

République Algérienne démocratique et populaire  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université BLIDA 1  
Faculté des Sciences  
Département de Chimie



Projet de Master en chimie

Option : Physico-chimie des milieux dispersés et formulation

Thème :

*Préparation, caractérisation et tests in-vitro de biomembranes composites à base d'alginate et de nanoparticules de magnétite*

Réalisé par : M. Mohamed Taieb BAKOUCHE

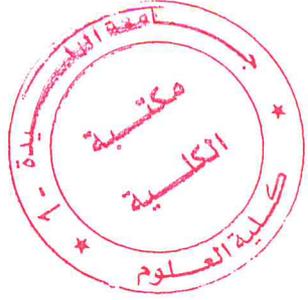
Soutenu devant un jury composé de :

|                    |                   |           |
|--------------------|-------------------|-----------|
| Pr. BELAL R.       | U. Blida 1        | Président |
| Pr. HANNANE F.     | U. Blida 1        | Examineur |
| Dr. BOUAMRANE O.E. | U. Khemis-Miliana | Président |
| Pr. BAL Y.         | U. Blida 1        | Encadreur |

Année pédagogique : 2015-2016

MA-540-147-1





*Le meilleur médecin est la nature : elle guérit les trois quarts des maladies et ne dit jamais de mal de ses confrères.*

*- Louis Pasteur -*

## Remerciements

Je souhaite adresser mes plus sincères remerciements à :

Premièrement, dans le cadre professionnel :

- Mon promoteur monsieur le Professeur *BAL Y.*, qui a honorablement et sans aucune hésitation accepté le thème que je lui avais proposé. Je lui exprime toute ma gratitude de m'avoir aidé le long de cette laborieuse recherche avec des idées ingénieuses et qui ne nécessitent pas de grands moyens, mais aussi pour les discussions et critiques échangées ainsi que pour ses remarques très pertinentes qui ont été très constructives pour finaliser ce manuscrit.

- Le Pr. Rachid BELAL Pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury de thèse.

- Le Pr. Farouk HANNANE ainsi que le Dr. El Arbi Omar BOUAMRANE pour m'avoir fait l'honneur d'examiner le manuscrit ici présent.

- Madame *GUELIL K.*, responsable du laboratoire d'analyses à rayons X au CRD de Boumerdes pour sa généreuse aide sans aucun retour. Un exemple que nous devrions suivre.

- M. Bellal R. de nous avoir accordé l'accès à son laboratoire pour effectuer les analyses souhaitées.

- Le staff laborantin du pavillon 5 de la faculté des sciences de l'université de Blida 1, à savoir, Mlle *BOUDJEMAA A.*, Mme *OUZRI I.*, Mme *HADDAD K.*, sans oublier le respectable M. *CHOUAKRI A.* pour leur présence et la gaieté de l'atmosphère dans lequel nous travaillions.

- Le staff laborantin du pavillon 13, à savoir, Mme *EL-ACHEACHE*, Mme *BENFODIL* et M. Yacine pour leur présence lors de la caractérisation de nos matériaux.

- Ma reconnaissance va également à M. *BOUHAMED R.* pour son immense générosité et sympathie.

- Je remercie également M. *MELIANI*, Enseignant au département de Physique de l'USDB pour m'avoir permis de prendre des mesures d'épaisseur des biomembranes au niveau de son laboratoire.

J'exprime aussi ma gratitude pour l'ensemble du corps enseignant organicien.

Deuxièmement, dans le cadre personnel :

- Un grand MERCI à mes parents, sans qui ma réussite scolaire n'aurait eu lieu. Ils ont toujours été à cheval en ce qui concerne mes études et on dirait que ça a bien payé. Egalement à mon frère, qui a tout le temps été derrière moi tout en étant à côté pour m'épauler. Mes tantes, Fella, Nora et Zina ainsi que mes cousins et cousines qui m'ont toujours soutenus que ça soit dans le cadre des études ou en dehors.

- Ma gratitude va aussi à mon amie Rym, qui a répondu présente lorsque je le lui ai demandé et qui m'a secondé bien avant ce projet.

- Je remercie aussi mes amies Lila et Safa qui sont plus que des camarades de classe, pour les deux années pleines de rires et de complicité.

- Mes amis Omar et Abderrahmane qui ont su être là pour apaiser l'atmosphère quand il le fallait.

- Mes remerciements vont aussi à mes autres camarades du master.

- Et c'est plein d'émotions que j'adresse aussi mes plus sincères reconnaissances à mon ami de toujours Yacine, avec lequel on a fait le parcours du combattant tout le long de l'année.

## Table des matières

|                             |     |
|-----------------------------|-----|
| Liste des figures .....     | i   |
| Liste des tableaux .....    | iii |
| Liste des abréviations..... | iv  |
| Résumé .....                | vi  |
| Introduction générale.....  | 1   |

### Partie théorique

#### Chapitre I : Revue bibliographique

|  |    |
|--|----|
| I.A. Les nanoparticules de magnétite (Ferrofluide) .....                       | 5  |
| I.A.1. Qu'est-ce qu'un ferrofluide ?.....                                      | 5  |
| I.A.2. Propriétés du ferrofluide.....  | 5  |
| I.A.2.1. Ferromagnétisme.....  | 5  |
| I.A.2.2. Ferrimagnétisme .....   | 5  |
| I.A.2.3. Superparamagnétisme .....   | 6  |
| I.A.3. Types de ferrofluides .....   | 6  |
| I.A.3.1. Ferrofluides surfactés .....  | 6  |
| I.A.3.2. Ferrofluides ioniques .....   | 7  |
| I.A.4. Stabilité du ferrofluide .....  | 7  |
| I.A.5. La magnétite.....   | 8  |
| I.A.6. Principales méthodes de synthèse des NPM .....                          | 8  |
| I.A.6.1. Co-précipitation.....   | 8  |
| I.A.6.2. Microémulsion .....   | 9  |
| I.A.6.4. La méthode polyol.....  | 9  |
| I.A.7. Applications du ferrofluide.....  | 10 |
| I.A.7.3. Etanchéité.....   | 10 |
| I.A.7.4. Lubrification .....   | 11 |
| I.A.7.5. Amortisseurs .....  | 11 |
| I.A.7.6. Applications à caractère biomédical.....                              | 11 |
| I.A.7.7. Traitement des eaux.....  | 12 |
| I.B. Les alginates.....  | 12 |
| I.B.1. Qu'est-ce qu'un polysaccharide ? .....                                  | 12 |
| I.B.2. Nature et découverte des alginates.....                                 | 13 |
| I.B.3. Structure chimique et caractéristiques structurales des alginates ..... | 15 |

|  |    |
|--|----|
| I.B.4. Propriétés des alginates.....                             | 16 |
| I.B.4.1. La structure boîte d'œufs « <i>Egg-box model</i> »..... | 16 |
| I.B.5. Applications des alginates.....                           | 19 |
| I.B.6. Caractérisation des alginates.....                        | 20 |
| I.B.6.1. Ratio M/G .....   | 20 |
| I.B.6.2. Mesure du pH.....                                       | 21 |
| I.B.7. Les alginates dans la formation de films .....            | 21 |
| I.B.7.1. Films d'alginates solubles.....                         | 21 |
| I.B.7.2. Films d'alginates insolubles .....                      | 21 |
| I.B.7.3. Propriétés et caractérisation des films d'alginate..... | 23 |
| Bibliographie.....   | 24 |

## Partie expérimentale

### Chapitre II : Matériels et méthodes

|  |    |
|--|----|
| II.A. Le ferrofluide.....  | 30 |
| II.A.1. Choix de la méthode de synthèse des NPM.....             | 30 |
| II.A.2. Réactifs .....   | 30 |
| II.A.3. Protocole expérimental .....                             | 30 |
| II.A.4. Caractérisation du ferrofluide .....                     | 32 |
| II.A.4.1. Test visuel et magnétique.....                         | 32 |
| II.A.4.2. Caractérisation structurale et morphologique.....      | 32 |
| ❖ Infrarouge à transformée de Fourier.....                       | 32 |
| ❖ Diffraction à rayon X .....                                    | 32 |
| II.A.4.3. Propriétés interfaciales (tension superficielle) ..... | 33 |
| II.B.1. Réactifs.....  | 34 |
| II.B.2. Préparation des biomembranes .....                       | 35 |
| II.B.1. Méthode classique « coulage ; post-traitement ».....     | 35 |
| II.B.2. Méthode <i>in-situ</i> .....                             | 38 |
| II.B.3. Caractérisation des solutions filmogènes .....           | 39 |
| II.B.3.1. Test de viscosité .....                                | 39 |
| II.B.3.2. Conductimétrie électrique .....                        | 39 |
| II.B.3.3. Mesure du pH .....                                     | 39 |
| II.B.3.4. Propriétés interfaciales (tension superficielle).....  | 40 |
| II.B.4. Caractérisation des biomembranes.....                    | 40 |
| II.B.4.1. Magnétisme et test visuel .....                        | 40 |
| II.B.4.3. Caractérisation morphologique et structurale .....     | 40 |
| ❖ Infrarouge à transformée de fourrier .....                     | 40 |
| ❖ Diffraction à rayon X.....                                     | 41 |
| ❖ Microscopie électronique à balayage .....                      | 41 |

|  |    |
|--|----|
| II.B.4.4. Taux de gonflement et capacité de rétention d'eau des biomembranes.. | 41 |
| II.B.4.5. Tests de diffusion des biomembranes .....                            | 42 |

### Chapitre III : Résultats et discussions

|  |           |
|--|-----------|
| <b>III.1. Caractérisation.....</b>   | <b>45</b> |
| <b>III.1.1. Caractérisation des solutions filmogènes .....</b>                                     | <b>45</b> |
| <b>III.1.1.1. La viscosité.....</b>  | <b>45</b> |
| <b>III.1.1.2. Le pH .....</b>  | <b>46</b> |
| <b>III.1.1.3. La conductivité électrique.....</b>  | <b>46</b> |
| <b>III.1.1.4. Caractérisation des propriétés interfaciales (tension superficielle).....</b>        | <b>47</b> |
| • Etude de l'influence de la température sur la tension superficielle .....                        | 47        |
| <b>III.1.2. Caractérisation du ferrofluide (NPM), des biomembranes vierges et magnétiques.....</b> | <b>50</b> |
| <b>III.1.2.1. Aspect et tests visuels .....</b>  | <b>50</b> |
| <b>III.1.2.2. Caractérisation structurale et morphologique.....</b>                                | <b>55</b> |
| • Caractérisation par Infrarouge à transformée de Fourier .....                                    | 55        |
| • Diffraction à rayon X .....  | 60        |
| • Microscopie électronique à balayage .....  | 66        |
| <b>III.1.2.3. Taux de gonflement et capacité de rétention d'eau .....</b>                          | <b>68</b> |
| • Taux de gonflement .....   | 68        |
| • Capacité de rétention d'eau .....  | 69        |
| <b>III.1.2.4. Diffusion des membranes.....</b>   | <b>70</b> |
| <b>Bibliographie.....</b>  | <b>74</b> |
| <b>Conclusion générale .....</b>   | <b>79</b> |
| <b>Annexe.....</b>   | <b>I</b>  |

## Liste des figures

|   |    |
|---|----|
| Figure I. 1 : Réseaux de spins d'un matériau matériau superparamagnétique .....   | 5  |
| Figure I. 2 : Schéma descriptif d'un ferrofluide surfacté à l'échelle moléculaire .....   | 6  |
| Figure I. 3 : Schéma descriptif d'un ferrofluide ionique à l'échelle moléculaire.....   | 7  |
| Figure I. 4 : Structure spinelle inverse de la magnétite : en bleu les ions oxyde O <sup>2-</sup> en CFC, en rouge un site octaédrique et en vert un site tétraédrique .....  | 8  |
| Figure I. 5: Représentation des différentes formes d'un monosaccharide.....   | 13 |
| Figure I. 6 : Représentation schématique de l'extraction-purification de l'alginate de sodium via plusieurs voies à partir d'algues brunes sèches.....  | 14 |
| Figure I. 7: (a) Conformation chaise de l'acide mannuronique et de l'acide guluronique qui constituent l'alginate ; (b) bloc -MM- de l'alginate ; (c) bloc -GG- de l'alginate ; (d) séquence -M-G-.....   | 15 |
| Figure I. 8 : Schéma représentatif a) modèle de boîte d'œufs (Egg-box) et b) interactions électrostatiques intervenant dans le processus de chélation du calcium .....  | 17 |
| Figure II. 1 : Schéma explicatif de la synthèse d'un ferrofluide aqueux à base de nanoparticules de magnétite .....   | 31 |
| Figure II. 2: Schéma descriptif du procédé de préparation des biomembranes de Na-Alg vierges hydroinsolubles avec post-traitement.....  | 36 |
| Figure II. 3: Schéma descriptif du procédé de préparation des membranes biocomposites Alg-NPM hydroinsolubles avec post-traitement .....  | 37 |
| Figure II. 4 : Schéma descriptif de la méthode in-situ pour la préparation des biomembranes de Na-Alg insoluble .....   | 38 |
| Figure II. 5: Schéma descriptif de la méthode in-situ pour la préparation des membranes biocomposite Alg-NPM insolubles .....   | 38 |
| Figure III. 1 : Variation de la tension superficielle en fonction de la température en fonction de la température ; en ■ $\gamma_4$ le ferrofluide aimanté ; en ■ $\gamma_3$ le ferrofluide à l'état de repos ; en ■ $\gamma_2$ la solution filmogène magnétique aimantée et en ■ $\gamma_1$ la solution filmogène vierge ..... | 47 |
| Figure III. 2 : (a) Surface de réponse montrant l'effet de la température sur la tension superficielle de la solution filmogène vierge ; (b) Tracé de précision pour les valeurs expérimentales par rapport au modèle mathématique.....   | 49 |

|  |    |
|--|----|
| Figure III. 3 : (a) Surface de réponse montrant l'effet de la température sur la tension superficielle du ferrofluide au repos ; (b) Son Tracé de précision pour les valeurs expérimentales par rapport au modèle mathématique ..... | 50 |
| Figure III. 4: Images témoins du comportement du ferrofluide préparé, (a) au repos et (b) sous action d'un champ magnétique.....   | 51 |
| Figure III. 5 : Images témoins des membranes post-traités validés ; en (a) la biomembrane d'alginate vierge et en (b) la membrane biocomposite Alg-NPM.....  | 51 |
| Figure III. 6 : Images témoins des biomembranes préparés in-situ ; en (a) la biomembranes d'alginate vierge au moment de sa formation et en (b) la membrane biocomposite Alg-NPM52   |    |
| Figure III. 7 : Spectre IRTF des nanoparticules magnétiques séchées à 120°C.....   | 55 |
| Figure III. 8 : Superposition des spectres IRTF de l'alginate de sodium pur (en noir) et de la membrane d'alginate vierge (en bleu) .....  | 57 |
| Figure III. 9 : Représentation schématique de l'arrangement moléculaire des chaînes polymérique par ajout des ions Ca <sup>2+</sup> (Passage de l'état amorphe à l'état cristallin).....   | 58 |
| Figure III. 10: Superposition des spectres IRTF de la biomembrane d'alginate vierge(en bleu) ; des NPM séchées à 120°C (en noir) et de la membrane biocomposite Alg-NPM (en rouge). 59   |    |
| Figure III. 11 : Superposition des diffractogrammes des NPMs, NPMt400 et des NPMt700 . 61  |    |
| Figure III. 12 : Superposition des diffractogrammes des NPMt400, de Na-Alg et du film composite Alg-NPM, les pointillés représentent le décalage des pics observé pour chaque plan. ....   | 64 |
| Figure III. 13 : Images MEB de la biomembrane magnétique post-traitée ; (a) avec un grossissement de 50000x ; (b) avec un grossissement 200000x ; (c) section de l'image (b) traitée au logiciel Fiji.....                           | 67 |
| Figure III. 14 : Distribution de taille des NPM au sein de la matrice polymérique de la biomembrane magnétique post-traitée .....  | 68 |
| Figure III. 15 : Evolution cinétique du taux de gonflement des biomembrane d'alginate et des membranes biocomposites Alg-NPM (post-traités (1 et 2) et in-situés (3 et 4) respectivement) .....                                      | 69 |
| Figure III. 16 : Perméabilité cinétique des biomembranes d'alginate et des membranes biocomposites Alg-NPM (post-traités (1 et 2) et in-situés (3 et 4) respectivement).....   | 70 |
| Figure III. 17 : Droite d'étalonnage et régression linéaire pour les solutions étalons du bleu de méthylène .....  | 71 |
| Figure III. 18 : Concentration du BM dans la cellule diffuse à travers les membranes biopolymériques et biocomposites en fonction du temps .....   | 72 |

## Liste des tableaux

|  |    |
|--|----|
| Tableau I.1 : Propriétés des alginates.....  | 18 |
| Tableau I.2: Classification des applications des alginates d'après le domaine visé. [4, 29]....  | 19 |
| Tableau I.3 : Composition chimique de films d'alginate préparés d'après la littérature [15]...   | 22 |
| Tableau II. 1 : Liste des réactifs utilisés pour la préparation des solutions filmogènes de base (vierges)      34   |    |
| Tableau III. 1 : Valeurs de certaines propriétés (Viscosité, pH, Conductivité, Tension superficielle) des solutions filmogènes mesurée.      45  |    |
| Tableau III. 2 : Composition chimique de toutes les biomembranes préparées durant notre étude avec observations .....  | 53 |
| Tableau III. 3: Attribution des principaux pics vibratoires pour le spectre IRTF de l'alginate de sodium [26, 27, 57, 63, 74, 90] .....  | 56 |
| Tableau III. 4 : Valeurs du ratio M/G de l'alginate de sodium calculé par la méthode KBr ...   | 60 |
| Tableau III. 5 : le paramètre de maille pour les différents échantillons (NPMs, NPMt400 et NPMt700) calculé et de référence .....  | 62 |
| Tableau III. 6 : la taille des cristallites pour les NPMs et NPMt400 calculée d'après la formule de Scherrer.....  | 63 |
| Tableau III. 7: Valeurs des angles $^{\circ}2\Theta$ des pics observés au départ pour les NPMt400 et ceux de leur déplacement après intégration dans la matrice polymérique, avec la différence des deux et sa moyenne. .... | 65 |
| Tableau III. 8 : Valeurs d'absorbance des solutions étalons du bleu de méthylène à $\lambda=660\text{nm}$ .....  | 70 |

## Liste des abréviations

|  |  |
|--|--|
| $a$ : Indice de maille   | JCPDS : Comité conjoint sur les normes de diffraction en poudres (Joint Committee on Powder Diffraction Standards) |
| %P : Pourcentage de perte en solvant   | KBr : bromure de potassium   |
| $\gamma$ : Tension superficielle   | L- : Lévogyre  |
| h k l : Indices de <i>Miller</i>   | M- : Mannuronique  |
| $\S$ : Paragraphe  | M : Molaire  |
| $^{\circ} 2\theta$ : Angle 2thêta de <i>Bragg</i>                                | M/G : Rapport Mannuronique Guluronique   |
| $^{\circ}C$ : degré celcius  | MEB : Microscopie/Microscope électronique à balayage   |
| $\mu M$ : micro molaire  | mins : minutes   |
| 2N : Deux fois la normale  | ml : millilitre  |
| Å : Angström   | mm : millimètre  |
| $A_{1030}$ : Absorbance a 1030 $cm^{-1}$   | mN/m : milli-newton par mètre  |
| $A_{1290}$ : Absorbance a 1290 $cm^{-1}$   | mPa/s : milli Pascal par seconde   |
| $A_{1320}$ : Absorbance a 1320 $cm^{-1}$   | mS/cm : milli Siemens par centimètre   |
| $A_{787}$ : Absorbance a 787 $cm^{-1}$   | Na-Alg : Alginate de sodium  |
| $A_{808}$ : Absorbance a 808 $cm^{-1}$   | nm : nanomètre   |
| al. : Collaborateurs   | NPM : Nanoparticules magnétiques/de magnétite  |
| Alg : Alginate   | NPMs : nanoparticules magnétiques séchées à 120 $^{\circ}C$  |
| $Ba^{2+}$ : Ions barium  | NPMt400 : nanoparticules traitées à 400 $^{\circ}C$  |
| $Ca^{2+}$ : Ions calcium   | NPMt700 : nanoparticules traitées à 700 $^{\circ}C$  |
| Ca-Alg : Alginate de calcium   | p/p : Rapport poids/poids  |
| CFC : cubique face centrée   | p/v : Rapport poids /volume  |
| cm : centimètre  | R.M.N : Résonnance magnétique nucléaire  |
| $cm^{-1}$ : centimètre moins un  | TMA-OH : Tetramethylammonium hydroxide   |
| COD : Base de données cristallographique ouverte (cristallography open database) | TPS : tampon phosphate salin   |
| D- : Dextrogyre  | $\gamma$ - : Vibration d'élargissement   |
| DRX : Diffraction à rayon X  | $\epsilon$ : permittivité diélectrique   |
| FTIR : Fourier Transmission Infra-Red  | $\lambda$ : longueur d'onde  |
| FTIR : Fourier Transmission Infra-Red  |  |
| g : gramme   |  |
| G : Guluronique  |  |
| HTMA : Hydroxyde de tétraméthylammonium  |  |
| IRTF : Infrarouge à transformée de Fourier                                       |  |

## Résumé

L'étude présentée dans ce mémoire porte sur la synthèse et la caractérisation de biomembranes composites avec des propriétés magnétiques devant être utilisées dans des applications médicales. Dans un premier temps, un ferrofluide a été préparé : des nanoparticules de magnétite ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) ont été formées par co-précipitation dans milieu alcalin et leur mise en suspension dans un liquide porteur (l'Hydroxyde de tétraméthylammonium) pour donner le ferrofluide. Celui-ci est ensuite associé à de l'alginate de sodium pour conduire à l'élaboration d'une membrane biocomposite magnétique selon une procédure de gélification ionotropique. Les analyses par IRTF, par DRX et par MEB ont démontré l'obtention uniforme de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  et son intégration dans la matrice biopolymérique. Par ailleurs, des caractéristiques interfaciales du fluide magnétique et des solutions filmogènes ont été mesurées en fonction de la température et sous l'application d'un champ magnétique. Le taux de gonflement et la diffusion d'un substrat model à travers les membranes préparées ont été étudiés.

**Mots Clés :** Ferrofluide ; Magnétite ; co-précipitation ; nanoparticules ; HTMA ; Alginate ; biocomposite ; films ; membranes biopolymériques.

## Abstract

The study presented in this thesis focuses on the synthesis and characterization of composite biomembranes with magnetic properties in order to be used in medical applications. Initially, a ferrofluid was prepared: magnetite nanoparticles ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) were formed by co-precipitation in an alkali medium and suspended in a carrier liquid (Tetramethylammonium hydroxide) to give the ferrofluid. This one, is then combined with sodium alginate to lead to the development of a magnetic biocomposite membrane according to the ionotropic gelation process. The FTIR, XRD and SEM analysis showed uniform obtaining  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  and its integration into the biopolymer matrix. Moreover, the interfacial characteristics of the magnetic fluid and film-forming solutions were measured as a function of the temperature even under the application of a magnetic field. The swelling ratio and the distribution of a model substrate through the prepared membranes were studied.

**Keywords:** Ferrofluid; Magnetite; ferrites; co-precipitation; TMA-OH, alginate; biocomposite; films; biopolymer membranes.

### Introduction générale

Les nanoparticules superparamagnétiques d'oxyde de fer (SPIONs en terminologie anglaise) constituent à elles seules une catégorie très prisée dans le domaine de la recherche nanotechnologique, elles sont même appliquées en biomédecine en tant qu'agents de contraste T2 pour l'IRM, ou comme vecteurs pour l'encapsulation d'agents actifs [37]. En aérospatiale, on les utilise pour la formation de miroirs satellitaires.

Leur atout, est qu'elles peuvent être manipulées extérieurement et être acheminées à des endroits inaccessibles.

D'autre part l'alginate, un biomatériau diamagnétique (n'interagissant pas à un champ magnétique externe) présentant de multiples propriétés intéressantes telles que la non-toxicité et la biocompatibilité qui font du biopolymère un candidat idéal pour son emploi dans certains domaines à caractère biologique ou environnemental.

Sa post-magnétisation conduit à ce qu'on appelle un matériau composite biologique ou « biocomposite » fortement magnétique, où la structure d'origine diamagnétique du polymère est responsable de l'activité biologique en tant que support, tandis que le marqueur magnétique est responsable de l'intense caractère magnétique. Ce genre de matériau suscite l'attention des scientifiques puisqu'il regroupe l'ensemble des propriétés des substances qui le constituent.

Par ailleurs, les nanocomposés présentent une grande surface spécifique [23] et interagissent donc parfaitement avec les chaînes du biopolymère.

Les nanomatériaux magnétiques les plus étudiés et utilisés sont ceux de magnétite ou de maghémite, nous avons choisi les NPM de magnétite par rapport aux réactifs disponibles.

