

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Saad DAHLAB BLIDA 1
Faculté de Technologie

Département Génie des Procédés



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER EN GENIE DES PROCEDES

Spécialité : Génie de l'environnement

THEME

**Préparation de films plastiques actifs : étude
de leurs propriétés physico-chimiques et
biologiques en vue de leur utilisation dans
l'emballage**

Présenté par :

DIALLO FANTA

Encadrée par :

Pr LARIBI HASSIBA

Mr BOULHABEL ELIAS

Année universitaire 2024-2025

RESUME

L'objectif de cette étude est de développer un nouveau matériau biodégradable ayant un effet antibactérien à utiliser comme emballage alimentaire. Ce matériau a été préparé à partir d'un biopolymère à savoir le chitosane mélangé au polyvinyle alcool (PVA) auquel on a ajouté un plastifiant (le glycérol).

Plusieurs formulations ont été préparées en faisant varier les proportions de chitosane, de PVA et de glycérol. Ces films ont ensuite été caractérisés par des tests physico-chimiques (gonflement, solubilité), biologiques (activité antimicrobienne contre diverses souches bactériennes et fongiques) et environnementaux (biodégradation dans différents substrats : sol, compost, boue d'épuration).

Les résultats ont montré que toutes les formulations présentaient une bonne capacité d'absorption d'eau, en particulier les films riches en PVA. L'évaluation de l'activité antimicrobienne a mis en évidence un effet inhibiteur notable, notamment contre *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae* et *Candida auris*, particulièrement pour les films contenant 25 % de PVA, 75 % de chitosane et 0,15 g de glycérol.

Concernant la biodégradabilité, plusieurs films ont montré un début de dégradation dans les substrats mixtes (sol/compost ou sol/boue), en particulier ceux ayant une forte teneur en chitosane et glycérol.

La formulation la plus intéressante, combinant une activité antimicrobienne élevée et une bonne aptitude à la biodégradation, est celle constituée de 35 % de PVA, 65 % de chitosane et 0,15 g de glycérol. Cette étude confirme le potentiel des films à base de chitosane/PVA comme matériaux d'emballage alimentaire biodégradables et actifs.

Mots clés : Films actifs, biodégradabilité, emballage alimentaire.

ABSTRACT

The objective of this study is to develop a new biodegradable material with antibacterial properties, intended for use as active food packaging. This material was prepared from a biopolymer, namely chitosan, blended with polyvinyl alcohol (PVA), and plasticized with glycerol.

Several formulations were prepared by varying the proportions of chitosan, PVA, and glycerol. These films were then characterized using physicochemical tests (swelling, solubility), biological evaluations (antimicrobial activity against various bacterial and fungal strains), and environmental assessments (biodegradation in different substrates: soil, compost, and sewage sludge).

The results showed that all formulations exhibited good water absorption capacity, particularly those rich in PVA. Antimicrobial testing revealed notable inhibitory effects, especially against *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Candida auris*, particularly for films containing 25% PVA, 75% chitosan, and 0.15 g of glycerol.

Regarding biodegradability, several films showed initial signs of degradation in mixed substrates (soil/compost or soil/sludge), particularly those with higher chitosan and glycerol content.

The most promising formulation, combining strong antimicrobial activity and good biodegradability, consisted of 35% PVA, 65% chitosan, and 0.15 g of glycerol. This study confirms the potential of chitosan/PVA-based films as effective biodegradable and active materials for food packaging.

Keywords: Active films, biodegradability, food packaging.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تطوير مادة جديدة قابلة للتحلل الحيوي تتمتع بخصائص مضادة للبكتيريا، لاستخدامها في تغليف المواد الغذائية.

وتمت إضافة ملدن (PVA) تم تحضير هذه المادة من بوليمر حيوي وهو الكيتوسان، الممزوج مع بولي فينيل الكحول (وهو الجلسيرول) إلى الخليط.

والجلسيرول بعد ذلك، تم توصيف هذه الأفلام من خلال PVA تم إعداد عدة تركيبات من خلال تغيير نسب الكيتوسان و اختبارات فيزيائية-كيميائية (الانتفاخ، الذوبانية،) واختبارات بيولوجية (النشاط المضاد للميكروبات ضد عدة سلالات بكتيرية وفطرية)، وكذلك اختبارات بيئية (التحلل الحيوي في ركائز مختلفة: التربة، السماد، الحمأة الناتجة عن محطات المعالجة).

وأظهر تقييم PVA أظهرت النتائج أن جميع التركيبات أظهرت قدرة جيدة على امتصاص الماء، وخاصة الأفلام الغنية بـ *Klebsiella* و *Enterobacter aerogenes* النشاط المضاد للميكروبات وجود تأثير مثبط ملحوظ، خاصة ضد و 75% من الكيتوسان و PVA 0.15 لا سيما في الأفلام التي تحتوي على 25% من *Candida auris* و *pneumoniae* غرام من الجلسيرول.

فيما يخص القابلية للتحلل الحيوي، أظهرت عدة أفلام بداية تحلل في الركائز المختلفة (تربة/سماد أو تربة/حمأة)، خصوصاً تلك التي تحتوي على نسبة عالية من الكيتوسان والجلسيرول.

أما التركيبة الأكثر فعالية، التي جمعت بين نشاط مضاد للميكروبات مرتفع وقابلية جيدة للتحلل الحيوي، فهي التي تتكون و 65% من الكيتوسان و 0.15 غرام من الجلسيرول PVA من 35% من

كمادة تغليف غذائي نشطة وقابلة للتحلل PVA/تؤكد هذه الدراسة الإمكانيات الواعدة للأفلام المصنوعة من الكيتوسان الحيوي.

الكلمات المفتاحية: أفلام نشطة، القابلية للتحلل الحيوي، تغليف المواد الغذائية

REMERCIEMENTS

Avant tout, je rends grâce à Dieu Tout-Puissant qui m'a accompagné tout au long de ce parcours et m'a permis d'achever ce travail dans les meilleures conditions.

Je tiens à exprimer ma plus sincère gratitude à mon encadrante Madame LARIBI HASSIBA pour sa disponibilité, ses conseils judicieux, sa rigueur scientifique et son accompagnement tout au long de ce mémoire. Sa bienveillance et ses encouragements ont été déterminants dans la progression de ce travail.

Je remercie également mon Co-encadrant Monsieur BOULHABEL ELIAS, pour son soutien constant, ses remarques constructives et sa présence tout au long des différentes étapes de ce projet.

Je remercie également l'ensemble des enseignants du département de Génie des Procédés pour la qualité de l'enseignement qu'ils m'ont dispensé au cours de ma formation.

Je n'oublie pas d'adresser mes remerciements au personnel technique et aux membres du laboratoire pour leur assistance précieuse, ainsi qu'à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

DEDICACE

À mon père, **SANE MOUSSA**

Modèle de sagesse et de persévérance, merci pour ton soutien indéfectible, ta confiance et les valeurs que tu m'as transmises. Elles ont été mon repère tout au long de ce chemin.

À ma mère, **ALIMATA**

Pour ton amour inconditionnel, tes prières silencieuses et ton courage discret. Ta présence est une lumière qui m'accompagne à chaque pas.

À ma sœur, ma second mum, **AMINATA**

Merci pour ta complicité, ton écoute précieuse et ton soutien réconfortant dans les moments de doute.

À mon petit neveu, mon petit homme, **MODIBO**

Ta joie de vivre, ton innocence et ton sourire ont été pour moi une source inattendue de motivation et de tendresse.

À mes meilleures amies, **OUMOU et AMINATA**

Pour votre présence fidèle, vos encouragements sincères et vos mots bienveillants. Vous avez rendu ce parcours plus doux et plus fort.

A toute la communauté Malienne de Blida.

À vous tous, ce mémoire est dédié avec toute ma reconnaissance, mon affection et mon respect profond.

TABLE DES MATIERES

RESUME

REMERCIEMENTS

DEDICACE

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION GENERALE

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. Polymères biodégradables.....	14
1.1.1. Définition.....	14
1.1.2. Classification des polymères biodégradables.....	14
1.2. Le chitosane.....	15
1.2.1. Définition.....	15
1.2.2. Structure chimique	16
1.2.3. Source du chitosane.....	16
1.2.4. Propriétés physico-chimiques du chitosane.....	17
1.2.4.1. Degré de désacétylation.....	17
1.2.4.2. Masse moléculaire.....	17
1.2.4.3. Viscosité.....	17
1.2.4.4. Solubilité.....	17
1.2.5 Propriétés biologiques.....	18

1.5.1. Innocuité/toxicité.....	18
1.2.5.2. Biocompatibilité.....	18
1.2.5.3. Biodégradabilité.....	18
1.2.5.4. Activité antimicrobienne du chitosane.....	19
1.2.6. Domaines d'applications du chitosane.....	19
1.3. Le polyvinyle alcool (PVA).....	20
1.3.1. Définition et structure.....	20
1.3.2. Applications du polyvinyle alcool.....	21
1.3.3. Intérêt de l'association avec le chitosane.....	22
1.4. Films actifs.....	22
1.4.1. Types d'agents actifs.....	22
1.4.2. Mécanismes d'action	22
1.4.3. Applications.....	23
1.5. Plastifiants.....	23

CHAPITRE 2 : MATERIELS ET METHODES

Introduction.....	26
2.1. Produits et matériels utilisés.....	26
2.1.1. Produits.....	26
2.1.2. Matériels.....	26
2.2. Méthodes expérimentales.....	27
2.2.1. Préparation du chitosane.....	27
2.2.2. La solubilisation du chitosane.....	27
2.2.3. Caractérisation du chitosane.....	27

2.2.3.1. Détermination de degré de désacétylation.....	27
2.2.4. Evaluation de l'activité antibactérienne du chitosane.....	28
2.2.5. Evaluation de l'activité antifongique du chitosane.....	28
2.2.6. Préparation des films.....	28
2.2.6.1. Préparation des films de chitosane pur.....	28
2.2.6.2. Préparation des films de PVA pur.....	29
2.2.6.3. Préparation des films de mélange de PVA/Chitosane.....	29
2.2.6.4. Préparation des films de mélange de PVA/Chitosane/Glycérol.....	30
2.2.7. Techniques de caractérisation des films préparés.....	31
2.2.7.1. Test de gonflement.....	31
2.2.7.2. Test de solubilité.....	31
2.2.7.3. Activité antimicrobienne des films.....	32
2.2.7.5. Test de biodégradation.....	32

CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Méthode de caractérisation du chitosane.....	35
3.1.1. Détermination du degré de désacétylation du chitosane par spectroscopie infrarouge.....	35
3.2. Caractérisation des films.....	35
3.2.1. Aspect des films retenus.....	35
3.2.2. Test de gonflement.....	36
3.2.3. Test de solubilité.....	37
3.2.4. L'activité antimicrobienne des films.....	39
3.2.5. Le test de biodégradation.....	40

CONCLUSION GENERALE.....	53
Références bibliographiques.....	54
Annexe A : Différentes formulations réalisées avec le PVA/Chitosane/Glycérol.....	61
Annexe B : Résultats des tests antimicrobiens.....	64

LISTE DES ABREVIATIONS

PVA : Polyvinyle alcool

Cs : Chitosane

DDA : Degré de désacétylation

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 : Classification des polymères biodégradables.

Figure 1.2 : Structure du chitosane.

Figure 1.3 : (a) La structure de l'alcool vinylique ; (b) Le PVA est synthétisé par hydrolyse d'acétate de polyvinyle.

Figure 2.1 : Le gel de Chitosane

Figure 2.2 : Le gel de PVA.

Figure 2.3 : Pots horticoles utilisés dans le test de biodégradation.

Figure 2.4 : Conditionnement de la membrane enterrée.

Figure 3-1 : Spectre IR du Chitosane.

Figure 3-2 : Aspect au microscope de l'emballage commercial avant et après le test de biodégradation.

Figure 3-3 : Test de dégradation dans le sol.

Figure 3-4 : Test de dégradation dans le sol (suite).

Figure 3-5 : Test de dégradation dans le substrat Compost.

Figure 3-6 : Test de dégradation dans le substrat Compost (suite).

Figure 3-7 : Test de dégradation dans le substrat Boue de Station d'épuration

Figure 3-8 : Test de dégradation dans le substrat Boue de Station d'épuration (Suite)

Figure 3-9 : Test de dégradation dans le substrat Sol /Compost

Figure 3-10 : Test de dégradation dans le substrat Sol /Compost (Suite).

Figure 3-11 : Test de dégradation dans le substrat Sol /Boue.

Figure 3-12 : Test de dégradation dans le substrat Sol /Boue (suite).

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1 : Quelques applications du chitosane dans différents domaines.

Tableau 2.1 : Différents formulations des mélanges réalisés.

Tableau 2.2 : Les différentes formulations retenues (PVA/Chitosane/glycérol).

Tableau 3.1 : Aspect des films retenus.

Tableau 3-2 : Taux de gonflement des différents films.

Tableau 3-3 : Taux de solubilité des différents films.

Tableau 3-4 : Activité anti microbienne des films.

INTRODUCTION GENERALE

Un emballage alimentaire est un matériau qui assure la protection des aliments contre toutes contaminations (poussières, microorganismes, substances chimiques) et contre l'oxygène en garantissant une bonne préservation de la qualité de l'aliment.

Les plastiques d'origine pétrochimique peuvent altérer la qualité des aliments lorsqu'ils interagissent avec eux, et ont un impact environnemental négatif et ce en raison de leur faible biodégradabilité et leur accumulation croissante dans les décharges [1]. Toutefois, l'un des enjeux majeurs liés à l'utilisation de ces matériaux réside dans la migration potentielle de monomères résiduels ou d'adjuvants, susceptibles d'être libérés par l'emballage et de contaminer les denrées alimentaires [2].

Récemment, un intérêt considérable s'est porté sur le développement et la valorisation de polymères naturels et biosourcés comprenant des polysaccharides tels que la cellulose, l'amidon, la chitine, le chitosane et bien d'autres [3]. Ces matériaux offrent des propriétés diversifiées dans la mesure où ils sont biodégradables, biocompatibles, parfois comestibles et surtout non toxiques [4].

La chitine et le chitosane sont des polymères naturels présents notamment dans les plumes de calmars, une ressource encore peu valorisée à ce jour, ou encore dans les carapaces de crustacés (crevettes et crabes). La chitine est considérée comme le deuxième composé organique le plus abondant sur terre, dont une grande partie est généralement éliminée sous forme de déchets [5][6]. Ainsi, le chitosane, obtenu par modification chimique de la chitine, représente une ressource naturelle particulièrement intéressante, tant sur le plan économique qu'environnemental, en permettant la valorisation de déchets biologiques.

Le polyvinyle alcool, principalement obtenu par hydrolyse de l'acétate de polyvinyle, est un polymère à structure partiellement cristalline, soluble dans l'eau et facilement dégradé par les organismes biologiques [7]. En raison de sa compatibilité structurale et de ses propriétés hydrophiles, le PVA est couramment utilisé en association avec d'autres polymères, notamment des biopolymères ou des composés hydrophiles. Il est largement employé dans diverses applications industrielles, notamment pour renforcer les propriétés mécaniques des films [8].

Dans le cadre de cette étude, nous avons donc entrepris l'élaboration de films actifs à base de chitosane et de polyvinyle alcool (PVA), en y incorporant du glycérol comme plastifiant, afin d'optimiser la flexibilité des matériaux obtenus. Plusieurs formulations ont été préparées en variant les proportions de ces trois composants, puis soumises à une série de tests expérimentaux.

CHAPITRE 1

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. Polymères biodégradables

1.1.1. Définition :

Selon la Norme Européenne (EN) 13-432, la biodégradation est un processus qui doit impérativement inclure trois étapes essentielles, pouvant être successives ou simultanées : la fragmentation, la bio-assimilation et la minéralisation. La première phase, la fragmentation, se manifeste par des changements observables physico-chimiques : le matériau se désintègre progressivement, en raison notamment de la réduction de la longueur des chaînes polymères. Cette dégradation résulte principalement de deux mécanismes : l'hydrolyse ou l'oxydation. Il est généralement admis que la désintégration correspond à la rupture du matériau en particules de petite taille, dont 90 % en masse présentent une granulométrie inférieure à 2 mm, conformément à la norme EN 13-432. [9]

La deuxième étape, la bio-assimilation, est plus complexe car elle implique l'intervention d'organismes vivants. Des micro-organismes, qu'ils soient d'origine animale ou végétale, utilisent les fragments du matériau comme source de nutriments, qu'ils intègrent par des processus métaboliques. Pour être assimilables, les produits issus de la dégradation des polymères doivent présenter une masse moléculaire faible et une structure suffisamment fonctionnalisée [9]. La minéralisation correspond à l'étape finale du processus de biodégradation, au cours de laquelle les composés organiques assimilés par les micro-organismes sont entièrement convertis en substances inorganiques simples. En conditions aérobies, ce processus aboutit principalement à la formation de dioxyde de carbone (CO_2) et d'eau (H_2O). En revanche, en conditions anaérobies, c'est-à-dire en absence d'oxygène, les produits finaux sont majoritairement du méthane (CH_4) et de l'eau [10].

En résumé, les matériaux biodégradables sont des matériaux capables de se décomposer, sous l'action enzymatique de micro-organismes, en dioxyde de carbone (CO_2), méthane (CH_4), eau (H_2O), composés inorganiques ou biomasse. Ce processus de dégradation biologique implique l'assimilation et la transformation progressive des constituants organiques du matériau par des micro-organismes présents dans l'environnement.

1.1.2. Classification des polymères biodégradables :

Il existe une vaste diversité de polymères ayant la capacité de se biodégrader. Selon la classification des polymères biodégradables proposée par Averous [11], quatre grandes familles peuvent être distinguées :

- Les agro polymères, des matériaux d'origine naturelle extraits directement de la biomasse

- Les polymères d'origine microbienne, obtenus par des procédés de fermentation, et comprend principalement les poly(hydroxyalcanoates)
- Les polymères synthétisés chimiquement à partir de ressources renouvelables dont le représentant le plus connu est le poly(acide lactique)
- Les polyesters synthétiques d'origine pétrochimique comme le polycaprolactone

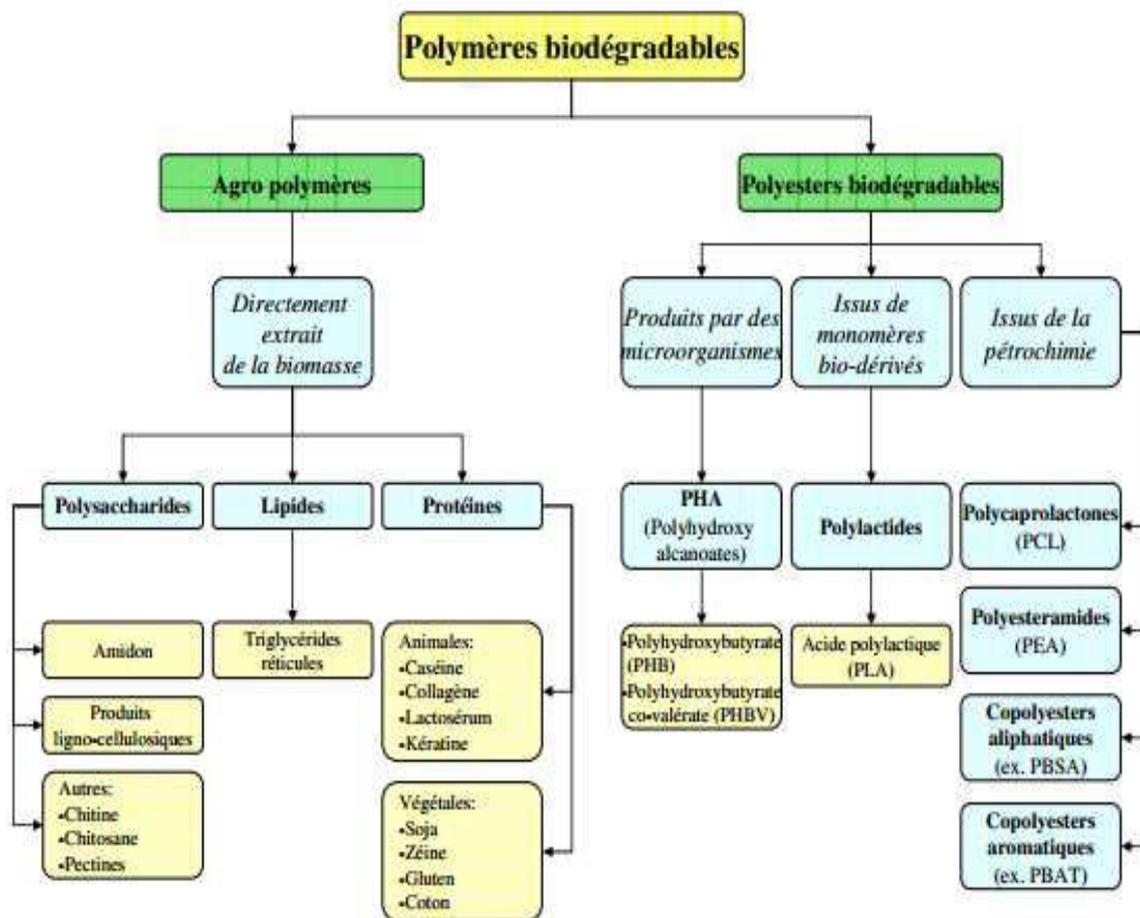


Figure 1.1 : Classification des polymères biodégradables [11].

