des souches pathogènes

Le renouvellement et l'enrichissement est effectuée par ensemencement des souches pathogènes dans un bouillon nutritif à 37°C pendant 8 à 10 heures d'incubation pour obtenir une culture jeune .

IV.3.4.2 Méthode de diffusion en puits AWD(Agar Well Diffusion Test)

La méthode de diffusion très utilisée en microbiologie, repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu semi solide (gélose molle). L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition la souche du microorganisme sera qualifiée de sensible, d'intermédiaire ou de résistante. Dans la technique de diffusion il y a compétition entre la croissance du microorganisme et la diffusion du produit à tester [94] .

Dans Cette méthode on a commencé par l'écoulement du milieu gélosé MH dans des boites de pétris, après solidification on a étalé les souches bactérienne On a réalise 2 puits par boîte de Pétri de 6 mm de diamètre, creusés à l'aide d'une pipette pasteur stérile. Un volume de solution chitosane (80 µl) est mis dans le puit périphérique. Un puits de 80µl produit pétrochimique utilisé par les industries du plastique comme agent antimicrobien sert comme un témoin positif. Après diffusion pendant 2 à 4 heures à température ambiante on incube à 37°C pendant 24 à 48 h.

IV.3.5 Activité antifongique du chitosane

Les suspensions de culture de deux champignons (*Aspergillus brasiliensi*, *Condida albicans*) à tester par la méthode de diffusion en puit .ont été étalés par une gélose Sabouraud. Ensuite, solution du chitosane,ont été chargés dans des puits (6 mm de diamètre) faite dans la couche de gélose avec des pipettes Pasteur stériles. Par la suite, avant d'être incubés pendant 72 h à 30 C, les boîtes de Pétri ont été conservés pendant 2 h à température ambiante. L'activité antifongique a été estimée par mesurer les diamètres de la zone d'inhibition de la croissance (en millimètres) autour des puits.

IV.4 Préparation des films

IV.4.1 Préparation des films à base de chitosane

L'élaboration de matériaux à base de chitosane sous forme de membranes s'effectue par plusieurs méthodes, presque identique, proposées par plusieurs chercheurs , mais la plus employées est celle présentée par Muzzareli . Les films sont fabriqués selon la procédure suivante : une solution du chitosane 1% (w/v) est préparée en solubilisant

1g de chitosane en poudre dans 100ml d'acide acétique 1% (v/v) sous agitation magnétique pendant 1h à température ambiante. La solution obtenue est coulée dans des boîtes de Pétri et séchée à la température ambiante. Les films formés sont demoulés et sont appelés films de chitosane pur.

Les membranes de chitosane pur sont immergées dans une solution de soude 0,1 M pendant 1h de façon à garantir leur insolubilité.

IV.4.1 Préparation des films de PVA

La réalisation des mélanges de polymères a pour objectif d'élaboration de nouveaux matériaux à propriétés améliorées .

IV.4.1.1 Préparation des films du PVA pur

Les films de PVA pur sont fabriqués en utilisant la méthode suivante :

Pour préparer une solution de PVA 10%, nous avons solubilisé 10g de PVA dans 100 ml d'eau distillée à 80-90°C pendant 40-45 min. La solution obtenue est coulée dans des boîtes de Pétri et séchée à la température ambiante.

IV.4.1.2 Préparation des films du mélange chitosane/PVA

Pour réaliser les mélanges de chitosane/PVA :

- On prépare d'abord une solution de chitosane
- Puis une solution de PVA
- Et enfin on prépare des mélanges à différents pourcentages de chitosane et de PVA. Le mélange des deux solutions de chitosane et de PVA est effectué sous agitation magnétique.

Le chitosane est mélangée avec le PVA afin de combiner les caractéristiques des deux polymères. Cette association est introduite par la réaction représentée dans la **Figure 4.3**

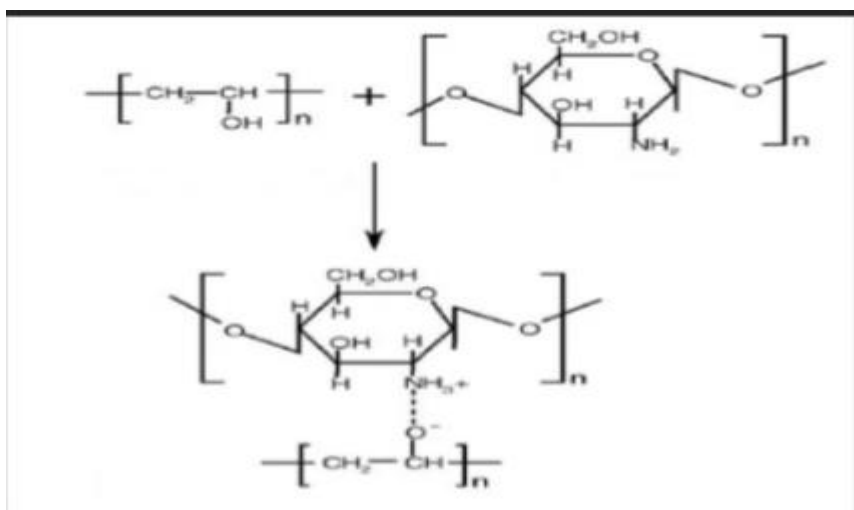


Figure.4.3: la réaction du Chitosane et PVA.

Différentes formulations chitosane/PVA ont été préparées. Les pourcentages de ces films sont énumérées dans les **tableaux N°4.1**

Tableau 4.1: les différents formulations Chitosane/PVA

| Cs/PVA (%) | PVA/Cs(%) |
|------------|-----------|
| 60/40 | 60/40 |
| 80/20 | 80/20 |
| 90/10 | 90/10 |
| 99/1 | 99/1 |
| 100 Cs | 100 PVA |

IV.4.1.3 Préparation des films Chitosane / PVA/ Glycerol

Différentes formulations chitosane/PVA/Glycérol ont été préparées. Les pourcentages de ces films sont énumérées dans les **tableaux N°4.2**

Tableau 4.2 : les différents formulations Chitosane/PVA/Glycérol

| 0.5 ml de Glycérol | |
|--------------------|-------|
| Chitosane % | PVA % |
| 60 | 40 |

| | |
|----|----|
| 80 | 20 |
| 90 | 10 |
| 99 | 1 |

IV.4.2 Caractérisation physico-chimique des films

IV.4.2.1 Test de solubilité des films

La solubilité des films préparés dans l'eau a été déterminée selon la méthode décrite par Rhim. Les échantillons sélectionnés ont d'abord été séchés dans une étuve à 110 ° C pendant 6 h pour déterminer la masse initiale de film sec (MS). Ensuite, chaque échantillon est individuellement placé dans des béchers contenant 40 mL d'eau distillée. Les béchers sont ensuite recouverts du para film et conservés à température ambiante pendant 24 h. La masse de film non dissous a été déterminée en retirant les morceaux de films des béchers, en les rinçant avec de l'eau distillée et en les séchant dans une étuve (110 ° C, 6 h). La masse de film hydrosoluble (Mh) a été calculée en soustrayant la masse de matière sèche non dissoute de la masse initiale de film sec. Le taux de solubilité (TS) du film dans l'eau a été déterminé à partir de l'équation suivante :

$$(TS) = Mh / Ms * 100$$

Mh : masse matière humide

Ms : masse matière sèche

IV.4.2.2 Test de gonflement

Etant donné que nos films seront destinées à des applications où elles seront en contact avec les aliments, l'étude du comportement du gonflement de ces films présente une grande importance. Pour mesurer la capacité de gonflement, des films du chitosane pur, PVA, chitosane/PVA et du chitosane/PVA/glycérol sont coupés, pesés à l'état sec et immergés dans l'eau distillée à la température du laboratoire. Après chaque minute, les films sont mis sur des filtres pour éliminer l'excès d'eau puis pesés. La capacité de gonflement est calculée en utilisant l'équation suivante [95] :

$$S\% = (m_t - m_0) / m_0 \times 100$$

Où **S%** : pourcentage de gonflement

M_t : masse du film au temps t

M₀ : masse du film sèche au temps t = 0

IV.4.2.3 Analyse spectroscopique des films bioplastique par spectroscopie infrarouge a transformée de Fourier :