Dans l'étude présentée ici on vise les points suivants :

- La préparation de nanoparticules magnétiques et leur stabilisation dans un liquide porteur (le HTMA) conduisant à la formation d'un ferrofluide.
- La préparation de films biopolymériques insolubles à partir de l'alginate de sodium.
- L'intégration des NPM dans la matrice biopolymérique pour former un film biocomposite Alg-NPM.

Ce manuscrit comporte deux parties distinctes :

Une partie théorique consacrée à la revue bibliographique, et qui comporte un seul chapitre dont l'objectif est de décrire et de se familiariser avec les NPM (ferrofluide) et les alginates en

général. Nous détaillerons brièvement leurs propriétés physico-chimiques, biologiques...etc. Après un rappel sur leurs méthodes de préparation ou d'extraction, nous décrirons leurs principaux domaines d'application.

Une partie expérimentale organisée en deux chapitres :

- ❖ Le premier chapitre, intitulé « Matériels et méthodes » présente le matériel d'étude, les protocoles expérimentaux, ainsi que la description des appareillages et techniques d'analyse utilisés au cours de ce travail.
  
- ❖ Le deuxième chapitre est dédié à la présentation des résultats obtenus, accompagnés de leur interprétation et des discussions portant sur ces résultats.

Enfin, une conclusion générale présentera le bilan de ce travail en reprenant les principaux résultats obtenus, et dressera les perspectives envisagées pour la suite de la recherche.

---

# Partie théorique

---

---

# **Chapitre I**

## **Revue bibliographique**

---

### I.A. Les nanoparticules de magnétite (Ferrofluide)

Pour se limiter dans le contenu du sujet, nous détaillerons brièvement chaque propriété des ferrofluides à base de magnétite.

#### I.A.1. Qu'est-ce qu'un ferrofluide ?

Ferrofluide, plus communément connu sous le nom de fluide magnétique, est une suspension colloïdale de nanoparticules ferri- ou ferromagnétiques qui deviennent dans ce cas-là superparamagnétiques. Il peut être de nature organique ou aqueuse.

La fraction volumique de particules dans les ferrofluides est typiquement de quelques pour cent. Les nanoparticules magnétiques dans les ferrofluides sont revêtues d'un agent tensio-actif pour empêcher leur agrégation [4].

Dans les années 1980, *Massart* a proposé un procédé pour la synthèse chimique des ferrofluides aqueux sans agent tensio-actif [20]. Depuis, diverses méthodes de préparation de ces fluides magnétiques ont été développées.

#### I.A.2. Propriété magnétique du ferrofluide

##### I.A.2.3. Superparamagnétisme

Les particules magnétiques dans un ferrofluide ont une taille typique de l'ordre de 10 nm, la distribution est donc monomodale, ce qui est inférieur ou égal à l'épaisseur de la paroi. En raison de l'agitation thermique qui génère un mouvement brownien (agitation dans toutes les directions), le ferrofluide se comporte alors comme un matériau paramagnétique.

Du fait que les particules soient très petites (de l'ordre du nano) et donc sensibles à un champ magnétique, on dit du fluide superparamagnétique, [26] (*Figure I.1*).

**N.B :** Cette propriété est plus détaillée dans l'annexe.

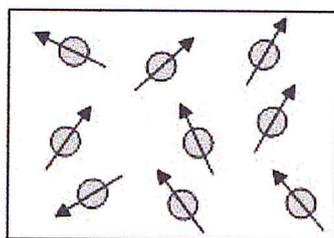


Figure I. 1 : Réseaux de spins d'un matériau superparamagnétique

Elle est synthétisée au niveau du laboratoire par co-précipitation de précurseurs (sels des ions ferreux et ferriques) en milieu alcalin.

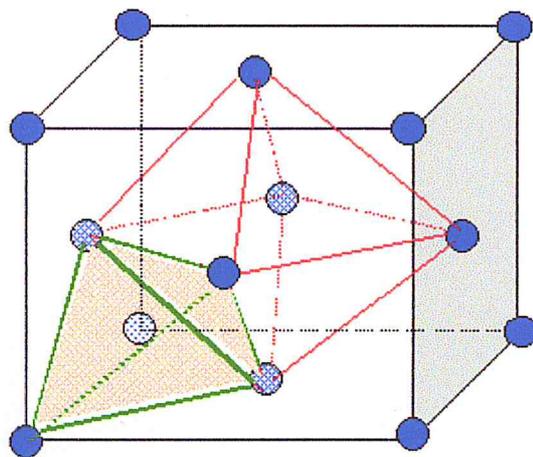


Figure I. 4 : Structure spinelle inverse de la magnétite : en bleu les ions oxyde  $O^{2-}$  en CFC, en rouge un site octaédrique (occupé par les ions  $Fe^{2+}$  et  $Fe^{3+}$ ) et en vert un site tétraédrique (occupé par les ions  $Fe^{3+}$ )

### I.A.6. Principales méthodes de synthèse des NPM

La préparation des ferrofluides s'est diversifiée au cours de ces dernières années, nous présentons ici les principales voies de son élaboration.

#### I.A.6.1. Co-précipitation

Elaborée par *Massart et al.*, la co-précipitation est la manière la plus commode et la plus facile pour synthétiser des oxydes de fer comme la magnétite  $Fe_3O_4$  ou la maghémite  $\gamma-Fe_2O_3$  par l'addition d'une base sur des solutions aqueuses de sel de  $Fe^{2+}/Fe^{3+}$  sous atmosphère inerte à température ambiante ou à température élevée [7, 19, 46].

La taille, la forme, et la composition des nanoparticules magnétiques dépendent beaucoup du type de sels utilisés (par exemple des chlorures, des sulfates, des nitrates), du rapport de  $Fe^{2+}/Fe^{3+}$ , de la température de réaction, de la valeur du pH, de la concentration ionique des réactifs et de la nature de la base.

L'ajustement et la détermination précise de ces paramètres permettent d'obtenir des nanoparticules de magnétite aux caractéristiques structurales et morphologiques contrôlées avec une grande reproductibilité [7].

#### I.A.6.2. Microémulsion

La technique de microémulsion permet la synthèse de nanoparticules sphériques, en bâtonnets ou même sous forme de tubes. Bien que de nombreux types de nanoparticules

magnétiques aient été synthétisés d'une façon contrôlée avec cette méthode, son utilisation reste limitée car le rendement est très bas. Ajouté à cela, de grandes quantités de solvant sont nécessaires pour synthétiser des quantités appréciables d'un matériau, ce qui rend ce processus délicat à utiliser à l'échelle industrielle [7].

### **I.A.6.3. Décomposition thermique**

Les méthodes de synthèse par décomposition thermique s'inspirent de la synthèse de nanocristaux semi-conducteurs de haute qualité et des oxydes en milieu non aqueux. [8, 24, 25, 30] La synthèse de particules magnétiques avec des tailles et des formes contrôlées est réalisée par décomposition thermique de composés organométalliques dans des solvants organiques ayant une température d'ébullition élevée et en présence d'agents tensio-actifs stabilisants [28, 35, 44].

### **I.A.6.4. La méthode polyol**

L'hydrolyse forcée de sels d'ions de métaux de transition en milieu polyol est une autre voie de synthèse de ferrites spinelle. Les sels ioniques de métaux de transition se dissolvent dans les solvants polyol en raison de leur permittivité diélectrique élevée ( $\epsilon = 32$  pour le propane-1,2-diol). La taille et la morphologie des particules sont essentiellement fixées par deux paramètres : Le taux d'hydrolyse, qui est le rapport de la quantité d'eau sur la quantité de matière des cations métalliques dans le milieu et le rapport de la quantité de contre-ions (souvent des ions acétates) des sels ioniques sur la quantité des cations métalliques [7, 34]. La taille des particules obtenues est inférieure à 10 nm.

### **I.A.7. Applications du ferrofluide**

Les caractères liquide et magnétique du ferrofluide, en font un produit très intéressant en ce qui concerne ses applications. Qu'elles soient réalisées ou à l'état conceptuel, celles-ci se basent sur les avantages que présentent le matériau tels que, sa déformabilité, la possibilité de le garder à un état fixe ou le déplacer via un gradient de champ magnétique, qui en plus de ça peut être distant.

Etant constitué de petites particules dans des solvants variés, il peut également être incorporé à divers types de substances ou de matériaux [22].

Même si beaucoup de ses applications ne sont que des prototypes, la recherche et le développement des fluides magnétiques sont très actifs depuis les deux dernières décennies.

### **I.A.7.1. Impression**

Des imprimantes à jet de ferrofluides ont été mises au point. Le principe est basé sur l'extrusion du fluide magnétique à l'aide d'aimants fixes, les gouttes se fixent sur la feuille se trouvant entre le fluide et l'électrode. Les billets de un dollar sont ainsi imprimés [22].

### **I.A.7.2. Polissage**

Le polissage est un domaine où les ferrofluides peuvent apporter des améliorations.

Les grains abrasifs, incorporés au fluide, flottent dans celui-ci, ce qui permet une alimentation continue en grains abrasifs dans la zone active. De plus, l'outil de polissage flotte lui aussi sur le fluide et il existe une force de compression entre cet outil et la pièce à polir, ajustable à l'aide d'un champ magnétique, qui permet de contrôler la quantité de matière arrachée [22].

### **I.A.7.3. Etanchéité**

L'utilisation la plus courante, et réellement commerciale, est la réalisation de joints pour des systèmes d'arbres tournants, en particulier à grande vitesse. Le fluide est maintenu en place autour d'un axe par des aimants permanents annulaires. Le liquide porteur est à base d'huile, donc lubrifiant. Le fait qu'il n'y ait pas d'usure, donc pas de poussière dans le système, confère à ces joints une durée de vie très longue, supérieure à 10 ans. Ils sont également très étanches [22].

### **I.A.7.4. Lubrification**

Certaines applications utilisent le fait qu'un revêtement de fluide peut être maintenu, par exemple dans un tube, par des aimants permanents. Cette couche de fluide peut assurer la lubrification, ou améliorer l'écoulement d'un fluide et par là le transport de chaleur. Le transport de chaleur peut aussi être modifié grâce au contrôle de la convection que permet l'effet du champ sur la viscosité et l'influence d'un gradient de champ et de température sur l'aimantation et donc sur les forces en jeu dans la convection [22].

### **I.A.7.5. Amortisseurs**

Comme pour le cas du polissage, des amortisseurs inertiels utilisent l'effet de portance, la lévitation qu'exerce un fluide sur un corps, magnétique ou non. Cet effet est contrôlé par le champ magnétique. Par exemple, pour des haut-parleurs à bobine mobile, le fluide stabilise le mouvement de la bobine et réduit les distorsions du son. D'autres amortisseurs

mettent à profit le fait que la viscosité du ferrofluide soit modifiée par le champ magnétique : leur amortissement est ajusté en fonction de la charge ou du terrain en contrôlant la viscosité par le champ [22].

### **I.A.7.6. Applications à caractère biomédical**

Toute une gamme d'applications se développe actuellement dans le domaine médical et biomédical. C'est d'abord, bien sûr, la possibilité d'augmenter le contraste dans l'imagerie médicale, pour des systèmes de R.M.N. ou autres. Non seulement le signal peut être augmenté, mais également le contraste entre tissus. Il est nécessaire de savoir réaliser des ferrofluides non toxiques et que l'on peut amener dans des sites appropriés.

Le transport de molécules actives biologiquement, grâce à des ferrofluides encapsulés, est également une voie en cours d'exploration. Même si des systèmes de récepteurs biologiques spécifiques, pour des tumeurs par exemple, existent déjà et fonctionnent actuellement, le marquage de cellules à l'aide de particules magnétiques pour leur localisation ou leur séparation, pose encore des problèmes, en particulier à cause des distributions de taille des particules dans les ferrofluides, qui engendre une incertitude sur la qualité du marquage. La difficulté de fixer très spécifiquement le ferrofluide sur les cellules à marquer n'est pas encore complètement résolue, mais les travaux progressent dans ce domaine.

Cette possibilité de réaliser la séparation de cellules ou de particules est d'ailleurs utilisée également dans d'autres domaines que la biologie.

L'effet d'un gradient de champ magnétique associé aux méthodes gravimétriques augmente la facilité et l'efficacité de séparation de petits copeaux métalliques.

Il existe encore des applications très spécifiques, comme le traitement thermique local de tumeurs, où le ferrofluide est amené et fixé sur la tumeur et où un champ alternatif permet de chauffer localement par dissipation au sein du ferrofluide [22].

### **I.A.7.7. Traitement des eaux**

Le traitement des eaux et spécifiquement les eaux contaminées par les hydrocarbures, est l'un des domaines les plus étudiés pour y appliquer les ferrofluides. Le principe est simple, on utilise des fluides magnétiques surfactés. C'est à la fois grâce aux propriétés lipophiles du tensioactif et aux propriétés magnétiques des nanoparticules qu'on décontamine l'eau.

I.B. Les alginates

I.B.1. Qu'est-ce qu'un polysaccharide ?

Avant de parler des alginates, nous trouvons important la définition et la description des polysaccharides tels que les alginates, les celluloses ou les pectines.

Les polysaccharides ou polyoses, sont des glucides formés d'unités monosaccharides (sucres simples) liés par une liaison glycosidique.

En plus de la variation des monomères, de la conformation anomérique des oses ( $\alpha$  : OH du carbone anomérique et le groupe  $\text{CH}_2\text{OH}$  terminal sont de part et d'autre dans la forme cyclique de Haworth  $\beta$  : ils sont du même côté) et la séquence, la position des liaisons peut varier, ce qui confère à chaque polymère des propriétés propres à lui [39].

Quant aux monosaccharides, ils se présentent sous la forme linéaire et cyclique de Haworth en tant que pyranose (chainon à cinq carbones et un atome d'oxygène) ou furanose (hétérocycle constitué de quatre carbones et un atome d'oxygène) (*figure I.5.*).

Les préfixe D- et L- (pour Dextrogyre : à droite et Lévoogyre : à gauche) définissent l'orientation du groupement hydroxyle porté sur le carbone anomérique dans la forme linéaire (le carbone chirale du cycle osidique).

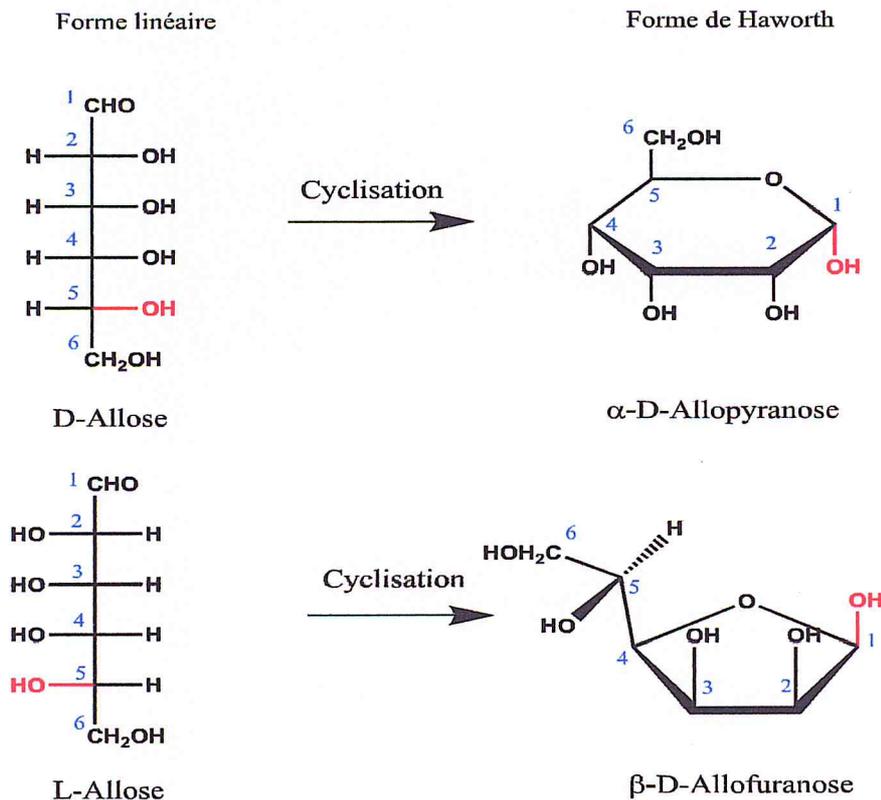


Figure I. 5: Représentation des différentes formes d'un monosaccharide

### I.B.2. Nature et découverte des alginates

L'alginate est le nom commun donné à la famille des sels d'alginate, ce sont des exopolysaccharides hydrophiles anioniques produits par des algues brunes[27] et des bactéries [11, 13], comportant jusqu'à 40 % du poids de la matière sèche (l'algue contient d'autres polymères ioniques tels que le fucoidan).[16, 21, 39] Ils sont produits sous forme d'un gel dans la matrice intercellulaire. L'acide alginique fût d'abord découvert, extrait et breveté par *Stanford* en 1881.

De nos jours, approximativement 45000 tonnes de poids sec d'alginates sont traitées annuellement d'un million de tonnes d'algues [10]. La plupart, sont extraites à partir seulement de trois des 265 espèces rapportées des algues brunes marines. La *macrocystis* est la plus commune.

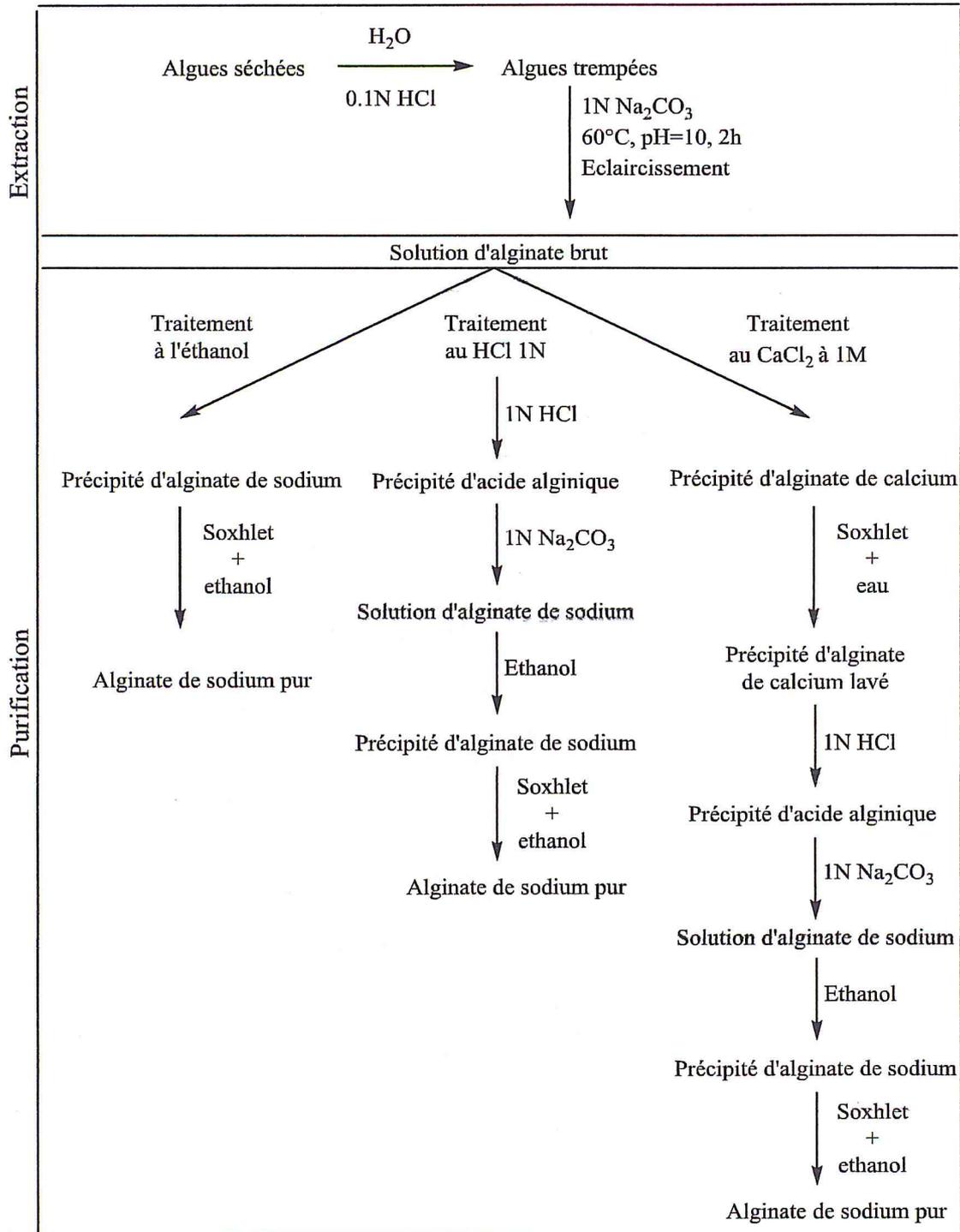


Figure I. 6 : Représentation schématique de l'extraction-purification de l'alginate de sodium via plusieurs voies à partir d'algues brunes sèches

Hormis les algues brunes, plusieurs sources microbiennes ont aussi été découvertes tels que l'*Azotobacter vinelandii* ou la *Pseudomonas aeruginosa*. À la différence des alginates algaux, ceux-ci sont acétylés et devraient être utilisés d'avantage à cause de la pollution marine.

**I.B.3. Structure chimique et caractéristiques structurales des algines**

Les algines sont dérivés de l'acide alginique, c'est donc ce dernier qu'on a étudié afin de définir sa structure ainsi que les caractéristiques qui y sont liées.

L'acide alginique est un copolymère binaire non ramifié constitué de l'acide  $\beta$ -D-mannuronique (M) et de son épimère en C-5, l'acide  $\alpha$ -L-guluronique (G) (figure I.7. (a)) liés par une liaison glycosidique en  $-(\beta 1,4)-$  et en  $-(\alpha 1,4)-$  respectivement, donnant lieu à des séquences alternées de  $\beta$ -D-mannuronique et  $\alpha$ -L-guluronique (blocs M-G et G-M) ou une alternance de blocs M-M et inversement G-G (figure I.7. (b)) [21].

L'ordre de succession des séquences de blocs MM-GG, GG-MM ou M-G, G-M (illustrées dans la figure I.7. (b)) est aléatoire et varie selon la source d'où a été extrait l'alginate [39, 40] il est d'autant plus important au niveau structural macromoléculaire [21], puisqu'il détermine les propriétés physiques, mécaniques mais aussi rhéologiques du polymère. (voir §I.B.4)

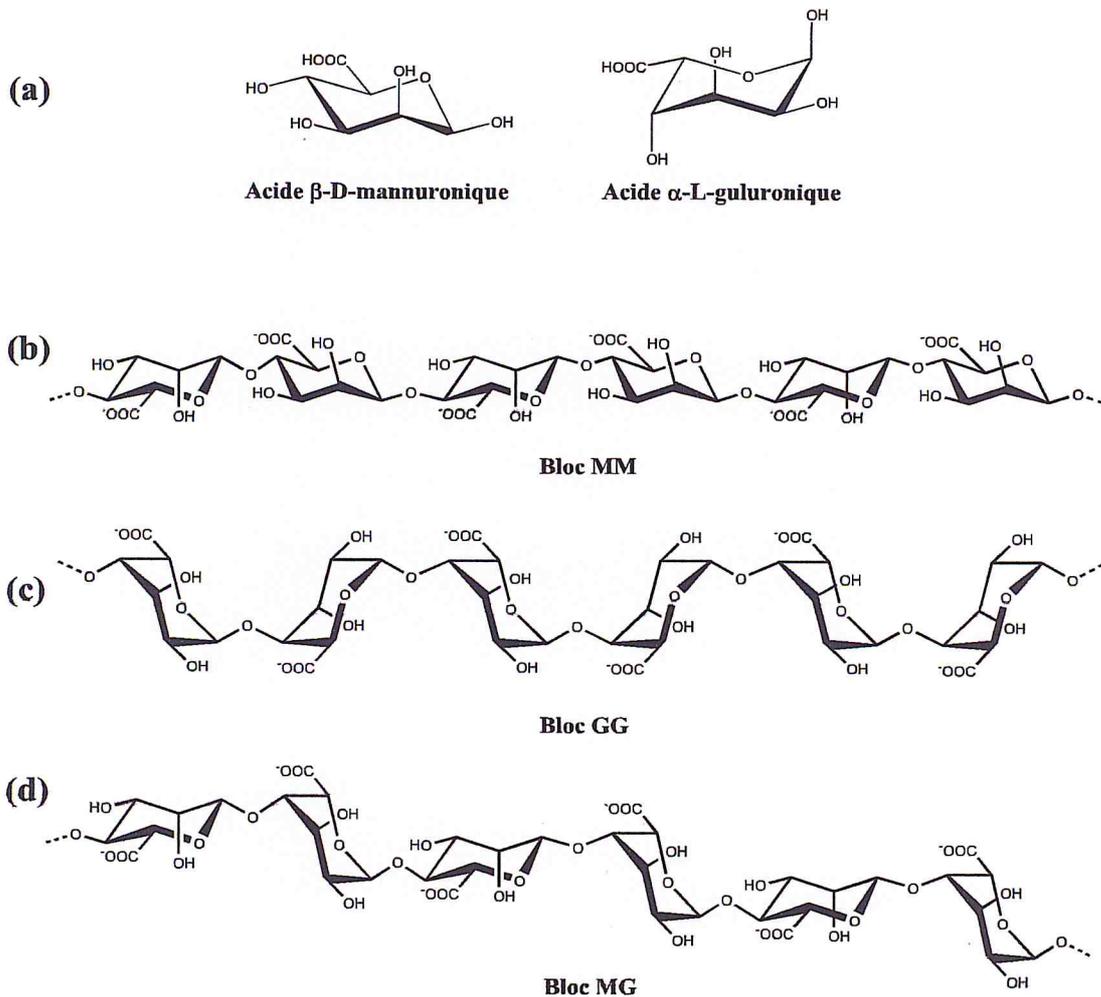


Figure I. 7: (a) Conformation chaise de l'acide mannuronique et de l'acide guluronique qui constituent l'alginate ; (b) bloc -MM- de l'alginate ; (c) bloc -GG- de l'alginate ; (d) séquence -M-G-

L'arrangement homopolymérique des résidus d'acide D-mannuronique est régi par une liaison  $-\beta-$  dans la conformation C1 tandis que celui de l'acide L-guluronique est assuré par une liaison  $-\alpha-$  en 1C de la conformation chaise. L'acide mannuronique adopte la conformation chaise la plus stable en C1 du cycle tétrahydropyrane, ce qui évite l'interaction stérique entre le groupement  $-\text{COOH}$  axial en C-5 et le groupement OH axial en C-3. Inversement, et pour des raisons similaires, la molécule guluronique adopte la conformation chaise 1C la plus stable [31].