1.2. Le chitosane

1.2.1. Définition :

Le chitosane est un polysaccharide naturel cationique, obtenu par désacétylation partielle de la chitine [12]. Il est constitué d'unités de D-glucosamine et de N-acétyl-D-glucosamine, reliées entre elles par des liaisons $\beta(1\rightarrow4)$. Le terme « chitosane » ne désigne pas une structure chimique unique, mais une famille de copolymères linéaires à répartition aléatoire de ces deux unités monomériques, dans des proportions variables. Cette structure confère au chitosane d'excellentes propriétés filmogènes. On le retrouve naturellement dans la paroi cellulaire de certains champignons ainsi que dans les exosquelettes de crustacés et d'insectes [13].

1.2.2. Structure chimique :

Le chitosane possède trois types de groupes fonctionnels : un groupe amine en position C₂, ainsi que deux groupes hydroxyles situés aux positions C₃ et C₆. Grâce à ses groupes amines libres, ce biopolymère présente des propriétés remarquables. Contrairement à la majorité des polysaccharides qui sont généralement chargés négativement, le chitosane, soluble dans les acides faibles, porte une charge positive [14].

Le degré de désacétylation (DDA) correspond à la proportion d'unités D-glucosamine (avec groupement amine) par rapport au nombre total d'unités glycosidiques. Dans les produits commerciaux, le chitosane présente généralement un DDA supérieur à 60 %. Ce paramètre joue un rôle essentiel dans la solubilité du polymère dans les solutions acides diluées (pH compris entre 2 et 6). Le DDA est un indicateur structural clé qui influence non seulement les propriétés physico-chimiques (comme la solubilité, la charge globale et la réactivité), mais aussi les propriétés mécaniques (telles que la résistance à la traction, l'élongation à la rupture et l'efficacité barrière). Il conditionne également les propriétés biologiques du chitosane, notamment sa biocompatibilité, sa biodégradabilité, ainsi que ses activités biostimulantes et anticholestérolémiantes [15].

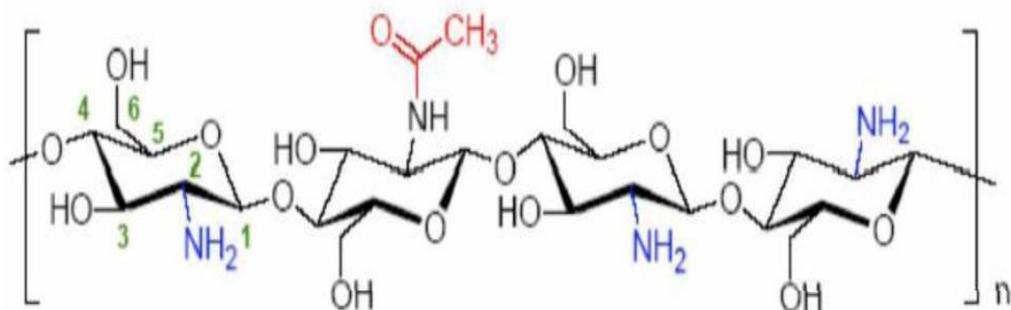


Figure 1.2 : Structure du chitosane

1.2.3. Source du chitosane :

Le chitosane est principalement issu des crevettes et des crabes, qui constituent les deux sources naturelles les plus abondantes. Il s'agit donc d'un produit d'origine animale [16]. Etant donné qu'il est rare le chitosane n'est que dans certains exosquelettes d'insectes (notamment dans la paroi abdominale des reines de termites) ainsi que dans la paroi cellulaire de certains micro-organismes tels que les zygomycètes, certaines bactéries et levures. Il n'existe donc pas de source primaire directement exploitable ; sa production repose essentiellement sur la transformation de déchets issus de la pêche [17]

1.2.4. Propriétés physico-chimiques du chitosane :

Les propriétés physico-chimiques du chitosane sont principalement déterminées par son degré de désacétylation, sa masse moléculaire, sa viscosité et sa solubilité [18].

1.2.4.1. Degré de désacétylation (DDA) :

Le chitosane, en devenant riche en groupements amine hautement réactifs, voit son degré de désacétylation devenir un paramètre structural clé. Ce dernier influence de manière significative ses propriétés physico-chimiques, ses propriétés mécaniques (résistance à la traction, élongation à la rupture) ainsi que ses propriétés barrière. Par ailleurs, il impacte également les propriétés biologiques du polymère, déterminant ainsi ses domaines d'application [19].

Il existe quatre principales méthodes d'analyse permettant de déterminer le degré de désacétylation (DDA) [20] : la spectrophotométrie UV, la spectroscopie FTIR, le dosage conductimétrique et le dosage pH-métrique. De manière générale, une seule méthode analytique ou spectroscopique ne suffit pas à caractériser de manière complète les biopolymères tels que la chitine et le chitosane. Le degré de désacétylation du Chitosane peut varier entre 60% et 100%, en fonction des conditions de traitement appliquées lors de la désacétylation [21].

1.2.4.2. Masse moléculaire :

Le poids moléculaire du chitosane dépend de la source de la matière et des méthodes de traitements utilisées. Généralement les conditions extrêmes comme des températures élevées, la présence d'oxygène dissous ou des traitements agressifs peuvent provoquer la dégradation du chitosane entraînant ainsi une diminution du poids moléculaire de celui-ci [22].

1.2.4.3. Viscosité :

La viscosité du chitosane est étroitement liée à son degré de désacétylation (DDA). En effet, plus le chitosane est désacétylé, plus il possède de groupements amines libres, ce qui améliore sa solubilité et augmente logiquement sa viscosité. Cette dernière varie aussi en fonction de plusieurs autres facteurs : elle augmente avec la concentration du polymère, diminue avec l'élévation de la température, croît avec le poids moléculaire (car la viscosité intrinsèque est proportionnelle à ce dernier), et dépend également du pH, avec des valeurs plus élevées à pH acide [23]. **L'INTERVALLE DU PH ET EXPLICATION**

1.2.4.4. Solubilité :

Le chitosane est pratiquement insoluble dans l'eau pure ainsi que dans les solutions alcalines, qu'elles soient concentrées ou diluées. En revanche, il présente une bonne solubilité dans plusieurs solvants aqueux légèrement acides, ainsi que dans certains solvants organiques. L'acide acétique dilué est le plus

couramment utilisé pour préparer une solution de chitosane. De manière générale, le chitosane devient totalement soluble à un pH avoisinant 4. Cette solubilité s'explique par la protonation des groupes aminés à partir d'un pH de 3, ce qui confère au polymère une charge positive favorisant sa dissolution [24].

Par ailleurs, le chitosane est également soluble dans des mélanges aqueux contenant entre 50% et 60% de méthanol ou environ 40% d'acétone. Ses propriétés intrinsèques, telles que son hydratation, sa structure tridimensionnelle, sa viscosité, sa capacité à établir des interactions ioniques ou à se lier à des molécules organiques et des ions de métaux lourds, influencent fortement sa solubilité en milieu aqueux. En outre, sa structure chimique le rend apte à subir diverses modifications, ouvrant la voie à la synthèse de nombreux dérivés dotés de propriétés physico-chimiques et biologiques variées [24].

1.2.5. Propriétés biologiques :

1.2.5.1. Innocuité/ toxicité :

Le chitosane est largement reconnu pour son innocuité, soutenue par de nombreuses études cliniques, tant in vitro qu'in vivo chez l'animal comme chez l'homme, qui ont mis en évidence sa faible cytotoxicité. Cette caractéristique essentielle permet son intégration dans de multiples domaines d'application, allant de l'alimentaire au pharmaceutique, en passant par le biomédical, ce qui témoigne de la grande polyvalence de ce biopolymère. Des recherches ont démontré son innocuité chez l'homme, même après une exposition prolongée par voie orale sur une période de 12 semaines, avec pour seuls effets secondaires observés de légers troubles digestifs (diarrhées ou constipations) chez une minorité de participants [25]. Son profil toxicologique est influencé par certains facteurs tels que le degré de pureté du chitosane, son degré de désacétylation (DDA), son poids moléculaire (PM), ainsi que les traitements chimiques de modification ou de substitution [26] [27]. D'où la nécessité de garantir la qualité du chitosane utilisé dans chaque application.

1.2.5.2. Biocompatibilité :

Le chitosane est reconnu pour sa biocompatibilité, en raison de ses interactions avec les tissus et cellules des organismes vivants qui induisent très peu de réactions inflammatoires ou de rejets. Il est également biorésorbable, avec une cinétique de dégradation contrôlable [28]. Les études disponibles à ce jour confirment son innocuité pour la santé humaine. Toutefois, son utilisation est contre-indiquée chez les personnes allergiques aux fruits de mer [29].

1.2.5.3. Biodégradabilité :

La biodégradation du chitosane est principalement assurée par des enzymes, notamment les lysozymes présents chez l'homme et les mammifères. Ces enzymes hydrolysent les liaisons glycosidiques β -(1→4) entre les unités de N-acétylglucosamine, produisant des résidus de N-acétylglucosamine et de D-

glucosamine qui sont ensuite métabolisés par l'organisme. Ainsi, un chitosane avec un degré de désacétylation (DDA) de 50 % est facilement dégradé *in vivo*, sans accumulation dans les tissus ou le sang [30].

La vitesse de dégradation du chitosane dépend de plusieurs facteurs, notamment son origine, son DDA et sa masse molaire [31]. Des études ont montré que la susceptibilité enzymatique augmente initialement lorsque le DDA est inférieur à 50 %, puis continue d'augmenter avec le DDA, jusqu'à une absence de dégradation observée pour un chitosane avec un DDA de 97% [32]. Cette influence du DDA sur la dégradation a été constatée tant *in vitro*, lors de tests avec des lysozymes, qu'*in vivo*, lors d'implantations sous-cutanées [33]. Un chitosane avec un DDA de 50 % semble donc offrir une dégradation optimale.

1.2.5.4. Activité antimicrobienne du chitosane :

Le chitosane se distingue par sa puissante activité antimicrobienne à l'encontre d'un large spectre de micro-organismes, incluant des bactéries, des champignons, des levures, des virus ainsi que des spores [4]. Cette activité est modulée par plusieurs facteurs, notamment les caractéristiques propres aux micro-organismes (telles que le type de souche et l'âge cellulaire), les propriétés intrinsèques du chitosane (densité des charges positives, poids moléculaire, degré de désacétylation, concentration, caractère hydrophile ou hydrophobe, et capacité à former des complexes), ainsi que sa forme physique (film, fibre, sphère ou hydrogel). De plus, l'efficacité du chitosane dépend des conditions environnementales telles que le pH, la température, le temps de contact et la présence éventuelle de cations métalliques [20].

1.2.6. Domaines d'applications du chitosane :

Les propriétés biologiques singulières du chitosane, combinées à son origine naturelle, sa multifonctionnalité, sa disponibilité et la diversité des formes physiques qu'il peut adopter grâce à des procédés technologiques adaptés, expliquent la variété de ses domaines d'application [34] [35]. De manière générale, les usages les plus répandus du chitosane concernent l'administration et la libération contrôlée de principes actifs en pharmacie [35] [36], la fabrication d'échafaudages pour la culture cellulaire en ingénierie tissulaire [37], ainsi que la conception de pansements à propriétés antibactériennes dans le secteur biomédical [38]. Il est également utilisé dans le traitement des eaux [39], l'industrie cosmétique [40] [41], l'agriculture [42] [43], l'agroalimentaire [44] [45], et plus récemment dans l'emballage alimentaire [46] [47]. Plusieurs de ces usages sont recensés dans le tableau 1.1.

Tableau 1.1 : Quelques applications du chitosane dans différents domaines. [48].

Applications	Exemples
Traitement de l'eau	Piégeage d'ions métalliques Floculant/coagulant : - protéines - colorants - acides aminés Filtration
Industrie des pâtes et papiers	Traitement de surface Papier photographique Papier pour copies, sans carbone
Domaine médical	Bandages, éponges Vaisseaux sanguins artificiels Contrôle du cholestérol sanguin Inhibition des tumeurs Membranes Inhibition de la plaque dentaire Peaux artificielles Lentilles de contact Libération contrôlée de médicaments Traitements d'affections osseuses
Cosmétique	Poudre de maquillage Vernis à ongles Crèmes hydratantes Dentifrice Soins capillaires
Biotechnologies	Immobilisation d'enzymes Séparation de protéines Chromatographie d'affinité Immobilisation de cellules
Agriculture	Enrobage de graines Enrobages de feuilles Engrais
Alimentaire	Piégeage de colorants, d'acides Conservateur Complément d'alimentation animale
Membranes	Osmose inverse Contrôle de perméabilité Séparation de solvants

1.3. Le polyvinyle alcool (PVA) :

1.3.1. Définition et structure :

L'alcool polyvinylique est un polymère dérivé de l'alcool vinylique, dont la formule moléculaire est $(C_2H_3OR)_n$, où R peut correspondre à un atome d'hydrogène (H) ou à un groupe acétyle ($COCH_3$). En raison de l'instabilité de l'alcool vinylique à l'état libre, sa synthèse ne s'effectue pas directement à partir de ce composé. Elle passe par la polymérisation de l'acétate de vinyle, menant à la formation de l'acétate de polyvinyle. Ce dernier est ensuite soumis à une hydrolyse, généralement en présence d'hydroxyde de sodium (NaOH), ce qui permet de remplacer l'acétate par des groupes hydroxyle (OH), aboutissant ainsi à la formation de l'alcool polyvinylique. Ce polymère est principalement constitué de séquences de diols en liaison 1,3 du type $[-CH_2-CH(OH)-CH_2-CH(OH)-]$ [24].

L'alcool polyvinylique est reconnu pour sa capacité à former des films présentant des propriétés émulsifiantes et adhésives, ainsi qu'une bonne résistance aux contraintes mécaniques. Souple, hygroscopique et hautement soluble dans l'eau, ses propriétés physico-chimiques dépendent fortement de son degré d'hydratation.

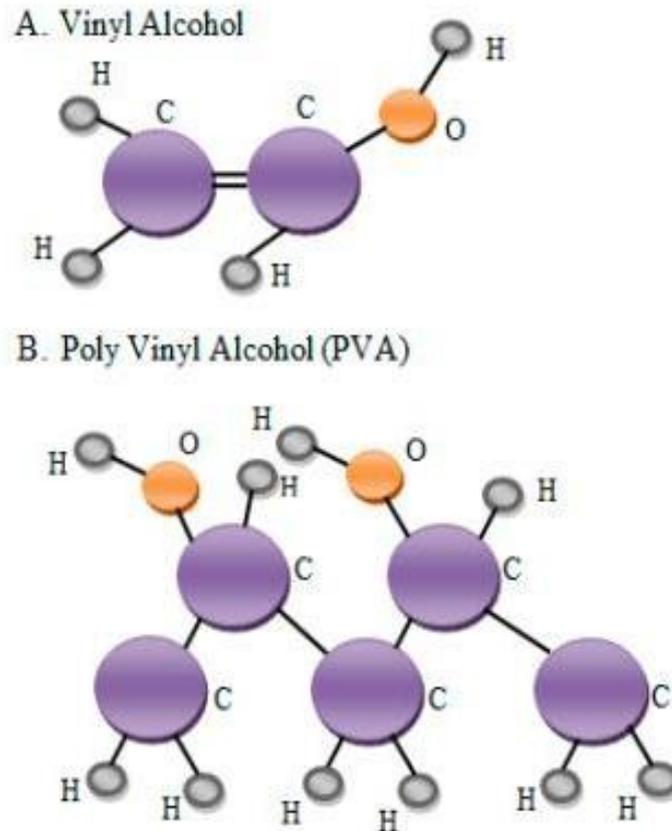


Figure 1.3 : (a) La structure de l'alcool vinylique ; (b) Le PVA est synthétisé par hydrolyse d'acétate de polyvinyle [49].

1.3.2. Applications du polyvinyle alcool :

Le polyvinyle alcool (PVOH) est un polymère hydrophile caractérisé par des groupes hydroxyles capables de former des liaisons hydrogène intra- et intermoléculaires. Cette structure lui confère de bonnes propriétés de barrière contre les huiles, les graisses et les solvants organiques, ainsi qu'une faible perméabilité à l'oxygène et à la vapeur d'eau. Bien que d'origine pétrochimique, sa biodégradabilité est assurée par la présence de groupements hydroxyles [50].

Sous forme réticulée, le PVOH présente une stabilité chimique, thermique et mécanique renforcée, ce qui le rend adapté aux membranes utilisées dans les procédés de traitement de l'eau (MF, UF, NF, RO). Sa polarité limite le fouling et favorise la séparation de composés organiques par pervaporation. Dans le domaine biomédical, il est employé pour la fabrication de dispositifs tels que les pancréas ou reins artificiels, les membranes d'immuno-isolement, les lentilles de contact et les systèmes de libération de médicaments. Pour certaines applications, des modifications comme la réticulation ou l'irradiation sont nécessaires pour améliorer sa stabilité en milieu aqueux [50].

1.3.3. Intérêt de l'association avec le chitosane :

L'association du PVA avec le chitosane permet d'obtenir un matériau plus résistant, souple et biodégradable. Le PVA apporte la solidité et la flexibilité, tandis que le chitosane ajoute des propriétés antimicrobiennes. Ensemble, ils sont utiles pour faire des films pour emballer les aliments.

1.4 Films actifs :

Les films actifs sont des matériaux d'emballages innovants conçus pour interagir avec les aliments qu'ils recouvrent. Contrairement aux emballages traditionnels, ces films ne se contentent pas de servir de barrière physique mais contribuent activement à la conservation, à la qualité et à la sécurisation des aliments.

1.4.1. Types d'agents actifs :

Les agents actifs intégrés dans les films sont généralement sélectionnés pour leurs propriétés fonctionnelles ciblées. Ils peuvent être classés comme suit :

- ❖ **Agents antimicrobiens** : utilisés pour inhiber ou retarder la croissance de micro-organismes pathogènes ou altérants. Exemples :
 - Huiles essentielles (origan, thym, clou de girofle)
 - Acide lactique, nisine, chitosane
 - Nanoparticules d'argent ou d'oxyde de zinc [51] [52]
- ❖ **Agents antioxydants** : empêchent l'oxydation des lipides et retardent le rancissement ou la dégradation des nutriments sensibles à l'oxygène.
 - Vitamine E (α -tocophérol), acide ascorbique
 - Extraits naturels (thé vert, romarin, grenade) [53]
- ❖ **Agents absorbeurs ou relargueurs spécifiques** :
 - **Absorbeurs** : d'oxygène, d'humidité, d'éthylène
 - **Relargueurs** : de CO₂ ou d'arômes [54]

1.4.2. Mécanismes d'action :

Les mécanismes d'action des films actifs dépendent de la nature de l'agent actif et de son mode d'intégration dans la matrice du film :

- ❖ **Diffusion contrôlée** : Les agents actifs sont relargués lentement depuis le film vers l'aliment ou son environnement (migration contrôlée). Ce mode est courant pour les antimicrobiens ou antioxydants [55].
- ❖ **Interaction sans migration** : Certains agents (comme les nanoparticules métalliques ou le chitosane) agissent sans migrer, via un **contact direct** avec la surface de l'aliment [56].

- ❖ **Absorption sélective** : Certains films intègrent des composés capables d'absorber l'humidité, les gaz (O₂, CO₂), ou des composés volatils, prolongeant ainsi la durée de conservation [57].