IV.4.2.4 Activité antibactérienne des films

L'activité antibactérienne des films a été évaluée à l'aide de la méthode de diffusion de gélose selon Chen et al [96]. Le test de zone d'inhibition sur le milieu solide a été utilisé pour la détermination des effets antimicrobiens des films contre quatre (Bacillus subtilis, Staphylococcus, Pseudomonas aeruginosa, Salmonelle Abo) bactéries Les films plastiques ont été découpés en forme cercle 6 mm, et ensuite placés sur gélose nutritive, qui avaient été précédemmentensemencées avec l'inoculum contenant environ $10^5 - 10^6$ UFC / ml de bactéries testées. Les boites pétries sont incubées à 37°C pendant 24 à 48 h.

IV.4.2.5 Activité antifongique du chitosane

L'activité antifongique des films a été évaluée à l'aide de la méthode de diffusion de sabouraud selon Chen et al [96]. Le test de zone d'inhibition sur le milieu solide a été utilisé pour la détermination des effets antimicrobiens des films contre deux champignons (Candida albicans , Aspergillus subtiliensi) Les films plastiques ont été découpés en forme cercle 6 mm , et ensuite placés sur sabouraud, qui avaient été précédemmentensemencées avec l'inoculum contenant environ $10^5 - 10^6$ UFC / ml de champignons testés. Les boites pétries sont incubées à 25°C pendant 5 à 8 jours.

-L'activité antimicrobienne des films a été déterminée en mesurant le diamètre (mm) de la zone d'inhibition de la croissance bactérienne autour du film.

CHAPITRE V: RESULTATS ET DESSCUSIONS

V. Résultat de l'extraction du chitosane

V.1 Caractérisation visuel de la chitine et du chitosane :

Visuellement, la couleur de chitine avant la déminéralisation est rosâtre grâce a la présence des pigments, après la déprotiénisation la chitine devient rose claire due à l'élimination d'impuretés des caroténo-protéines. Après la déacétylation la couleurde chitosane varie du blanc au jaune pâle et de texture plastique (figure 5.1). Cette Différenciation peut être attribuée au fait que le niveau d'association dès la chitine et le pigment varie d'un traitement à l'autre.



Figure 5.1 : Caractéristique visuelle de la chitine et chitosane.

V.2 caractérisation physico-chimique du chitosane

V.2.1 Détermination de la solubilité

L'intérêt porté à la solubilité du chitosane est justifié par la nécessité de dissoudre la Substance dans une phase aqueuse afin d'assurer une multitude d'application.

La solubilité du chitosane commercial et le chitosane extrait au laboratoire est Présentée sur le **tableau N° 5.1**

Tableau 5.1 : Test de solubilité du chitosane extrait et du chitosane commercial.

| Solution | Chitosane extrait | Chitosane commerciale |
|-----------------|--------------------------|------------------------------|
| Acide acétique | Soluble | Soluble |
| Eau | Insoluble | Insoluble |
| NaOH | Insoluble | Insoluble |

Le chitosane est insoluble dans l'eau et dans les solvants alcalins concentrée où Diluée, cette insolubilité s'explique par la grande masse moléculaire de chacune des Chaines de polymères et aussi par la formation de liaisons hydrogènes entre les Différents groupes fonctionnels portés par chacune des unités, par contre il est soluble en milieu aqueux acide grâce à la protonation de ses fonctions amine, son meilleur solvant est l'acide acétique. Nous avons vérifié la solubilité du chitosane à différentes concentrations d'acide Acétique, le résultat est présenté sur le **tableau N° 5.2**

Tableau 5.2: Résultats du test de solubilité du chitosane extrait et Commerciale à différentes concentrations d'acide acétique.

| | Chitosane extrait | Chitosane commerciale |
|-------------------|-------------------|-----------------------|
| Concentration (M) | Temps (min) | Temps (min) |
| 0.1 | 15 | 4 |
| 0.05 | 30 | 10 |
| 0.04 | 30 | 15 |
| 0.03 | 30 | 20 |
| 0.02 | 40 | Insoluble |
| 0.01 | 45 | Insoluble |

La différence liée à la solubilité des deux types de chitosane est liée au degré de Désacétylation, lorsque le DDA est peu élevé, le chitosane est peu soluble, cette Différence nous permet de déduire que le DDA du chitosane extrait est plus élevé que celui chitosane commerciale, ce qui est à démontrer dans la suite de notre travail.[79].

V.2.3 Détermination du degré de desacétylation par le Spectroscopie infrarouge :

V.2.3.1 La structure de chitosane obtenu :

Les spectres infrarouge sont enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre FTIR dans la plage de 400 – 4000 cm^{-1} sur des pastilles de KBr contenant notre chitosane et comparée au chitosane commercial. Les résultats sont illustrées sur les **figures N°5.2**

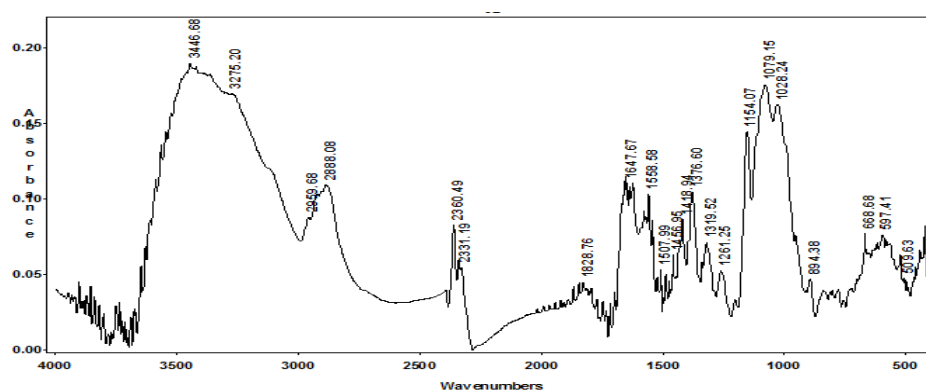


Figure 5.2: Spectre IR du chitosane

V.2.3.2 Détermination du degré d'acétylation du chitosane obtenu

Cette technique nous a permis de calculer le degré d'acétylation en utilisant l'intensité de la bande à 1655 cm^{-1} rapportée à l'intensité de la bande à 3450 cm^{-1}

$$\text{DDA} = 87\%$$

V.2.4 Activité antibactérien du chitosane

V.2.4.1 Pouvoir antibactérien du chitosane, agent antimicrobien industriel par la méthode des puits AWDT