On peut constater que les groupements  $-\text{OH}$  en C-1 et C-4, impliqués dans la formation de la liaison ( $\beta$ -1,4) du bloc  $-\text{MM}-$ , sont en position équatoriale, ce qui conduit à une structure macromoléculaire en feuillet pour le bloc  $-\text{MM}-$ .

D'autre part, la conformation chaise du monomère guluronique montre que les groupements  $-\text{OH}$  en C-1 et C-4, impliqués dans la liaison ( $\alpha$ -1,4) du bloc  $-\text{GG}-$  sont en position axiale, ce qui conduit à un agencement en hélice des blocs  $-\text{GG}-$  dans la macromolécule d'alginate [9, 12], qui est d'une importance primordiale pour la réticulation par des ions bivalents (le calcium est le plus étudié) conduisant à la gélification du biopolymère [45], ainsi que pour l'encapsulation de substances actives.

Les propriétés physiques et mécaniques ainsi que la biocompatibilité des alginates sont fortement tributaires de leur teneur relative en acides L-guluronique et D-mannuronique [17].

### **I.B.4. Propriétés des alginates**

Tout comme d'autres polyosides tels que le chitosane ou les pectines, les alginates possèdent plusieurs propriétés qui en font des candidats idéaux pour certaines applications, dont la plupart ont un intérêt biologique.

La propriété pour laquelle ils sont prisés par certains et redoutés par d'autres est la gélification (par chélation), que nous détaillons dans ce qui suit.

Les autres propriétés sont résumées dans le *tableau I.1*.

#### **I.B.4.1. La structure boîte d'œufs « *Egg-box model* »**

L'une des propriétés phares des alginates est la gélation (formation d'un gel), qui au niveau moléculaire est causée par ce qu'on appelle le modèle ou la structure en boîte d'œufs (*figure I.8. a*).

Proposée et confirmée par *Morris, Rees et Smidsrød* dans les années 1970, elle définit la structure/l'agencement formée par les blocs GG (succession de deux monomères guluroniques

au minimum). Cet arrangement des séquences guluroniques confère au biopolymère ses propriétés chélatantes et gélifiantes suite à l'ajout d'ions divalents. En d'autres termes, les propriétés chélatantes des alginate aux ions ont été initialement attribuées à des interactions spécifiques et fortes inter-chaînes entre des étendues de blocs G et l'ion divalent qui aboutit à la formation d'une jonction (*figure I.8. b)*) [16].

D'après *Smidsrød*, deux étendues hélicoïdales opposées de séquences G lient l'ion divalent aux chaînes polymériques par chélation (*figure I.8*). La sélectivité du processus provient de la géométrie d'une cavité formée par des résidus guluroniques diaxiaux liés qui est capable de loger les ions divalents. À contrario, les autres configurations de liaisons glycosidiques (diéquatoriale et axiale-diéquatoriale) ne permettraient pas un piègeage aussi rigoureux [41].

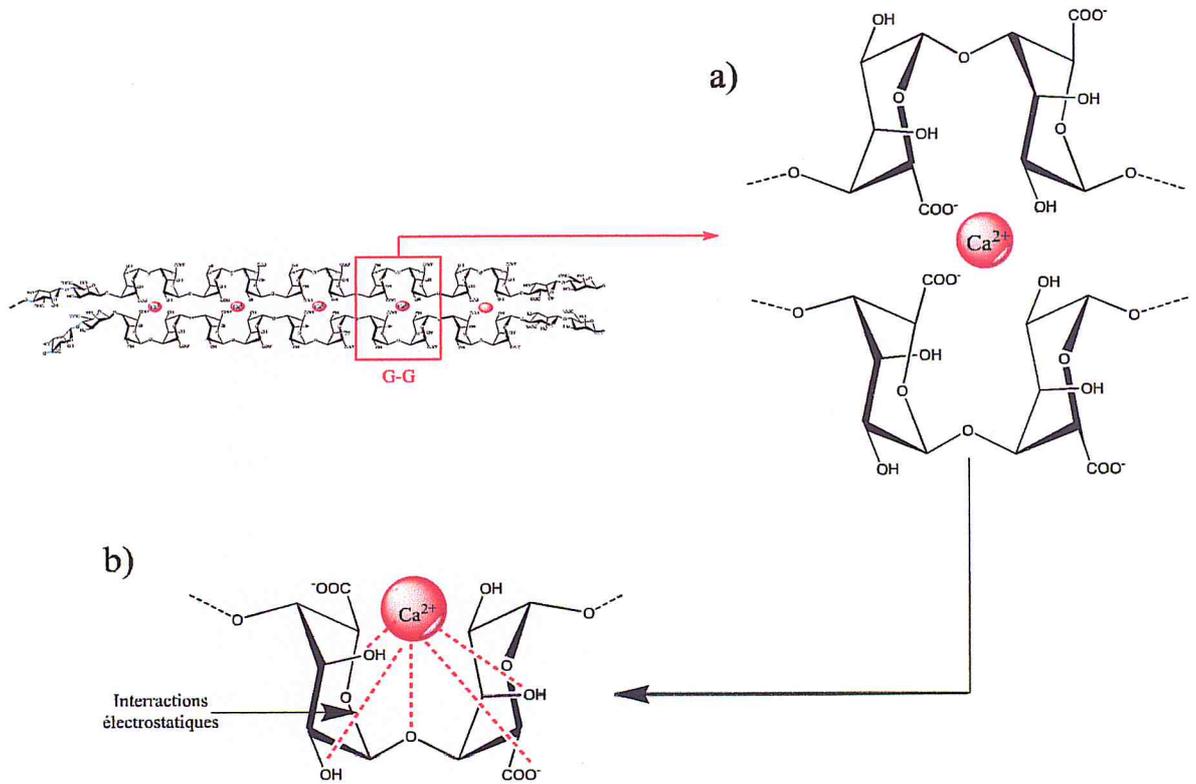
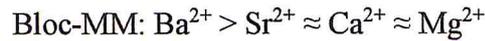
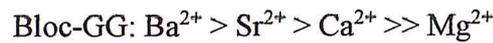


Figure I. 8 : Schéma représentatif a) modèle de boîte d'œufs (Egg-box) et b) interactions électrostatiques intervenant dans le processus de chélation du calcium

## Chapitre I : Revue bibliographique

Le biochimiste norvégien a rapporté les relations suivantes en ce qui concerne la force de fixation d'ions divalents aux trois fragments d'alginate :



Il est à noter que dans notre étude on cherche à former des solutions pour la formation de membranes et non un gel. Il est donc primordial d'éviter la gélification de notre solution, chose que nous sommes parvenus à maîtriser (*voir II.B.*).

|  |   |
|--|---|
| <b>Propriétés physico-chimiques</b>          | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Structure amorphe</li> <li>- Hydrophile</li> <li>- Soluble dans les solutions dont le pH &gt; 3.7</li> <li>- Capacité à former des liaisons hydrogène (pouvoir viscosifiant)</li> <li>- Conductivité ionique.</li> </ul> |
| <b>Propriétés électrolytes (en solution)</b> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Présence de groupements carboxyliques qui font du polymère un polyanion à pH neutre</li> <li>- Force ionique considérable</li> </ul>   |
| <b>Propriétés biologiques</b>                | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Biocompatible</li> <li>- Non-toxique</li> <li>- Biodégradable(en CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O et CH<sub>4</sub>)</li> <li>- Hémostatique</li> <li>- Antibactérien.</li> </ul>  |
| <b>Propriétés rhéologiques</b>               | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Épaississant par son pouvoir viscosifiant</li> <li>- Comportement quasi-newtonien et viscoélasticité accrue.</li> </ul>  |
| <b>Autres propriétés</b>                     | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Excellent chélatant</li> <li>- Réteneur d'eau</li> <li>- Propriétés filmogènes.</li> </ul>   |

Tableau I.1 : Propriétés des alginate

### I.B.5. Applications des alginates

L'application des alginates est beaucoup plus centrée sur l'industrie agroalimentaire avec plus de 30% de sa production pendant que le reste est orienté vers l'industrie pharmaceutique, la biomédecine et les applications dentaires.[6, 21, 29]

Etant donné que les applications des alginates sont très diversifiées, nous préférons les résumer dans le *tableau I.2* selon le domaine d'application.

| Domaine                             | Application  |
|-------------------------------------|--|
| <b>Agroalimentaire</b>              | Crèmes, desserts surgelés, milk-shakes, fromage à la crème, remplissage de gâteau et la garniture, gelées de boulangerie, margarine, sauces, vinaigrette, sirop, conservation du poisson et de la viande par revêtement avec des films d'alginates, boissons gazeuses, aliments synthétiques, etc. |
| <b>Biomédical</b>                   | Régénération tissulaire et cellulaire, micro et nano-encapsulation de principes actifs   |
| <b>Pharmaceutique et cosmétique</b> | Suspensions, gelées, émulsions et encapsulations, agent de délitement, liant, pâte dentifrice, crème à raser, crèmes et lotions, shampooings liquides, matériaux pour empreintes dentaires, composés de moulage, composé actif dans la formation d'anticorps, etc.                                 |
| <b>Papeterie</b>                    | Dimensionnement de surfaces, revêtements, adhésifs.  |
| <b>Textile</b>                      | Impression des textiles, filature et tissage de fibres temporaires à partir de l'alginate de calcium, pansements des plaies telles que : bandages, bandes adhésives, éponges chirurgicales, etc.   |
| <b>Autres applications</b>          | La fixation du <sup>90</sup> Sr et d'autres composés radioactifs divalents dans la circulation sanguine des mammifères et l'eau de mer / peintures / céramique et revêtements de moisissures / insecticides / flocculants / engrais liquides / anticorrosion, etc.                                 |

*Tableau I.2: Classification des applications des alginates d'après le domaine visé. [2, 15]*

Dans l'industrie agroalimentaire, les alginates ont pour codes européens des polycolloïdes :

- Acide alginique : E400
- Alginat de sodium : E401
- Alginat de potassium : E402
- Ammonium alginat : E403
- Alginat de calcium : E404
- Alginat de propylène glycol : E405

### I.B.6. Caractérisation des alginates

Les alginates sont le plus souvent caractérisés par leur ratio M/G, par leur viscosité et leur comportement rhéologique et par la mesure du pH.

#### I.B.6.1. Ratio M/G

Le ratio M/G définit les proportions d'unités mannuronates et guluronates présentes dans l'alginate, elles diffèrent selon la source.

Connaitre la valeur de ce paramètre est primordiale avant l'utilisation du polymère, car, plus le taux d'unités guluronates est élevé, plus le nombre de blocs -GG- accroît et la gélification devient plus facile et rapide voir inévitable en présence d'ions bivalents ou trivalent ; mais aussi influe directement les propriétés intrinsèques du polyose tel que sa solubilité ou sa viscosité.

Le ratio M/G peut être déterminé par des méthodes variées :

- 1- **Méthode chimique** : décrite par *Haug et Larsen* en 1962, elle est basée sur un traitement du polymère par de l'acide sulfurique à 20°C, suivi d'un traitement par un acide de concentration 2N à 100°C. La séparation et l'identification des deux unités se fait par chromatographie et colorimétrie respectivement [39].  
Cette méthode, présente l'avantage d'être simple et ne demande pas de matériel sophistiqué.
- 2- **Résonnance magnétique nucléaire (RMN)** : l'absorbance de certains noyaux présents dans l'alginate donne un signal, ce qui permet d'identifier les différentes entités. Cette méthode est très efficace, mais nécessite l'utilisation de solutions d'alginate diluées, du D<sub>2</sub>O (oxyde de deutérium) et d'un spectromètre RMN [33, 39, 42].
- 3- **Dichroïsme circulaire** : Le spectre de dichroïsme circulaire dépend du ratio M/G et de l'agencement des séquences mannuronates et guluronates. Elle ne requière que 10mg d'échantillon, ce qui en fait un atout pour des tests biologiques [39].
- 4- **Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)** : il s'agit d'une méthode semi-quantitative [32, 33, 39], elle est utilisée et détaillée dans la partie expérimentale de notre travail.

#### I.B.6.2. Viscosité

La viscosité des solutions d'alginate dépend de sa concentration, de la longueur des chaînes polymériques, du poids moléculaire moyen. Plus ces paramètres augmentent, plus la viscosité devient importante.

D'autre part, elle varie aussi selon le ratio M/G et la température, plus ces deux paramètres augmentent, plus la viscosité décroît.

### **I.B.6.2. Mesure du pH**

Le pH des solutions d'alginate est estimé entre 5.5 et 7. L'analyse de nos échantillons et l'interprétation des résultats seront détaillées dans la partie expérimentale.

### **I.B.7. Les alginates dans la formation de films**

Beaucoup d'investigations ont été faites concernant la préparation et l'application de films biocomposites à base d'alginates, mais aucune n'aborde l'incorporation de NPM.

#### **I.B.7.1. Films d'alginates solubles**

Ils sont préparés à partir d'une solution contenant de l'alginate de sodium avec ou sans agent plastifiant (souvent un polyol), ce dernier est utilisé pour éviter la fragilité du film [47] ce qui affecte les propriétés du biofilm (élasticité, diffusion, libération... etc).

Ce type de film est employé dans l'industrie agroalimentaire pour ses propriétés antibactériennes et antioxydantes ou biopharmaceutique voir biomédicale, par ajout d'une substance active.

#### **I.B.7.2. Films d'alginates insolubles**

Le traitement des films solubles par des ions bivalents tels que le  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  ou  $\text{Ba}^{2+}$  à l'exception du  $\text{Mg}^{2+}$  conduit à des films insolubles par réticulation des chaînes polymériques au niveau des blocs -GG- (voir § II.B.2.1. -post-traitement) [18].

L'obtention de films hydroinsolubles est aussi assurée par conversion d'un sel d'alginate soluble en un autre insoluble [5, 18], ou en utilisant avec l'alginate soluble un deuxième polymère de charges opposées tel que le chitosane.

Toutefois, nous classons quelques films préparés selon les applications visées dans le *tableau I.3.*

Pour plus de détails, veuillez consulter le chapitre six d'*Alginic acid* d'*Adrianna Moore*.

### I.B.7.3. Propriétés et caractérisation des films d'alginate

En plus des propriétés intrinsèques des alginates, les films à base de ces biopolymères, qu'ils soient hydrosolubles ou hydroinsolubles présentent les propriétés suivantes :

- Une transparence, qui disparaît avec augmentation des réticulations [18].
- Une élasticité, qui varie selon la nature et la quantité de l'agent plastifiant ajouté [38].
- Une résistance à la traction, qui varie aussi selon la nature de l'agent plastifiant ajouté [38].
- Un taux de gonflement considérable dans les solutions aqueuses. (*voir §III.1.2.2.4*)
- Des propriétés osmotiques [12].

Pour clore cette partie bibliographique, partant du principe qu'un matériau biocomposite est constitué d'au moins deux composants non-miscibles possédant une forte capacité d'adhésion, nous pouvons dire qu'elle englobe d'une façon générale et concise l'essentiel des informations requises pour entamer la partie expérimentale.

Nous rappelons que dans le chapitre suivant, nous présenterons le principal du travail effectué au laboratoire.

## Bibliographie

- [1] "Gr. Diff. Inélastique Des, Neutrons Experimental Determination of Exchange Integrals in Magnetite," *Journal de Physique Colloques*, vol. 32, pp. C1-1182-C1-1183, 1971.
- [2] Blackburn, Richard S., *Biodegradable and Sustainable Fibres*: Woodhead Pub., 2005.
- [3] Boukchiche, Faris, "Etude De Structures Coplanaires À Métamatériaux Et À Couche Magnétique," 2010.
- [4] Buschow, K. H. J., "Handbook of Magnetic Materials - 16," vol. 16, p. 542, 2006.
- [5] Clare, Kenneth "Algin," in *Industrial Gums: Polysaccharides and Their Derivatives*, Roy Lester Whistler and James N. BeMiller, Eds., 3rd ed ed San Diego: Academic Press, 1993, pp. 105–143.
- [6] d'Ayala, Giovanna Gomez, Malinconico, Mario, and Laurienzo, Paola, "Marine Derived Polysaccharides for Biomedical Applications: Chemical Modification Approaches," *Molecules*, vol. 13, pp. 2069-2106, 2008.
- [7] Daou, Toufic Jean, "Synthèse Et Fonctionnalisation De Nanoparticules D'oxydes De Fer Magnétique," p. 238, 2007.
- [8] DAOU, Toufic Jean, "Synthèse Et Fonctionnalisation De Nanoparticules D'oxydes De Fer Magnétiques," ed, 2007.
- [9] De'Nobili, M.D, Curto, L.M, Delfino, J.M, Pérez, C.D, Bernhardt, D., Gerschenson, L.N, *et al.*, "Alginate Utility in Edible and Non Edible Film Development and the Influence of Its Macromolecular Structure in the Antioxidant Activity of a Pharmaceutical/Food Interface," in *Alginate Acid: Chemical Structure, Uses and Health Benefits - Chapter 6* Adrianna Moore, Ed., ed New-York: Nova Science Publishers, Inc., 2015, pp. 119-169.
- [10] Gacesa, Peter, "Alginates," *Carbohydrate Polymers*, vol. 8, pp. 161-182, 1988.
- [11] Gorin, P. A. J. and Spencer, J. F. T., "Exocellular Alginate Acid from *Azotobacter Vinelandii*," *Canadian Journal of Chemistry*, vol. 44, pp. 993-998, 1966.
- [12] Goujon, I., "Les Alginates : Excipients D'origine Marine Utilisés Dans L'industrie Pharmaceutique - Application À La Synthèse D'un Gel Chimique," 2004.
- [13] Govan, J. R. W., Fyfe, J. A. M., and Jarman, T. R., "Isolation of Alginate-Producing Mutants of *Pseudomonas Fluorescens*, *Pseudomonas Putida* and *Pseudomonas Mendocina*," *Microbiology*, vol. 125, pp. 217-220, 1981.

- [14] Haug, Arne, Larsen, Bjørn, Fykse, O., Block-Bolten, A., Toguri, J. M., and Flood, H., "Quantitative Determination of the Uronic Acid Composition of Alginates," *Acta Chemica Scandinavica*, vol. 16, pp. 1908-1918, 1962.
- [15] Helgerud, Trond, Gåserød, Olav, Fjæreide, Therese, Andersen, Peder O., and Larsen, Christian Klein, "Alginates," in *Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents*, Alan Imeson, Ed., ed Chichester: Wiley-Blackwell, 2010, pp. 50-72.
- [16] I., Donati and Paoletti, S., "Material Properties of Alginates," in *Alginates: Biology and Applications*. vol. 13, Bernd H. A. Rehm, Ed., ed Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2009.
- [17] Klöck, Gerd, Pfeffermann, Anja, Ryser, Christoph, Gröhn, Patrik, Kuttler, Beate, Hahn, Hans-Jürgen, *et al.*, "Biocompatibility of Mannuronic Acid-Rich Alginates," *Biomaterials*, vol. 18, pp. 707-713, 1997.
- [18] Lacroix, M. and Le Tien, C., "Edible Films and Coatings from Nonstarch Polysaccharides," in *Innovations in Food Packaging*, Jung H. Han, Ed., ed Amsterdam: Elsevier, 2005, p. 517.
- [19] Massart, R and Cabuil, V., "Journal De Chimie Physique," ed, 1987, pp. 84, 967.
- [20] Meillon, Sophie, "Etude De Nouvelles Propriétés De La Magnétite Et De L'hématite après Transformation Par Irradiation Et Par Mécanosynthèse," Direction Des Technologies Avancées: Centre D'études Et De Recherches Sur Les Matériaux X - Département D'études Du Comportement Des Matériaux - Service D'études Des Solides Irradiés, Paris-Saclay 1996 1996.
- [21] Milivojevic, M., Pajic-Lijakovic, I., Levic, S., Nedovic, V., and Bugarski, B., "Alginic Acid: Sources, Modifications and Main Applications," in *Alginic Acid: Chemical Structure, Uses and Health* Adrianna Moore, Ed., ed New York: Nova Publishers, 2015, pp. 45-88.
- [22] Molho, Pierre, "Ferrofluids," in *Magnetism*, Étienne du Trémolet de Lacheisserie, Damien Gignoux, and Michel Schlenker, Eds., ed: Springer New York, 2005, pp. 337-351.
- [23] Mudshinge, Sagar R., Deore, Amol B., Patil, Sachin, and Bhalgat, Chetan M., "Nanoparticles: Emerging Carriers for Drug Delivery," *Saudi Pharmaceutical Journal*, vol. 19, pp. 129-141, 2011.
- [24] Murray, C.B., Norris, D.J., and Bawendi, M.G., "Journal of the American Chemistry Society," ed, 1993.

- [25] O'Brien, S., Brus, L., and Murray, C.B., "J. Am. Chem. Soc.," ed, 2001, pp. 123, 12085
- [26] Odenbach, S., "Ferofluids," in *Magnetism Materials and Applications*; Etienne Du Tremolet de Lacheisserie, D. Gignoux, and M. Schlenker, Eds., ed Boston: Springer, 2005.
- [27] Painter, Terence J., "Algal Polysaccharides in Aspinall, Gerald O. The Polysaccharides V. 2," in *The Polysaccharides*, GERALD O. ASPINALL, Ed., ed: Academic Press, 1983, pp. 195-285.
- [28] Park, J., An, K., Hwang, Y., Park, J.-G., Noh, H.-J., Kim, J.-Y., *et al.*, "T. Nat. Mater.," in *Nat. Mater.*, ed, 2004, pp. 3, 891.
- [29] Pawar, Siddhesh N. and Edgar, Kevin J., "Alginate Derivatization: A Review of Chemistry, Properties and Applications," *Biomaterials*, vol. 33, pp. 3279-3305, 2012.
- [30] Peng, X. and Wickham, J. Alivisatos, A.P., "J. Am. Chem. Soc.," ed, 1998, pp. 120, 5343.
- [31] Penman, A. and Sanderson, G. R., "A Method for the Determination of Uronic Acid Sequence in Alginates," *Carbohydrate Research*, vol. 25, pp. 273-282, 1972.
- [32] Pereira, Leonel and Neto, Joao Magalhaes, *Marine Algae: Biodiversity, Taxonomy, Environmental Assessment, and Biotechnology*: CRC Press, 2014.
- [33] Pereira, Leonel, Amado, Ana M., Critchley, Alan T., van de Velde, Fred, and Ribeiro-Claro, Paulo J. A., "Identification of Selected Seaweed Polysaccharides (Phycocolloids) by Vibrational Spectroscopy (Ftir-Atr and Ft-Raman)," *Food Hydrocolloids*, vol. 23, pp. 1903-1909, 2009.
- [34] Poul, L., Ammar, S., Jouini, N., Fiévet, F., and Villain, F, "J. Sol-Gel Sci. Tech.," ed, 2003, pp. 26, 261.
- [35] Redl, F.X., Black, C.T., Papaefthymiou, G.C., Sandstrom, R.L., Yin, M., Zeng, H., *et al.*, "J. Am. Chem. Soc.," ed, 2004, pp. 126, 14583.
- [36] Rees, David Allan, *Polysaccharide Shapes*. London, 1977.
- [37] Šafařík, Ivo, Pospíšková, Kristýna, Horská, Kateřina, Maděrová, Zdeňka, and Šafaříková, Mírka, "Magnetically Responsive (Nano)Biocomposites," in *Intracellular Delivery II*. vol. 7, Aleš Prokop, Yasuhiko Iwasaki, and Atsushi Harada, Eds., ed Dordrecht: Springer Netherlands, 2014, pp. 17-34.