1.4.3. Applications :

Les films actifs trouvent des applications variées, notamment dans :

- ❖ **L'emballage de produits carnés** : Pour réduire la croissance microbienne et ralentir l'oxydation des graisses. Exemple : film chitosane-huile essentielle pour la viande hachée [58].
- ❖ **Les produits de la mer** : Contrôle des odeurs et inhibition des bactéries spécifiques (ex. : *Listeria*, *Vibrio*) [59].
- ❖ **Les fruits et légumes frais** : Films enrichis en antioxydants ou agents antifongiques pour ralentir le mûrissement et les moisissures [60].
- ❖ **Les fromages** : Emballages antimicrobiens pour réduire les levures et moisissures tout en préservant l'arôme [61].

1.5. Plastifiants :

Les plastifiants sont des composés organiques de faible masse moléculaire et généralement non volatils, largement utilisés comme additifs dans l'industrie des polymères [62]. Leur rôle principal consiste à améliorer la flexibilité et de faciliter la transformation du polymère en réduisant la température de transition vitreuse (T_g).

Selon la définition de l'IUPAC (Union internationale de chimie pure et appliquée), un plastifiant est « une substance ou un matériau incorporé dans une matrice polymère (généralement plastique ou élastomère) dans le but d'accroître sa flexibilité et sa malléabilité ». Ces substances contribuent également à réduire la dureté, la densité, la viscosité, la tension de déformation et les charges électrostatiques du polymère, tout en améliorant la flexibilité des chaînes moléculaires, la résistance à la rupture et la constante diélectrique [63]. Elles peuvent aussi influencer d'autres propriétés importantes telles que le taux de cristallinité ou la résistance à la biodégradation [64].

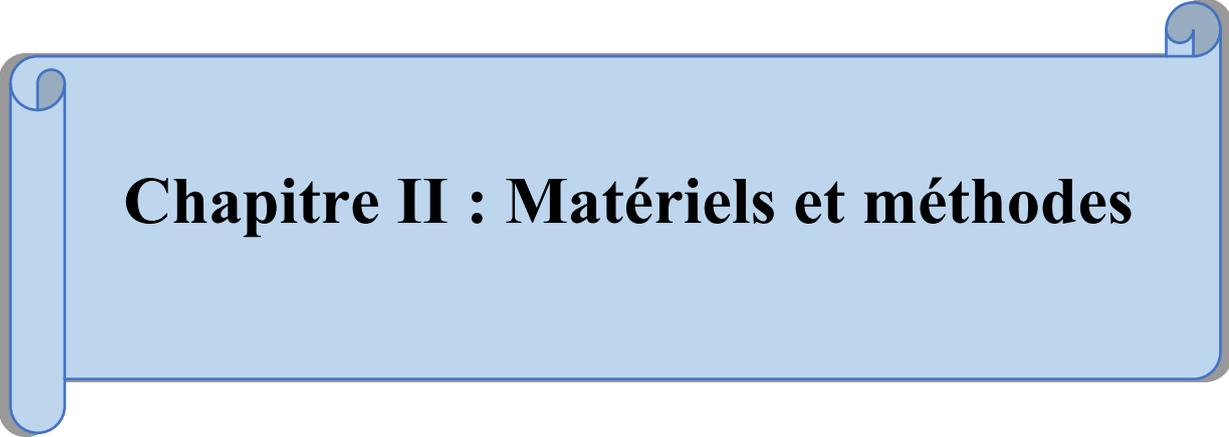
Dans le cas des films polymériques, les plastifiants sont ajoutés pour accroître la souplesse, réduire la fragilité, et prévenir le retrait ou la déformation du matériau durant sa manipulation ou son stockage [65–66].

Un plastifiant idéal devrait présenter plusieurs qualités :

- Une bonne compatibilité avec la matrice polymère pour éviter le phénomène de migration ;
- Une faible volatilité, pour limiter les pertes par évaporation et garantir une action durable ;

- Une résistance à l'extraction par les liquides (eau, solvants, etc.) en contact avec le matériau plastifié ;
- Une efficacité sur les propriétés recherchées : souplesse, résistance thermique et chimique, résistance aux chocs et au froid, stabilité électrique, etc. ;
- Une innocuité : il doit être non toxique, inodore, incolore, peu coûteux, et adapté aux usages alimentaires [67].

La quantité de plastifiant ajoutée à un polymère varie selon l'effet désiré. Une petite addition de plastifiant peut être faite pour améliorer la transformabilité du polymère à l'état fondu. Ceci diffère de grandes additions faites avec l'intention spécifique de transformer complètement les propriétés du produit [68].



Chapitre II : Matériels et méthodes

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

Introduction :

Lors de nos travaux au niveau du laboratoire, nous avons appliqué un certain nombre de protocoles expérimentaux, qui ont permis notamment en la préparation de différentes formulations de membranes à base de mélange des Polymères (Chitosane, PVA, Glycérol), ensuite différents tests ont été appliqués à ces membranes (test de gonflement, de dilution, de biodégradation, effet anti microbien), ainsi que des tests de caractérisation du Chitosane utilisé (FTIR), nous donnons dans ce qui suit une description des différents protocoles que nous avons appliqué ainsi que le matériel et les produits chimiques utilisés.

2.1. Produits et matériels utilisés :

2.1.1. Produits :

- Eau distillée ;
- Polyvinyle alcool PVA $(-C_2H_4O)_n$ (Biochem Chemopharma) ;
- Acide acétique glacial CH_3COOH (Applichem Panreac) ;
- Glycérol $C_3H_8O_3$ (Biochem Chemopharma) ;
- Chitine (Biochem Chemopharma) ;
- Milieu de culture Mueller Hinton ;
- Milieu de culture Sabouraud ;
- Souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aérogènes*) ;
- Souches de Champignons (*Candida auris*, *Candida albicans*) ;
- Compost (commercial) ;
- Terre végétale ;
- Boues de stations d'épurations.

2.1.2. Matériels :

- Béchers ;
- Barreaux magnétiques ;
- Plaque chauffante et agitateur magnétique ;
- Etuve (Marque MERMMET) ;

- Balance analytique ;
- Spectrophotomètre Infrarouge ;
- Boîtes de pétris ;
- Eprouvette graduée ;
- Pipettes pasteurs ;
- Bec Bunsen ;
- Compteur de Colonies ;
- Pots horticoles.

2.2. Méthodes expérimentales :

2.2.1. Préparation du Chitosane :

Le chitosane a été préparé à partir de chitine commerciale (Biochem Chemopharma) par dissolution de cette dernière dans une solution de NaOH à 50%, puis chauffage à 100°C pendant 02 Heures. (Ce traitement de désacétylation de la chitine a été effectué par une équipe de recherche qui nous a remis le chitosane prêt à l'emploi).

2.2.2. La solubilisation du Chitosane :

Le chitosane est solubilisé dans une solution d'acide acétique à 1%, (dans une proportion de 1gr dans 100ml de solution), étant donné que ce dernier est insoluble en milieu neutre ou basique. [69], la solution préparée est agitée jusqu'à dissolution totale et formation d'un gel.

2.2.3. Caractérisation du Chitosane :

2.2.3.1. Détermination du Degré de Désacétylation :

Pour déterminer le degré de désacétylation, un échantillon du chitosane utilisé a été analysé au moyen de la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) qui est une technique d'analyse qui permet de caractériser la structure chimique du chitosane. Elle repose sur l'interaction entre un faisceau de rayonnement infrarouge et les liaisons covalentes présentes dans la molécule. Lorsque la fréquence du rayonnement correspond à la fréquence de vibration d'une liaison chimique, cette dernière absorbe l'énergie et entre en vibration. Chaque type de liaison (O-H, N-H, C=O, etc.) présente ainsi une signature spectrale spécifique.

Cette méthode permet non seulement d'identifier les principaux groupes fonctionnels présents dans le polymère, mais également d'estimer son degré de désacétylation. Cette estimation repose sur l'analyse de

certaines bandes d'absorption caractéristiques dans le spectre, notamment celles liées aux liaisons amides et hydroxyles.[70]

La formule utilisée pour calculer le degré de désacétylation (DDA) à partir du spectre FTIR est la suivante :[71]

$$\text{DDA}\% = 100 - [(1320/1420) - 0,3822] / 0,03233$$

2.2.4. Evaluation de l'activité antibactérienne du Chitosane :

L'activité antibactérienne du chitosane a été évaluée in vitro à l'aide de la méthode des puits en gélose : une technique simple pour mesurer l'effet inhibiteur d'un composé sur la croissance bactérienne. Différentes boîtes de Petri contenant un milieu nutritif solide (une gélose Mueller-Hinton) ont été ensemencées en surface avec des suspensions bactériennes différentes à savoir *Escherichia coli* (Gram-), *Staphylococcus aureus* (Gram+), *Klebsiella pneumoniae* (Gram-), et *Enterobacter aérogènes* (Gram-). Des puits circulaires ont ensuite été creusés dans la gélose à l'aide d'une pipette pasteur stérile, puis remplis de solutions de chitosane. Après que les boîtes de pétri aient été conservés pendant deux (2) heures pour une bonne diffusion à température ambiante, elles sont incubées à 37 °C pendant 24 heures.

Après incubation, l'efficacité du chitosane a été déterminée en mesurant le diamètre des zones d'inhibition autour des puits. Une grande zone d'inhibition indique une forte activité antibactérienne. Ce protocole permet une évaluation comparative rapide de l'efficacité du chitosane selon la concentration et le type de bactérie testée.

2.2.5. Evaluation de l'activité antifongique du Chitosane :

Deux souches fongiques (*Candida auris* et *Candida albicans*) ont été utilisées pour déterminer l'activité en utilisant la méthode des puits en gélose avec le milieu de culture Sabouraud qui consiste à ensemencer les souches à la surface des boîtes de pétri préalablement préparées. Des puits circulaires ont ensuite été creusés dans la gélose à l'aide d'une pipette pasteur stérile, puis remplis de solutions de Chitosane.

L'activité antifongique a été estimée par mesure du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance (en millimètres) autour des puits.

2.2.6. Préparation des films :

2.2.6.1. Préparation des films de Chitosane pur :

Les films de chitosane pur ont été élaborées selon la technique suivante : une masse de 1 g de chitosane a été dissout dans 100 mL d'une solution d'acide acétique à 1% (v/v) sous une agitation magnétique à température ambiante pendant 1heure. 10 mL de la solution obtenue est coulé dans une boîte de pétrie et séchée dans une étuve à 50°C pendant 24 heures. Le film qui est formé et démoulé est appelé film de chitosane pur.

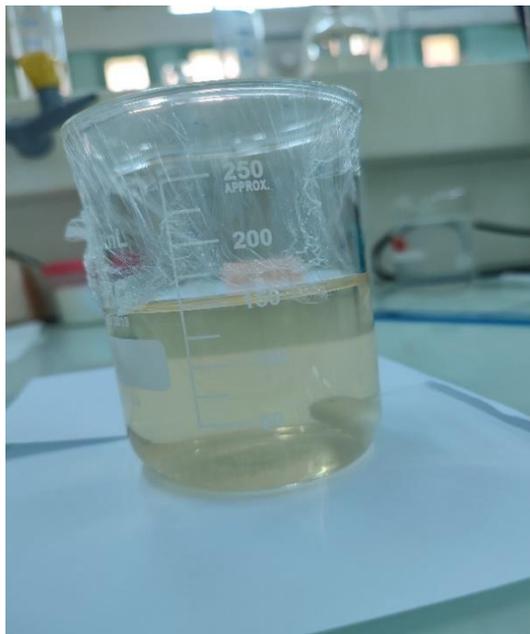


Figure 2.1 : Le gel de Chitosane

2.2.6.2. Préparation des films de PVA pur :

Une masse de 5 g de PVA a été solubilisée dans 100 mL d'eau distillée chauffée à 70°C pendant 40-45min, sous agitation magnétique. 10mL de la solution obtenue est coulé dans une boîte de pétri et séchée à 50°C dans une étuve pendant 24 heures. Le film formé est démoulé est appelé film de PVA pur.



Figure 2.2 : Le gel de PVA

2.2.6.3. Préparation des films de mélange de PVA/Chitosane :

Des mélanges de PVA/Chitosane à différents pourcentages ont été élaborés à partir des solutions filmogènes respectives de chaque polymère préalablement préparé. Les solutions sont mélangées et maintenues sous une agitation magnétique pendant 2 minutes afin d'assurer une bonne homogénéisation.

Une quantité de 10 mL du mélange obtenu est coulé dans des boîtes de pétrie puis séchés dans une étuve à 50°C pendant 24 heures.

L'association de ces deux polymères vise à bénéficier à la fois des qualités du PVA et de celle du Chitosane.

Les pourcentages des différents mélanges sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau 2.1 : Différents formulations des mélanges réalisés.

Cs/PVA (%)	PVA/Cs (%)
100/0	100/0
90/10	90/10
80/20	80/20
70/30	70/30
60/40	60/40
50/50	50/50

2.2.6.4. Préparation des films de mélange de Chitosane/PVA/glycérol :

Des films de différentes formules de PVA/chitosane/glycérol ont été élaborés avec un volume total de 10mL auquel on ajoute la masse du glycérol. Plusieurs formulations ont été testées et nous n'avons retenu que celles qui présentaient des membranes intéressantes au point de vue structural, (l'ensemble des formulations préparées est donné dans le tableau en annexe A)

Nous donnons dans les tableaux suivants les différentes formulations retenues.

Tableau 2.2 : Les différentes formulations retenues (PVA/Chitosane/glycérol)

0,05 g de Glycérol		0,1 g de Glycérol		0,15 g de Glycérol	
Chitosane%	PVA%	PVA%	Chitosane%	PVA%	Chitosane%
65	35	35	65	35	65
				25	75

2.2.7. Techniques de caractérisations des films préparés :

2.2.7.1. Test de gonflement :

Le test de gonflement permet d'évaluer la capacité des films à absorber l'humidité, compte tenu de leur utilisation dans l'emballage alimentaire. Il simule les conditions d'utilisation des films en présence d'aliments riches en eau et permet d'évaluer leur aptitude à absorber l'humidité sans compromettre leur intégrité structurelle. Pour réaliser ce test des échantillons de films d'environ 2 cm × 2 cm ont été découpés, pesés à sec (masse initiale W_0) et immergés dans de l'eau distillée à température ambiante. Chaque 3 minutes les échantillons sont retirés et délicatement essuyés avec du papier absorbant afin d'éliminer l'eau en surface sans exercer de pression et sont immédiatement pesés (masse finale W_1).

L'indice de gonflement a été calculé par cette formule : [72]

$$\text{Indice de gonflement (\%)} = ((W_1 - W_0) / W_0) \times 100$$

2.2.7.2. Test de solubilité :

La solubilité des films préparés a été déterminés selon la procédure suivante :

Les échantillons préalablement découpés en 2 cm × 2 cm sont séchés à 110°C pendant 6 heures pour éliminer toute humidité résiduelle, puis pesés (masse initiale W_0). Les échantillons ont ensuite été immergés dans 50 mL d'eau distillée à température ambiante pendant 24 heures. Après immersion, les résidus non dissous ont été récupérés, puis séchés à nouveau à 110 °C pendant 6 heures avant d'être pesés (masse finale W_1). [73]

Le pourcentage de solubilité a été calculée selon la formule suivante :

$$\text{Solubilité (\%)} = ((W_0 - W_1) / W_0) \times 100$$

Permettant de vérifier la présence du Chitosane, grâce à ses bandes d'absorption caractéristiques (liens N-H, C=O, etc.), elle permet également de détecter les interactions chimiques entre le Chitosane et les autres constituants du film (plastifiants, agents actifs...), et de comparer les structures chimiques des films formulés différemment, afin d'évaluer l'impact des modifications sur leurs propriétés.

2.2.7. 3. Activité antimicrobienne des films :

L'activité antimicrobienne des films a été évaluée par la méthode de puits en gélose (Agar Well Diffusion Test – AWDT). Des boîtes de pétrie contenant de la gélose Muller-Hinton ont été préparés etensemencés avec une suspension bactérienne à la surface qui a été répartie uniformément à l'aide d'une pipette pasteur. Une fois la surface de la gélose séchée, des puits cylindriques sont creusés et sont remplies des échantillons liquides à tester contre quatre (4) souches bactériennes à avoir : *Escherichia coli* (Gram-), *Staphylococcus aureus* (Gram+), *Klebsiella pneumoniae* (Gram-), *Enterobacter aérogènes* (Gram-) et deux (2) champignons qui sont : *Candida auris* et *Candida albicans*.

A l'issu d'une incubation à 37°C pendant 24heures, l'activité antimicrobienne est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition en millimètre autour des puits. [74]

2.2.7.4 Le test de biodégradation :

Différents substrats ont été utilisé pour évaluer la biodégradabilité des films préparés, à savoir :

- Substrat constitué de boue issue de la station d'épuration des eaux usées de Beni Mered.
- Substrat constitué de compost commercial.
- Substrat constitué de sol agricole.
- Substrat constitué de 50% Sol agricole et 50% de Compost (Photo).
- Substrat constitué de 50% Sol et de 50% Boues d'épuration.

Les échantillons de film ont été découpés en morceaux de 25 x 25 mm². Chaque échantillon, préalablement enveloppé dans un petit filet de grillage en plastique (pour faciliter la manutention), puis enfoui dans le substrat contenu dans de pots horticoles (photo) à une profondeur d'environ 10 à 20 mm Les échantillons ont été conservés à température ambiante et arrosés quotidiennement pour maintenir l'humidité., les observations ont été effectuées le 3^{ème} jour, le 7^{ème} j, le 14^{ème} j, le 25^{ème} j, et le 31^{ème} jour, lors de ces observations les échantillons ont été soigneusement prélevés et photographiés.