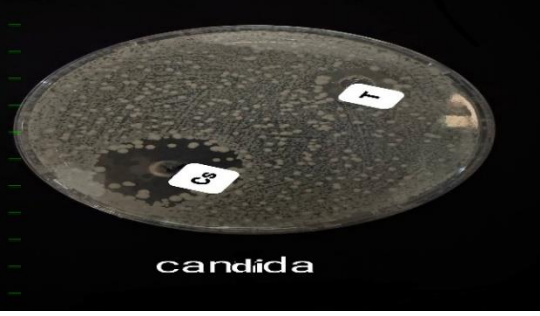
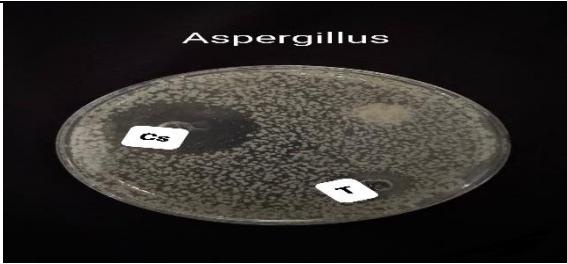
Nous avons étudié le pouvoir antimicrobien par la méthode de diffusion des puits du chitosane et de l'agent synthétique d'origine pétrochimique utilisé par les industries du plastique dans des films de conservation. Pour cela un milieu gélosé (MH) est utilisé pour le test. L'activité antimicrobienne est estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des puits, contenant le chitosane et le produit, à tester vis-à-vis de 5 cinq (05) souches bactériennes à savoir : *Escherichia coli* (Gram -) et *Staphylococcus aureus* (Gram+), *Salmonella* (Gram -) *Pseudomonas aeruginosa* (**Gram-**) et *Bacillus subtilis* (Gram+) et de deux (02) champignons : *Aspergillus brasiliensis* et *Candida albicans*. Les résultats présentés dans le Tableau N°3 montrent que les bactéries à Gram positif ont été plus sensibles que celles à Gram négatif vis-à-vis de l'action du chitosane.


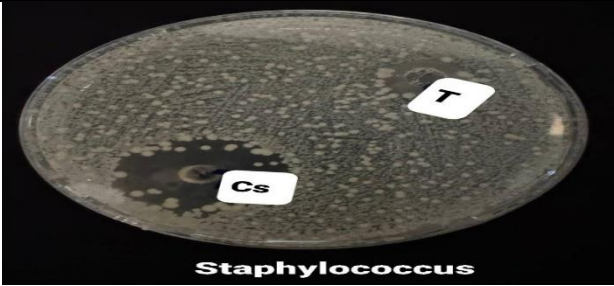
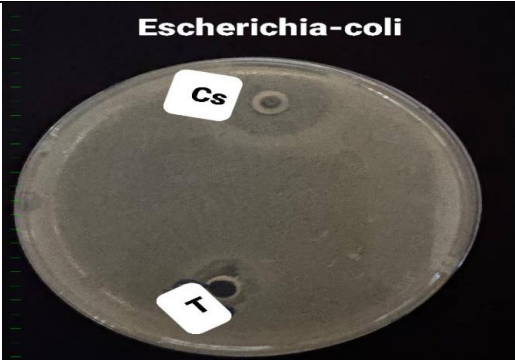


Tableau 5.3: les zones de l'activité antimicrobienne

| Souches microbiennes | Chitosane | Agent antimicrobien synthétique |
|--|-----------|---------------------------------|
| Activité bactérienne (mesure de la zone d'inhibition (mm)) | | |
| <i>Escherichia coli</i> | 25 | 12 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 10 | 2 |
| <i>Bacillus subtilis</i> | 13 | 12 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | – | – |
| Activité antifongique | | |
| <i>Aspergillus brasiliensis</i> | 30 | 12 |
| <i>Candida albicans</i> | 28 | 14 |

absence: (-):

Tableau 5.4 : Activité antimicrobienne du chitosane à 1%

| L'activité | Photos | L'observations |
|--|---|----------------|
| Les champignons: <i>Candida albicans</i> |  <p>The image shows a petri dish with a dark agar surface. A large, circular, clear zone of inhibition is visible in the lower-left quadrant, labeled with a small white tag containing the letters 'Cs'. The rest of the dish is covered with a dense, dark, fuzzy growth of the fungus. The word 'candida' is printed in white at the bottom center of the dish.</p> | Sensible (+) |
| <i>Aspergillus brasiliensi</i> |  <p>The image shows a petri dish with a dark agar surface. A large, circular, clear zone of inhibition is visible in the upper-left quadrant, labeled with a small white tag containing the letters 'Cs'. The rest of the dish is covered with a dense, dark, fuzzy growth of the fungus. The word 'Aspergillus' is printed in white at the top center of the dish.</p> | Sensible (+) |

| | | |
|--|--|--------------------------------|
| <p>De bactéries:</p> <p><i>Pseudomonas aeruginosa</i></p> |  | <p><i>Non sensible (-)</i></p> |
| <p><i>Staphylococcus aureus</i></p> |  | <p>Sensible (+)</p> |
| <p>Escherichia-coli</p> |  | <p>Sensible (+)</p> |
| <p>Salmonelle</p> |  | <p>Sensible (+)</p> |
| <p><i>Bacillus subtilis</i></p> |  | <p>Sensible (+)</p> |

❖ **T:** TABEX ABF
TERCRIDE ABF

❖ **CS:** CHITOSANE

- L'analyse des résultats montre une variation significative de l'activité antibactérienne du chitosane. Cette étude révèle que 1% du chitosane n'apporte aucune activité antibactérienne contre deux souches, à savoir (*Pseudomonas* et *Staphylococcus*). En comparaison avec d'autres souches, il a été constaté que le chitosane fournissait une activité antibactérienne. Cela signifie qu'il existe une sensibilité et des diamètres différents. inhibition qui a atteint (10/11/14 mm).
- Enfin, il a été constaté que le chitosane est efficace pour inhiber et tuer les microbes.

L'activité antibactérienne du chitosane est influencée par de nombreux facteurs incluant :

*L'origine biologique du chitosane, Le chitosane provenant de crustacés démontre des mécanismes antibactériens plus diversifiés que le chitosane d'origine microbienne [98].

*Le degré de désacétylation, ((No *et al.*, 1998). [103] Plus le chitosane est désacétylé, plus son activité antimicrobienne est forte, indiquant que les groupes fonctionnels pour l'inhibition de la croissance sont les groupes aminés cationiques .[99]

* Le mode d'action varient en fonction de l'organisme ciblé (Gram+/Gram-).