- [38] Santana, A. A. and Kieckbusch, T. G., "Physical Evaluation of Biodegradable Films of Calcium Alginate Plasticized with Polyols," *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, vol. 30, pp. 835-845, 2013.
- [39] Sartori, Celine, "The Characterisation of Alginate Systems for Biomedical Applications," Brunel University School of Engineering and Design PhD Theses, 1997.
- [40] Smidsrød, Olav and Skjåk-Bræk, Gudmund, "Alginate as Immobilization Matrix for Cells," *Trends in Biotechnology*, vol. 8, pp. 71-78, 1990.
- [41] Smisrod, Olav, Grasdalen, Hans, and Larsen, Bjorn, "<sup>13</sup>C-N.M.R. Studies of Monomeric Composition and Sequence in Alginate," *Carbohydrate Research*, vol. 89, pp. 179-191, 1981.
- [42] Smisrod, Olav, Larsen, Bjorn, and Grasdalen, Hans, "<sup>13</sup>C-N.M.R. Studies of Monomeric Composition and Sequence in Alginate," *Carbohydrate Research*, vol. 89, pp. 179-191, 1981.
- [43] Stanford, E.C.C., "Barton," ed: Google Patents, 1886.
- [44] Sun, S., Zeng, H., Robinson, D.B., Raoux, S., Rice, P.M., Wang, S.X., *et al.*, "J. Am. Chem. Soc.," ed, 2004, pp. 126, 273.
- [45] Urquiza, Turner K. Vidal, Pérez, O. Perales, and Saldaña, M. Gálvez. (2011). *Effect of the Cross-Linking with Calcium Ions on the Structural and Thermo-Mechanical Properties of Alginate Films*.
- [46] Vayssières, L., Chanéac, C., Tronc, E., and Jolivet, Jp, "Size Tailoring of Magnetite Particles Formed by Aqueous Precipitation: An Example of Thermodynamic Stability of Nanometric Oxide Particles," *Journal of colloid and interface science*, vol. 205, pp. 205-212, 1998.
- [47] Vieira, Melissa Gurgel Adeodato, da Silva, Mariana Altenhofen, dos Santos, Lucielen Oliveira, and Beppu, Marisa Masumi, "Natural-Based Plasticizers and Biopolymer Films: A Review," *European Polymer Journal*, vol. 47, pp. 254-263, 2011.

---

# Partie expérimentale

---

---

# **Chapitre II**

## **Matériels et méthodes**

---

Le travail résumé dans ce chapitre est divisé en deux parties tout comme dans le précédent, la première partie consiste en la synthèse d'un ferrofluide aqueux à base de magnétite en milieu alcalin. La deuxième, concerne la préparation des films d'alginate vierges et des films biocomposites alginates-nanoparticules de magnétite.

Le matériel, les méthodes utilisées et les différentes méthodes de caractérisations réalisées y sont décrits.

### II.A. Le ferrofluide

#### II.A.1. Choix de la méthode de synthèse des NPM

Le choix de la méthode détermine avant tout la nature du ferrofluide souhaité, mais surtout dépend de la disponibilité du matériel et des réactifs.

Pour notre part, nous avons opté pour la co-précipitation d'ions ferreux et ferriques en milieu alcalin, développée par *René Massart* et réadaptée par *Berger*[8].

#### II.A.2. Réactifs

- Chlorure ferreux  $\text{FeCl}_2$  de chez *Panreac*®.
- Chlorure ferrique  $\text{FeCl}_3$  et Tetraméthylammonium de chez *Fluka*®.
- Ammoniac concentrée à 30% de chez *Sigma-aldrich*®.
- Eau déionisée.

#### II.A.3. Protocole expérimental

##### a. Préparation des solutions de chlorure ferreux et ferrique

Deux solutions de chlorure ferreux et ferrique ont été préparées en proportions molaires 1:2 respectivement.

- Solution de  $\text{FeCl}_2$  (n°1) :
  - Dissoudre 0.813g de  $\text{FeCl}_2$  dans 50ml d'eau.
- Solution de  $\text{FeCl}_3$  (n°2) :
  - Dissoudre 1.98g de  $\text{FeCl}_3$  dans 50ml d'eau.

##### b. Synthèse du ferrofluide

La synthèse du ferrofluide se passe en deux phases. En premier, la préparation des nanoparticules de magnétite. Puis, leur mise en suspension dans le HTMA.

Dans la première phase, on procède à un mélange de  $\text{FeCl}_2$  et  $\text{FeCl}_3$  en proportions volumiques (ml) 1:2 dans un bécher. Ensuite, nous y ajoutons goutte à goutte 50ml d'ammoniac à l'aide d'une pipette pasteur pour atteindre un pH basique  $\sim 11.5$ .

La formation des nanoparticules a lieu en milieu alcalin. Il est important d'ajouter l'hydroxyde d'ammonium goutte-à-goutte car c'est ce qui détermine la taille des nanoparticules.

Nous remarquons tout de suite le noircissement du mélange, ce qui indique la formation de la magnétite.

Nous laissons la réaction sous agitation, pendant 15 minutes après épuisement de l'ammoniac.

Puis, on décante magnétiquement les NPM en mettant un aimant en-dessous du bécher. Ce qui permet de former un agglomérat de magnétite et d'avoir l'ammoniac en surnageant.

En maintenant l'aimant en position, on verse l'ammoniac et on effectue trois lavages pour éliminer toute trace de sels et abaisser le pH jusqu'à 7.

En deuxième phase, on ajoute 2ml de HTMA à la magnétite et on agite pendant 05 minutes.

Enfin, on récupère le ferrofluide.

Les étapes sont illustrées dans la figure II.1.

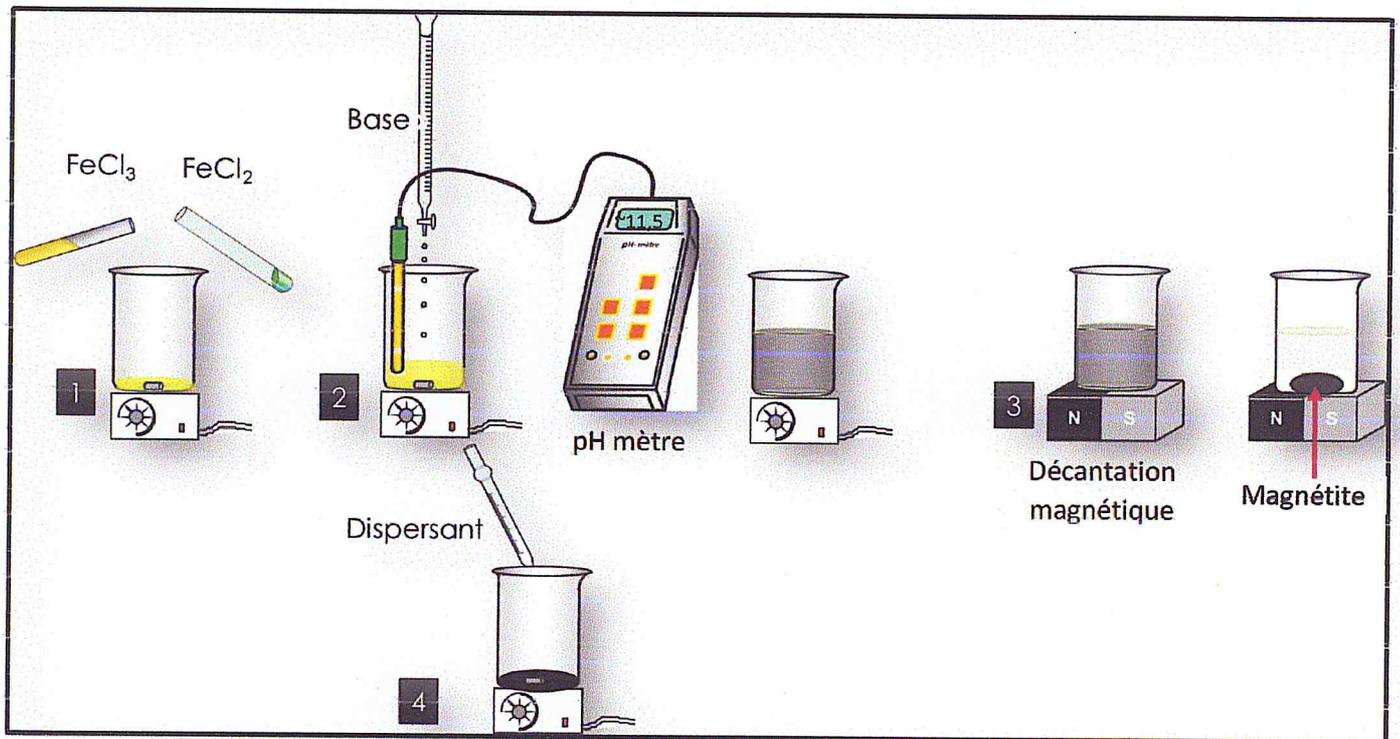


Figure II. 1 : Schéma explicatif de la synthèse d'un ferrofluide aqueux à base de nanoparticules de magnétite



## II.A.4. Caractérisation du ferrofluide

### II.A.4.1. Test visuel et magnétique

Le ferrofluide préparé a été soumis à des tests visuels sous l'influence d'un champ magnétique. Un aimant au néodyme a été mis à proximité d'un échantillon du ferrofluide. Puis, on a suivi son comportement.

Le test est illustré dans la partie résultats et discussions.

### II.A.4.2. Caractérisation structurale et morphologique

#### ❖ Infrarouge à transformée de Fourier

Une analyse IRTF a été effectuée sur l'échantillon de magnétite (Ferrofluide séché à 120 °C pendant 48h).

L'analyse spectrométrique infrarouge des échantillons a été faite par l'intermédiaire d'un spectromètre de type JASCO FTIR-4100® (figure II.2) de nombre d'onde compris entre 4000 et 380  $\text{cm}^{-1}$ . Les échantillons sont sous forme de pastilles, préparées à base de KBr (0,2g) avec une faible quantité (0,0001g) de poudre de NPM nues en premier et de poudre de ferrofluide en deuxième.

#### ❖ Diffraction à rayon X

L'analyse DRX vient compléter l'IRTF pour confirmer la formation de la magnétite, mais aussi donne des informations structurales sur le matériau (système ordonné ou désordonné).

Les nanoparticules magnétiques ont été séchées dans une étuve à 120°C pendant 20h. L'échantillon étant sous forme de cristaux, il a été finement broyé. Cet échantillon est nommé NPMs. Une quantité des nanoparticules a été traitée à 400 °C, puis 700 °C pendant 4h dans un four de chaux pour étudier leur comportement thermique. Ces échantillons sont nommés NPMt<sub>400</sub> et NPMt<sub>700</sub>.

La caractérisation s'est faite à l'aide du diffractomètre à poudre D2 PHASER de Bruker® équipé d'une source CuK $\alpha$  ( $\lambda=1.541874 \text{ \AA}$ ) et paramétré à un intervalle d'angle  $2\Theta = [15^\circ-55^\circ]$ .

Le paramètre de maille a été déduit de la loi de Bragg (II.1) et de l'équation établie pour une maille cubique (II.2).[7]

$$d_{hkl} = \frac{\lambda}{2 \sin \theta} \quad (\text{II.1})$$

$$a = d_{hkl} \sqrt{h^2 + k^2 + l^2} \quad (\text{II.2})$$

Où :  $d_{hkl}$ , est l'espace interatomique d'un plan cristallin  $hkl$ .

$\theta$ , est l'angle du faisceau incident.

$\lambda$ , est la longueur d'onde des rayons X.

$h, k, l$ , sont les indices de Miller d'un plan cristallographique.

La taille moyenne des cristallites (nanoparticules dans ce cas) de chaque échantillon a été déterminée avec la loi de Debye-Scherrer (II.3).

$$t = \frac{k\lambda}{\beta \cos\theta} \quad (\text{II. 3})$$

Où :  $t$ , est le diamètre des cristallites.

$k$ , est un coefficient de forme (0.93 pour une maille cubique).

$\beta$ , est la largeur à mi-hauteur en radians.

#### II.A.4.3. Propriétés interfaciales (tension superficielle)

Afin d'étudier la variation de la tension de surface du ferrofluide en fonction de la température, à l'état de repos et sous effet d'un champ magnétique. Nous avons utilisé la méthode d'arrachement, plus connue sous le nom de l'anneau de Lecompte du Noüy.

La méthode consiste à mesurer la force nécessaire pour arracher un anneau en fil métallique du liquide, cette force étant donnée en multipliant la tension superficielle par le périmètre de la surface arrachée.[23]

$$\gamma = \frac{F_{\max}}{4\pi r} \quad (\text{II. 4})$$

Où :  $\gamma$  est la tension superficielle.

$F_{\max}$  est la force nécessaire pour arracher l'anneau, elle est donnée par  $F_{\max} = F - mg$

$m$  est la somme des masses de l'anneau métallique, du fil et de l'anneau d'accrochage.

$g$  est la pesanteur  $9.81 \text{ m.s}^{-2}$ .

$r$  est le rayon de l'anneau.

Des facteurs de corrections limitent l'imprécision à 0,25%, la surface étant perturbée lors de chaque mesure.

Le tensiomètre utilisé est de type K6 de KRÜSS (figure II.3). Constitué d'une plateforme horizontale qui doit être en équilibre pour des mesures précises. Le cœur de l'appareil est un fil de torsion, qui est relié à un anneau de mesure.

Pour effectuer la mesure, l'anneau est immergé dans l'échantillon à 2 mm et retiré lentement en tordant le fil avec un disque tournant. À la déflexion de l'anneau, est indiquée la tension superficielle sur une échelle qui est calibrée pour la tension de surface.

Le résultat de la mesure est indiqué avec une précision à 1 mN / m.

Les mesures ont été faites à plusieurs températures en chauffant l'échantillon avant leur prise.

## II.B. Biomembranes d'alginate de sodium et biocomposites alginate-NPM

### II.B.1. Réactifs

Les réactifs cités ci-dessous ont été utilisés tels quels, sans aucune purification supplémentaire.

| Réactif                 | Fournisseur                       | Rôle dans la formulation               | Principales propriétés       |
|-------------------------|-----------------------------------|--|------------------------------|
| Na-Alg (M/G = 1.56)[22] | <i>Sigma-aldrich</i> <sup>®</sup> | Polymère de base pour la filmification | Filmification/gélification   |
| CaCl <sub>2</sub>       | <i>Panreac</i> <sup>®</sup>       | Agent de réticulation                  | Réticulation/déshumification |
| Glycérine (99% (p/v))   | <i>Panreac</i> <sup>®</sup>       | Agent plastifiant                      | Plastification               |

Tableau II. 1 : Liste des réactifs utilisés pour la préparation des solutions filmogènes de base (vierges)

### II.B.2. Préparation des biomembranes

Avant de s'être fixés sur une méthode de confection des films biopolymériques, plusieurs procédés ont été effectués et qui sont classés conjointement avec les formules sélectionnées dans le *tableau III.2*.

La formule de base a été inspirée d'après les travaux de *Divyabharathi M.*

Deux types de films ont été préparés lors de cette étape, l'un vierge et l'autre contenant des nanoparticules de magnetite synthétisées précédemment.

Partant des propriétés des matériaux utilisés (celles du chlorure de calcium en l'occurrence) pour la préparation des membranes biopolymériques, il nous a été permis d'établir une seconde méthode pour la préparation de films insolubles qu'on nommera *in-situ*.

### II.B.1. Méthode classique « coulage ; post-traitement »

- **Biomembranes vierges**

Une solution a été préparée en dissolvant 4 g d'alginate de sodium dans 200 ml d'eau distillée (2% (p/v)) sous agitation vigoureuse avec ajout de glycérine avec un rapport de 5:1 (v/v) comme agent plastifiant.

Par la suite une solution de chlorure de calcium à 0.25% a été ajoutée goutte à goutte à la première solution avec un rapport (v/v) 10:1. L'ajout du  $\text{CaCl}_2$  permet de remplacer l'ion  $\text{Na}^+$  par le  $\text{Ca}^{2+}$ , ce qui arrange l'ordre macromoléculaire des chaînes polymériques et diminue la solubilité de la membrane formée à la fin. Le mélange a par la suite été soniqué à l'aide d'un bain à ultrasons de type « *Elmasonic S025EL* » afin d'éliminer toute bulle d'air.

Les films ont été préparés par coulage de 2 ml du mélange dans une boîte de pétri en verre de 3 cm de diamètre pour obtenir une épaisseur de 0.05 mm après séchage. Le séchage s'est fait à l'air libre pendant 48 h.

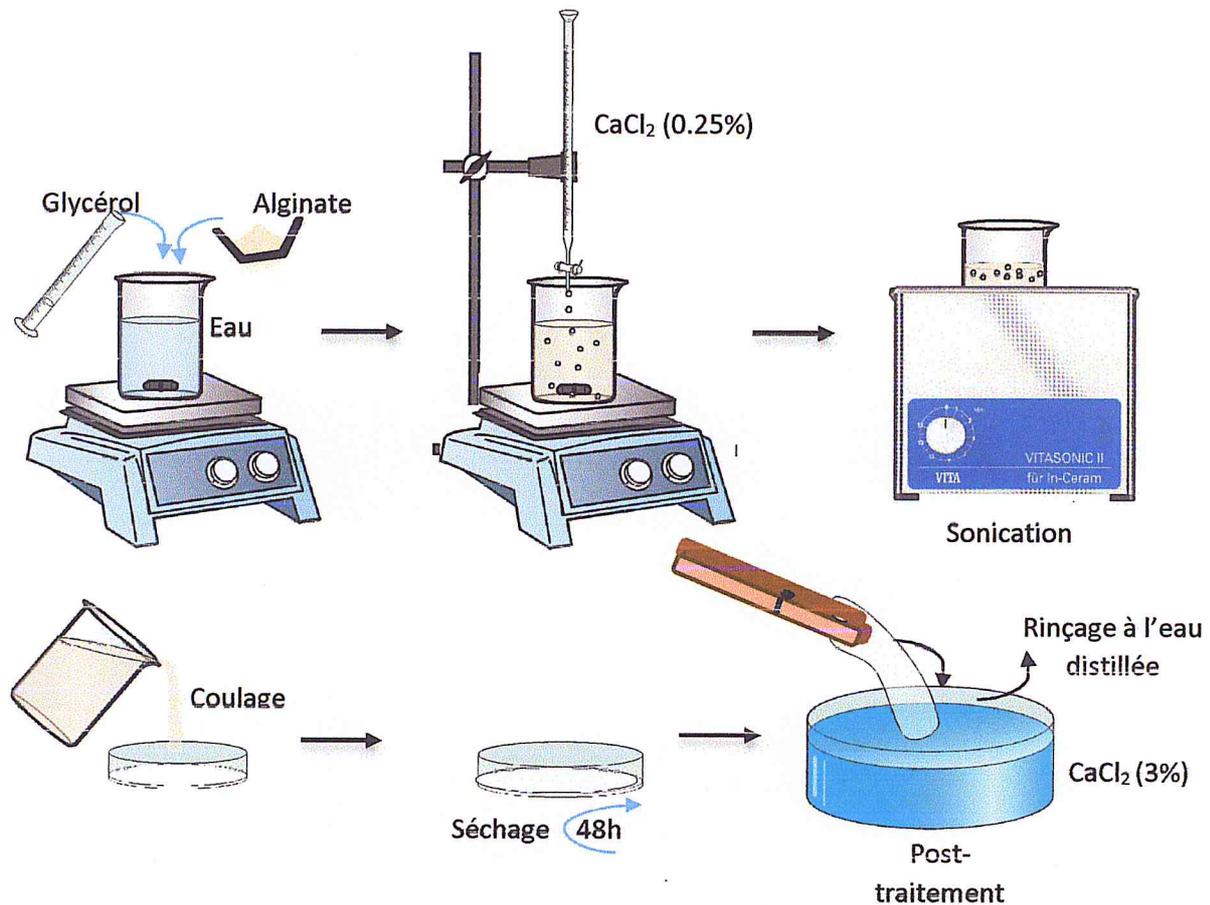


Figure II. 2: Schéma descriptif du procédé de préparation des biomembranes de Na-Alg videntes hydroinsolubles avec post-traitement

- **Membranes biocomposite Na-alginate-NPM**

La même solution filmogène primaire a été préparée, dans laquelle une quantité de nanoparticules de magnétite avec un rapport NPM/solution filmogène de 1:100(p/v) a été dissoute par sonication et agitation mécanique simultanément.

Pour les mêmes raisons, une solution de chlorure de calcium a été additionnée comme décrit précédemment. Une filtration s'impose en cas de formation d'agglomérats, ainsi qu'une sonication pour éliminer les bulles d'air.

Le coulage ainsi que le séchage est effectué de la même manière que pour les films vierges.

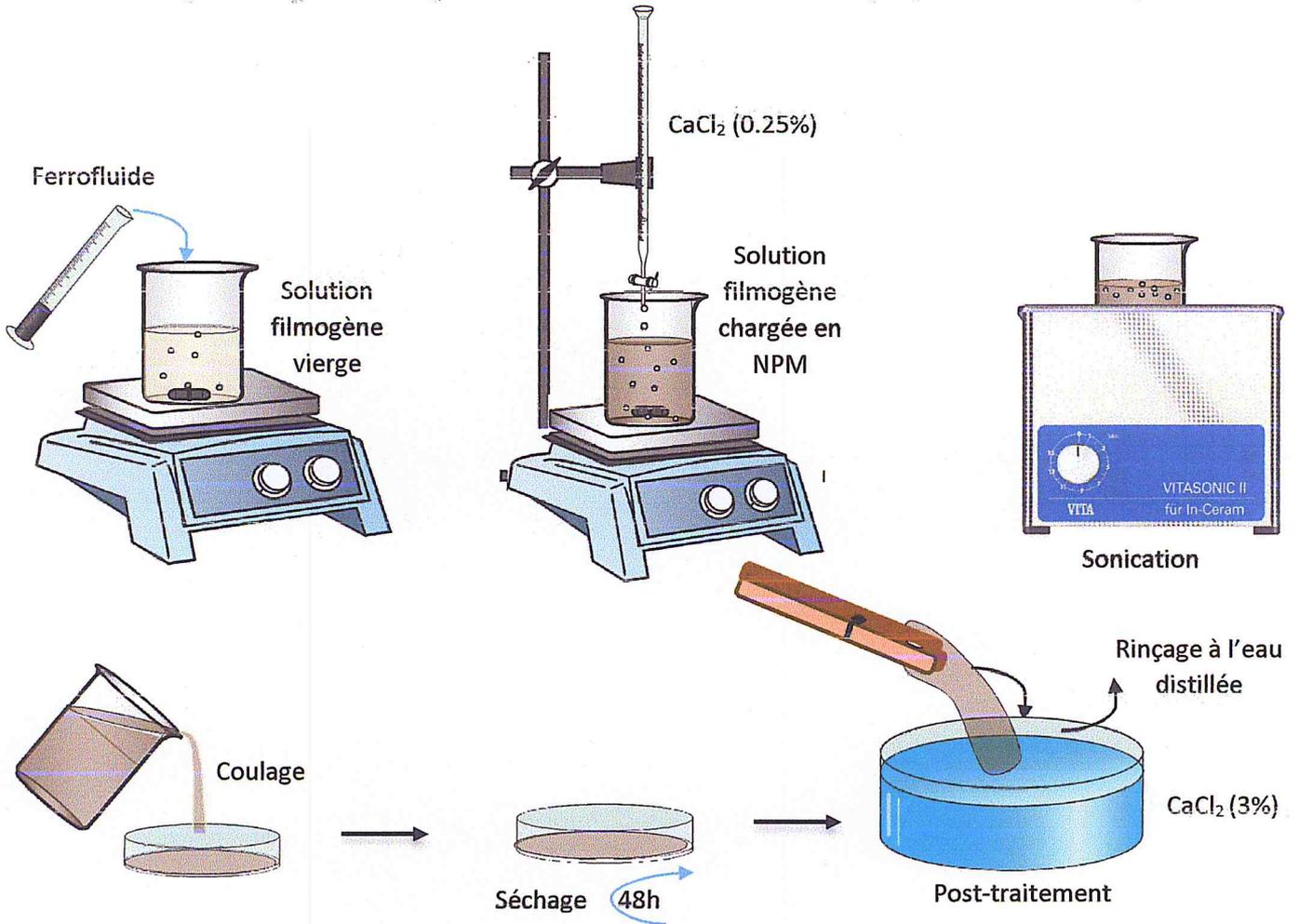


Figure II. 3: Schéma descriptif du procédé de préparation des membranes biocomposites Alg-NPM hydroinsolubles avec post-traitement

### ➤ Post-traitement des membranes

Les films préparés jusqu'ici sont hydrosolubles. Pour y remédier, ils sont immergés dans une solution de chlorure de calcium à 3% pendant 30 secondes, puis rincés pour éliminer l'excès en chlorure de calcium.