Le processus de désintégration a été suivi par inspection visuelle. Un film issu d'une source fossile a été utilisé comme témoin.[75]



Figure 2.3 : Pots horticoles utilisés dans le test de biodégradation

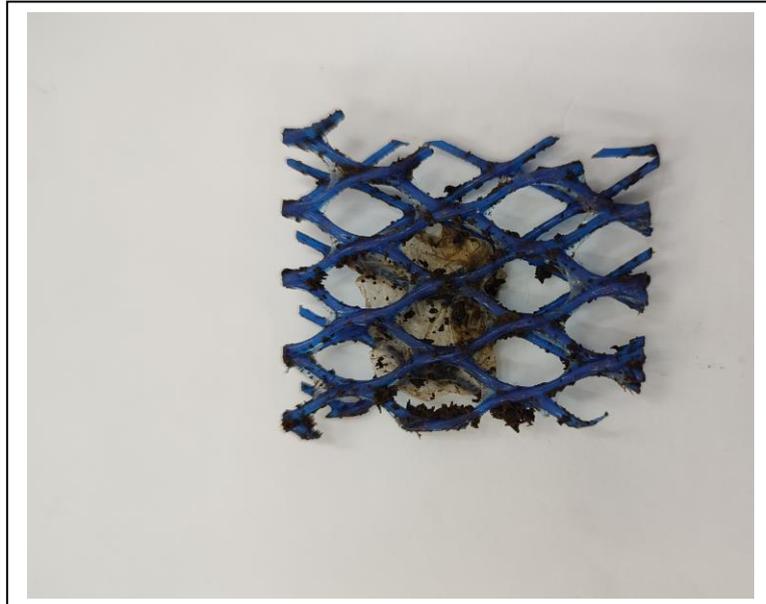
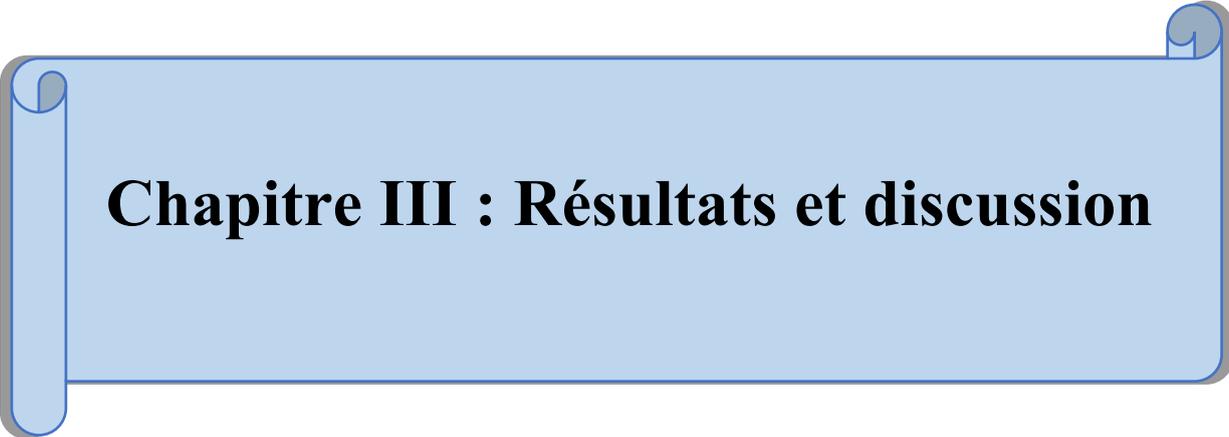


Figure 2.4 : Conditionnement de la membrane enterrée



Chapitre III : Résultats et discussion

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 Méthode de caractérisation du chitosane :

3.1.1. Détermination du degré de désacétylation par spectroscopie infrarouge IR :

Le degré de désacétylation du Chitosane a été déterminé par spectroscopie infrarouge le spectre obtenu est donné dans la figure suivante :

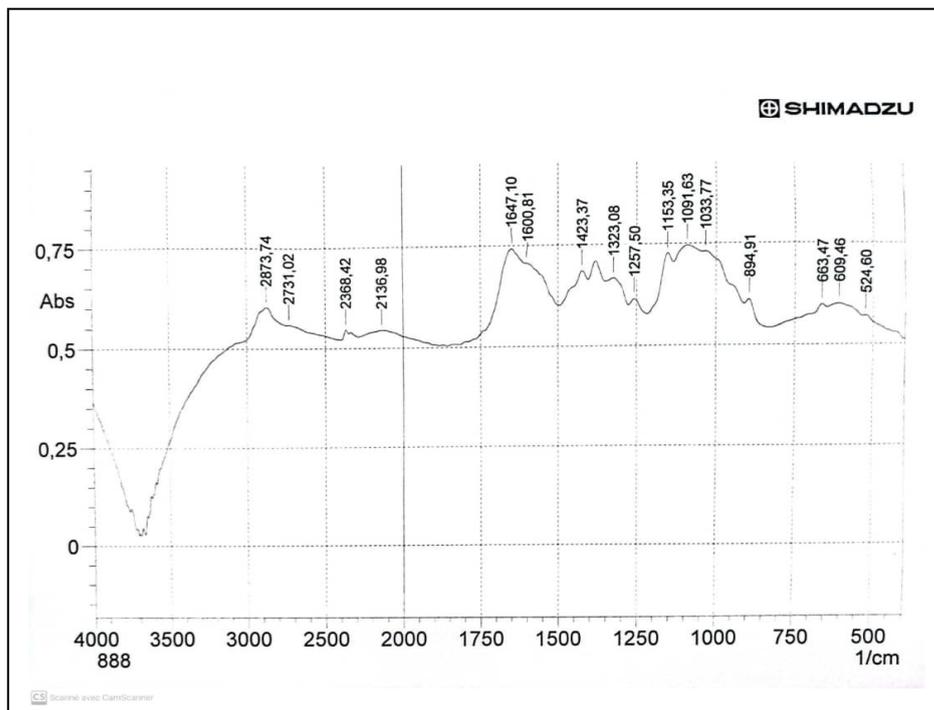


Figure 3.1 : Spectre IR du chitosane

Le degré de désacétylation du chitosane est déterminé à partir de la formule suivante :

$$\text{DDA}\% = 100 - [(A_{1320}/A_{1420}) - 0,3822] / 0,03233$$

Ainsi le résultat obtenu est :

$$\text{DDA} = 83,70\%$$

3.2. Caractérisation des films :

3.2.1. Aspect des films retenus :

Les quatre formulations retenues sont données dans le tableau suivant :

Tableau 3.1 : Aspect des films retenus

Formules	Aspect	Observations
35%PVA+65%+0,05g Glycérol		<ul style="list-style-type: none"> - Légèrement jaunâtre - Lisse - Souple
35%PVA+65%+0,1g Glycérol		<ul style="list-style-type: none"> - Lisse - Souple - Transparente
35%PVA+65%+0,15g Glycérol		<ul style="list-style-type: none"> - Lisse - Transparente - Souple
25%PVA+75%+0,15g Glycérol		<ul style="list-style-type: none"> - Lisse - Transparente - Souple

3.2.2. Test de gonflement :

Le taux de gonflement des films a été déterminé à partir de la formule suivante :

$$\text{Taux de gonflement (\%)} = ((W1 - W0) / W0) \times 100$$

Tableau 3.2 : Taux de gonflement des différents films.

Films	Taux de gonflement (%)
Chitosane pur	300
PVA pur	745
35%PVA+65%Cs	760
0,05 g de glycérol	
35%PVA+65%Cs	640
0,1 g de glycérol	
35%PVA+65%Cs	120
0,15 g de glycérol	
35%PVA+65%Cs	62,5
25%PVA+75%Cs	116,6

Les taux de gonflement des films traduisent une capacité d'absorption d'eau très importante. Ces valeurs élevées s'expliquent par la nature hydrophile des polymères utilisés, notamment le chitosane et le PVA, qui possèdent de nombreux groupes fonctionnels (amines et hydroxyles) capables de former des liaisons hydrogène avec les molécules d'eau. De plus, la structure poreuse et la faible masse initiale des films peuvent accentuer ces absorptions, conduisant à un pourcentage de gonflement très élevé. Ce comportement peut être bénéfique pour certaines applications d'emballage, notamment lorsque l'humidité de l'aliment doit être partiellement régulée.

3.2.3. Test de solubilité :

Le taux de solubilité des films a été calculée à partir de la formule suivante :

$$\text{Solubilité (\%)} = ((W_0 - W_1) / W_0) \times 100$$

Tableau 3.3 : Taux de solubilité des différents films.

Films	Taux de solubilité (%)
Chitosane pur	10
PVA pur	15
35%PVA+65%Cs	5
0,05 g de glycérol	
35%PVA+65%Cs	0
0,1 g de glycérol	
35%PVA+65%Cs	30
0,15 g de glycérol	
35%PVA+65%Cs	84
25%PVA+75%Cs	80

Les résultats du test de solubilité montrent que toutes les membranes préparées ont un taux de solubilité mis à part la membrane constituée de 35%PVA+65%Cs avec 0,05 g de glycérol, la membrane constituée de 35%PVA+65%Cs avec 0,15 gr de glycérol est la plus soluble de toutes avec un taux de solubilité de 84%, suivi de la membrane constituée de 25%PVA+75%Cs avec 0,15 g avec un taux de solubilité de 80%.

3.2.4. L'activité antimicrobienne des films :

Tableau 3.4 : L'activité antimicrobienne des films

Identification de l'échantillon	1	2	3	4	5	6	7	8
	Les diamètres (mm)							
Bactéries								
<i>Escherichia . Coli</i>	0	7	0	10	0	0	0	0
<i>Klebsiella</i>	0	6	18	0	0	5	15	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	0	18	0	0	0
<i>Enterobacter aerogenes</i>	12	0	0	17	0	0	0	0
Champignons								
<i>Candida auris</i>	10	0	19	19	20	0	17	18
<i>Candida albicans</i>	0	0	0	0	0	0	0	0

- ❖ 1 : 35%PVA+65%Cs+0,05g de Glycérol
- ❖ 2 : 35%PVA+65%Cs+0,1g de Glycérol
- ❖ 3 : 35%PVA+65%Cs+0,15g de Glycérol
- ❖ 4 : 25%PVA+75%Cs+0,15 g de Glycérol
- ❖ 5 : Chitosane pur
- ❖ 6 : PVA pur
- ❖ 7 : 35%PVA+65%Cs
- ❖ 8 : Glycérol

Remarque : Les pourcentages de PVA et Glycérol sont considérés dans les mélanges d'un volume total de 10 ml.

D'après les résultats obtenus et indiqués sur le tableau 3.4 on constate ce qui suit :

L'échantillon 1 constitué de 35%PVA+65%Cs+0,05g de glycérol, a un effet inhibiteur sur la bactérie *Enterobacter aerogenese* et un effet inhibiteur sur le champignon *Candida auris*.

L'échantillon 2 constitué de 35%PVA+65%Cs+0,1g de Glycérol, a un effet inhibiteur pratiquement identique sur les bactéries *Escherichia. Coli* et *Klebsiella*, et un effet inhibiteur plus important sur le champignon *Candida auris*.

L'échantillon 3 constitué de 35%PVA+65%Cs+0,15g de Glycérol, a un effet inhibiteur assez significatif sur la bactérie *Klebsiella*, ainsi que sur le champignon *Candida auris*.

L'échantillon 4 constitué de 25%PVA+75%Cs+0,15g de Glycérol, a un effet inhibiteur assez important sur les bactéries *Escherichia. Coli* et *Enterobacter aerogenese* , *Klebsiella*, ainsi que sur le champignon *Candida auris*.

L'échantillon 5 constitué de Chitosane pur a un effet inhibiteur assez important sur la bactérie *Staphylococcus aureus*, ainsi que sur le champignon *Candida auris*.

L'échantillon 6 constitué de PVA pur a un effet inhibiteur seulement sur la bactérie *Klebsiella*.

L'échantillon 7 constitué de 35%PVA+65%Cs a un effet inhibiteur assez important sur la bactérie *Klebsiella* ainsi que sur le champignon *Candida auris*.

L'échantillon 8 constitué de glycérol a un effet inhibiteur assez important uniquement sur le champignon *Candida auris*.

Ces résultats confirment l'effet anti microbien du Chitosane pur, par ailleurs parmi les mélanges élaborés le mélange 4 constitué de 25%PVA+75%Cs+0,15g a l'effet anti microbien le plus important, suivi par le mélange 3 constitué de 35%PVA+65%Cs+0,15g, puis vient le mélange 1 constitué par 35%PVA+65%Cs+0,05g, et enfin le mélange avec l'effet antimicrobien le moins important est le mélange 2 constitué par 35%PVA+65%Cs+0,1g de Glycérol.

A noter un effet antimicrobien modéré du PVA pur qui n'a d'effet que sur la bactérie *Klebsiella*, alors que le Glycérol pur n'a d'effet que sur le champignon *Candida auris*.

A noter que l'échantillon 7 constitué de 35%PVA+65%Cs, a un effet inhibiteur sur la bactérie *Klebsiella* ainsi que sur le Champignon *Candida auris*.

Ainsi le mélange des composés pris séparément peut engendrer un cumul des effets inhibiteurs tel qu'illustré par l'échantillon 4.

3.2.5. Le test de biodégradation :

Les différents films ont été observés au microscope photonique de grossissement X100 au bout de 31 jour pour visualiser leur aspect avant et après le test de biodégradation. Un emballage commercial a également été soumis au test de biodégradation dans les mêmes conditions.

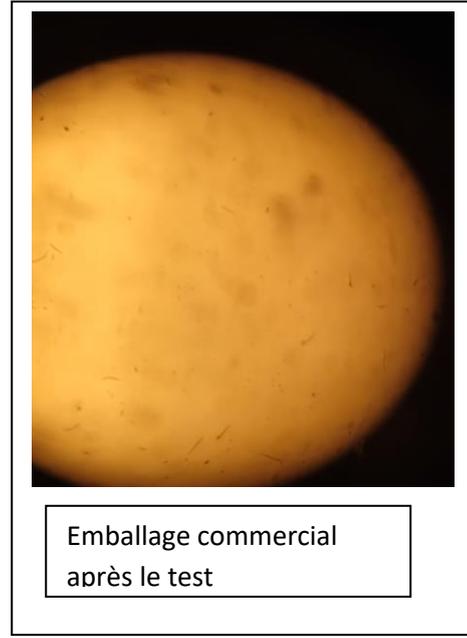
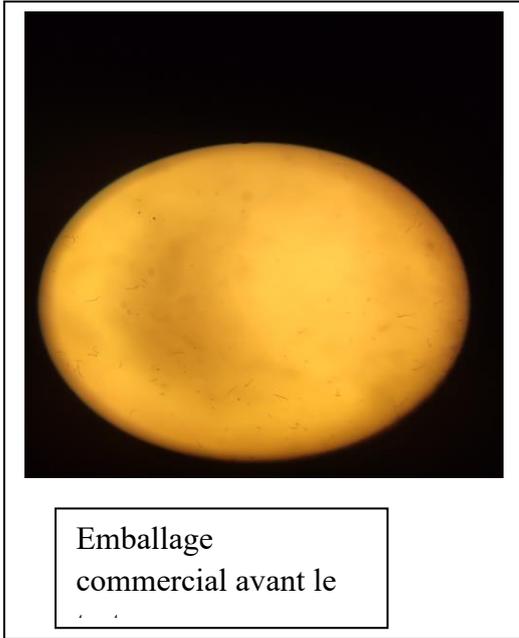
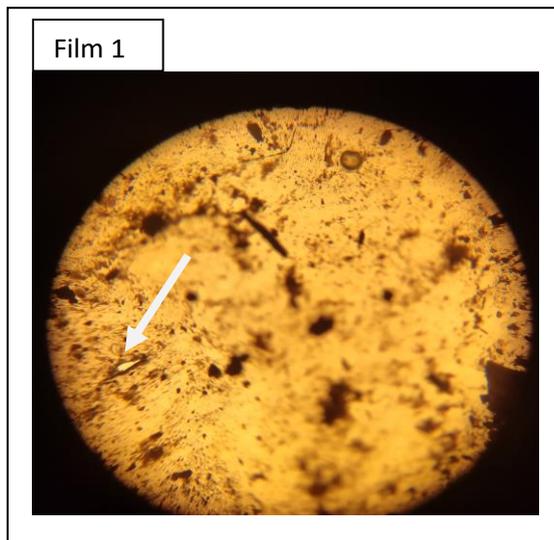


Figure 3.2 : Aspect au microscope de l’emballage commercial avant et après le test de biodégradation

Pour les tests effectués dans le sol :

Les résultats obtenus montrent un début de dégradation au niveau de l’échantillon 1(film 1).



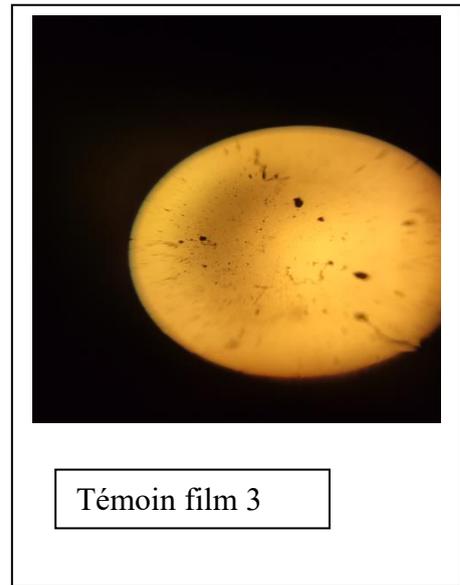
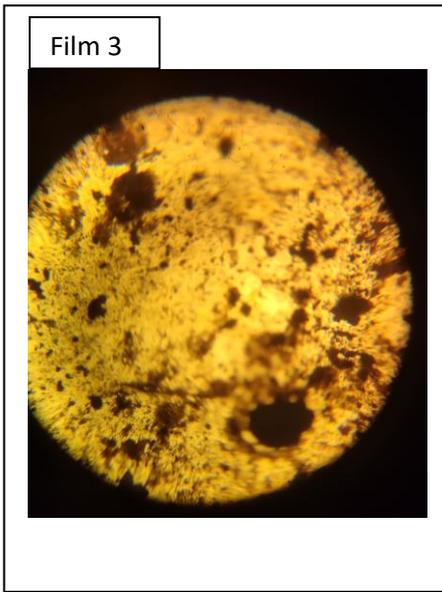


Figure 3.3 : Test de dégradation dans le Sol

Pour les tests effectués dans le sol (suite) :

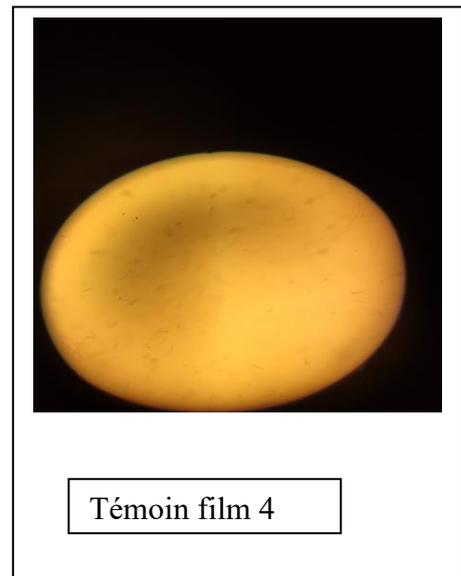
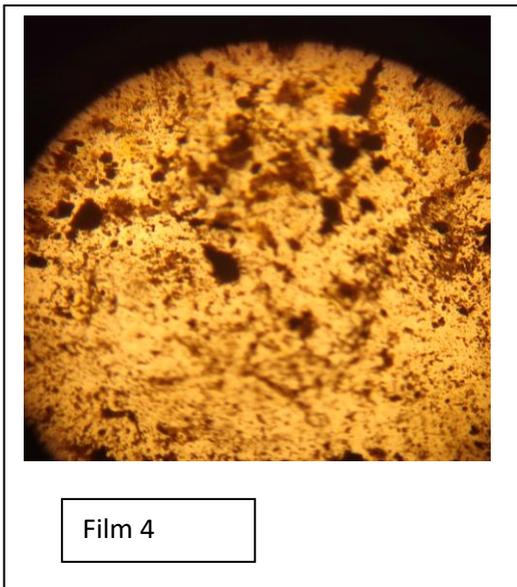
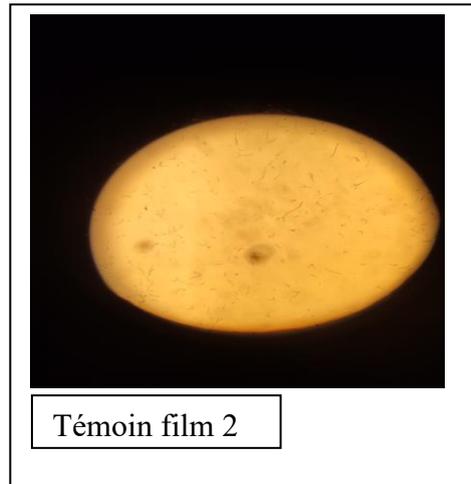
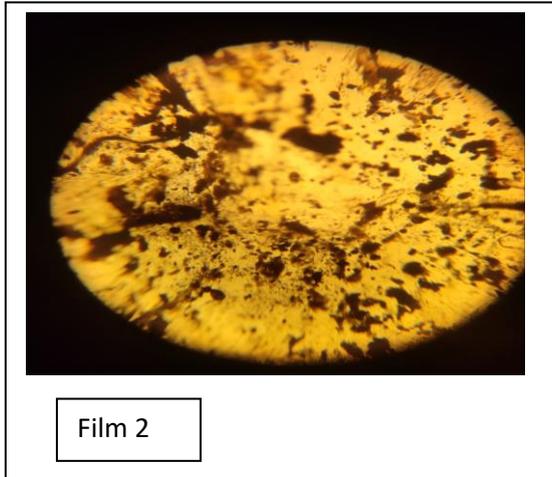


Figure 3.4 : Test de dégradation dans le Sol (suite)

Pour les tests effectués dans le Compost :

Les résultats obtenus ne montrent aucune dégradation au niveau des 4 échantillons