*La concentration du polymère (chitosane), plus elle est élevée plus l'activité antimicrobienne est observée [100]



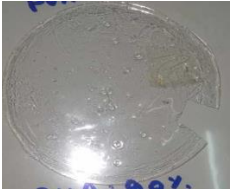


V.2.5 Caractérisations des films plastifiés

V.2.5.1 Aspect de Films préparées

L'aspect des films préparés est présenté dans le **tableauN° 5.5**

Tableau 5.5 : Aspects de films préparés (Cs/PVA)

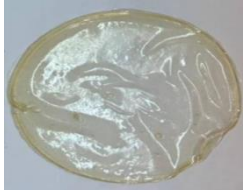
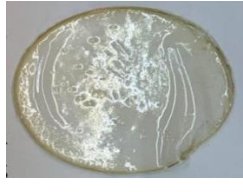
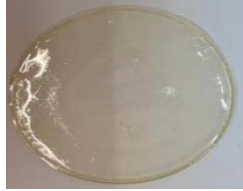

| films | Aspect | Figure |
|----------------------------|--|--|
| Chitosane pure | <ul style="list-style-type: none"> - Lisse - Flexible - Souple - Couleur jaunâtre transparente |  |
| PVA pure | <ul style="list-style-type: none"> - Lisse - Flexible - Un peu dure - Transparente |  |
| Mélange (Cs99%+PVA1%) | <ul style="list-style-type: none"> - Transparente, avec une couleur légèrement jaunâtre qui diminue progressivement avec l'augmentation du pourcentage de PVA |  |
| Mélange (Cs 90%+PVA10%) | <ul style="list-style-type: none"> - couleur jaunâtre transparente - souple - lisse |  |


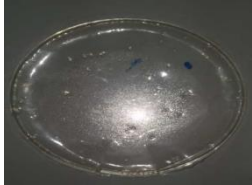



| | | | | |
|-----------|---------------------------|---|--|------------------------------------|
| ces et | Mélange (Cs80%+PVA20%) | <ul style="list-style-type: none"> - transparente - souple - Lisse |  | D'après résultats, Selon des |
| | Mélange (PVA99%+Cs1%) | <ul style="list-style-type: none"> - Transparent - lisse - rigide |  | |
| | Mélange (PVA90%+Cs10%) | <ul style="list-style-type: none"> - Transparent - rigide - lisse |  | |
| | Mélange (PVA80%+Cs20%) | <ul style="list-style-type: none"> - Transparent - rigide - -lisse |  | |
| | Mélange (PVA60%+Cs40%) | <ul style="list-style-type: none"> - Transparent - Rigide - lisse |  | |




chercheurs précédents tels que F. Aguirre-Loredo et ses collègues (2016) dans leur étude "Barrier Properties and Biodegradability of Starch/PVA Films Incorporated with Cellulose Nanoparticles" publiée dans *Polymers*, nous avons constaté que le PVA possède d'excellentes propriétés barrières contre l'oxygène. En outre, P. Dole et al. (2004) dans leur article "Gas barrier properties of starch-based films" publié dans *Carbohydrate Polymers* confirment également que le PVA présente des capacités significatives à bloquer la diffusion de l'oxygène. Ces études démontrent également que le PVA est non toxique et biocompatible, ce qui le rend adapté à des applications variées, y compris les emballages alimentaires . Cependant, ses inconvénients comme sa solubilité dans l'eau et son coût doivent être pris en

compte lors du choix du matériau d'emballage approprié. En revanche, le chitosane, avec ses propriétés antibactériennes et sa capacité à se biodégrader, est plus adapté pour l'emballage des aliments nécessitant une protection supplémentaire contre l'humidité et les bactéries

Tableau 5.6 : Les aspects des film (CS/PVA/GLY)

| 0.5ml glycérol | | |
|-----------------------|--|---|
| Cs99%+PVA1% | <ul style="list-style-type: none"> - couleur jaunâtre transparente - lisse - souple |  |
| Cs90%+PVA10% | <ul style="list-style-type: none"> - couleur jaunâtre transparente . - lisse - souple |  |
| Cs80%+PVA20% | <ul style="list-style-type: none"> - couleur jaunâtre transparente . - lisse - tres souple |  |
| Cs60%+PVA40% | <ul style="list-style-type: none"> - couleur jaunâtre transparente. - lisse - fillexible |  |
| 1ml glycérol | | |
| Cs99%+PVA1% | <ul style="list-style-type: none"> - transparent avec un peu de couleur jeune - tres souple - lisse | |

| | | |
|---------------------|--|---|
| | <ul style="list-style-type: none"> - flixible |  |
| Cs90%+PVA10% | <ul style="list-style-type: none"> - transparent avec un peu de couleur jeune - tres souple - lisse - flixible |  |
| Cs80%+PVA20% | <ul style="list-style-type: none"> - transparent avec un peu de couleur jeune - tres souple - lisse - flixible |  |
| Cs60%+PVA40% | <ul style="list-style-type: none"> - transparent avec un peu de couleur jeune - tres souple - lisse - flixible |  |
| 2ml glycérol | | |
| Cs99%+PVA1% | <ul style="list-style-type: none"> - transparent avec un peu de couleur jeune - trop souple - lisse - déchiré |  |
| Cs90%+PVA10% | <ul style="list-style-type: none"> - transparent avec un peu de couleur jeune - trop souple | |

| | | |
|---------------------|--|---|
| | <ul style="list-style-type: none"> - lisse - déchiré |  |
| Cs80%+PVA20% | <ul style="list-style-type: none"> - transparent avec un peu de couleur jaune - tres souple - lisse - flexible |  |
| Cs60%+PVA40% | <ul style="list-style-type: none"> - transparent avec un peu de couleur jaune - tres souple - lisse - flexible |  |

Malgré les propriétés distinctives des films de chitosane et PVA, ils nécessitent un agent plastifiant pour améliorer leur élasticité. Dans ce cas, nous utilisons du glycérol car il aide à réduire la rigidité des films en interférant avec les interactions moléculaires entre les chaînes polymères de chitosane et PVA, ce qui les rend moins cassants. Le glycérol diminue également leur tendance au fissurage et à la rupture, et favorise leur extensibilité, ce qui en fait un matériau plus adapté pour une variété d'emballage alimentaires.

résultats de solubilité des films

a) Test de gonflement :

La capacité de gonflement est calculée en utilisant l'équation suivante

$$S\% = (m_t - m_o) / m_o \times 100$$

Tableau 5.7 : taux de gonflement de différents films préparés

| Les différents films préparés | Taux de gonflement (%) |
|-------------------------------|------------------------|
| Chitosane pur | 81 |

| | |
|---------------------------|----|
| PVA pur | 78 |
| Cs 60% PVA40% | 87 |
| Cs 80% PVA 20% | 92 |
| Cs 90% PVA 10% | 86 |
| Cs 99% PVA 1% | 90 |
| 0.5 ml de glycérol | |
| Cs 60% PVA40% | 89 |
| Cs 80% PVA 20% | 81 |
| Cs 90% PVA 10% | 58 |
| Cs 99% PVA 1% | 69 |
| 1% glycérol | |
| Cs 60% PVA 40% | 74 |
| Cs 80% PVA20% | 65 |
| Cs 90% PVA 10% | 68 |
| Cs 99% PVA 1% | 70 |
| 2%de glycérol | |
| Cs 60% PVA 40% | 47 |
| Cs 80% PVA20% | 66 |
| Cs 90% PVA 10% | 77 |
| Cs 99% PVA 1% | 94 |

L'essai de gonflement aide à comprendre comment le chitosane et le PVA et les différents mélanges PVA /Cs/Gly interagissent avec l'humidité, ce qui contribue à améliorer la conception des films d'emballage. Les résultats montrent que le chitosane pur présente une capacité de gonflement élevée dans un milieu aqueux ; en revanche, le PVA absorbe également l'eau mais généralement à un degré moindre que le chitosane en raison de sa structure moléculaire différente.