Le phénomène physico-chimique qui se produit lors de cette étape est la réticulation des chaînes polymériques se trouvant à la surface des films, les groupements hydroxyles des séquences GG sont chélatés et ne peuvent interagir avec un milieu aqueux. D'où leur insolubilité.

### II.B.2. Méthode *in-situ*

- **Biomembranes vierges**

02 ml de la solution de filmification de départ est versée dans une boîte de pétri. Ensuite, une quantité de chlorure de calcium à 3% a été ajoutée précautionneusement, puis retirée après trois (03) minutes. La formation du film est immédiate.

Le tout est finalisé par un lavage à l'eau distillée et un séchage à l'air libre pendant 48 h.

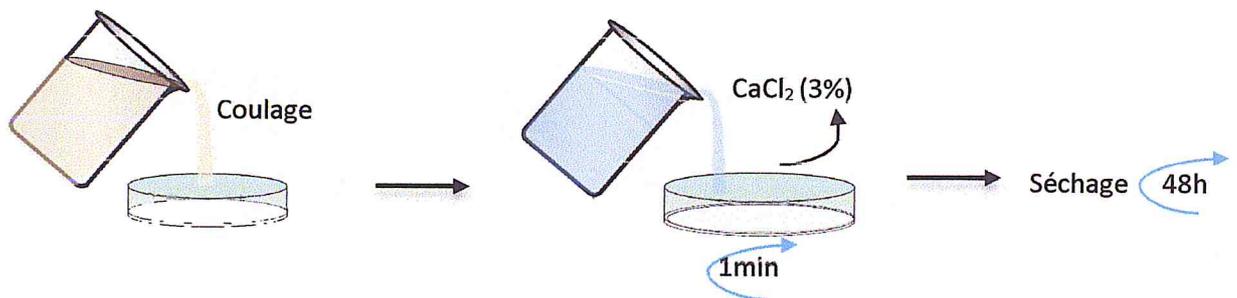


Figure II. 4 : Schéma descriptif de la méthode *in-situ* pour la préparation des biomembranes de Na-Alg insoluble

- **Membranes biocomposites**

La même solution de départ utilisée pour l'élaboration de films composites Na-alginate-NPM avec post-traitement est utilisée, à la seule différence qu'on procède comme cité dans le paragraphe précédent.

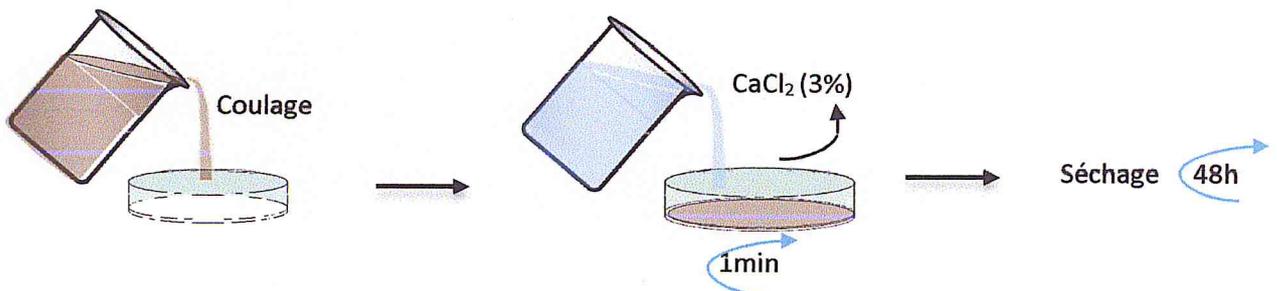


Figure II. 5: Schéma descriptif de la méthode *in-situ* pour la préparation des membranes biocomposite Alg-NPM insolubles

### II.B.3. Caractérisation des solutions filmogènes

Etant donné que la formation des films biopolymériques se fait à partir des solutions de filmification, quelques tests physico-chimiques sont donc essentiels afin de collecter un maximum de données.

Les propriétés physico-chimiques (tels que la viscosité, la conductivité, le pH et la tension superficielle) ont été déterminées et classées dans le *tableau III.1*.

#### II.B.3.1. Test de viscosité

Le test de viscosité a été effectué sur les deux principales solutions filmogènes à base de 2% d'alginate de sodium, celle neutre (ne contenant pas de NPM) et celle chargée en NPM à une température fixe de 24,5°C.

La solution à analyser est mise dans un porte-échantillon, dans lequel deux fines plaques détectrices en or sont immergées électromagnétiquement dans la solution analysée. La valeur de la viscosité s'affiche sur l'écran de l'appareil.

Le viscosimètre utilisé est de type « AND® SV-10 »

#### II.B.3.2. Conductimétrie électrique

Les solutions d'alginate sont connues étant polyélectrolytes à un pH plus ou moins neutre.[20]

La conductivité est mesurée directement sur chaque solution filmogène (vierge et magnétique) à une température fixe de 24,5°C.

La mesure est effectuée à l'aide d'un conductimètre de type « Adwa AD1030 »

#### II.B.3.3. Mesure du pH

Connaitre le pH des solutions est important, puisqu'il peut déterminer si l'on peut utiliser les membranes préparées dans une application visée tout en gardant la stabilité du système.

Le pH des deux types de solutions polymériques (non chargée et chargée en NPM) a été mesurée à 24,5°C avec un pH mètre de type « Martini Mi 151 » (*figure II.10*) équipé d'une cathode en verre. L'appareil a été calibré au préalable, à pH=4 , pH= 7,4 et pH= 10.

#### **II.B.3.4. Propriétés interfaciales (tension superficielle)**

Les mesures de la tension superficielle à différentes températures ont été faites de la même manière que citée dans le §II.A.4.4.

Le tensiomètre utilisé est le même que précédemment ; de type « K6 » de KRÜSS (figure II.11).

#### **II.B.4. Caractérisation des biomembranes**

##### **II.B.4.1. Magnétisme et test visuel**

N'ayant pas accès à une méthode d'analyse magnétique avancée par magnétométrie à échantillon vibrant, nous n'avons été dans la possibilité d'établir les courbes d'hystérésis pour les films composites magnétiques.

Cependant, nous avons testé leur comportement sous l'action d'un champ magnétique en utilisant un aimant au néodyme.

##### **II.B.4.2. Epaisseur des biomembranes**

L'épaisseur des films biopolymériques et biocomposites a été mesurée à l'aide d'un pied à coulisse au laboratoire du département de physique.

L'erreur de l'instrument est estimée à 0.001mm.

##### **II.B.4.3. Caractérisation morphologique et structurale**

###### **❖ Caractérisation par Infrarouge à transformée de fourrier**

Comme pour les nanoparticules de magnétite, nous avons effectué une analyse IRTF sur la poudre d'alginate de sodium utilisée pour la préparation des films biopolymériques.

Une pastille à base de KBr a été préparée pour l'analyse de l'échantillon.

Quant aux films d'alginate et composites Na-alginate-NPM, l'analyse a été directement effectuée sur les échantillons séchés.

L'appareil utilisé est le même, un spectromètre de type « JASCO FTIR-4100® » de nombre d'onde compris entre 4000 et 400  $\text{cm}^{-1}$ .

###### **• Détermination du ratio M/G par IRTF**

Le but du travail ici, est de confirmer que le ratio M/G de l'alginate utilisé est de l'ordre de 1.56 avec une marge d'erreur de 10% au plus. Pour ce faire, on utilise la méthode de Mackie (1971), Phillipov et Kohn (1974) et Sakugawa et al. (2004) appelée aussi la technique KBr en référence des pastilles préparées à base de KBr.

Elle est basée sur le rapport d'absorbances des bandes suivantes :  $A_{808}/A_{787}$ ,  $A_{1320}/A_{1290}$  et  $A_{1030}/A_{1080}$  respectivement.

La valeur la plus proche de celle de la littérature est choisie. [15, 44]

**N.B :** Cette caractérisation n'a été effectuée que sur l'échantillon d'alginate pur.

#### ❖ Caractérisation par Diffraction à rayon X

La cristallinité et la pureté de phase ont été déterminées par DRX sur poudre au Centre de recherche et développement de Sonatrach de Boumerdes.

L'appareil utilisé est le X'Pert Pro MPD de PANalytical équipé d'un goniomètre thêta-thêta, d'une anti-cathode de cuivre avec une longueur d'onde  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda=1.541874 \text{ \AA}$ ) et paramétré à un intervalle d'angle  $2\theta = [2-55]$ .

L'analyse a été faite sur les échantillons de films préparés *in-situ* seulement.

#### ❖ Caractérisation par Microscopie électronique à balayage

La morphologie de surface du film magnétique préparé *in-situ* et validé d'après les caractéristiques qu'il présente, a été observée par microscopie électronique à balayage (MEB) avec deux grossissements l'un à x50000 et l'autre à x200000.

Les images étant de mauvaise qualité, un traitement avec les logiciels Fiji et Aphelion a été effectué pour faire apparaître les NPM et calculer la taille moyenne ainsi que la distribution granulométrique.

Le microscope à balayage utilisé est de type *Quanta 600* de FEI®.

#### **II.B.4.4. Taux de gonflement et capacité de rétention d'eau des biomembranes**

Le taux de gonflement des films a été déterminé selon la méthode de *Turbiani (2007)*.

La masse initiale ( $m_i$ ) de chaque film (sec) validé pour cette caractérisation d'après nos observations a été mesurée. Chacun d'eux a été immergé dans la solution de TPS à pH = 6.7 à différents intervalles de temps, puis pesé ( $m_t$ ). Le processus a été répété jusqu'à ce que la masse des films imbibés soit constante.

L'excès de solvant à la surface des films est éliminé à l'aide d'un papier filtre avant chaque pesée des films imbibés.

Quant à la capacité en rétention d'eau/solvant, elle définit la quantité d'eau retenue par les films à travers le temps.

Les deux paramètres sont calculés grâce à l'équation II.5 et l'équation II.6.

$$\%G = \frac{m_t - m_i}{m_i} \times 100 \quad (\text{II.5})$$

Où :  $\%G$ , est le taux de gonflement en pourcentage.

$m_t$ , est la masse du film immergé dans l'eau distillée après un temps  $t$ .

$m_i$ , est la masse initiale du film séché.

$$\%P = \frac{m_t - m_i}{m_i} \times 100 \quad (\text{II.6})$$

Où :  $\%P$ , est le taux d'eau en pourcentage.

$m_t$ , est la masse du film après un temps  $t$ .

$m_i$ , est la masse initiale du film gonflé.

#### II.B.4.5. Tests de diffusion des biomembranes

La diffusion des films biopolymériques vierges et biocomposites a été étudiée par spectrométrie UV-Visible à  $\lambda = 660$  nm, sur les quatre films validés dans une solution tampon phosphate salin de pH= 6.7 contenant du bleu de méthylène à  $0.8 \mu\text{M}$ .

Le dispositif du test *in-vitro* est basé sur le principe de la cellule de *Franz*, il comprend une cellule de *Lovenox*<sup>®</sup> ayant un orifice de 1.2 cm de diamètre qu'on recouvre de film. La cellule est déposée sur un support en bois et est immergée à une certaine profondeur dans le bain de TPS-BM.

L'intérieur de la cellule est rempli de TPS vierge ( $S_i$ ) jusqu'au niveau du bain et le haut de la cellule est laissé découvert, afin d'éviter tout effet de pression et procéder à pression atmosphérique.

Un étalonnage de la solution de bleu de méthylène à différentes concentrations a été fait et l'absorbance de la  $S_i$  est mesurée à des intervals de temps pour évaluer la quantité de BM diffuse à travers le film.

La concentration en bleu de méthylène dans la  $S_i$  est calculée d'après la loi de *Beer-Lambert* (III.7)

$$A = \varepsilon.l.C \quad (II.7)$$

Où :  $A$ , est l'absorbance mesurée (sans unité)

$\varepsilon$ , est le coefficient d'extinction molaire (exprimé en  $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ )

$l$ , est le trajet optique (exprimé en cm)

$C$ , la concentration de l'analyte (exprimée en mol/l)

**N.B** : La majorité des appareils utilisés pour la caractérisation des NPM, des solutions filmogènes ainsi que les biomembranes préparées au laboratoire sont illustrés dans sous forme de figures dans l'annexe. Le dispositif utilisé pour le test de diffusion y figure aussi.

---

# Chapitre III

## Résultats et discussions

---

Les résultats obtenus suite à la préparation du ferrofluide (nanoparticules magnétiques) et des membranes biologiques (d'alginate de sodium et composites alginate-NPM) sont démontrés dans ce chapitre.

L'ordre des paragraphes diffère des deux chapitres précédents. Les résultats sont répartis selon le type de produits analysés (solution, fluide et film), ensuite selon le type de caractérisation effectuée.

### III.1. Caractérisation

#### III.1.1. Caractérisation des solutions filmogènes

Les quelques propriétés physico-chimiques des solutions filmogènes (vierge et contenant des nanoparticules magnétiques) étudiées au sein du laboratoire à 24,5°C sont classées dans le *tableau III.1*.

|                           | Viscosité<br>(mPa.s) | pH   | Conductivité<br>électrique<br>(mS/cm) | Tension<br>superficielle<br>(mN/cm) | Source                            |
|---------------------------|----------------------|------|---------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|
| S. Na-Alg à<br>4% (p/v)   | 1900 ± 0.1           | 7    | 8.8 ± 0.1                             | 60.9 ± 1.7                          | <i>Carl D.<br/>Saquing et al.</i> |
| S. Na-Alg à<br>2% (p/v)   | 65                   | -    | -                                     | 43.45                               | <i>Kamarrudin<br/>et al.</i>      |
| S. vierge 2%<br>(p/v)     | 106                  | 6.70 | 7.47                                  | 65                                  | Ce travail                        |
| S. magnétique<br>2% (p/v) | 115                  | 6.82 | 8.40                                  | 58                                  | Ce travail                        |

*Tableau III.1 : Valeurs de certaines propriétés (Viscosité, pH, Conductivité, Tension superficielle) des solutions filmogènes mesurée.*

##### III.1.1.1. La viscosité

La viscosité des solutions préparées à base d'alginate de sodium modifié partiellement en alginate de calcium à 2% présente une viscosité moyenne (106 et 115 mP.s pour la solution vierge et chargée en NPM respectivement). Cette valeur peut être comparée aux résultats de *Kamarrudin et al.* parce que l'alginate utilisé dans la préparation des solutions est le même. La différence des valeurs peut être interprétée par la complexation des chaînes polymériques par ajout de CaCl<sub>2</sub>.

### III.1.1.2. Le pH

Le pH des solutions préparées s'approche du neutre sans aucune correction ultérieure, ce qui selon notre avis est satisfaisant en vue d'une application dermique qui exige un pH compris entre 5.5 et 8 [44] ou dans le traitement des eaux. La légère baisse de pH peut s'expliquer du fait de la présence de glycérol dont le pH est de 1.474 selon la fiche technique du fournisseur.

On observe toutefois, un pH un peu plus élevé dans la solution filmogène magnétique. Ceci, se traduit par des interactions électrostatiques plus importantes au niveau macromoléculaire des chaînes polymériques [44].

En effet, les nanoparticules magnétiques en plus d'avoir un pH =13 sont encapsulées d'hydroxyde de tetraméthylammonium, ce dernier de charge positive va interagir avec les chaînes polymériques d'alginate de sodium modifiées partiellement en alginate de calcium induisant une légère augmentation du pH.

### III.1.1.3. La conductivité électrique

La conductivité électrique est un facteur important vis-à-vis du processus de préparation de divers matériaux à base d'alginate comme le montrent les travaux de *Carl D. Saquing et al.* ainsi que ceux de *Sagar Udaseen et al.*, mais aussi par rapport à l'application voulue.

Les valeurs de 7.74 et 8.40 mS/cm affiliées aux solutions filmogènes vierge et magnétique respectivement, sont proches de celle obtenue par *Carl D. Saquing et al.* malgré la différence de concentration en alginate de sodium, car, comme mentionné précédemment, les alginates sont des substances polyélectrolytes constitués de monomères mannuronique et guluronique portant tous deux un groupement carboxylique qui, à pH neutre, rend les alginates des polyanions.

La présence de charges fixes tels que le  $\text{Na}^+$  ou  $\text{Ca}^{2+}$  sur ces groupements et l'ajout de sels tels que le tetraméthyle d'ammonium présent à la surface des nanoparticules magnétiques augmente la conductivité électrique du polymère [20], s'ajoute à ça les sites octaédriques de la structure des nanoparticules de magnétite qui contiennent des atomes ferreux et ferriques. Les électrons coordonnés avec ces atomes de fer sont thermiquement délocalisés et migrent dans la structure de magnétite provoquant des constantes d'échange de conductivité élevée [3].

### III.1.1.4. Caractérisation des propriétés interfaciales (tension superficielle)

La tension superficielle des solutions préparées au laboratoire est assez élevée. Celle de la solution vierge est quasi-proche de celle utilisée dans l'investigation de *Carl D. Saqing et al.*, l'interprétation des résultats de cette propriété est plus détaillée dans le paragraphe suivant.

- **Etude de l'influence de la température sur la tension superficielle**

La figure III.1 représente l'évolution de la tension superficielle des solutions filmogènes sans (noir) et avec NPM (rouge), du ferrofluide à base de nanoparticules de magnétite sans (vert) et sous action d'un champs magnétique (bleu) en fonction de la température.

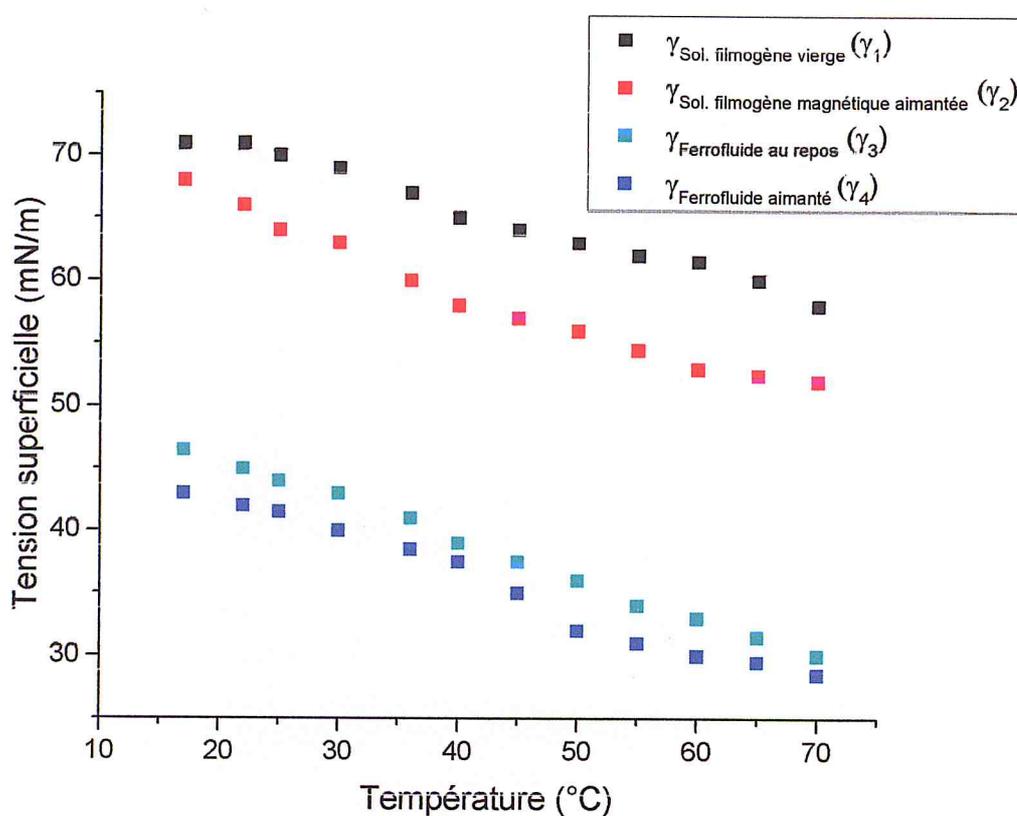


Figure III. 1 : Variation de la tension superficielle en fonction de la température en fonction de la température ; en ■  $\gamma_4$  le ferrofluide aimanté ; en ■  $\gamma_3$  le ferrofluide à l'état de repos ; en ■  $\gamma_2$  la solution filmogène magnétique aimantée et en ■  $\gamma_1$  la solution filmogène vierge

À première vue, nous constatons que pour les quatre (04) cas la tension superficielle diminue en augmentant la température.

En effet, ceci induit l'agitation des molécules (mouvement Brownien), d'où leur déplacement de la surface vers l'intérieur et c'est pourquoi à l'interface solution/fluide-air, la tension de surface décroît [35].

- **Solutions de filmification vierge**

Concernant la solution filmogène vierge (constituée majoritairement d'alginate de sodium), sa tension superficielle à basse température est élevée (~71-70mN/m à 17-25 °C), car il y'a un enchevêtrement des chaînes polymériques (création d'un réseau polymérique tridimensionnel) renforcé par la présence du glycérol [43] et l'ajout du chlorure de calcium (les blocs -G-G- en l'occurrence) ce qui engendre de fortes interactions. En augmentant la température, ces chaînes se mouvoient ce qui induit un espacement inter-chaînes d'où la baisse de la tension de surface.

Toutefois, les valeurs mesurées sont en accord avec les recherches de *D. Saquing et al.*, *Muthamizhi et al.*, *Kamarrudin et al.* Et *Boon-Beng Lee et al.*

- **Solution filmogène magnétique et ferrofluide**

Nous remarquons que les tensions superficielles du fluide et de la solution filmogène magnétique mesurées à l'état de repos est un peu plus supérieure que lorsqu'ils sont magnétisés. Ce phénomène peut être traduit par l'alignement et l'orientation (vers l'intérieur dans notre cas) des particules vers le champ magnétique appliqué.

D'autant plus que le ferrofluide est de nature superparamagnétique et que le moindre champ magnétique engendre un mouvement brownien au niveau particulaire, cela formerait une couche de faible concentration en particules magnétiques à la surface où il y'aurait des forces d'interactions Van der Waals minimales. D'où une faible tension de surface.

- ❖ **Surface de réponse et tracé de précision (valeurs prédites et expérimentales)**

Les surfaces de réponse ainsi que les tracés de précision établis selon un modèle mathématique attribué à chaque solution/fluide selon les résultats obtenus lors de l'étude de la tension superficielle, sont représentés dans ce qui suit.

- **Solution filmogène vierge**

Le modèle mathématique pour la solution d'alginate vierge permettant de calculer la tension superficielle en tout point est le suivant :

$$\gamma = 52.16447 + 2.46824T^{\circ} - 0.10641T^{\circ 2} + 1.71111 \times 10^{-3}T^{\circ 3} - 9.68242 \times 10^{-3}T^{\circ 4} \quad (\text{III.1})$$

La surface de réponse représentée dans la *figure III.2 (a)*, montre que la tension superficielle de la solution filmogène décroît en fonction de la température.

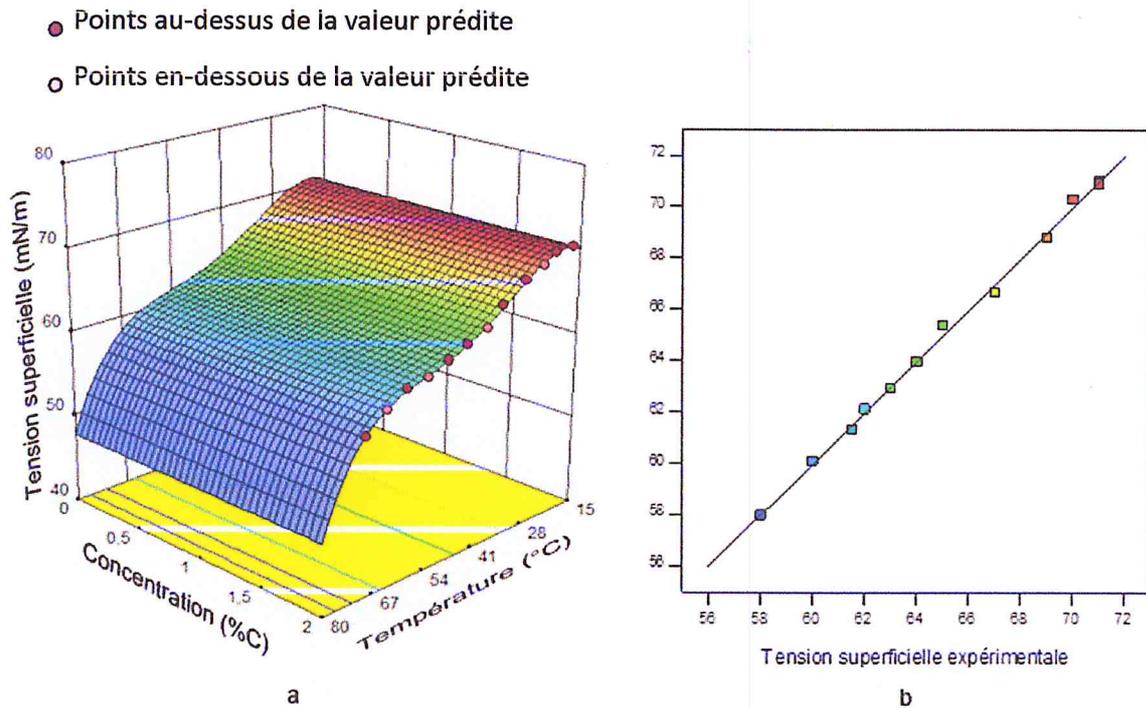


Figure III. 2 : (a) Surface de réponse montrant l'effet de la température sur la tension superficielle de la solution filmogène vierge ; (b) Tracé de précision pour les valeurs expérimentales par rapport au modèle mathématique

L'écart des points de mesures de la linéarité du tracé de précision est si petit qu'on conclue qu'il est bon.