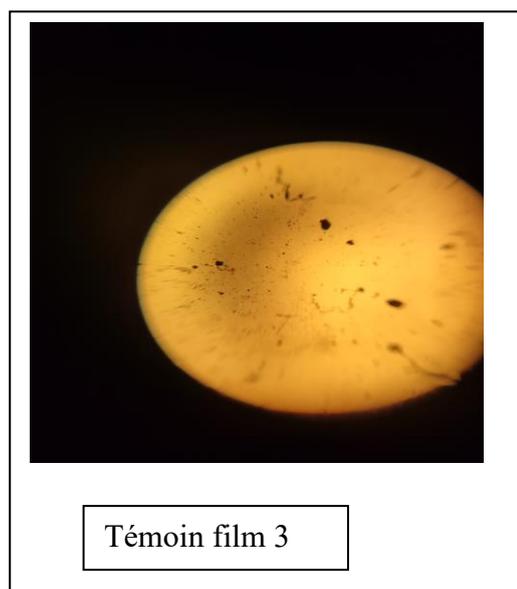
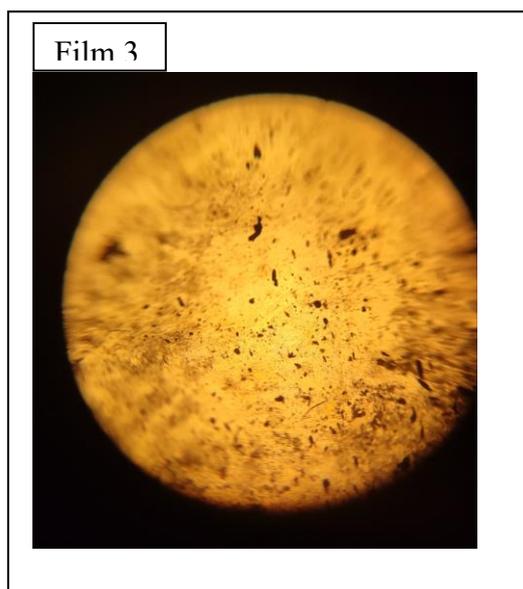
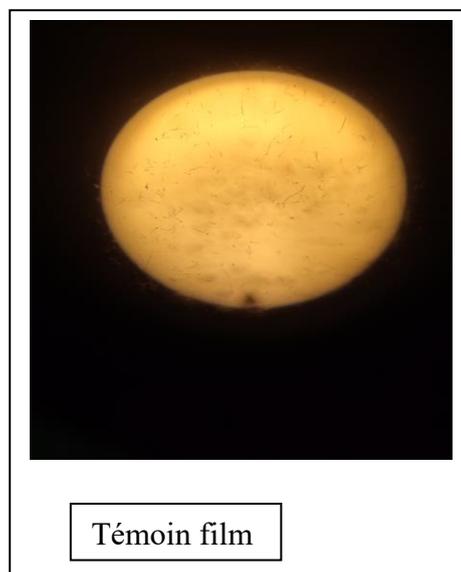
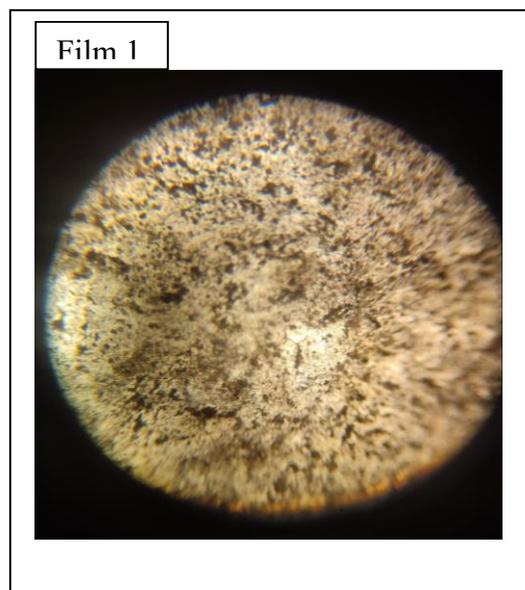


Figure 3.5 : Test de dégradation dans le substrat Compost

Pour les tests effectués dans le Compost (suite) :

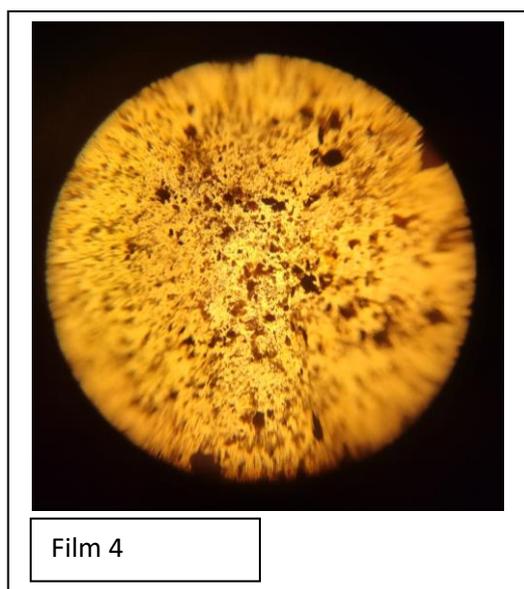
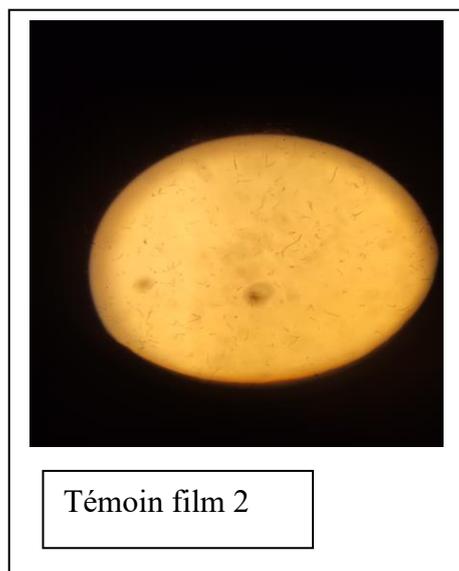
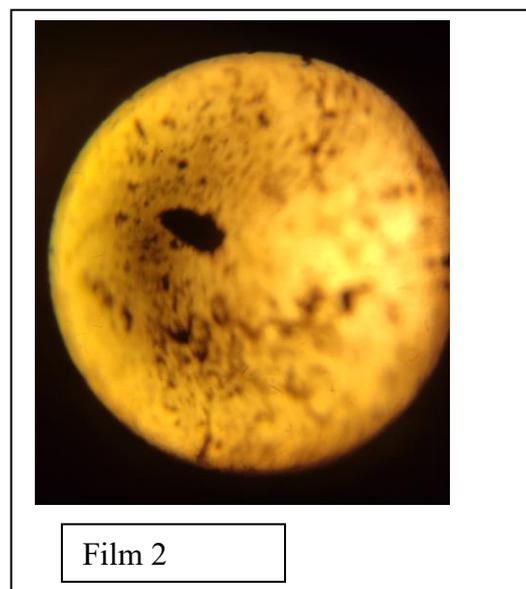


Figure 3.6 : Test de dégradation dans le substrat Compost (suite)

Pour les tests effectués dans les boues issues de la station d'épuration de Beni Mered :

Les résultats obtenus ne montrent aucun début de dégradation apparent au niveau des 4 échantillons.

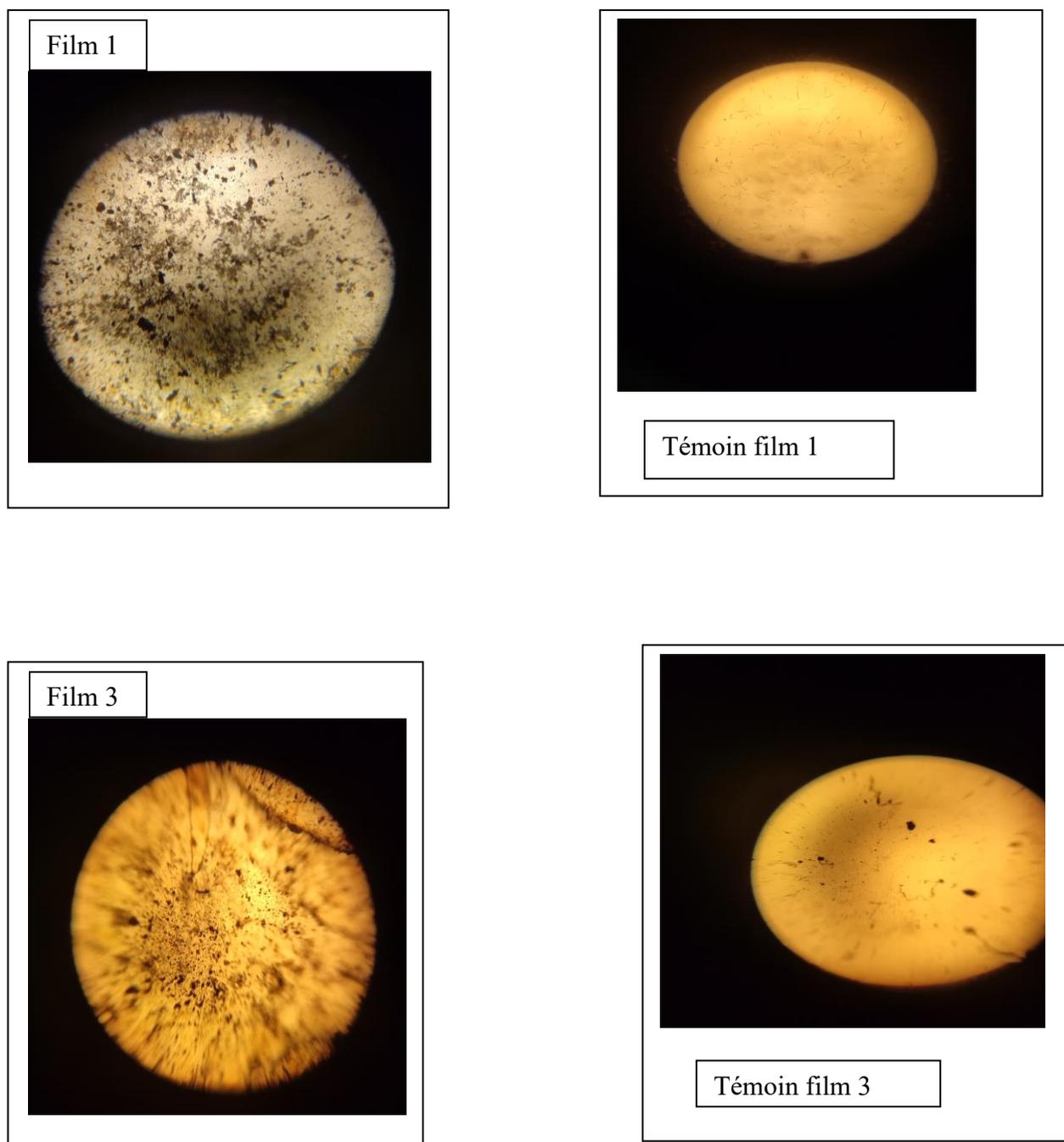


Figure 3.7: Test de dégradation dans le substrat Boue de station d'épuration

Pour les tests effectués dans les boues issues de la station d'épuration (suite) :

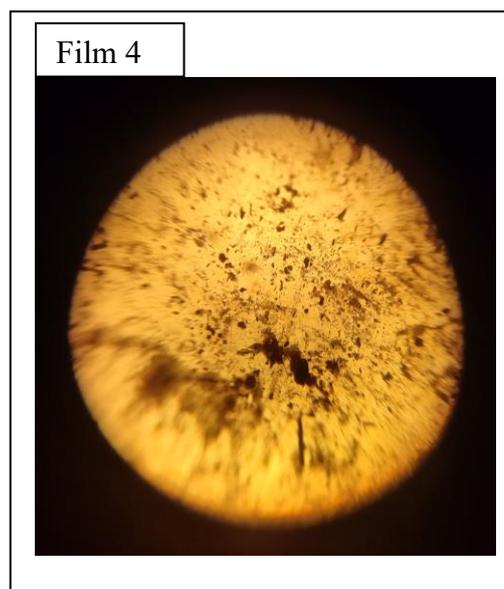
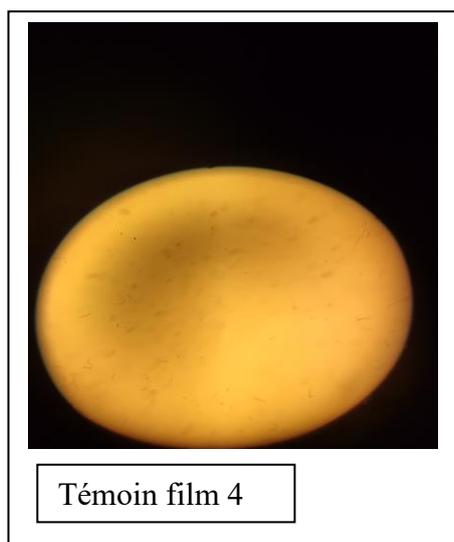
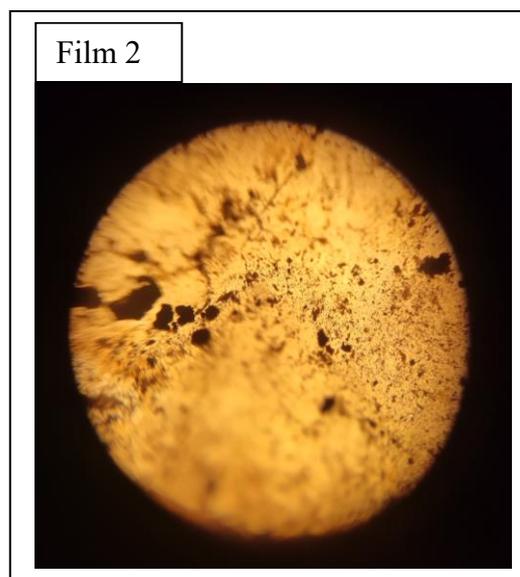


Figure 3.8: Test de dégradation dans le substrat Boue de Station d'épuration (suite)

Pour les tests effectués dans le 50% Compost + 50% Sol :

Les résultats obtenus montrent un début de dégradation apparent au niveau de l'échantillon 3.

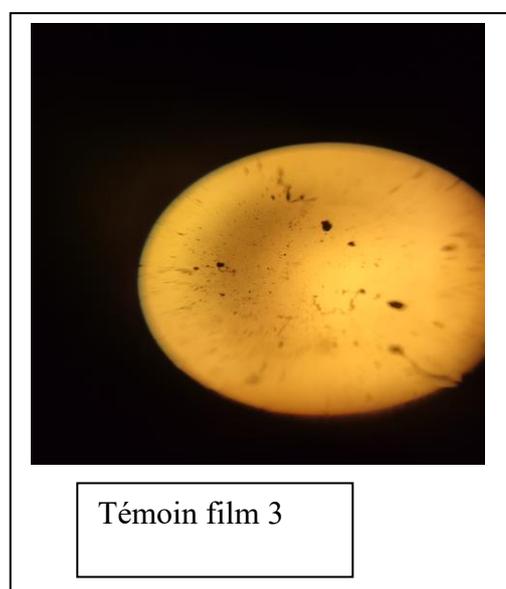
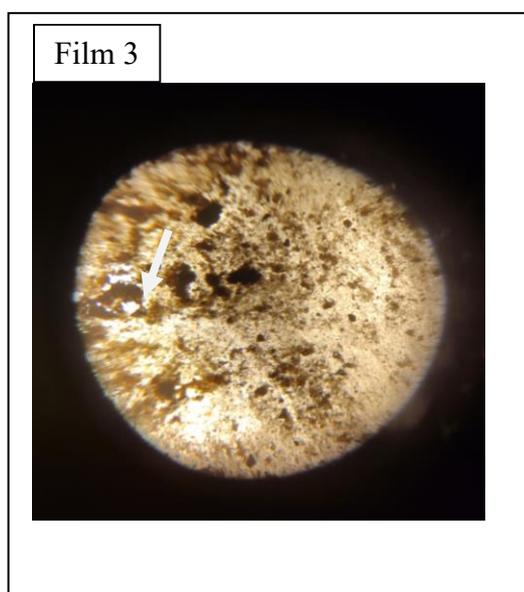
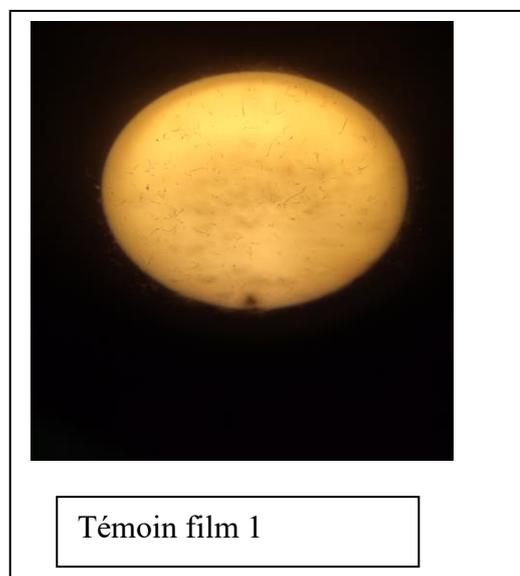
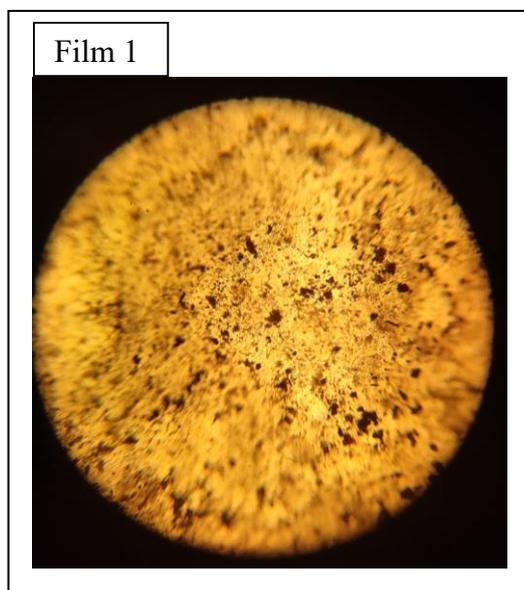


Figure 3.9: Test de dégradation dans le substrat Sol /Compost (50%50%)

Pour les tests effectués dans le 50% Compost + 50% Sol (suite) :

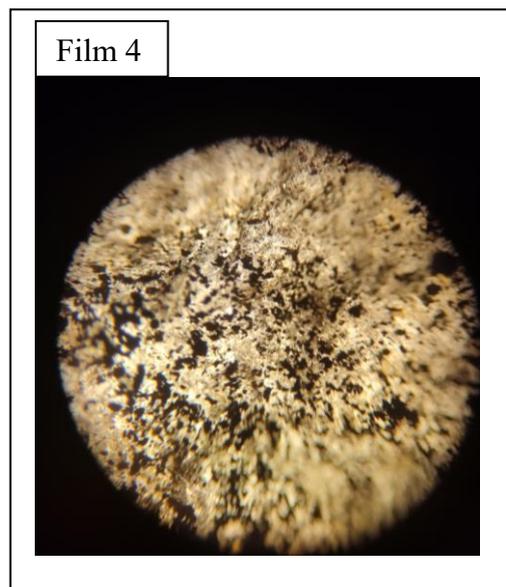
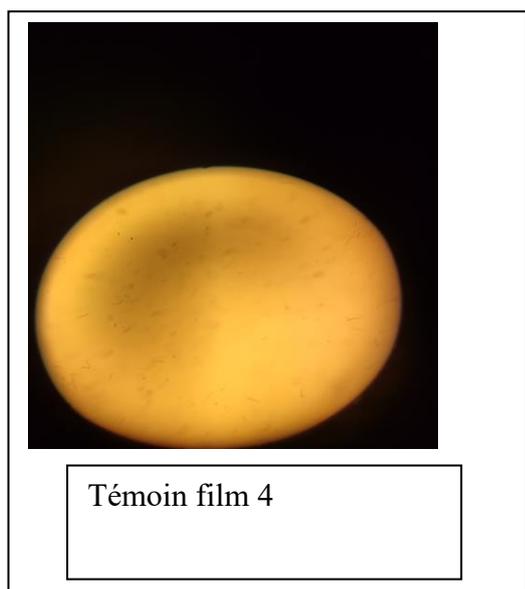
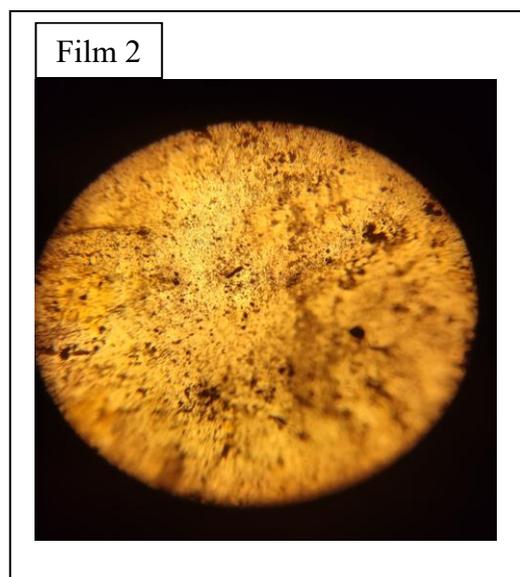