Résultat de l'anfraroug

Activité antimicrobienne du Film

L'évaluation du potentiel antimicrobien des films est réalisée sur plusieurs microorganismes. La sensibilité des germes vis-à-vis des films est exprimée par l'apparition des zones d'inhibition relatives aux différentes souches testées qui sont présentées dans **le tableau N°5.**

Tableau 5.8 : Activité antibactérien du Film

| | 1 | 2 | 3 | T1= CS | T2= PVA |
|--------------------------------|---------------------------|----------|----------|---------------|----------------|
| Les souches | Les diamètres (mm) | | | | |
| <i>Aspergillus brasiliensi</i> | - | - | 10 | 25 | - |
| <i>Condida albicans</i> | 7 | 9 | 11 | 20 | 10 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | - | - | - | - | - |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | - | - | - | - | - |
| <i>Salmonelle</i> | 4 | - | - | 20 | - |
| <i>Bacillus subtilis</i> | - | - | - | 3 | - |

❖ **1:** (Chitosane 80%, PVA 20%)

❖ **2:** (Chitosane 90%, PVA 10%)

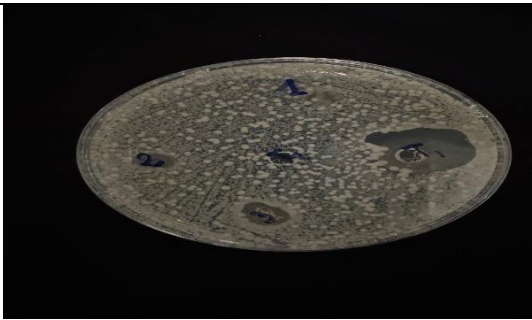
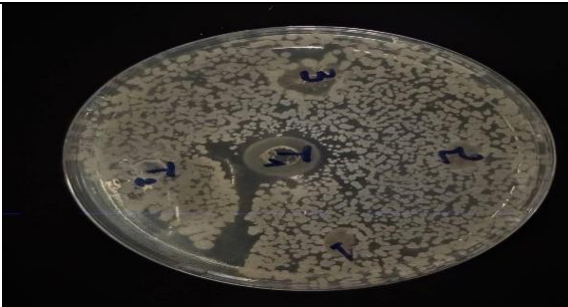
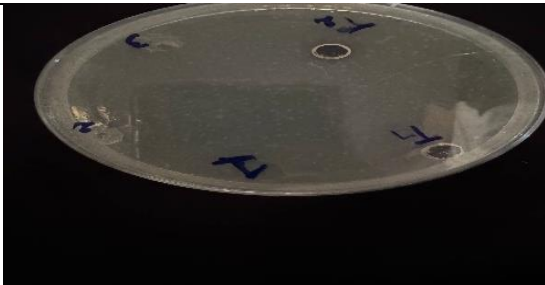
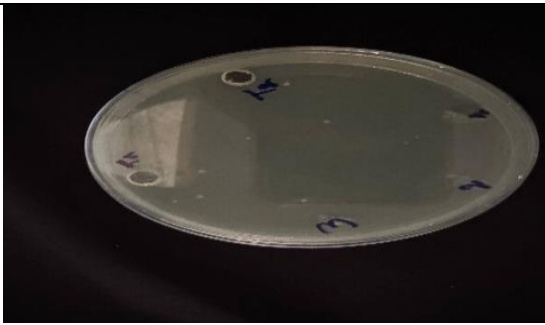
❖ **3:** (Chitosane 99%, PVA 1%)

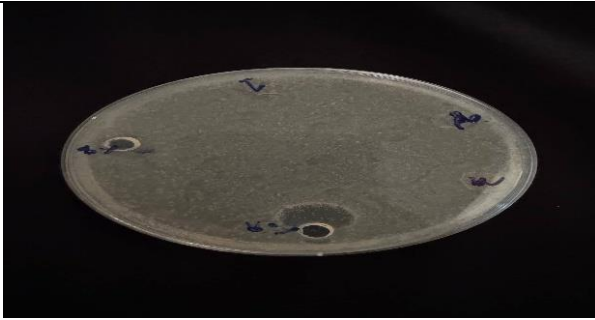
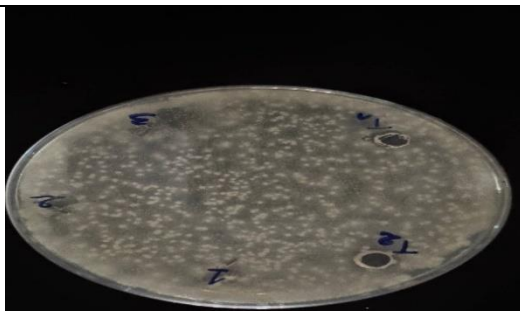
❖ **T1:** (Chitosane)

T2: (PVA)

Tableau.5.9: Activité antimicrobienne du Film.

| Activités | Photos | L'observations |
|------------------|---------------|-----------------------|
| | | |

| | | |
|--|--|------------------|
| | | |
| Les champignons : <i>Condida albicans</i> |  | Sensible (+) |
| <i>Aspergillus brasiliensi</i> |  | Sensible (+) |
| De bactéries : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |  | Non sensible (-) |
| <i>Staphylococcus aureus</i> |  | Non sensible (-) |
| <i>Salmonelle</i> | | Sensible (+) |

| | | |
|--------------------------|--|------------------|
| |  | |
| <i>Bacillus subtilis</i> |  | Non sensible (-) |

➤ Sur un total de 6 souches étudiées.

L'activité anti-adhésion vise à déterminer l'effet inhibiteur du chitosane qui exerçait un effet anti-adhésion. Il a été démontré que :

- ***Aspergillus brasiliensis*** : Parmi les 3 films entre N3, qui contiennent (Cs 99%, PVA 1%), il a un effet par rapport à 1 et 2 (Cs90%, Cs80%), qui n'a provoqué aucune interaction, due à la présence de certaines enzymes ou récepteurs. À la surface des cellules bactériennes, comme on peut le voir, T1 atteint un diamètre de 25 mm, qui est du chitosane pur.

- ***Conidia albicans***: 3 du film ont eu un effet. Il a également été montré que T1 et T2 avaient également un effet, mais avec des valeurs variables.

- ***Salmonelle*** : Nous avons constaté un effet sur 1 (Cs 80%, PVA 20%) et **sur 3** bactéries (*Bacillus* et *Staphylococcus* et *Pseudomonas aeruginosa*) n'ont eu aucun effet sur les bactéries. Enfin, nous concluons que lorsqu'il y a un pourcentage élevé de chitosane, il y a un effet antimicrobien.

- Après toutes ces expériences, nous avons choisi un type de film en fonction de leurs propriétés physico-chimiques. c'est le film (Chitosane 80% / PVA 20%/ Glycérol 0.5)

Conclusion générale

Selon les investigations, les emballages plastiques alimentaires ont été un facteur significatif de l'augmentation de la pollution environnementale dans les dernières années. Donc, plusieurs efforts ont été faits pour utiliser des produits biodégradables dans les emballages alimentaires. Ce pendant, la production de films antimicrobiens par une technique simple et économique est un problème auquel plusieurs chercheurs se sont attaqués.