● **Ferrofluide à l'état de repos**

Le modèle mathématique pour le ferrofluide (NPM) à l'état de repos permettant de calculer sa tension superficielle en tout point est le suivant :

$$\gamma = 49.29329 - 0.073688T^{\circ} - 6.42865 \times 10^{-3}T^{\circ 2} + 5.10202 \times 10^{-5}T^{\circ 3} \quad (III.2)$$

La surface de réponse représentée dans la *figure III.3 (a)*, montre que la tension superficielle du ferrofluide à l'état de repos décroît en fonction de la température.

L'écart des points de mesures de la linéarité du tracé de précision représenté dans la *figure III.3 (b)* est si petit qu'on conclue qu'il est bon.

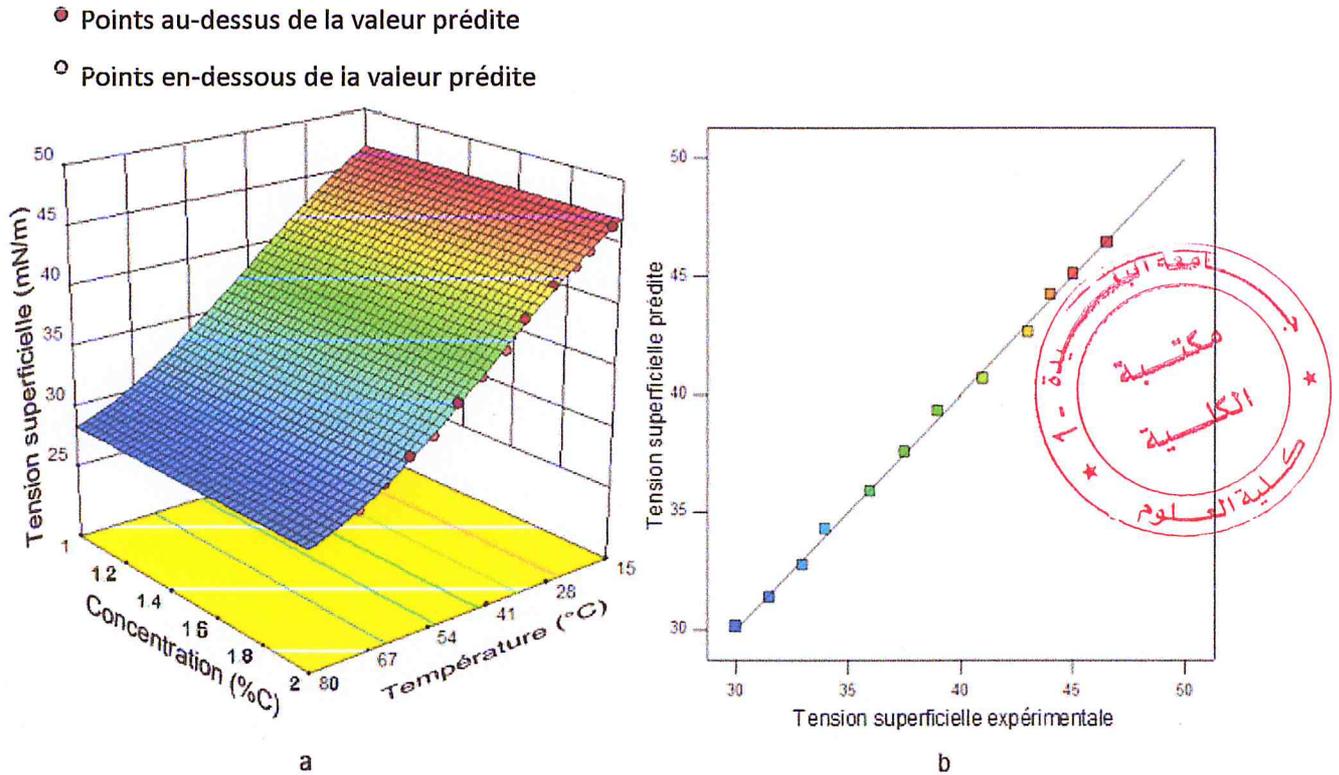


Figure III. 3 : (a) Surface de réponse montrant l'effet de la température sur la tension superficielle du ferrofluide au repos ; (b) Son Tracé de précision pour les valeurs expérimentales par rapport au modèle mathématique

### III.1.2. Caractérisation du ferrofluide (NPM), des biomembranes vierges et magnétiques

#### III.1.2.1. Aspect et tests visuels

##### ● *Le Ferrofluide*

Le ferrofluide préparé est de couleur marron noirâtre, sa texture est quelque peu visqueuse.

Cependant, on remarque une réponse instantanée du ferrofluide dès qu'on approche l'aimant du flacon. En effet, le fluide s'oriente vers le champs magnétique appliqué et forme une bosse au lieu de pics contrairement à ce qui a été rapporté dans la littérature [36].

L'apparition des pics dans un ferrofluide conventionnel est dûe à l'instabilité causée par le champ magnétique, elle dépend donc de l'intensité du champ magnétique appliqué et de la tension superficielle du fluide [5]. Le ferrofluide suit l'aimant dans son déplacement. (figure III.4)

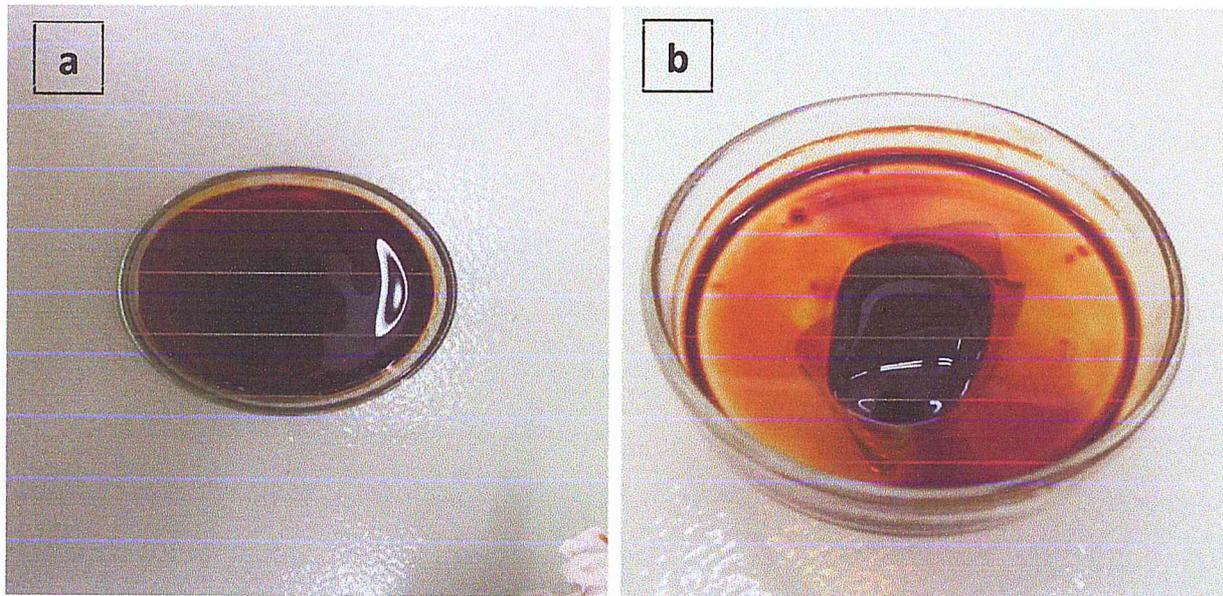


Figure III. 4: Images témoins du comportement du ferrofluide préparé, (a) au repos et (b) sous action d'un champ magnétique.

- **Les biomembranes vierges et les biomembranes magnétiques**

Les observations apportées aux différents types de films préparés de diverses méthodes sont résumées dans le *tableau III.2* Ceux qui ont été choisis pour la caractérisation sont ceux approuvés d'après nos observations.

La *figures III.5* et la *figure III.6* représentent des photographies des biomembranes post traitées et des biomembranes préparées *in-situ* magnétiques respectivement ((a) vierge et (b) magnétique).

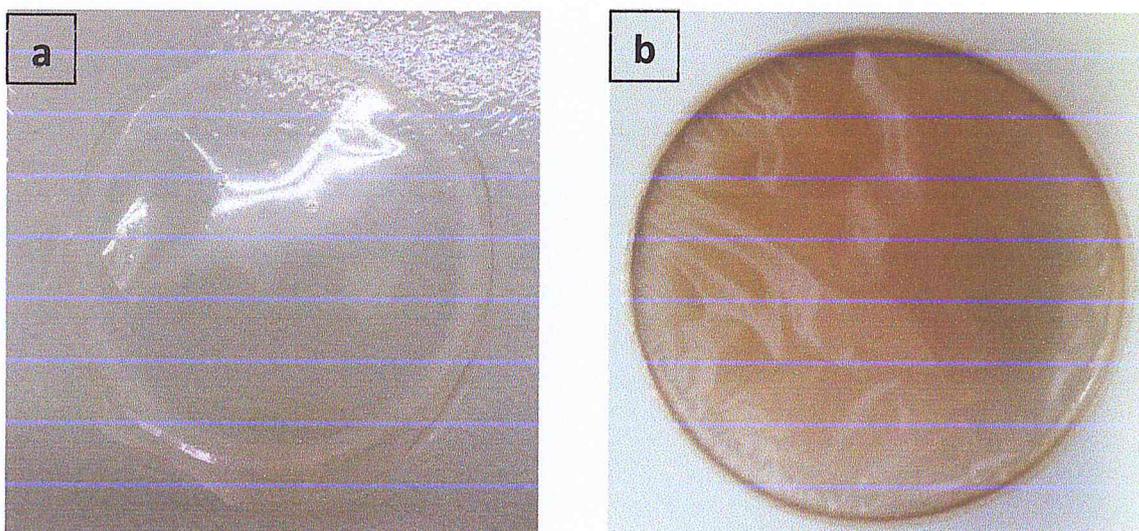


Figure III. 5 : Images témoins des membranes post-traités validés ; en (a) la biomembrane d'alginate vierge et en (b) la membrane biocomposite Alg-NPM

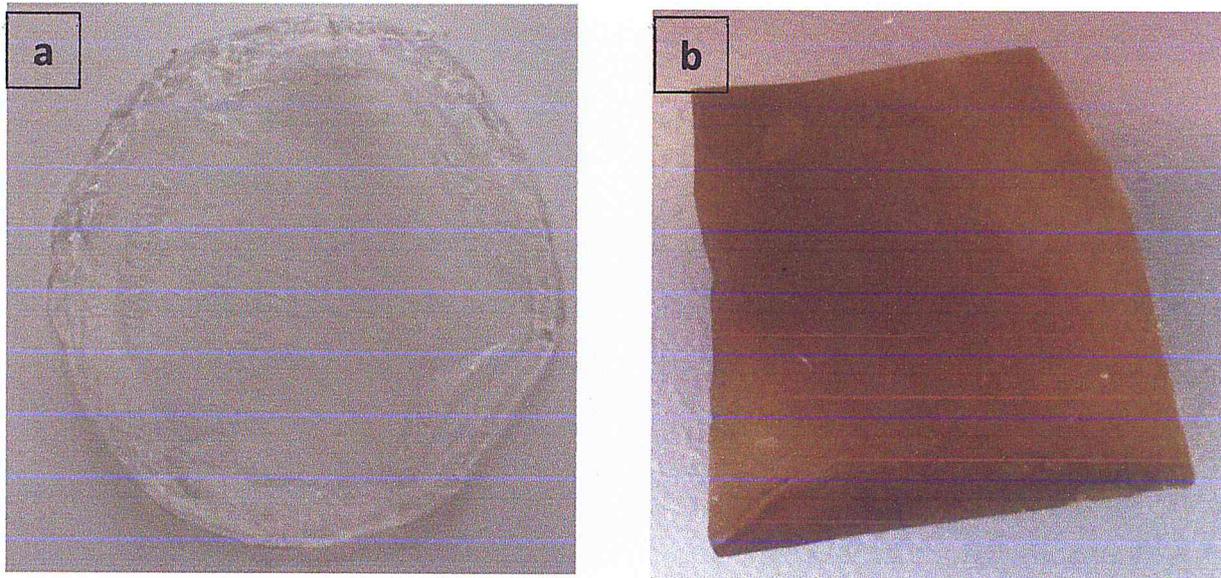


Figure III. 6 : Images témoins des biomembranes préparés *in-situ* ; en (a) la biomembranes d'alginate vierge au moment de sa formation et en (b) la membrane biocomposite Alg-NPM



Figure III. 7: Images témoins montrant la réponse d'un fragment du film biocomposite préparé « *in-situ* » à un faible champ magnétique ; (a) le fragment est à l'état de repos, (b) et (c) le fragment est sous l'influence d'un aimant au néodyme

| Concentration des solutions en Na-Alg | Concentration en agent plastifiant | Quantité de $Ca^{2+}$ ajoutée dans la solution filmogène | $Ca^{2+}$ dans la solution de post traitement | Quantité de NPM ajoutée | Observations  | Epaisseur (mm) | Approbation/ Déclinaison |
|---------------------------------------|------------------------------------|--|---|-------------------------|---|----------------|--------------------------|
| 20ml à 1%                             | -                                  | 03ml $CaCl_2$ à 2%                                       | -   | -                       | Gélification de la solution filmogène.<br>Hydrosoluble.   | -              | Décliné                  |
| 20ml à 1%                             | 0.4ml                              | 03ml $CaCl_2$ à 0.25%                                    | $CaCl_2$ à 5%                                 | -                       | Film transparent fragile, rétrécissement considérable de sa taille et insolubilité dans l'eau et les solvants organiques.                               | -              | Décliné                  |
| 20ml à 2%                             | 0.4ml                              | 03ml $CaCl_2$ à 0.25%                                    | $CaCl_2$ à 3%                                 | -                       | Transparent, Insoluble dans l'eau et les solvants organiques, résistant, élasticité minimale, diminution du rétrécissement de la taille du film.        | 0.04           | Approuvé                 |
| 20ml à 2%                             | 0.4ml                              | 03ml $CaCl_2$ à 0.25%                                    | $CaCl_2$ à 3%                                 | 0.05g sèches            | Marron, Magnétique, insoluble dans l'eau et les solvants organiques, résistant, élasticité minimale, diminution du rétrécissement de la taille du film. | -              | Décliné                  |

Méthode classique « coulage ; post-traitement »

Tableau III.2 : Composition chimique de toutes les biomembranes préparées durant notre étude avec observations

| Méthode classique « coulage ; post- |        | Méthode in-situ                |                        |              |   |      |          |
|-------------------------------------|--------|--------------------------------|------------------------|--------------|---|------|----------|
| 20ml à 2%                           | 0.4ml  | 03ml CaCl <sub>2</sub> à 0.25% | CaCl <sub>2</sub> à 3% | 2ml fluide   | Noir, Fort pouvoir magnétique, solubilité dans la solution de post-traitement | -    | Décliné  |
| 20ml à 2%                           | 0.4ml  | 03ml CaCl <sub>2</sub> à 0.25% | CaCl <sub>2</sub> à 3% | 0.5ml fluide | Marron, bon pouvoir magnétique, hydroinsoluble.                               | 0.05 | approuvé |
| 20ml à 2%                           | 0.4ml  | 03ml CaCl <sub>2</sub> à 0.25% | CaCl <sub>2</sub> à 3% | 0.2ml fluide | Marron clair, faible pouvoir magnétique, hydroinsoluble.                      | -    | Décliné  |
| 02ml à 2%                           | 0.04ml | -                              | -                      | -            | membrane opaque de texture mate/fibreuse, hydroinsoluble                      | 0.1  | Approuvé |
| 02ml à 2%                           | 0.04ml | -                              | -                      | 0.2ml fluide | membrane marron de texture mate/fibreuse, hydroinsoluble                      | 0.35 | Approuvé |

Tableau III.2. (Suite)

### III.1.2.2. Caractérisation structurale et morphologique

- Caractérisation par Infrarouge à transformée de Fourier

- ❖ Le Ferrofluide

La figure III.8 montre le spectre IRTF des nanoparticules de magnétite encapsulées avec le HTMA en absorbance.

L'empreinte digitale de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  se situe dans la gamme de fréquences  $[380-600\text{cm}^{-1}]$ , le pic observé à  $412\text{ cm}^{-1}$  correspond à la vibration d'élongation de la liaison métal-oxygène dans les sites octaédriques, tandis que le pic à  $588\text{ cm}^{-1}$  correspond aux vibrations d'élongations  $\gamma\text{-Fe-O}$  dans les sites tétraédriques. [1, 6, 9, 10]

Le pic vers  $1640\text{ cm}^{-1}$  est attribué à la vibration d'élongation des groupes C-N du HTMA, sa faible intensité est due à l'épaisseur des pastilles. [4, 14, 25]

L'absorption large au-dessus de  $3000\text{ cm}^{-1}$  correspond à la vibration d'élongation  $\gamma\text{-O-H}$  des groupements hydroxyles.

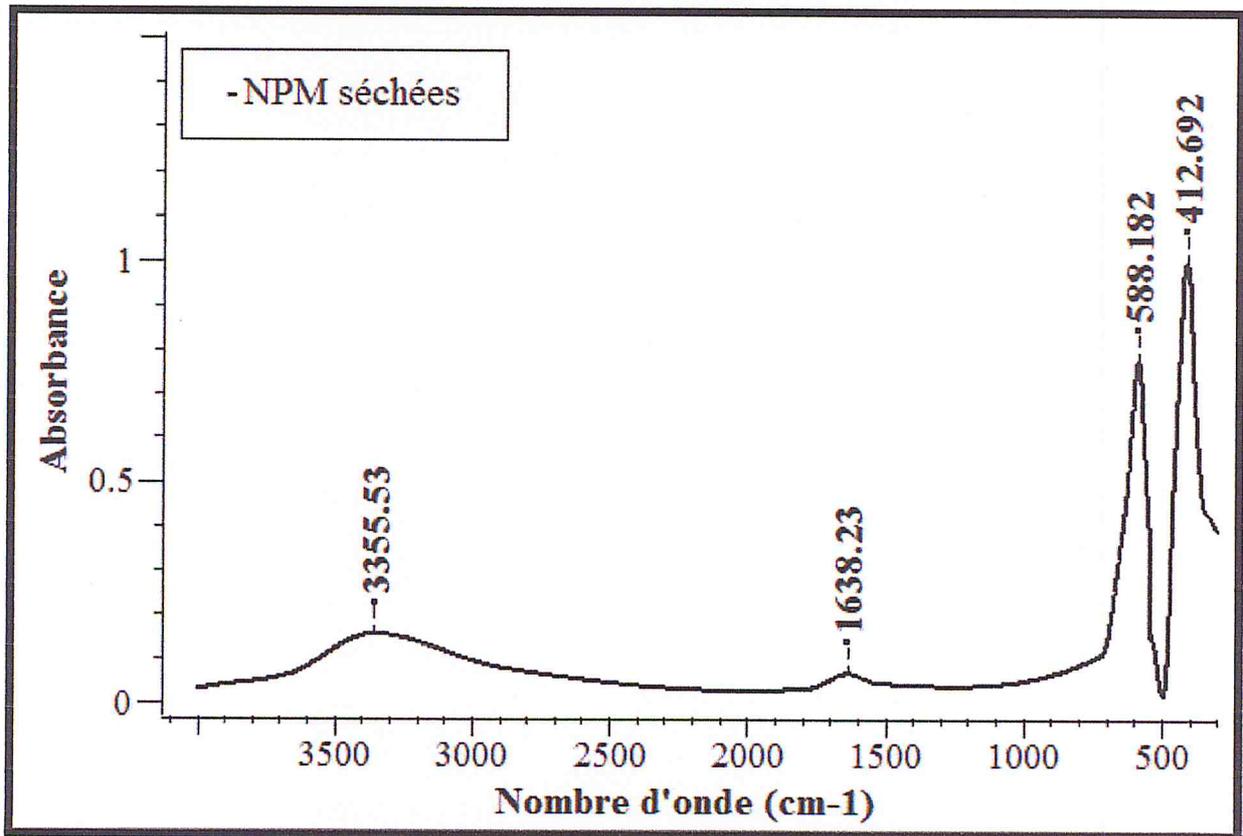


Figure III. 8 : Spectre IRTF des nanoparticules magnétiques séchées à  $120^\circ\text{C}$

Dans ce spectre, cette vibration peut être expliquée par l'humidité résiduelle dans le KBr et les particules. La bande à  $3355\text{ cm}^{-1}$  peut être affectée aux groupements hydroxyles présents à la surface de la magnétite. [4]

#### ❖ L'alginate de sodium

La figure III.9 illustre les spectres IRTF de l'alginate de sodium (en noir) et de la biomembrane d'alginate de Na partiellement modifié en Ca-Alg (en bleu).

L'assignement des principaux pics/bandes caractéristiques est résumé dans le tableau III.3.

| Nombre d'onde ( $\text{cm}^{-1}$ ) | Attribution  |
|------------------------------------|--|
| 3352                               | Large bande d'élongation des groupements -OH présents dans la structure du Na-Alg  |
| 2931                               | Pic moyen correspondant à l'élongation des -CH des chaînes aliphatiques de la molécule d'alginate                        |
| 1611                               | Pic caractéristique correspondant aux vibrations d'élongations asymétriques des groupements carboxyliques $\text{COO}^-$ |
| 1414                               | Pic caractéristique correspondant aux vibrations d'élongations symétriques des groupements carboxyliques $\text{COO}^-$  |
| 1044                               | Large pic d'intensité moyenne correspondant aux vibrations d'élongations C-O   |

Tableau III.3 : Attribution des principaux pics vibratoires pour le spectre IRTF de l'alginate de sodium [18, 19, 37, 38, 44, 53]

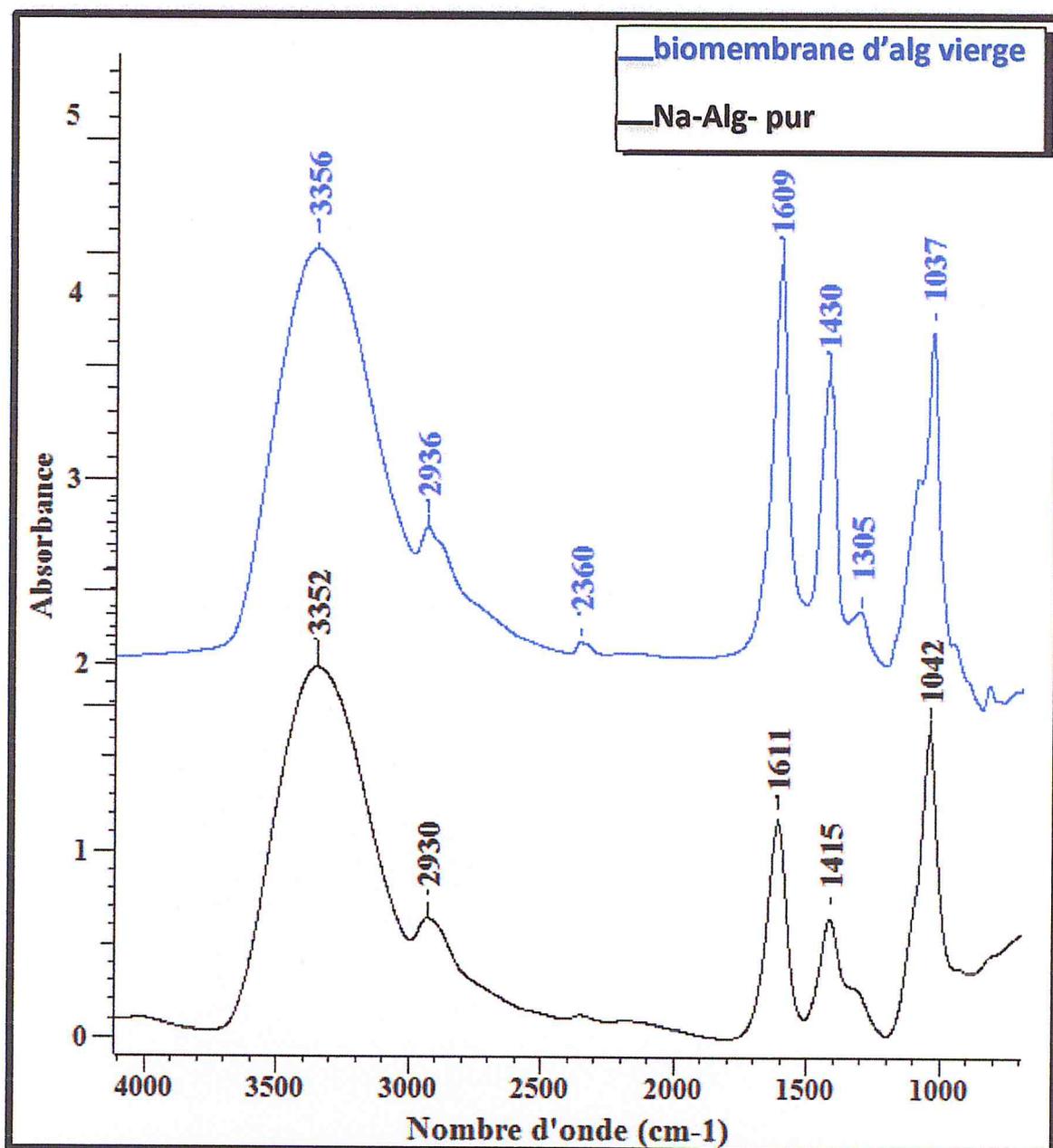


Figure III. 9 : Superposition des spectres IRTF de l'alginate de sodium pur (en noir) et de la membrane d'alginate vierge (en bleu)

Les mêmes pics/bandes sont présents dans le spectre de la biomembrane d'alginate et un décalage de  $15 \text{ cm}^{-1}$  du pic correspondant aux vibrations d'élongations symétriques des groupements carboxyliques ( $-\text{COO}^-$ ) et clairement observé. [47, 52]

Ce décalage est dû à la réticulation des chaînes polymériques en présence du  $\text{Ca}^{2+}$ , qui apporte au polymère un certain arrangement structural. Ce phénomène est aussi expliqué dans les résultats de l'analyse DRX et représenté dans la *figure III.10*.