Figure 3.10: Test de dégradation dans le substrat Sol /Compost (50%50%) (suite)

Pour les tests effectués dans le 50% Boues + 50% Sol :

Les résultats obtenus montrent un début de dégradation apparent au niveau de l'échantillon 3

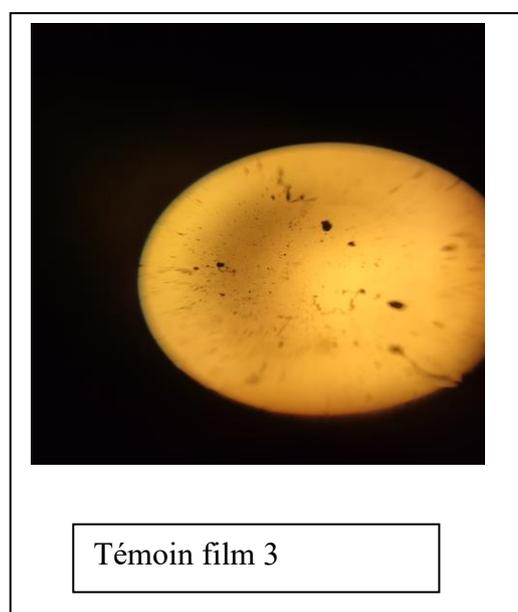
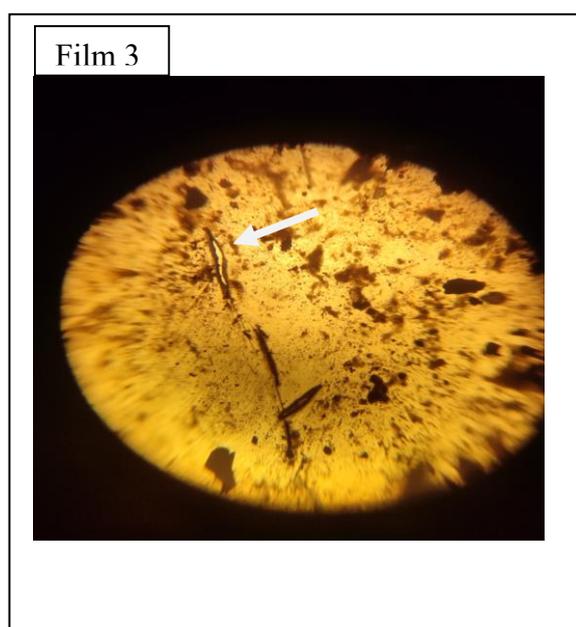
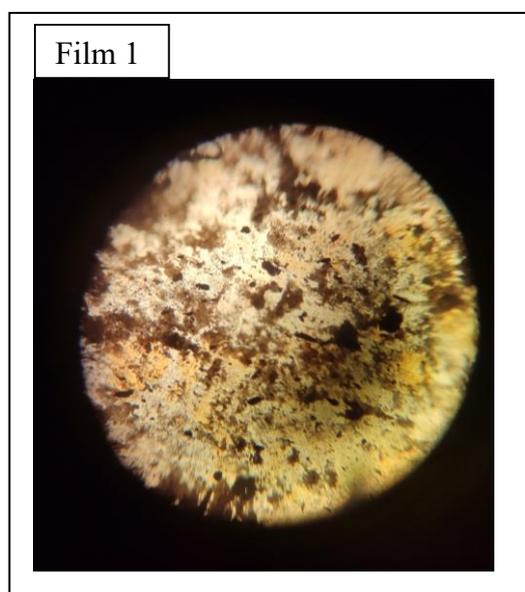


Figure 3.11 : Test de dégradation dans le substrat Sol /Boue (50%50%)

Pour les tests effectués dans le 50% Boues + 50% Sol (suite) :

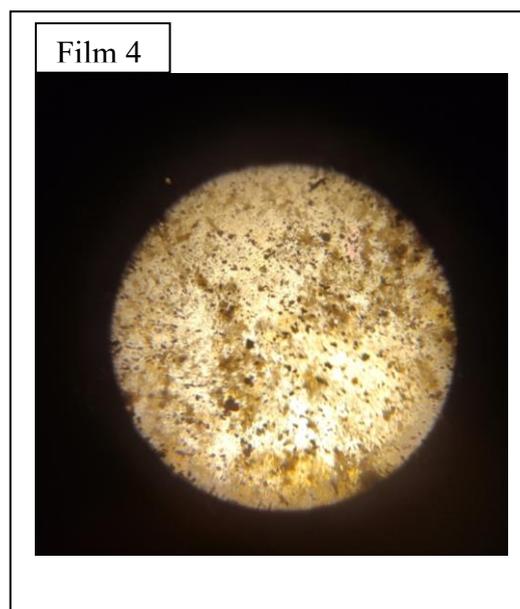
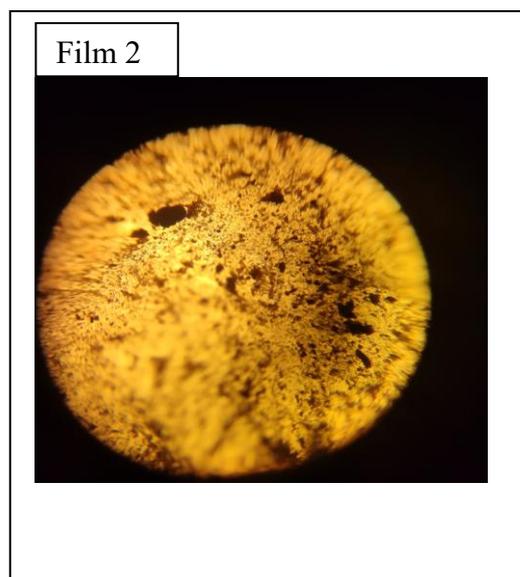
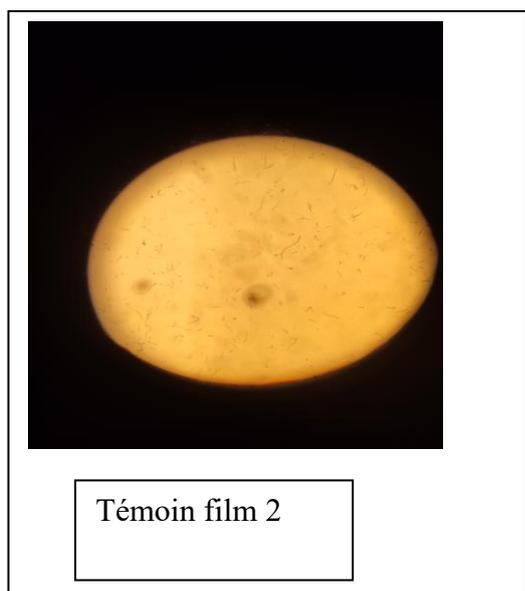


Figure 3.12 : Test de dégradation dans le substrat Sol /Boue (50%50%) (suite)

L'ensemble des résultats du test de dégradation montre un début de dégradation de certains échantillons testés dans les différents substrats :

Pour le sol c'est les échantillons 1.

Pour le mélange Boue + sol c'est l'échantillon 3.

Pour le mélange Compost + sol c'est l'échantillon 3.

CONCLUSION GENERALE

Dans le cadre de ce travail que nous avons réalisé pour l'élaboration d'un emballage alimentaire ayant des caractéristiques avantageuse pour la conservation des aliments ainsi que pour la protection de l'environnement, nous avons élaboré plusieurs formulations d'emballage à base d'un mélange de Chitosane , de PVA et de glycérol, nous avons par la suite retenu 4 formulations qui présentent les meilleures qualités structurales et nous les avons soumises à des tests de gonflement (absorption de l'eau), d'effet anti bactérien pour ce qui est de l'effet sur la conservation des aliments et de solubilisation et de biodégradation dans différents substrats pour ce qui est de l'effet sur la protection de l'environnement.

Les résultats obtenus sont encourageant et ont démontré que l'ensemble des quatre matériaux testés ont présenté des caractéristiques intéressantes néanmoins le matériau le plus intéressant est la formulation composée d'un mélange de 35% de PVA+65% de Chitosane +0,15g de glycérol qui a une meilleure aptitude à la biodégradation ainsi qu'un effet anti bactérien intéressant.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Gontard Nathalie, Guillard Valérie, Gaucel Sébastien & Guillaume Carole. « L’emballage alimentaire et l’innovation écologique dans toutes leurs dimensions » Innovations Agronomiques, INRA, 58, 2017, p.1-9.
- [2] AM- Riquet, « L’emballage alimentaire et sécurité du consommateur », INRA, Paris (1998)
- [3] Domard A., Rinaudo M. «Preparation and characterization of fully deacetylated chitosan» Int. J. Biol. Macromol. 1983, 5, p.49–52.
- [4] Arkoun M., (2017). « Élaboration de nouveaux biomatériaux antibactériens à base de chitosane par le procédé d'électrofilage » [Thèse de doctorat, École Polytechnique de Montréal]. PolyPublie. <https://publications.polymtl.ca/2701/>
- [5] Y. Doi, Ed, « Degradable plastic » (in Japanese) CMC publishing Co., Ltd., Tokyo 1990, p.1-2, 107-117.
- [6] Y. Doi, Ed, « Polymeric material of biodegradability » (in Japanese), industrial investigation committee kogyo chousakai publishing Inc., Tokyo 1990, p.177-197.
- [7] Razzak MT., Darwis D., Zainuddin; Sukirno. « Irradiation d’alcool polyvinylique et d’hydrogel mélangé de polyvinylpyrrolidone pour pansement » Radiat. Phys.Chem.2001,62, p.107-113. Demerlis, CC
- [8] Limpan N.; Prodpran T.; Benjakul S.; Prasarpran S. « Influences du degré d’hydrolyse et du poids moléculaire du poly(alcool vinylique) (PVA) sur les propriétés des films de mélange de protéines myofibrillaires de poisson / PVA. Hydrocoll alimentaire » 2012,29, p.226-233.
- [9] R. J. Müller, Chapitre 12-Biodegradability of Polymers: Regulations and Methods for Testing, General aspects and special applications, Biopolymers; 10, Editor: Alexander Steinbüchel, Wiley-VCH, (USA), 365-374, 2004
- [10] Maiza Mounira, « Formulation et caractérisation des matériaux biodégradables à base de l’acide polylactique-Plastifiants » (Avril 2016)
- [11] AVEROUS L. 2004 « Biodegradable multiphase systems based on plasticized starch» A review, Journal of Macromolecular Science, C44, 231-274.

- [12] 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.
- [13] Grabovac V, Guggi D. and Bernkop-Schnurch A. «Comparison of the mucoadhesive properties of various polymers» *Advanced Drug Delivery Reviews*. (57) 1713-1723, 2005.
- [14] Carolyn R Allan, Lee A Hadwiger «The fungicidal effect of chitosan on fungi of varying cell wall composition» *Experimental Mycology* vol.3, n°3, (September 1979), 285-287.
- [15] Hirano S, & Nagao N. (1989). «Effects of chitosan, pectic acid, lysozyme, and chitinase on the growth of several phytopathogens». *Agricultural and Biological Chemistry* vol.53, n°11, (September 2014), 3065-3066.
- [16] 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*.
- [17] (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/>
- [18] Mokrani N, (2013) « Préparation et étude du comportement de membranes biopolymères », mémoire de magister, Université Mohamed Bougara-Boumerdes, Algérie.
- [19] Wang X, Du Y, & Liu H. «Preparation, characterization and antimicrobial activity of chitosan-Zn complex» *Carbohydrate Polymers*, vol.56, n°1, (May 2004), 21-26
- [20] 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 Tizi-Ouzou.
- [21] Randrianasolo, (2003) : « Contribution aux études sur la préparation du chitosane à partir des carapaces de crevettes », mémoire d'ingénieur, ESPA.
- [22] Delphine Rutot, Philippe Dubois « Les (bio) polymères biodégradables : l'enjeu de demain ? » *Chimie nouvelle*, 86, (Juin2004)

- [23] Hong Kyoon No, Na Young Park, Shin Ho Lee, Samuel P Meyers «Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights » *International Journal of Food Microbiology*, (2002), Vol.74, n°3, 65-72
- [24] Zhong Z, Xing R, Liu S, Wang L, Cai S, & Li, P. « Synthesis of acyl thiourea derivatives of chitosan and their antimicrobial activities in vitro», *Carbohydrate Research*, Vol.343, n°2 (Fevrier 2008), 566-570.
- [25] R.Ylitalo, S.Lehtinen, E.Wuolijoki, P.Ylitalo, and T. Lehtimäki, « Cholesterol-lowering properties and safety of chitosan » *Arzneimittelforschung*, vol. 52, n°1-2, (2002),1-7.
- [26] V. Dodane and V. D. Vilivalam, « Pharmaceutical applications of chitosan» *Pharmaceutical Science & Technology Today*, vol.1, n°6, (1998), 246-253.
- [27] A. Singla and M. Chawla « Chitosan: Some pharmaceutical and biological aspects-an update» *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol.53, n°8, 1047-1067.
- [28] Onishi. H and Machida. Y, « Biodegradation and distribution of water-soluble chitosan in mice» *Biomaterials*, (1999),175-182.
- [29] S. Canada, « Produit de santé naturel, Chitosane », 2013.
- [30] Ratajska. M and Boryniec. S, « Physical and chemical aspects of biodegradation of natural polymers» *Reactive and Functional Polymers* (1998), 35-49.
- [31] Kurita. K, Kaji Y, Mori T and Nishiyama Y « Enzymatic degradation of chitin: Susceptibility and the influence of deacetylation» *Carbohydrate Polymers*. (2000), 19-21.
- [32] Tomihata. K and Ikada. Y « In vitro and in vivo degradation of films of chitin and its deacetylated derivatives». *Biomaterials*. (1997), 567-575.
- [33] Chatelet. C, Damour. O and Domard. A, « Influence of the degree of acetylation on some biological properties of chitosan films». *Biomaterials*. (2001), 261-268.
- [34] M. Prabakaran and J. Mano, « Chitosan-based particles as controlled drug delivery systems». *Drug delivery*, vol.12, 2004, 41-57.

- [35] H. Onishi, T. Nagal, Y. E. Machida, and M. Goosen, « Applications of chitin and chitosan», Application of Chitin, Chitosan, and their Derivatives to Drug Carriers for Microparticulated or Conjugated Drug Delivery System, 1997,205-231.
- [36] S. A. Agnihotri, N. N. Mallikarjuna, and T. M. Aminabhavi, « Recent advances on chitosan-based micro-and nanoparticles in drug delivery», Journal of controlled release, vol.100, 2004, 5-28.
- [37] Y.-J. Seol, J.-Y. Lee, Y.-J. Park, Y.-M. Lee, Y. -Ku, I.-C. Rhyu, *et al.*, « Chitosan sponges as tissue engineering scaffolds for bone formation », Biotechnology letters, vol. 26, 2004, 1037-1041.
- [38] M. Campos, L. Cordi, N. Duran, and L. Mei, « Antibacterial activity of chitosan solutions for wound dressing» in Macromolecular Symposia, 2006, 515-518.
- [39] Y.-M. Chen, Y.-C. Chung, L. Woan Wang, K.-T. Chen, and S.-Y. Li, « Antibacterial properties of chitosan in waterborne pathogen » Journal of Environmental Science and Health, Part A, vol. 37, 2002, 1379-1390.
- [40] M. Hohle and U. Griesbach, « Chitosan: a deodorizing component » Cosmetics and toiletries, vol. 114, 1999, 61-64.
- [41] G. Brode, E. Goddard, W. Harris, and G. Salensky, « Cationic polysaccharides for cosmetics and therapeutics » in Cosmetic and pharmaceutical applications of polymers, ed: Springer, (1991), 117-128.
- [42] F. Devlieghere, A. Vermeulen, and J. Debevere, « Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables» Food microbiology, vol. 21, 2004,703-714.
- [43] S. Bautista-Baños, A. N. Hernandez-Lauzardo, M. G. Velazquez-Del Valle, M. Hernández-López, E. A. Barka, E. Bosquez-Molina, et al., « Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities», Crop Protection, vol. 25, 2006,108-118.
- [44] C. Pagliarulo, F. Sansone, S. Moccia, G. L. Russo, R. P. Aquino, P. Salvatore, et al., « Preservation of Strawberries with an Antifungal Edible Coating Using Peony Extracts in Chitosan», Food and Bioprocess Technology, vol. 9, 2016,1951-1960.

- [45] A. El Ghaouth, R. Ponnampalam, F. Castaigne, and J. Arul, « Chitosan coating to extend the storage life of tomatoes», *HortScience*, vol. 27, 1992,1016-1018.
- [46] V. K. Juneja, H. Thippareddi, L. Bari, Y. Inatsu, S. Kawamoto, and M. Friedman, « Chitosan protects cooked ground beef and turkey against *Clostridium perfringens* spores during chilling» *Journal of food science*, vol. 71, 2006, M236-M240.
- [47] S. R. Kanatt, R. Chander, and A. Sharma, « Chitosan and mint mixture: A new preservative for meat and meat products» *Food Chemistry*, vol. 107, 2008,845-852.
- [48] Aissani Radia, Mentalecheta Wafa, «Élaboration et étude de comportement d'un nouveau matériau à base de PVA/chitosane pour l'utilisation comme film alimentaire » mémoire de master, Université Saad Dahlab de Blida 1, Département de Génie des Procédés, Faculté de Technologie, (2021).
- [49] J.J. Kester, O. Fennema «Edible Films and Coatings: A Review» *J. Food Sci*, Vol.51,1986,47-59.
- [50] R.N. Tharanathan, P.C. Srinivasa, M.N. Ramesh. «A Process for Production of Biodegradable Films from Polysaccharides» *Indian Patent 85/DEL/2002*. 2002.
- [51] Valdés, A., et al. (2015). « Active packaging films based on chitosan and natural extracts: antimicrobial and antioxidant properties» *Food Hydrocolloids*, 43, 686–694.
- [52] Appendini, P., & Hotchkiss, J.H. (2002). «Review of antimicrobial food packaging » *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3(2), 113–126.
- [53] Siracusa, V., et al. (2008). «Active packaging technologies for food applications» *Trends in Food Science & Technology*, 19(12), 634–643.
- [54] Brody, A.L., et al. (2001). «Active packaging for food applications» *Food Technology*, 55(11), 36–43.
- [55] Quintavalla, S., & Vicini, L. (2002). "Antimicrobial food packaging in meat industry." *Meat Science*, 62(3), 373–380.
- [56] Coma, V. (2008). "Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products." *Meat Science*, 78(1–2), 90–103.
- [57] Han, J.H. (2014). *Innovations in Food Packaging* (2nd ed.). Academic Press.

- [58] Ojagh, S.M., et al. (2010). "Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout." *Food Chemistry*, 120(1), 193–198.
- [59] Seydim, A.C., & Sarikus, G. (2006). "Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils." *Food Research International*, 39(5), 639–644.
- [60] Vargas, M., et al. (2008). "Recent advances in edible coatings for fresh and minimally processed fruits." *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(6), 496–511.
- [61] Ramos, Ó.L., et al. (2012). "Edible coatings and films from whey proteins: A review on formulation, and properties." *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(6), 533–552.
- [62] F. T. Sejidov, Y. Mansoori, N. Goodarzi. Esterification reaction using solid heterogeneous acid catalysts under solvent-less condition, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 240, 186-190, 2005.
- [63] S. L. Rosen. *Fundamental principles of polymeric materials*. New York : Wiley; 1993.
- [64] E. Biańska-Florjanczyk, Z. Florjanczyk. Solubility of plasticizers, polymers and environmental pollution. In: Letcher T, editor. *Biology*. New York: Elsevier, 397-407, 2007.
- [65] P. Bordes, E. Pollet, L. Averous. Nano-biocomposites: biodegradable polyester/nanoclay systems, *Progress in Polymer Science*, 34, 125-155, 2009.
- [66] S. Guilbert, N. Gontard, L. G. M. Gorris. Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings, *Food Science and Technology*, 29, 10-7, 1996.
- [67] J. Markarian. Biopolymers present new market opportunities for additives in packaging, *Plastics, Additives and Compounding*, 10, 22-25, 2008.
- [68] P. Compette, I. Ernoult. *Physique des polymères : structure, fabrication, emploi*. Hermann éditeurs, Canada, 67-70, 2000.
- [69] Daniels, C.A. *Polymers: Structure and Properties*; Technomic: Lancaster, Pennsylvania, 21-27, 1989.
- [70] Plasticizers in: *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*. By Brian L.W. 1st ed. Vol.3, 498–524.