Ce travail s'est attaché à valoriser le chitosane extrait chimiquement à partir crustacés de crevette, en tant qu'un emballage biodégradable. Ce matériau est bien connu pour ses propriétés antimicrobiennes. Le été obtenu après les deux étapes suivantes : extraction de la Chitine par une déminéralisation des carapaces broyée en milieu acide suivie d'une déprotéinisation en milieu basique la suivit d'un blanchiment par H₂O₂, Ce traitement a conduit à l'extraction de la chitine, laquelle est transformée par voie chimique en chitosane, après une réaction de désacétylation par une solution d'hydroxyde de sodium concentré à 50%. Le chitosane est utilisé dans de nombreux domaines et sous différentes formes. La méthode utilisées dans cette étude pour transformer le chitosane est de le solubiliser dans une solution acide. La solution en couche mince peut par la suite donner un film par évaporation du solvant. Il s'agit là de la manière traditionnelle de fabriquer des films du chitosane. Nous avons réalisé de nombreux films et avons choisi Le choix d'un film composé de 80% de chitosane, 20% de PVA et 0,5% de glycérine pour l'emballage alimentaire est motivé par ses propriétés spécifiques qui en font une solution idéale pour protéger les aliments. Le chitosane, issu de la chitine, est biocompatible, biodégradable et possède des propriétés antimicrobiennes, assurant ainsi une sécurité alimentaire accrue. Le PVA offre une barrière efficace contre l'humidité, tandis que la glycérine améliore la flexibilité et la résistance mécanique du film, prévenant les ruptures et garantissant une protection optimale des aliments. Ensemble, ces composants assurent la conservation des produits tout en réduisant leur impact environnemental, ce qui en fait un choix durable et sûr pour l'emballage

Référence

- [1] I. Olabarrieta, D. Forsström, U. W. Gedde, and M. S. Hedenqvist, (2001) "Transport properties of chitosan and whey blended with poly (varepsilon-caprolactone) assessed by standard permeability measurements and microcalorimetry," *Polymer (Guildf)*, vol. 42, no. 9, pp. 4401–4408,.
- [2] C. N. Cutter, (2006) "Opportunities for bio-based packaging technologies to improve the quality and safety of fresh and further processed muscle foods," *Meat Sci.*, vol. 74, no. 1, pp. 131–142,.
- [3] F. Sébastien, G. Stéphane, A. Copinet, and V. Coma, "Novel biodegradable films made from chitosan and poly (lactic acid) with antifungal properties against mycotoxinogen strains," *Carbohydr. Polym.*, vol. 65, no. 2, pp. 185–193, 2006.
- [4] L. T. Sin, A. R. Rahmat, and W. Rahman, "Polylactic Acid: PLA Biopolymer Technology and Applications, William Andrew," Inc., London, 2012.
- [5] S.-Y. Sung et al., "Antimicrobial agents for food packaging applications," *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 33, no. 2, pp. 110–123, 2013.
- [6] R. Grande and A. J. F. Carvalho, "Compatible ternary blends of chitosan/poly (vinylalcohol)/poly (lactic acid) produced by oil-in-water emulsion processing," *Biomacromolecules*, vol. 12, no. 4, pp 907–914, 2011.

- [7] C. Chen, L. Dong, and M. K. Cheung, "Preparation and characterization of biodegradable poly (L-lactide)/chitosan blends," *Eur. Polym. J.*, vol. 41, no. 5, pp. 958–966, 2005.
- [8] Richard Lapointe, (2012). *Bioplastiques biodégradables, compostables et biosourcés pour les emballages alimentaires, distinctions subtiles mais significatives* p 23-32.
- [9] ASTM. (2005) . *Standard Test Method for Water Vapor Transmission of Material*. American Society for Testing and Materials, Philadelphia.
- [10] Pierre Celestin Belibi (2013) .*Étude de élaboration et caractérisation des biofilms à based'amidon de manioc renforcés par des charges minérales bi et tri-dimensionnelles*. mémoire de maitrisé spécialité spécialité Sciences des Matériaux p 6.
- [11] Mohamed A. et al .(2016) .*Production and characterization of polyhydroxybutyrate (PHB) produced by Bacillus*, p 18- 42.
- [12] Vincent Mathel. (2016) .*Etude de la cristallisation du polyhydroxybutyrate*, Mémoire de maîtrise Spécialité : génie mécanique ,p 23-50.
- [13] Pierce L.M., (2011) .*PHA and bio-derived PE to drive bioplastic packaging market to 2020*.
- [14] Jean-Luc Wertz et al . (2016) .*Polymères biobasés : amidon, PLA, PHA, PE et PET*, p 12-36.
- [15] Yezza I., (2012). *Biodegradable Plastics 3 PaperBoard Applications, Innovations and Trends*. Présentation à Cascades Sonoco, Kingsey Falls, p 15-48.
- [16] Élyse Rémy . (2014) , *les plastiques biosourcés présentent-ils moins d'impacts négatifs pour l'environnement que les plastiques issus de la pétrochimie* p.27-33.
- [17] Bewa, H. (2006). *Matériaux polymères biodégradables et applications*, Note de Synthèse II, Direction des Energies Renouvelables, des Réseaux et des Marchés Energétiques.
- [18] *Matériaux polymères biodégradables et applications*, Note de Synthèse II, Direction des Energies Renouvelables, des Réseaux et des Marchés Energétiques Hilaire BEWA, 2006.
- [19]: Aissani Radia (2020-2021);quot;élaboration et étude de comportement d'un nouveau matériau à base de PVA/chitosane pour l'utilisation comme film.
- [20]: J.J.kester,o.fennema.edible films and coatings: AReview.J foodsci,1986,40,47- 59
- [21] Kim S. K, Mendis E, (2006). *Bioactive compounds from marineprocessing yproducts-A review*; *Food Res Int*; 39: 383-393.
- [22] New , N, Furuike, T, Tamura H, (2011).*Chitin and Chitosan from Terrestrial Organisms,Part I The Sources and Production, of Chitin and Chitosan Derivatives, Chitin,Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives, Biological Activities, and Applications*.Taylor and Francis Group; LLC: 3-10.