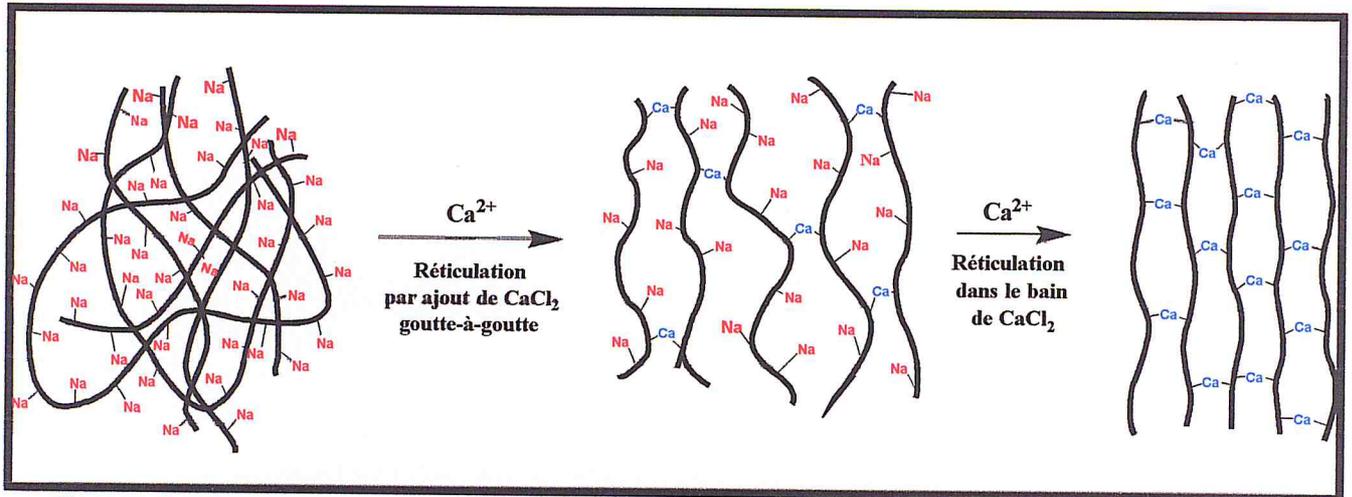


Figure III. 10 : Représentation schématique de l'arrangement moléculaire des chaînes polymérique par ajout des ions  $Ca^{2+}$  (Passage de l'état amorphe à l'état cristallin)

La figure III.11 représente les spectres IRTF de membrane d'alginate, des NPM et celui de la membrane biocomposite Alg-NPM superposés.

Par identification, nous remarquons que les bandes/pics caractéristiques et des nanoparticules magnétiques et du polymère (Na-Alg) modifié partiellement en Ca-Alg sont présents dans le spectre de la membrane biocomposite avec l'apparition d'un pic de faible intensité, correspondant aux vibrations d'élongations des liaisons métal-oxygène du  $Fe^{3+}$  présent dans la matrice polymérique. [19]

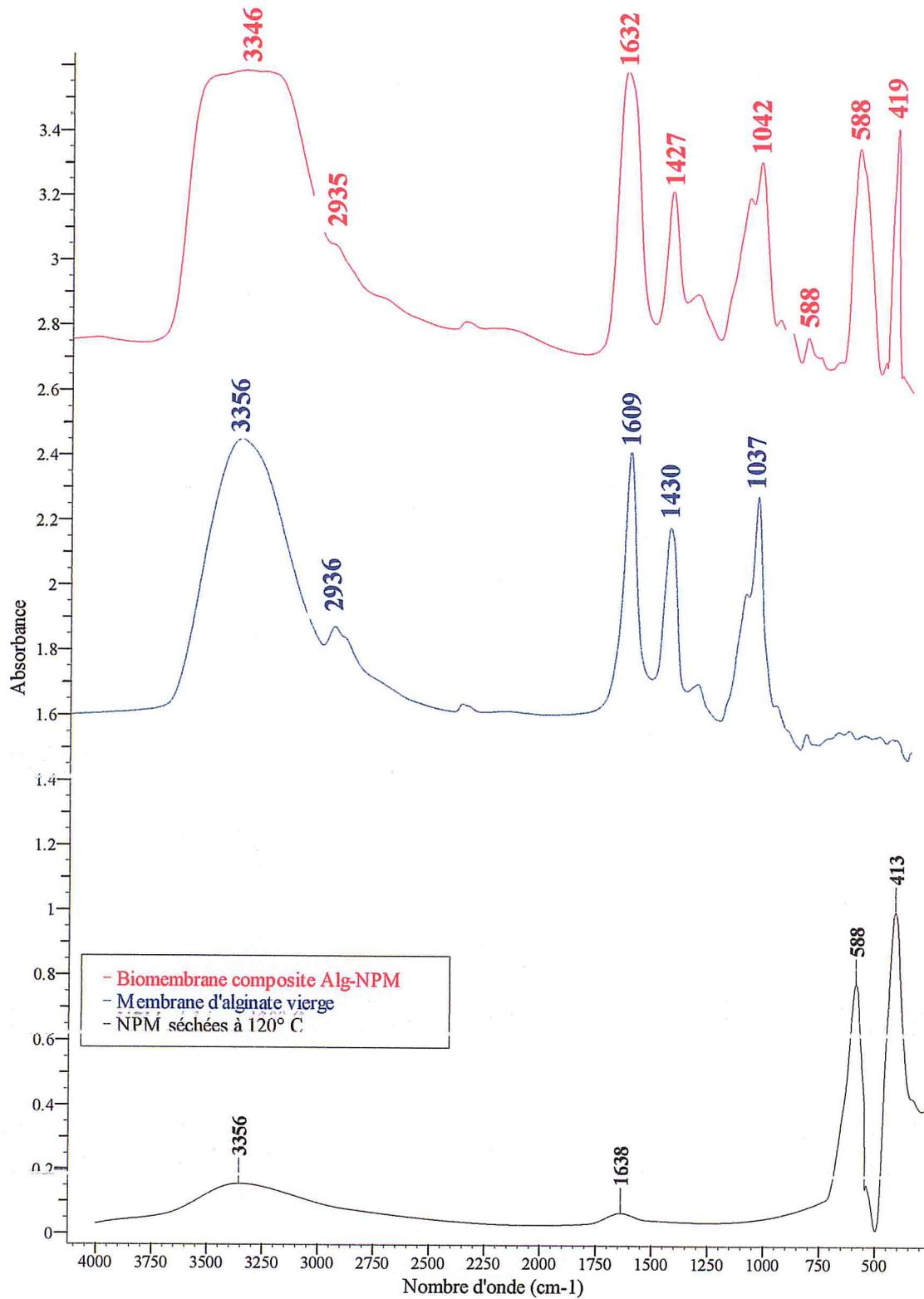


Figure III. 11: Superposition des spectres IRTF des NPM séchées à 120°C (en noir) ; de la biomembrane d'alginate vierge (en bleu) et de la membrane biocomposite Alg-NPM (en rouge)

- **Détermination du ratio M/G**

Les résultats obtenus suite aux calculs effectués d'après le rapport entre différentes valeurs d'absorbances à certains nombres d'ondes sont résumés dans le *tableau III.4*.

D'après le taux d'erreur calculé, la théorie de *Sakugawa et al.* s'avère la meilleure donnant des résultats avec une erreur estimée à 2.25%.

Ces résultats indiquent que l'alginate de sodium utilisé est très riche en mannuronate qu'en guluronate comme cité précédemment.

| $A_1/A_2$           | Composition |       | Ratio<br>M : G | Référence              | %ΔE    |
|---------------------|-------------|-------|----------------|------------------------|--------|
|                     | M           | G     |                |                        |        |
| $A_{808}/A_{787}$   | 43.75       | 56.24 | 0.9893         | Mackie (1971)          | +36.58 |
| $A_{1030}/A_{1080}$ | 67.44       | 32.55 | 1,5248         | Sakugawa et al. (2004) | - 2.25 |
| $A_{1320}/A_{1290}$ | 50.13       | 49.86 | 1.1334         | Filipov et Kohn (1974) | 27.34  |

*Tableau III.4 : Valeurs du ratio M/G de l'alginate de sodium calculé par la méthode KBr*

- **Diffraction à rayon X**

- ❖ **Les nanoparticules de magnétite**

Les diffractogrammes des nanoparticules magnétiques non-traitées (NPMs) et traitées à 400 °C et 700°C sont présentés dans la *figure III.12*.

Le diffractogramme des NPMs indique une structure monophasique cristalline. Un large pic à  $2\Theta = 35,46^\circ$  appartenant au plan de réflexion (311) est observé [2, 27, 49, 54], il correspond conformément à la structure spinelle inverse de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . Le pic à  $2\Theta = 50^\circ$  est attribué à l'appareil (pour chaque diffractogramme).

L'élargissement des pics donnant l'impression que les NPM constituent un matériau amorphe, est dû à leur taille.

En effet, l'élargissement des pics est fréquent et plus prononcé pour des nanoparticules dont la taille des cristallites < 7nm [39, 45, 49].

- **Etude du comportement et de la stabilité thermique par DRX**

Par ailleurs, les NPM<sub>t400</sub> indiquent plusieurs pics bien distincts à  $2\Theta = 18.30^\circ$ ,  $30.09^\circ$ ,  $35.45^\circ$ ,  $37^\circ$ ,  $42.98^\circ$ ,  $46.35^\circ$  et  $53.35^\circ$  correspondant aux plans de réflexion (111), (220), (311), (222), (400), (331) et (422) respectivement.

Ces pics caractéristiques concordent bien avec les cartes JCPDS n° 19-0629 [46], COD n° 96-900-2317, COD n° 96-900-6185 et ce qui a été rapporté dans la littérature. [1, 24, 27] Ils définissent bel et bien la structure spinelle inverse de la magnétite [17, 46].

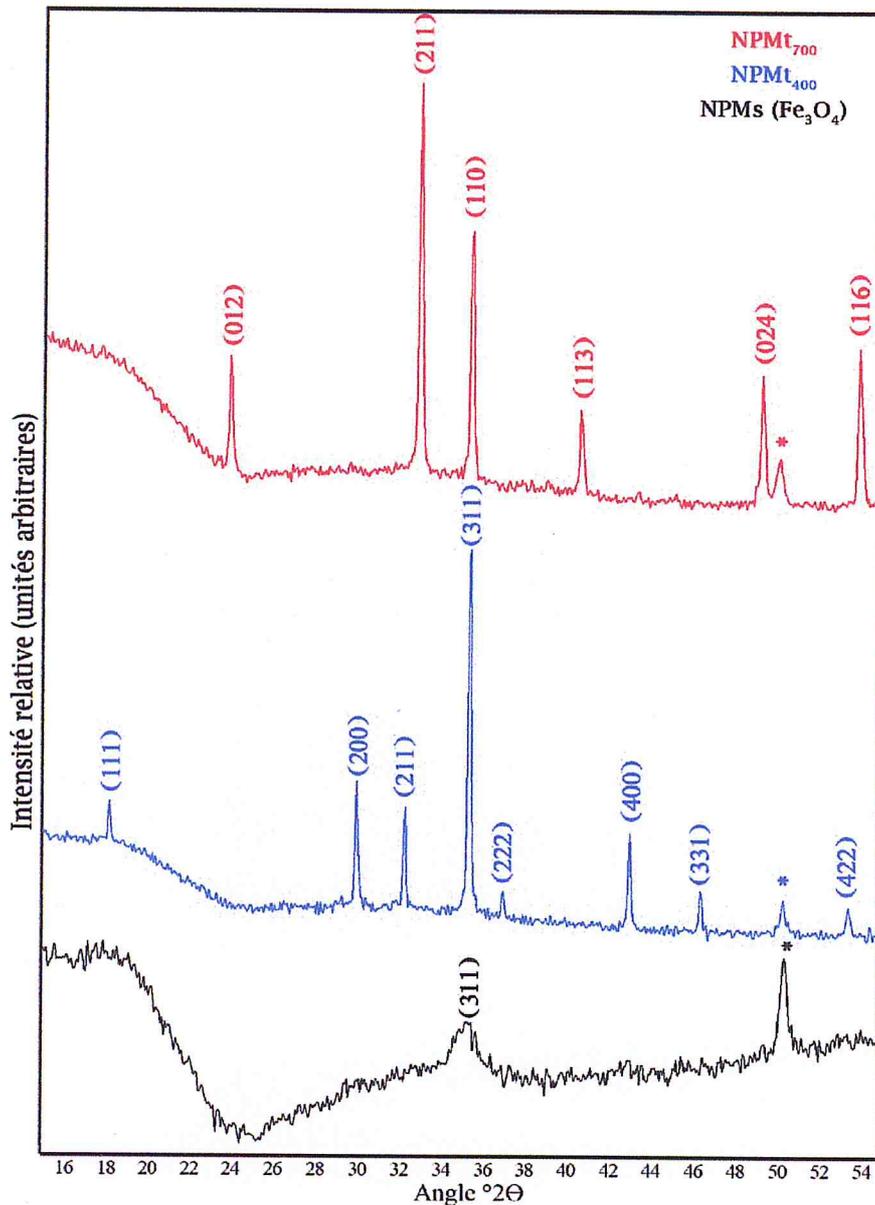


Figure III. 12 : Superposition des diffractogrammes des NPMs, NPMt400 et des NPMt700

Cependant, le traitement des nanoparticules de magnétite à 400 °C a partiellement converti la magnétite en maghémite (forme oxydée de la magnétite, mais qui a exactement les mêmes propriétés magnétiques), qui, possédant des lacunes dans sa structure spinelle inverse dans les

sites octaédriques occupés par les cations s'est par la suite transformée en hématite à 700 °C (matériau peu magnétique) [12].

La présence de la  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> après calcination à 400 °C est caractérisée par l'apparition d'un pic moyennement intense à  $2\Theta = 32.29^\circ$  correspondant au plan (211) [34].

La transformation en  $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> à 700 °C est caractérisée par la disparition des pics à  $2\Theta = 18.30^\circ$ ,  $30.09^\circ$ ,  $37^\circ$ ,  $46.35^\circ$  et l'apparition des pics à  $2\Theta = 24.24^\circ$ ,  $40.95^\circ$  et  $49.55^\circ$  correspondant aux plans (012), (113) et (024) respectivement avec intensification du pic correspondant au plan (211). Ce dernier, définit la structure rhomboédrique de l'hématite.

La transformation de la magnétite en hématite exige le passage par la forme  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (maghémite) comme cité dans la littérature [31, 48].

Cette transformation est généralement observée en DRX vers les 400 °C.

Le fait d'avoir encapsulé les NPM dans le HTMA a repoussé la transformation de 300 °C de plus [31].

- Calcul du paramètre de maille

| Echantillon         | Paramètre de maille expérimental (a) | Paramètre de maille de référence (a) | Ref.                                |
|---------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|
| NPMs                | 8.391                                | 8.40                                 | Fjellvag H. et al. COD-96-900-9769  |
| NPMt <sub>400</sub> | 8.39                                 | 8.396                                | Haavik C. et al. COD n° 96-900-2317 |

Tableau III.5 : Tableau résumant le paramètre de maille pour les différents échantillons (NPMs, NPMt<sub>400</sub> et NPMt<sub>700</sub>) calculé et de référence

Le tableau III.5 résume les valeurs expérimentales et les valeurs de référence calculées des paramètres de maille obtenues à partir du pic le plus intense de chaque diffractogramme.

Il s'avère que les résultats obtenus sont satisfaisants, puisqu'ils se rapprochent des références (8.39 pour nos résultats, 8.40 et 8.396 pour les cartes COD-96-900-9769 et COD-96-900-2317 respectivement) et de ce qui a été cité dans la littérature [31], ceci confirme l'obtention de nanoparticules de magnétite.

- **Calcul de la taille des cristallites**

La taille des cristallites calculée pour les échantillons NPMs et NPMt<sub>400</sub> à l'aide de la formule de Scherrer est résumé dans le *tableau III.6*.

Ces résultats indiquent non-seulement la taille des cristallites mais aussi celle des NPMs qui est de l'ordre de 5nm, puisqu'elles sont monocristallines [31].

D'autre part, les NPMt<sub>400</sub> présentent deux phases (la magnétite et la maghémite). Donc, la valeur de 15nm ne définit que la taille d'un cristallite et non celle d'une nanoparticule, qui dans ce cas-ci est constituée de polycristallite.

En outre, d'aussi petites tailles peuvent être interprétées par une stabilisation des NPMs par le HTMA [34]. Ce qui confirme aussi la théorie citée plus haut (la taille des cristallites et la largeur des pics de diffraction sont inversement proportionnels).

| Echantillon         | Taille des cristallites (nm) |
|---------------------|------------------------------|
| NPMs                | 5                            |
| NPMt <sub>400</sub> | 15                           |

*Tableau III.6: Tableau indexant la taille des cristallites pour les NPMs et NPMt<sub>400</sub> calculée d'après la formule de Scherrer*

- ❖ **L'alginate de Sodium**

Les diffractogrammes des NPMs, de l'alginate de sodium et de la membrane biocomposite Alg-NPMs sont représentés dans la *figure III.13*.

Bien que généralement le Na-Alg est défini comme un polysaccharide amorphe, l'analyse effectuée indique la présence de deux pics à  $2\Theta = 13.56^\circ$  et  $22.21^\circ$  correspondants aux plans de réflexion (110) des séquences polyguluronates et (200) des séquences polymannuronates présentes dans la structure de l'alginate de sodium [13, 28, 47].

La présence de ces pics est expliquée par les fortes interactions entre les chaînes de l'alginate de sodium causées par les ponts hydrogène intermoléculaires [47].

Par comparaison, nous distinguons la présence des pics caractéristiques aux NPM des plans (111), (220), (311), (222), (400), (331), (422) et (511) à  $2\Theta = 19.23^\circ, 31.21^\circ, 35.75^\circ, 37.22^\circ,$

42.98°, 47.28°, 52.40° et 57.22° respectivement, qui prouve la présence des nanoparticules de magnétite dans la matrice biopolymérique.

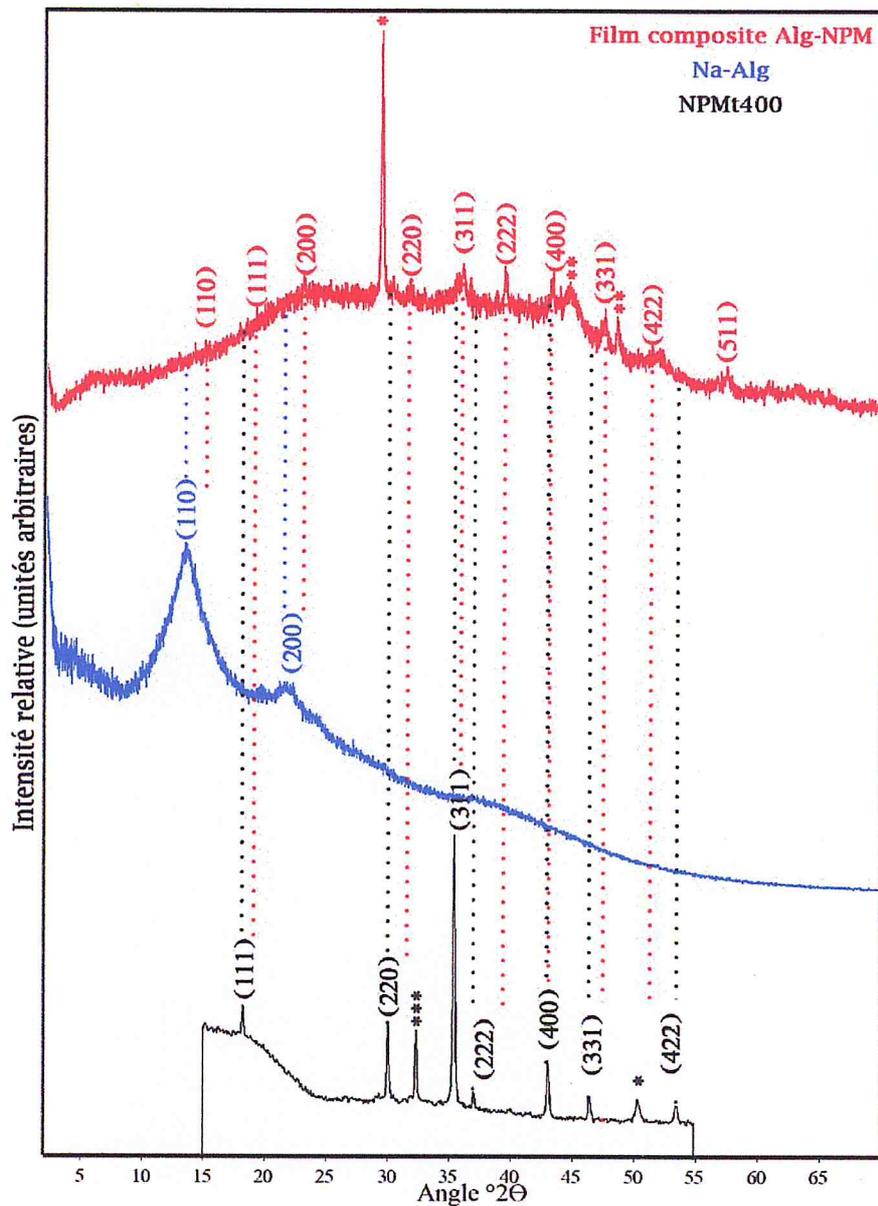


Figure III. 13 : Superposition des diffractogrammes des NPMt400, de Na-Alg et du film composite Alg-NPM, les pointillés représentent le décalage des pics observé pour chaque plan.

Nous remarquons toutefois un décalage des pics d'une moyenne de 0.65° (Tableau III.7).

Du point de vue matériel, il est probablement dû à l'utilisation de deux appareils différents équipés de deux diverses sources ( $CuK\alpha=1.5418$  et  $CuK\alpha=1.5406$ ), s'ajoute à ça la contrainte de traction du goniomètre qui cause un écart vers des angles plus élevés [33].

D'autre part, nous pensons que l'intégration des NPM de structure spinelle inverse au sein d'une matrice biopolymérique dont la structure est orthorhombique [13] provoque ce phénomène, en plus des interactions intermoléculaires et du piégeage par réticulation des NPM induit par les cations  $\text{Ca}^{2+}$ .

Quant aux pics caractéristiques de Na-Alg observés précédemment, ils sont déplacés à  $2\Theta = 16.07^\circ$  et  $23.03^\circ$  et ont nettement baissé d'intensité. Cette baisse est causée par la réticulation des chaînes polymériques suite à l'immersion des biomembranes dans le bain de  $\text{CaCl}_2$ .

Effectivement, comme l'ont démontré *Fabia et al.*, la présence des ions  $\text{Ca}^{2+}$  au niveau des sites guluroniques va bloquer les groupements carboxyliques induisant une baisse de l'intensité des pics conséquente et proportionnelle avec la quantité de calcium présente dans la matrice polymérique.

Ce qu'on remarque le plus dans le diffractogramme de la biomembrane magnétique est l'apparition d'un pic fortement intense (\*) à  $2\Theta = 29.20^\circ$ .

Il caractérise le passage de l'alginate de l'état amorphe à l'état semi-cristallin, cette transition d'état de structure est régie par la réticulation des chaînes biopolymériques qui apporte un certain ordre moléculaire au polysaccharide, ceci est schématisé dans la *figure III.10*.