- [71] Brugnerotto, J., Lizardi, J., Goycoolea, F. M., Arguelles-Monal, W., Desbrieres, J., & Rinaudo, M. « An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization». *Carbohydrate Polymers*, Vol 46, n°1, 39–47, (2001) [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(00\)00273-8](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(00)00273-8)
- [72] Suyatma, N. E., Tighzert, L., Copinet, A., & Coma, V. « Mechanical and barrier properties of biodegradable films made from chitosan and poly(lactic acid) blends». *Journal of Polymers and the Environment*, Vol 13, n°4, 349–355, 2005. <https://doi.org/10.1007/s10924-005-5526-4>
- [73] Rhim, J.-W., Gennadios, A., Weller, C. L., Hanna, M. A. « Soy protein isolate–carbohydrate composite films ». *Carbohydrate Polymers*, Vol 65, n°4, 510–518, (2006) <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.01.004>
- [74] Valgas, C., De Souza, S. M., Smânia, E. F. A., & Smânia, A. Jr. « Screening methods to determine antibacterial activity of natural products ». *Brazilian Journal of Microbiology*, Vol 38, n°2, 369–380, (2007). <https://doi.org/10.1590/S1517-83822007000200034>
- [75] Luchese, C. L., Benelli, P., Spada, J. C., & Tessaro, I. C. (2018) « Impact of the starch source on the physicochemical properties and biodegradability of different starch-based films ». *Journal of Applied Polymer Science*, Vol 135, n°27, 46564. <https://doi.org/10.1002/app.46564>

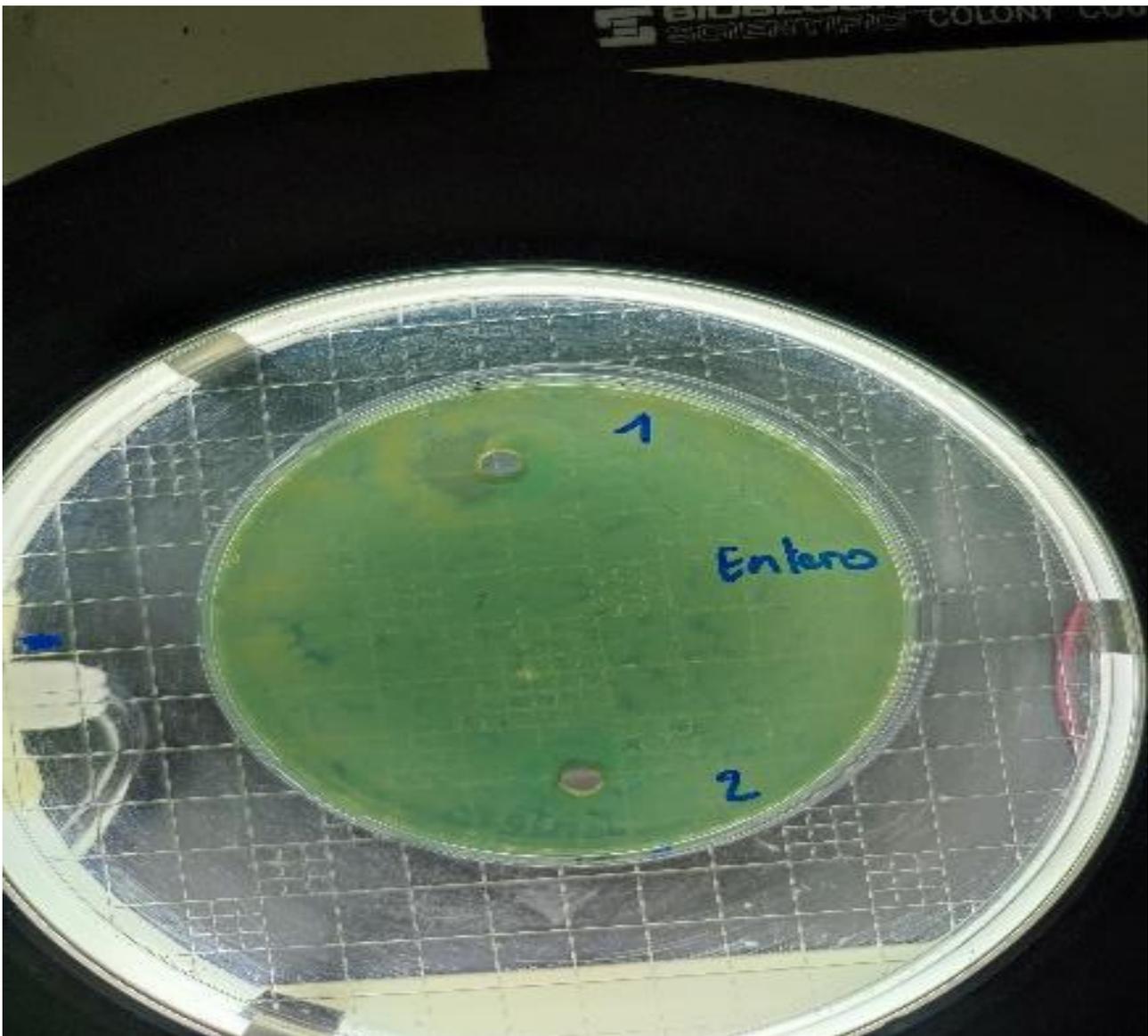
**ANNEXE A : Différentes
formulations réalisées avec le
PVA/Chitosane/Glycérol**

**TABLEAU DES FORMULATIONS REALISEES AVEC
PVA/CHITOSANE/GLYCEROL (volume préparé 10mL)**

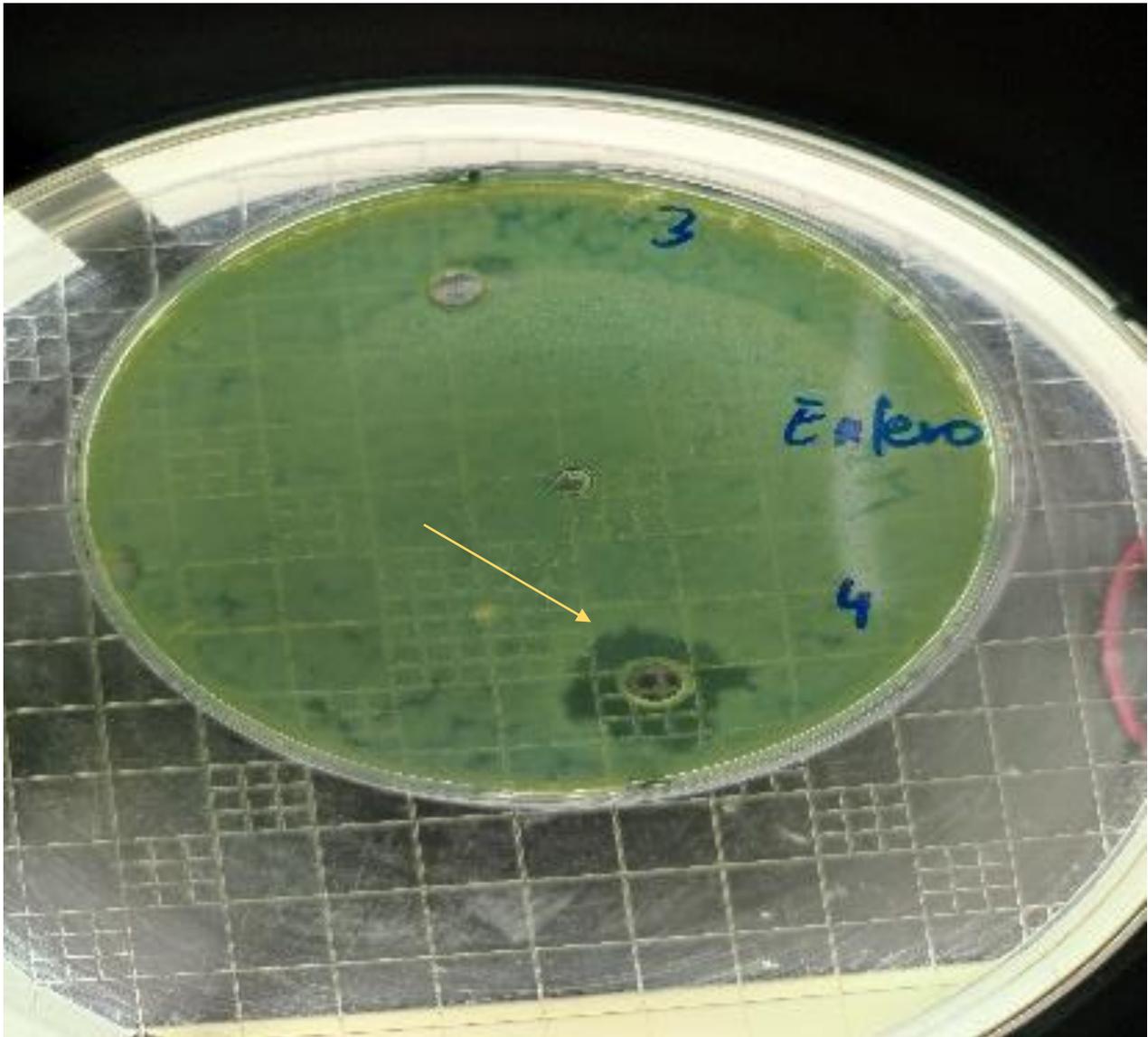
PVA	CHITOSANE	GLYCEROL
20%	80%	0,05g
20%	80%	0,1g
20%	80%	0,15g
25%	75%	0,05 g
25%	75%	0,1g
25%	75%	0,15g
30%	70%	0,05g
30%	70%	0,1g
30%	70%	0,15g
35%	65%	0,05g
35%	65%	0,1g
35%	65%	0,15g
40%	60%	0,05g
40%	60%	0,1g
40%	60%	0,15g
40%	60%	0,2 g

50%	50%	0,05g
50%	50%	0,1g
50%	50%	0,15g
50%	50%	0,2 g
80%	20%	0,5 g

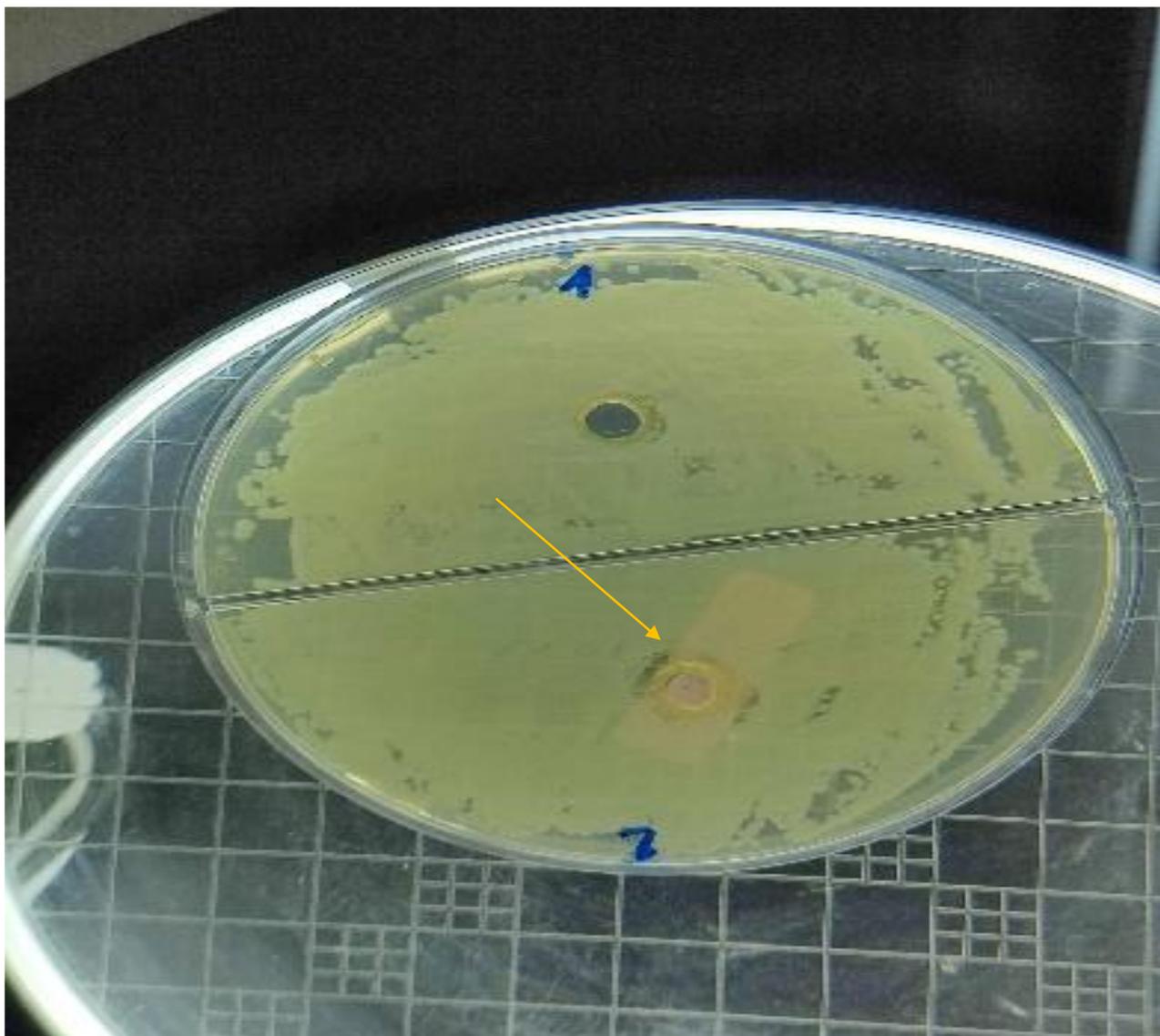
ANNEXE B : Résultats des tests antimicrobiens



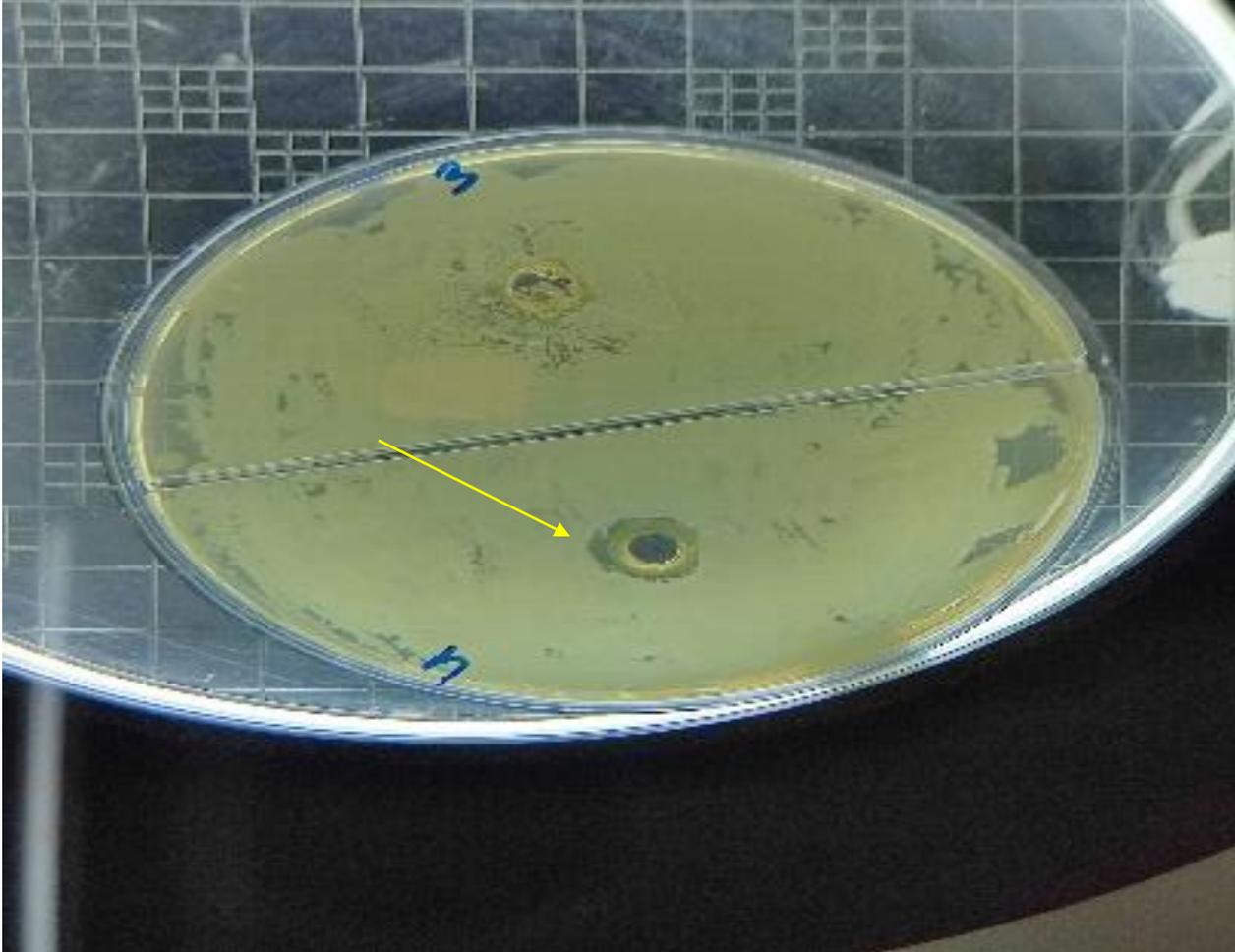
Test effet sur *enterobacter* par le mélange de 35%PVA+65%Cs+0,05g de Glycérol



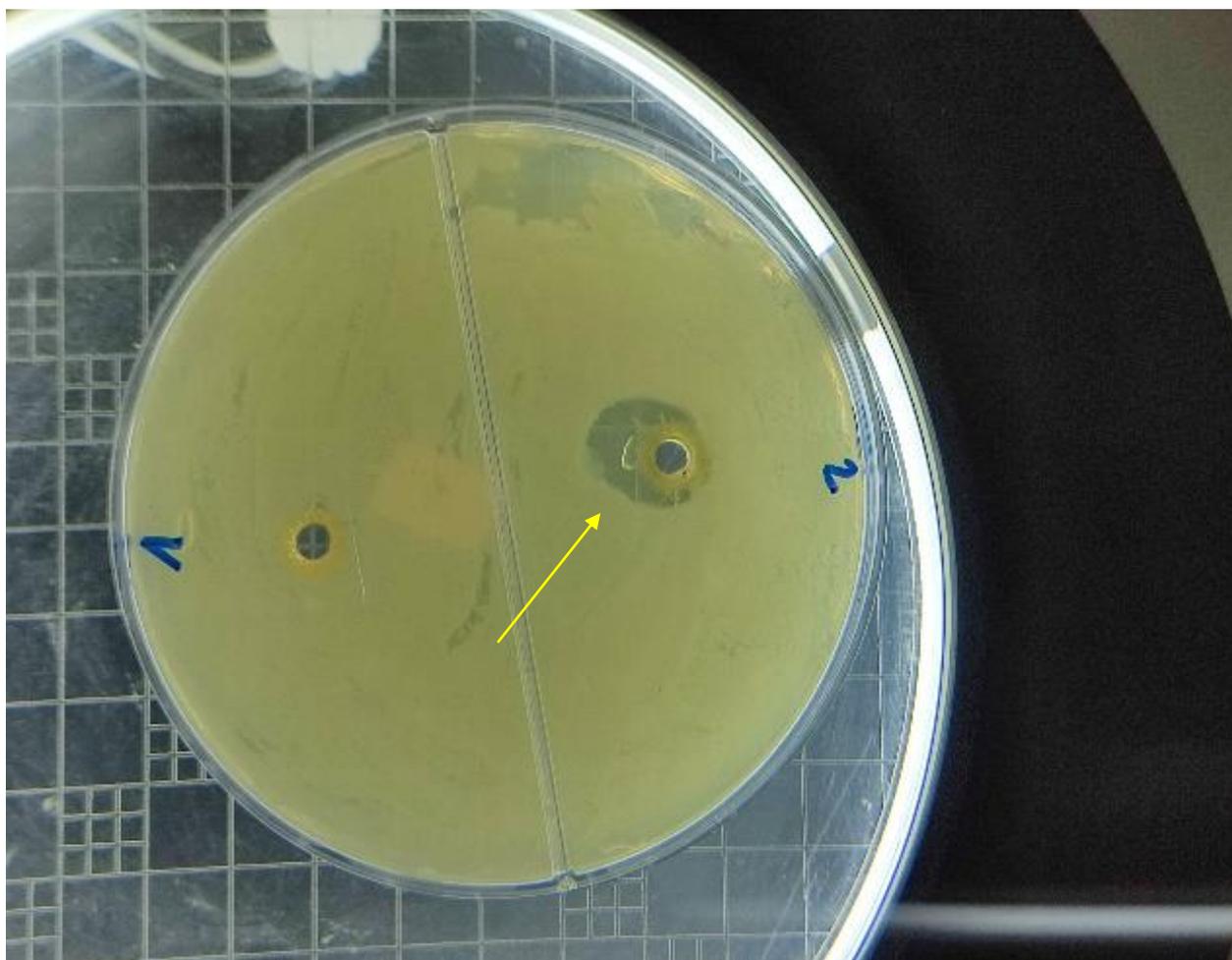
Test effet sur *enterobacter* par le mélange de 35%PVA+65%Cs+0,15g de Glycérol