- [23] Islam M, Khan S, and Tanaka M. (2004). Waste loading in shrimp and fish processing effluents: Potential source of hazards to the coastal and near shore environments. *MarPollut Bull*; 49: 103-110.
- [24] Muzzarelli R.A.A., 1977-Chitin; Pergamon: Oxford..
- [25] Tolaimate A., Desbrières J., Rhazi M., Alaguic A., Vincendon M. et Vottero P., 2000 -On the influence of deacetylation process on the physico chemical characteristics of chitosan from squid chitin. *Polymer*, 41: 2463 - 2469.
- [26] Tolaimate A., Desbrières J., Rhazi M. et Alaguic A., 2003 -Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled Physico-chemical properties. *Polymer*, 44: 7939 - 7952.
- [27] Robinson, R.K. 2000. *Encyclopedia of Food Microbiology*, Volumes 1-3 C.A. Batt & P.D. Patel (Eds.), Retrieved from <http://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpEFMV0004/encyclopedia-foodmicrobiology-encyclopedia-food-microbiology>
- [28] No H.K, Meyers S.P and Lee K.S. Isolation and characterization of chitin from crawfish shell waste. *J. Agric. Food Chem* 37, pp. 575-579, 1989.
- [29] No H.K and Meyers S.P. Preparation and characterization of chitin and chitosan. *Review J Aquatic Food Prod. Tech* 4, pp.27-52, 1995.
- [30] Varum K.M, Myhr M.M, Hjerde R.J.N and Smidsrad. O, In vitro degradation rates of partially N-acetylated chitosans in human serum. *Carbohydrate Research*. 1997: p (99- 101).
- [31] Roberts G.A.F., Structure of chitin and chitosan. In: *Chitin chemistry*, edited by G.A.F. Roberts, Mac Millan Press, Houndmills. (1992) 1-53.
- [32] Jalal Zohuriaan-Mehr M., *Advances in Chitin and Chitosan Modification through Graft Copolymerization*, *Iranian Polymer Journal* 14 (3) (2005) 235-265.
- [33] Crini G, Guibal E, Morcellet M, Torri G, Badot P, (2009). Chitine et chitosane ; Préparation, propriétés et principales applications ; In *Chitine et chitosane du biopolymère à l'application* ; Besançon: Presses universitaires de Franche-Comté ; (pp. 19-54).
- [34] Suyatma N E, (2006). *Development de film biodegradable à base de chitosane: étude de mélange chitosane/PLA, de la plastification et de la comptabilisation*. Thèse de doctorat. Université de REINS-CHAMPAGNE ARDENE.
- [35] Arbia L, (2010) : «Contribution à l'étude de la déminéralisation et la déprotéinisation de la carapace de crabe de la crevette par voie fermentaire», mémoire de magister, ENP.
- [36] Mokrani N, (2013):«Préparation et étude du comportement de membranes biopolymères», mémoire de magister, Université Mohamed Bougara-Boumerdes, Algérie.
- [37] Mourad F, (2012): « Co-adsorption des métaux lourds sur la bentonite modifiée en présence de flocculants minéral et biologique», mémoire de Magister, Université Mouloud Mammeri Ti-ouzou..

- [38] Randrianasolo , (2003) : « Contribution aux études sur la préparation du chitosane à partir des carapaces de crevettes», mémoire d'ingénieur, ESPA.
- [39] Marie-Beatrice G, (1998) : «Etude de la performance du chitosane comme coagulant pour enlèvement du cuivre et de la turbidité des eaux usées» Université de MONTREAL. Maciel L.C et al., :« Use of edible films and coatings in cheese preservation: Opportunities and challenges », Food Res. Int., vol. 107,mai 2018.
- [40] Chenite, A., Buschmann, M., Wang, D., Chaput, C., Kandani, N. (2001). Rheological characterisation of thermogelling chitosan/glycerol-phosphate solutions., Carbohydrate Polymers 46(1) : 39-47
- [41] Ueno H., Mori T. and Fujinaga T. (2001). Topical formulations and wound healing applications of chitosan. Advanced Drug Delivery Reviews. (52) 105-115.
- [42] Shi C., Zhu Y., Ran X., Wang M., Su Y. and Cheng T. (2006). Therapeutic Potential of Chitosan and Its Derivatives in Regenerative Medicine. Journal of Surgical Research. (133) 185-192.
- [43] Onishi. H and Machida. Y, Biodegradation and distribution of water-soluble chitosan in mice. Biomaterials. 1999: p (175-182).
- [44] Ratajska. M and Boryniec. S, Physical and chemical aspects of biodegradation of natural polymers. Reactive and Functional Polymers.1998: p (35-49).
- [45] Kurita. K, Kaji. Y, Mori. T and Nishiyama. Y, Enzymatic degradation of chitin: Susceptibility and the influence of deacetylation. Carbohydrate Polymers. 2000: p(19-21).
- [46] Tomihata. K and Ikada. Y In vitro and in vivo degradation of films of chitin and its deacetylated derivatives. Biomaterials. 1997: p (567-575).
- [47] Chatelet. C, Damour. O and Domard. A, Influence of the degree of acetylation on some biological properties of chitosan films. Biomaterials. 2001: p (261-268).
- [48] Denuziere. A, Ferrier. D, Damour. O and Domard. A, Chitosan – chondroitin sulfate and chitosan - hyaluronate polyelectrolyte complexes: Biological properties. Biomaterials. 1998: p (1275-1285).
- [49] Lahiji. A, Sohrabi. A, Hungerford D.S and Frondoza C.G, Chitosan support the expression of extracellular matrix proteins in human osteoblasts and chondrocytes. Journal of Biomedical Materials Research. 2000: p (586-595).
- [50] Shi C., Zhu Y., Ran X., Wang M., Su Y. and Cheng T. Therapeutic Potential of Chitosan and Its Derivatives in Regenerative Medicine. Journal of Surgical Research. 2006: p (185-192).
- [51] Bacon. A, Makin. J, Sizer P.J, Jabbal-Gill. I, Hinchcliffe. M, Illum. L, Chatfield. S and Roberts M. Carbohydrate biopolymers enhance antibody responses to mucosally delivered vaccine antigens. Infection and Immunity. 2000: p (5764-5770).

- [52] Muzzarelli R.A.A, Muzzarelli. C, Tarsi. R, Miliani. M, Gabbanelli. F and Cartolari. M. Fungistatic activity of modified chitosans against *Saprolegnia parasitica* Biomacromolecules. 2001: p (165-169). Nagaoka S., Takiuchi H., Yokot
- [53] Tolaimate A., Desbrieres J., Rhazi M., Alagui A, Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical property, *Polymer*, 44, 7939 (2003).
- [54] LE ROUX, Karine. 2012. « Purification de la chitine par hydrolyse enzymatique à partir de coproduits de crevette *Penaeus vannamei*. Caractérisations des produits et optimisation du procédé ». Thèse de doctorat. Université de Nantes. pp.15 -29.
- [55] Elodie Zawlotzki Guivarch « Traitement des polluants organiques en milieux aqueux par procédé électrochimique d'oxydation avancée^o Electro-Fenton^o Application a la minéralisation des colorants synthétiques » thèse de docteur, Université de Marn-la-vallé. 2004.
- [56] Rinaudo M. (2006) Chitin and chitosan: properties and applications. *Prog. Polym. Sci.*, 31 (7) 603 – 632.
- [57] Benali Ahmed (2013) « préparation des composites Argile-chitosane, application a la rétention des colorants ». Thèse de Magister. Université de Tlemcen.
- [58] Ben Dhieb Fatima (2014) « développement et caractérisation de films biodégradables a base d'acide poly lactique et de chitosane ». Université de Laval.
- [59] Vazquez-Duhalt R., Tinoco R., D'Antonio P., Topoleski L D T. and Payne G F. Enzyme conjugation to the polysaccharide chitosan: Smart biocatalysts and biocatalytic hydrogels. *Bioconjugate Chemistry*. (12) 301-306, 2001.
- [60] Thanou M and Junginger H. *Pharmaceutical applications of chitosan and derivatives* in: Polysaccharide, Structural diversity and functional versatility New York : Marcel Dekker 2ed. 661-670, 2005.
- [61] Grabovac V., Gugli D. and Bernkop-Schnurch A. Comparison of the mucoadhesive properties of various polymers. *Advanced Drug Delivery Reviews*. (57) 1713-1723, 2005.
- [62] Allan, C. R., & Hadwiger, L. A. (1979). The fungicidal effect of chitosan on fungi of varying cell wall composition. *Experimental Mycology*.
- [63] Hirano, S., & Nagao, N. (1989). Effects of chitosan, pectic acid, lysozyme, and chitinase on the growth of several phytopathogens. *Agricultural and Biological Chemistry*.
- [64] Kong, M., Chen, X. G., Xing, K., & Park, H. J. (2010). Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *International Journal of Food Microbiology*.
- [65] (Robinson, R.K. 2000). *Encyclopedia of Food Microbiology*, Volumes 1-3 C.A. Batt & P.D. Patel (Eds.), Retrieved from <http://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpEFMV0004/encyclopedia-foodmicrobiologyencyclopedia-food-microbiology>

- [66] (Chung, Y.-C., Su, Y.-P., Chen, C.-C., Jia, G., Wang, H.-L., Wu, J. C. G., et al. (2004). Relationship between antibacterial activity of chitosan and surface characteristics of cell wall *Acta Pharmacologica Sinica*.
- [67] Peter M.O-O, Marcin H.S and Martin G. P. Characterisation of chitosan from blowfly larvae and some crustacean species from Kenyan marine waters prepared under different conditions. *Western Indian Ocean Journal. Mar. Sci.* vol 4, N°1, pp.99–107, 2005.
- [69] Geyer, Roland, Jenna R. Jambeck, and Kara Lavender Law. "Production, use, and fate of all plastics ever made." *Science Advances* 3.7 (2017)
- [70] Thompson, Richard C., et al. "Plastics, the environment and human health: current consensus and future trends." *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364.1526 (2009): 2153-2166.
- [71] Krochta, J.M. et De Mulder-Johnston, C. (1997). Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities. *Food Technol.*, 51(2), 61374.
- [72] Kester, J.J. et Fennema, O.R. (1986). Edible films and coatings: a review. *Food Technol.*, 40(12), 47359.
- [73] Han, J.H. (2000). Antimicrobial food packaging. *Food Technol.*, 54(3), 56365.
- [74] Rhim, J.W. et Perry, K.W. (2007). Natural Biopolymer-Based Nanocomposite Films for Packaging Applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(4), 411 4 433.
- [75] Utracki L.A.(1989) . *Polymer blends and alloys*, Hanser, Munich.
- [76] Belhaneche-Bensembra,N. and Bedda, A, (2001). Analyse de la relation structurepropriétés des mélanges PVC-PMMA. *Ann. Chim. Sci. Mater.*, 26, 79-90.
- [77] Ikejima,T and Inoue ,Y. (2000). Crystallization behavior and environmentalbiodegradability of the blend films of poly (3-hydroxybutiric acid) with chitin and chitosan. *Carbohydr. Polym.*. 41, 351-356.
- [78] Olabarrieta, I. Forsström,D. Gedde U,W and Hedenqvist M,S. (2001). Transport properties of chitosan and whey blended with poly(ϵ -caprolactone) assessed by standard permeability measurements and microcalorimetry. *Polym.*, 42, 4401-4408.
- [79] Daniels,C.A. 1989.*Polymers: Structure and Properties*; Technomic: Lancaster,Pennsylvania, p.21-27.
- [80] Krochta, J.M. (2002). Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status, and opportunities. In: *Protein-Based Films and Coatings* (Gennadios, A. ed.), 1341. CRC Press, Boca Raton, FL.
- [81] Sothornvit, R. et Krochta, J. M. (2000). Plasticizer effect on mechanical properties of β -lactoglobulin films. *Journal of Food Engineering*, 50, 1493155.

- [82] Han, J.H. (2003). Antimicrobial food packaging. In: Novel Food Packaging Techniques (Ahvenainen, R. ed.), 50370. Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, UK.
- [83] Santosa, F.X.B. and Padua, G.W. (1999). Tensile Properties and Water Absorption of Zein Sheets Plasticized with Oleic and Linoleic Acids. *J. Agric. Food Chem.* 47, 2070-2074.
- [84] Bali Fatima, (2012); "Mise au point et améliorations des caractéristiques physicochimiques de films de Chitosane purs et plastifiés"; *Génie Biologique*; 47-48
- [85] Mark, James E., et al. "Polyethylene Glycol." *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*. John Wiley & Sons, 2011.
- [86] NurHanani ZA, Beatty E, Roos YH, et al. Development and characterization of biodegradable composite films based on gelatin derived from beef, pork and fish sources. *Foods* 2013;2(1):1-17.
- [87] Belibi, P. C., Daou, T. J., Ndjaka, J. M. B., Nsom, B., Michelin, L., & Durand, B. (2014). A comparative study of some properties of cassava and tree cassava starch films. *Physics Procedia*, 55, 220-226.
- [88] Rinaudo, Marguerite. "Chitin and chitosan: Properties and applications." *Progress in Polymer Science* 31.7 (2006): 603-632.
- [89] Rhim, Jong-Whan, et al. "Biodegradability and water resistance of natural fiber-based biopolymer films." *Journal of Applied Polymer Science* 105.1 (2007): 280-288.
- [90] Rhim, Jong-Whan, et al. "Tensile, water vapor barrier and antimicrobial properties of PLA/nanoclay composite films." *LWT - Food Science and Technology* 45.2 (2012): 223-230.
- [91] Son, Jeong-wook, et al. "Preparation and characterization of biodegradable mulching films based on poly(lactic acid)/rice hull composites." *Polymer Testing* 30.6 (2011): 648-654.
- [92] García-Campo, María Jesús, et al. "Effect of chemical modification and fiber content on mechanical and thermal properties of extruded PLA lignocellulosic fiber biocomposites." *Composites Part B: Engineering* 43.4 (2012): 1595-1602.
- [93] Auras, R., et al. "Poly(lactic acid): Synthesis, structures, properties, processing, and applications." *Polymer Engineering & Science* 49.6 (2009): 1253-1277.
- [94] Rhim, J.W. et Perry, K.W. (2007). Natural Biopolymer-Based Nanocomposite Films for Packaging Applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(4), 411 — 433.
- [95] Ravi Kumar, Chitin and chitosan applications. *M.N.V. React. Function. Polym*; 46 (2000) 1-27

[96] Chen, X., Liu, Y., Guo, X., & Chen, J. (2016). Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticle films on Escherichia coli. Applied Surface Science, 360, 484-492. doi:10.1016/j.apsusc.2015.10.144.

[97] No, H. K., & Mayers (1998): Préparation et caractérisation de chitine et chitosane. Journal of Aquatic Food Product Technology, 6(1), 25-52.

[98] Sudharshan, N. R., Hoover, D. G., & Knorr, D. (1992): Antibacterial action of chitosan. Food Biotechnology, 6(3), 257-272.

[99] Jumaa, M. N., Author2, A. B., & Author3, C. D. (2002). Title of the Article. Journal Name, Volume(Issue), page range.

[100] Zheng, L. Y., & Zhu, J. F. (2003): Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights. Carbohydr Polymer, 54(4), 527-530.