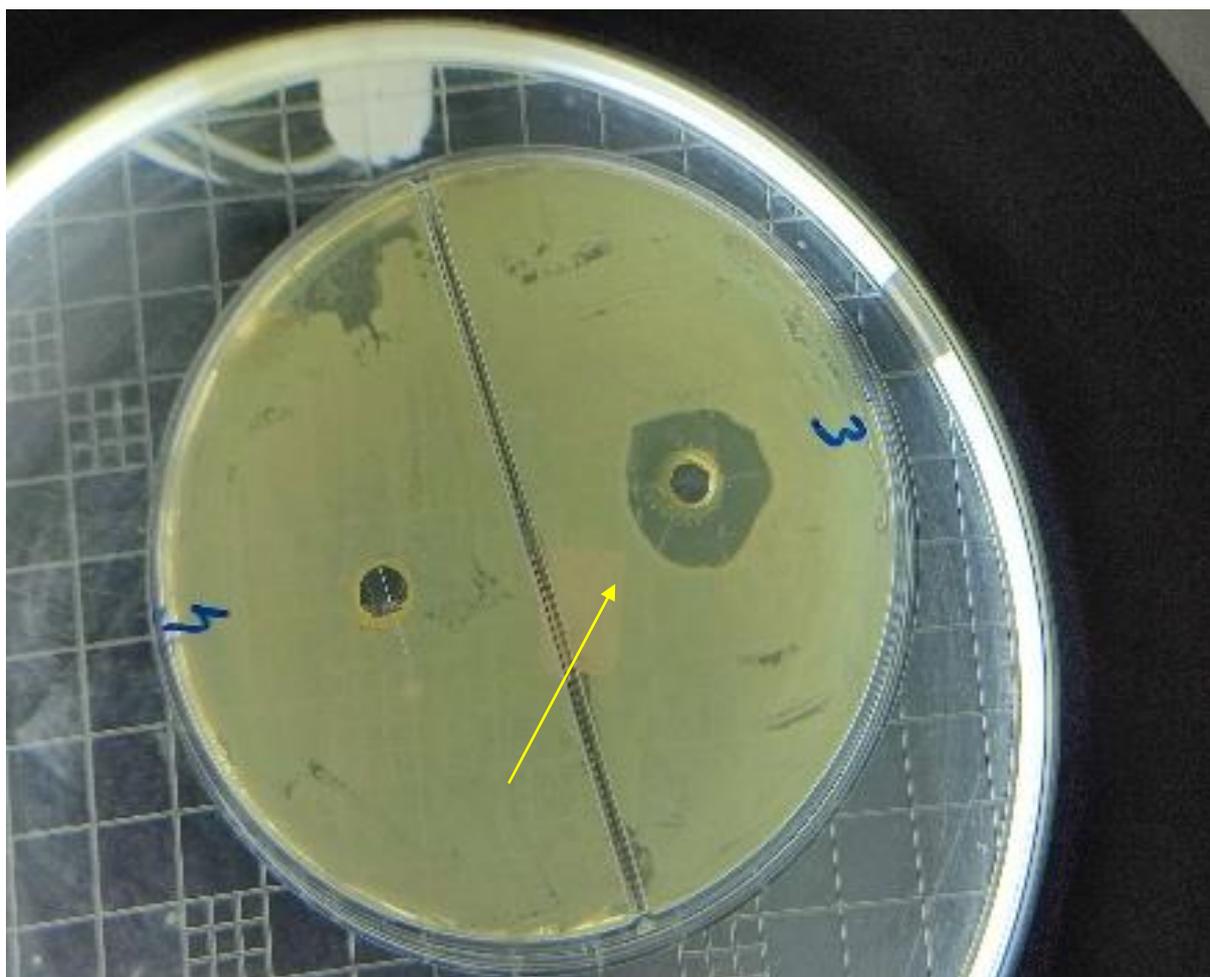
Test effet sur *Escherichia. Coli* par le mélange de 35%PVA+65%Cs+0,1g de Glycérol



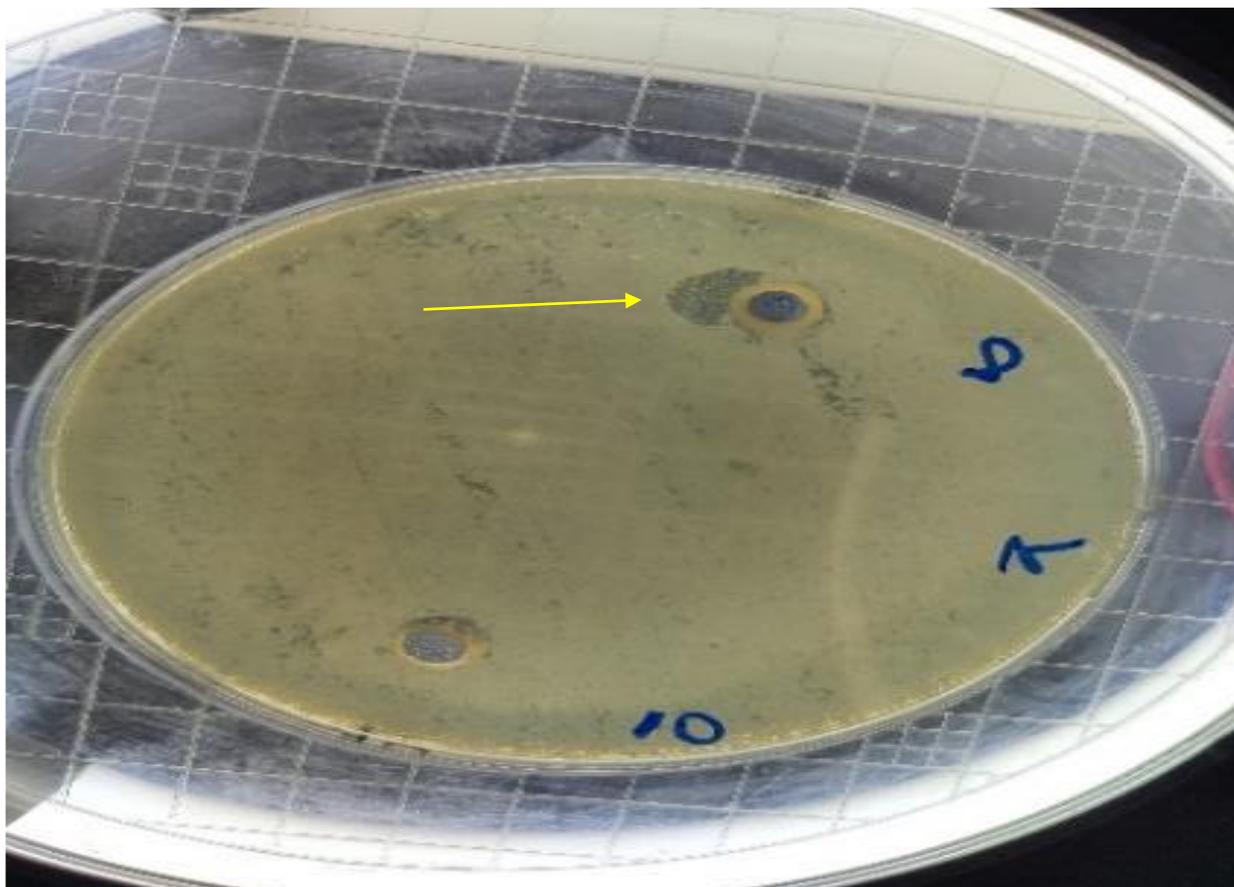
Test effet sur *Escherichia. Coli* par le mélange de 25%PVA+75%Cs+0,15g de Glycérol



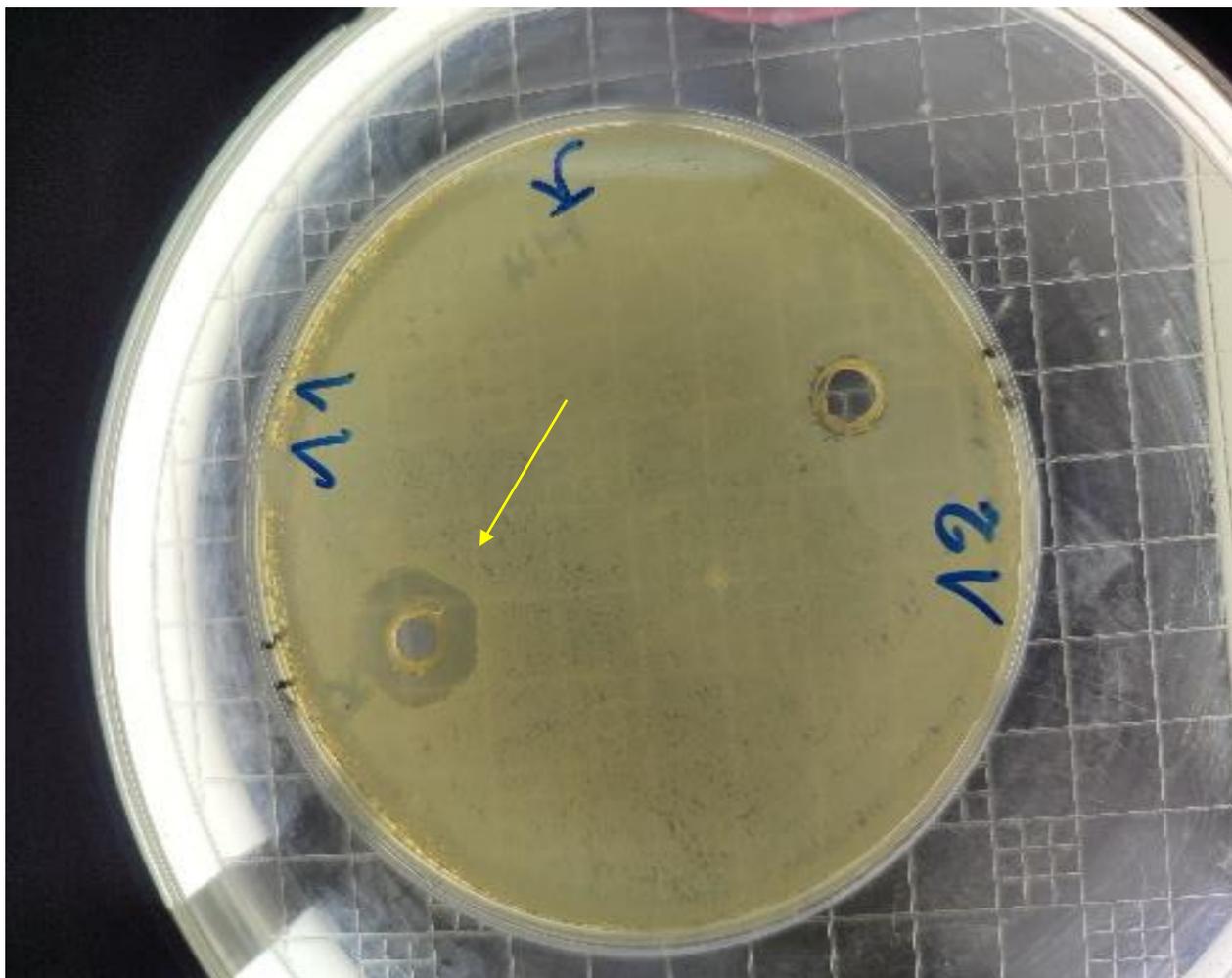
Test effet sur *Klebsiella pneumoniae* par le mélange de 35%PVA+65%Cs+0,1g de Glycérol



Test effet sur *Klebsiella pneumoniae* par le mélange de 35%PVA+65%Cs+0,15g de Glycérol



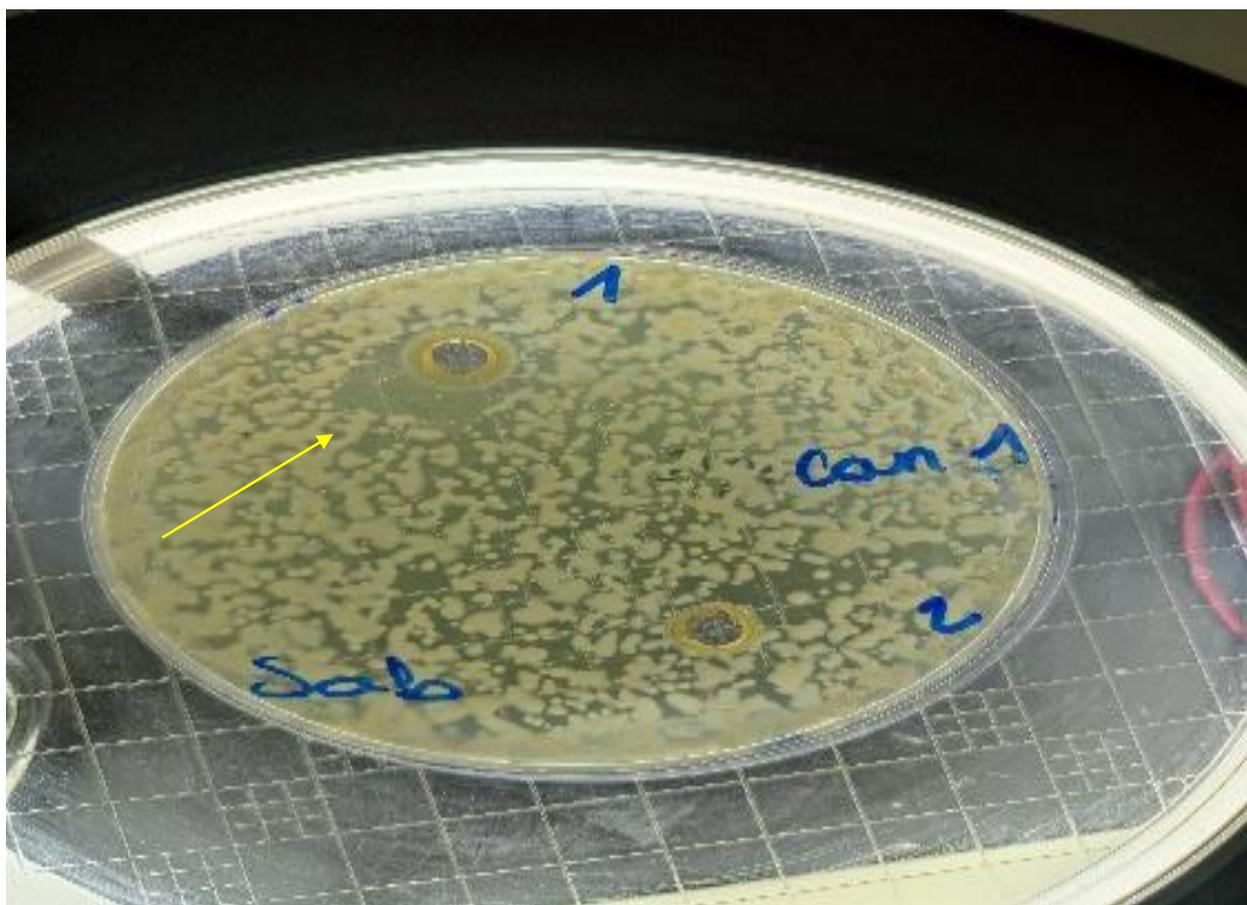
Test effet sur *Klebsiella pneumoniae* par le chitosane pur



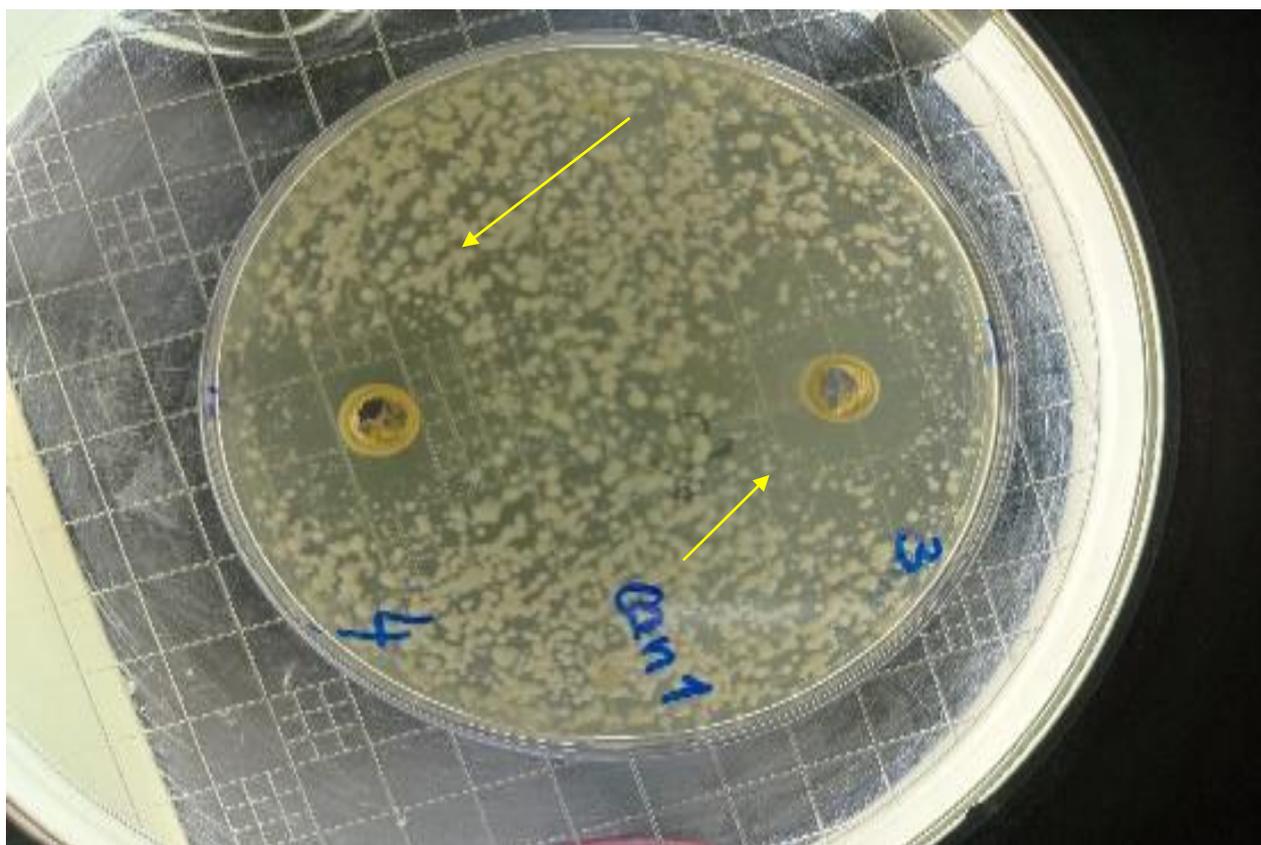
Test effet sur *Klebsiella pneumoniae* par le mélange de 35%PVA+65%Cs



Test effet sur *Staphylococcus aureus* par le chitosane pur



Test effet sur *Candida auris* par le mélange de 35%PVA+65%Cs+0,05g de Glycérol



Test effet sur *Candida auris* par le mélange de 35%PVA+65%Cs+0,15g de Glycérol (noté 3) et le mélange de 25%PVA+75%Cs+0,15g de Glycérol (noté 4)