Les deux pics non indexés jusqu'ici (\*\*), à  $2\Theta = 44.7^\circ$  et  $48^\circ$  sont attribués à des traces d'impuretés.

|                                 |       |       |       |       |       |       |       |
|---------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| $2\theta_1$ (°)                 | 18,30 | 30,09 | 35,45 | 37    | 42,98 | 46,35 | 53,35 |
| $2\theta_2$ (°)                 | 19,23 | 31,21 | 35,75 | 39,22 | 42,98 | 47,28 | 52,40 |
| $\Delta 2\theta$ (°)            | 0,93  | 1,12  | 0,3   | 2,22  | 0     | 0,93  | -0,95 |
| $\overline{\Delta 2\theta}$ (°) | 0,65  |       |       |       |       |       |       |

Tableau III.7: Valeurs des angles  $2\theta$  des pics observés au départ pour les  $\text{NPM}_{t_{400}}$  et ceux de leur déplacement après intégration dans la matrice polymérique, avec la différence des deux et sa moyenne.

- **Microscopie électronique à balayage**

Les images collectées au MEB sont illustrées dans la figure *Figure III.14*.

La micrographie avec un grossissement de 50000x (*Figure III.14 (a)*) nous permet de voir la morphologie microstructurale de la biomembrane magnétique, elle indique une surface rude avec présence de nanocristaux (entourés de cercles rouges) qui résultent de la réticulation des chaînes polymériques par les ions  $\text{Ca}^{2+}$  et l'intégration de nanoparticules comme rapporté par *Santana et al.*. Leur présence explique la semi-cristallinité de la membrane observée par DRX.

Un grossissement de 200000x (*Figure III.14 (b)*) sur une zone définie et un traitement d'image avec le logiciel « Fiji » (*Figure III.14 (c)*) montre la structure sphérique/ovoïde des nanoparticules de magnétite présentes dans la matrice polymérique.

Leur distribution (*figure III.15*), déterminée avec les logiciels Aphelion® et OriginPro® est monomodale malgré leur agglomération au niveau des cristaux.

La taille moyenne des NPM est estimée à 8nm.

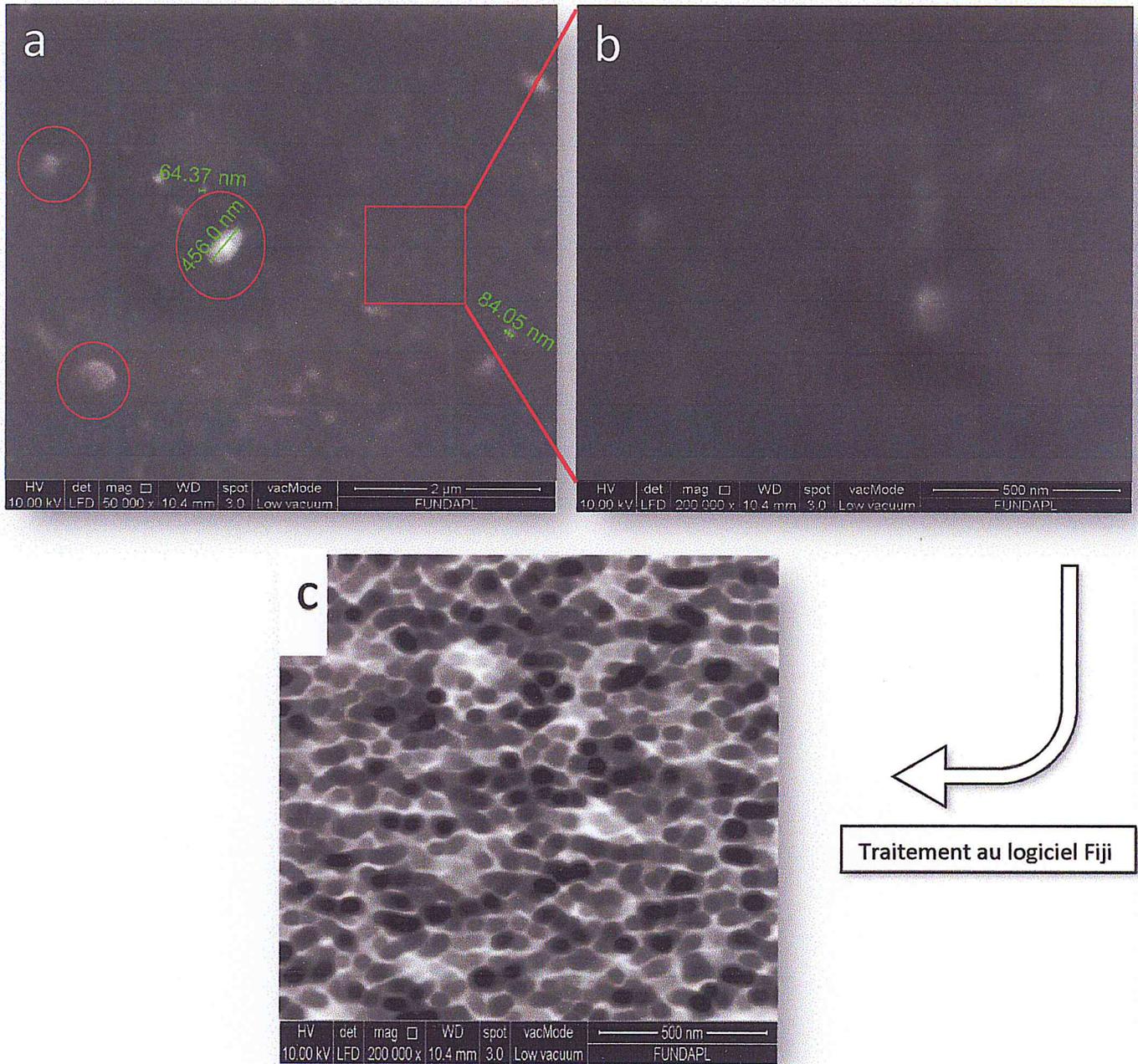


Figure III. 14 : Images MEB de la biomembrane magnétique post-traitée ; (a) avec un grossissement de 50000x ; (b) avec un grossissement 200000x ; (c) section de l'image (b) traitée au logiciel Fiji

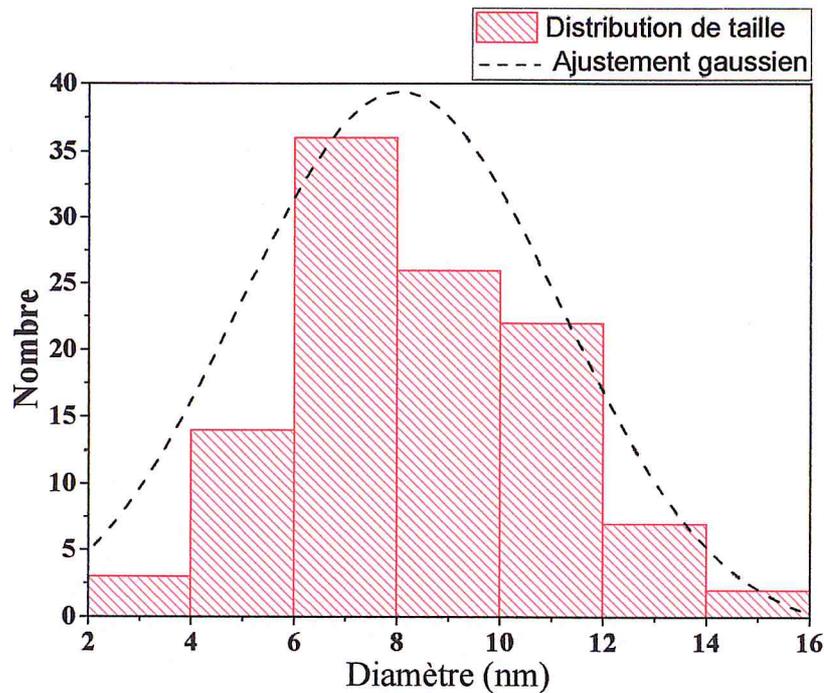


Figure III. 15 : Distribution de taille des NPM au sein de la matrice polymérique de la biomembrane magnétique post-traitée

### III.1.2.3. Taux de gonflement et capacité de rétention d'eau

- Taux de gonflement

La cinétique de gonflement des biomembranes (vierges et magnétiques) est présentée dans la *figure III.16*.

Les biomembranes d'alginate tendent à gonfler rapidement avec un taux d'environ 210% après 30mins seulement, puis se stabilisent jusqu'à 120mins. L'origine de ce phénomène est l'échange d'ions  $Ca^{2+}$  présents dans les membranes avec les  $Na^+$  présents dans le tampon phosphate salin, ce qui rend la structure du polymère lâche et favorise l'absorption d'eau [40].

L'incorporation des NPM dans les biomembranes réduit considérablement le gonflement de 35% pour la membrane post-traité et de 82% pour la membrane préparée in-situ, cela est dû à la diminution du ratio anionique/hydrophile des groupements fonctionnels du polymère et l'augmentation de la densité de réticulation au niveau des chaînes polymériques par interactions entre ces dernières et les NPM [30].

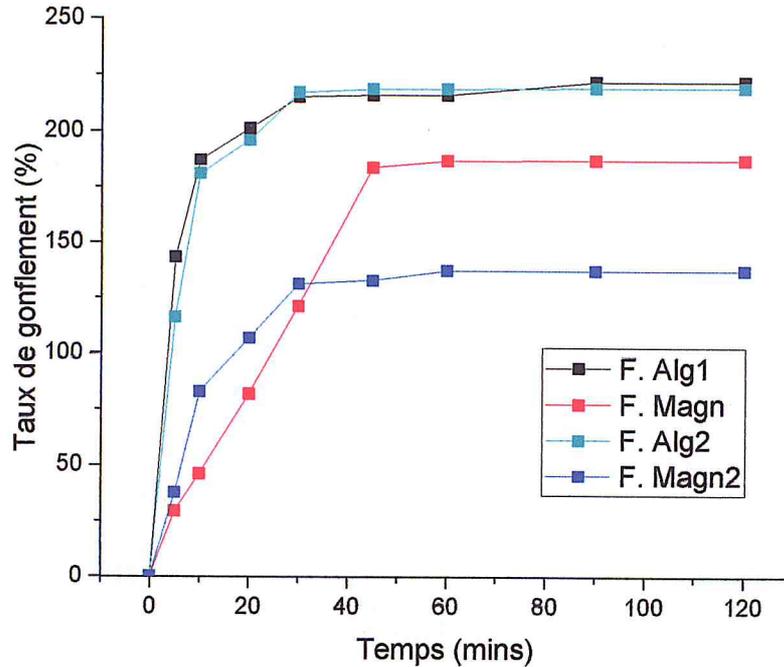


Figure III. 16 : Evolution cinétique du taux de gonflement des biomembranes d'alginate et des membranes biocomposites Alg-NPM (post-traités (1 et 2) et in-situés (3 et 4) respectivement)

Cependant, la biomembranes magnétique préparé in-situ avoisine son maximum (132%) de gonflement après 30 minutes, nettement inférieur à la biomembrane post-traité qui atteint les 187% de gonflement après 40 minutes. D'après la méthode de préparation, on aboutit aux conclusions suivantes :

- La méthode in-situ assure une meilleure adhésion et distribution des NPM au niveau macromoléculaire, suite à la formation instantanée de la biomembrane par ajout de  $\text{CaCl}_2$ .
  - Le séchage des biomembranes post-traitées dans l'étuve aurait induit une déstabilisation des NPM.
- **Capacité de rétention d'eau**

A contrario, les biomembranes libèrent de façon prolongée le TPS absorbé tel que montré dans la *figure III.17*. Le glycérol y est pour cause, car, l'agent plastifiant joue un double rôle ici. Celui de rétenteur de par ses propriétés hygroscopiques [42] et de diffuseur en créant un espace entre les chaînes polymériques qui laisse passer l'eau/le solvant[26].

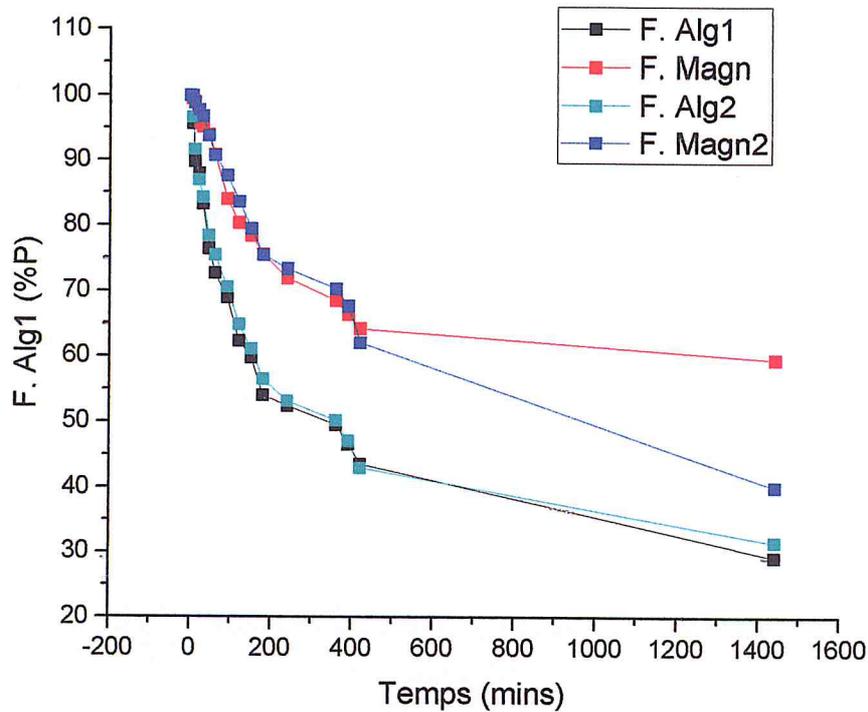


Figure III. 17 : Perméabilité cinétique des biomembranes d'alginate et des membranes biocomposites Alg-NPM (post-traités (1 et 2) et in-situés (3 et 4) respectivement)

### III.1.2.4. Diffusion des membranes

Les valeurs d'absorbance obtenues pour les quatre solutions étalons sont indexées dans le tableau III.8.

La courbe tendance d'étalonnage démontrant une régression linéaire  $R^2$  de 0.9891 est illustrée dans la figure. L'équation  $y = 67.937x + 0.0503$  a été utilisée pour calculer la concentration de bleu de méthylène libérée à l'intérieur des cellules.

| Solutions | Concentration en BM de l'échantillon ( $\mu\text{M}$ ) | Absorbance |
|-----------|--|------------|
| 1         | 30   | 2.146      |
| 2         | 15   | 0.937      |
| 3         | 7.5  | 0.588      |
| 4         | 1  | 0.16477    |

Tableau III.8: Valeurs d'absorbance des solutions étalons du bleu de méthylène à  $\lambda=660\text{nm}$

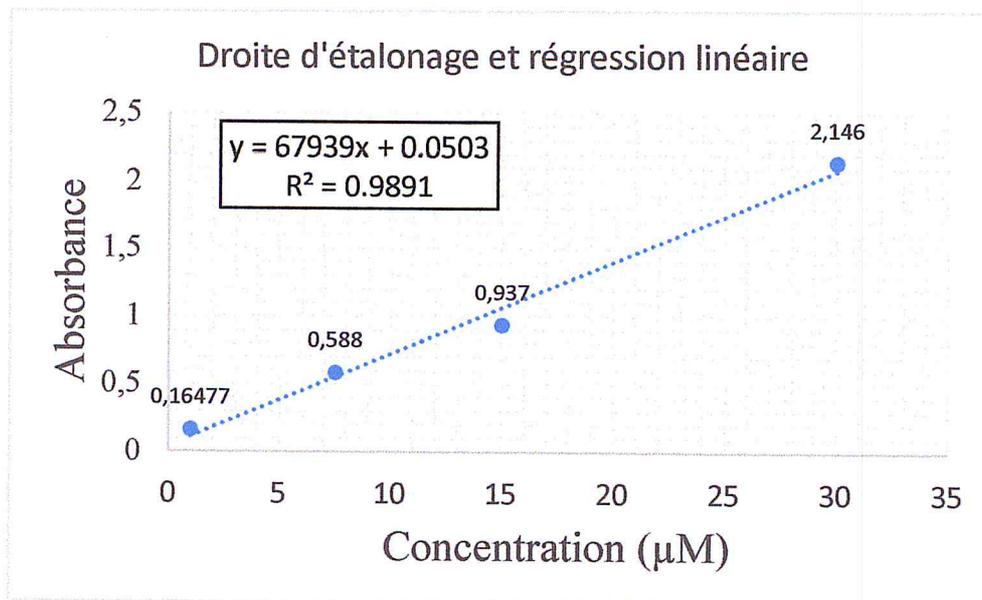


Figure III. 18 : Droite d'étalonnage et régression linéaire pour les solutions étalons du bleu de méthylène

La diffusion du bleu de méthylène à travers les membranes biopolymériques et biocomposites est représentée dans la *figure III.19* en concentration, en fonction du temps.

On constate que le profil de diffusion est pulsatile pour les quatre membranes préparés, ce modèle de diffusion est régi par les propriétés osmotiques du polysaccharide [16].

De plus, les groupements amines du BM ( $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{S}$ ) peuvent interagir avec les groupements carboxyliques de l'alginate, ce qui influe d'une part la diffusion.

Par ailleurs, l'effet pulsatile est moins accentué (jusqu'à  $0.39\mu\text{M}$ ) mais plus prolongé (de 15mins) pour les biomembranes magnétiques, donc mieux contrôlé. Nous pensons que l'action du champ magnétique de la plaque agitricrice est à l'origine de cet impact.

La biomembrane d'alginate vierge préparée *in-situ* se rompt après 20mins, cette cassure peut être causée par la traction osmotique du biopolymère.

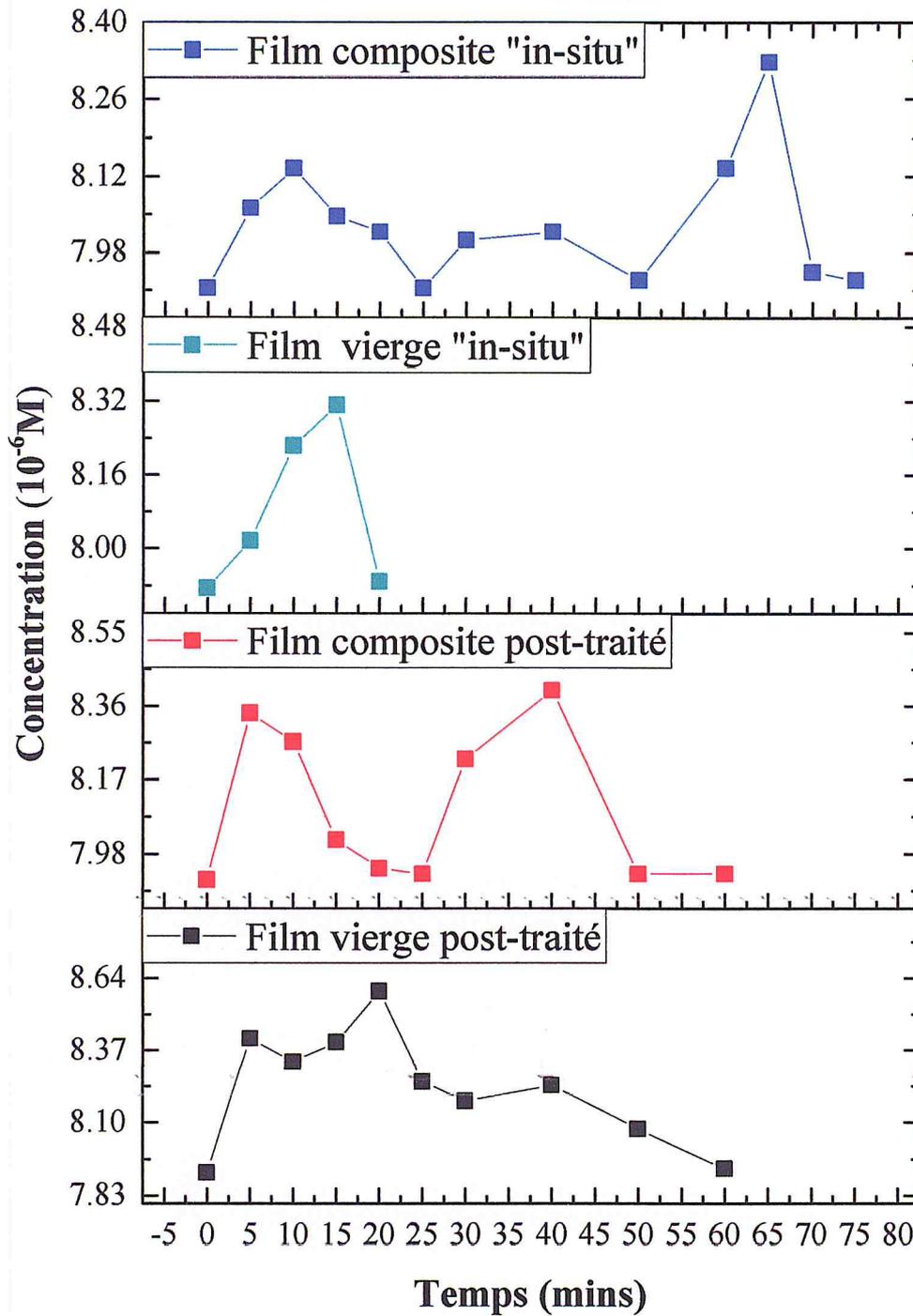


Figure III. 19 : Concentration du BM dans la cellule diffuse à travers les membranes biopolymériques et biocomposites en fonction du temps

Au terme de cette partie expérimentale, nous pouvons conclure qu'elle nous a permis de valider la préparation des matériaux souhaités (NPM et membranes biocomposites Alg-NPM).

La synthèse par co-précipitation en milieu alcalin nous a permis d'obtenir des NPM de structure sphérique/ovoïde présentant une distribution monomodale.

Leur encapsulation dans l'hydroxyde de tetramethylammonium s'est avérée efficace, puisque leur dégradation thermique fût reculée de 300 °C.

Quant aux membranes biopolymériques et biocomposites, elles ont été préparées par méthode de coulage. Elle présentent une épaisseur allant de 0.04 à 0.35 mm respectivement et sont caractérisées par un taux de gonflement qui varie entre 132 et 187% pour chacune des membranes validées, mais aussi une capacité de rétention d'eau/solvant nettement amoindrie dans le cas des membranes biocomposites.

Toutefois, La réticulation du biopolymère par les ions  $\text{Ca}^{2+}$  reste le phénomène le plus rencontré, voire l'interprétation la plus utilisée dans l'explicitation de nos résultats.

**Bibliographie**

- [1] Alzahrani, Eman, "Gum Arabic-Coated Magnetic Nanoparticles For Methylene Blue Removal," vol. 3, pp. 15118-15129, 2014.
- [2] Barala, S. K., Arora, M., Puri, Chandni, Saini, K. K., Kotnala, R. K., and Saini, P., "Ferrofluid/activated carbon composites for water purification and EMI shielding applications," *Magneto hydrodynamics*, vol. 49, pp. 277-281, 2013.
- [3] Blaney, Lee, "Magnetite ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ): Properties, synthesis, and applications," *Lehigh Review*, vol. 15, pp. 32-81, 2007.
- [4] Boukchiche, Faris, "Etude de structures coplanaires à métamatériaux et à couche magnétique," 2010.
- [5] Buschow, K. H. J., "Handbook of Magnetic Materials - 16," vol. 16, p. 542, 2006.
- [6] Businova, Petra, Chomoucka, Jana, Prasek, Jan, Hrdy, Radim, Drbohlavova, Jana, Sedlacek, Petr, *et al.*, "Polymer-coated iron oxide magnetic nanoparticles - Preparation and characterization," *Nanocon 2011*, 2011.
- [7] Collins, Andrew M., "Chapter 3 - Common Analytical Techniques for Nanoscale Materials - POWDER X-RAY DIFFRACTION," dans *Nanotechnology Cookbook*, ed Oxford: Elsevier, 2012, pp. 17-33.
- [8] Collins, Andrew M., "Chapter 4 - Chemical Techniques - Ferrofluids," in *Nanotechnology Cookbook*, ed Oxford: Elsevier, 2012, pp. 35-204.
- [9] Covaliu, Cristina Heana, Matei, Cristian, Ianculescu, Adelina, Jitaru, Ioana, and Berger, Daniela, " $\text{Fe}_3\text{O}_4$  and  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  nanoparticles stabilized in sodium alginate polymer," *UPB Bull. Sci*, vol. 71, pp. 53-60, 2009.
- [10] Daou, Toufic Jean, "Synthèse et fonctionnalisation de nanoparticules d'oxydes de fer magnétique," p. 238, 2007.
- [11] Divyabharathi, M., "Sodium Alginate composite film preparation with Nano clay and enhancing its properties," *International Journal for Scientific Research and Development*, vol. 1, pp. 1604-1608, 2013.
- [12] Eid, Cynthia Joseph, "Synthèse et caractérisation de nouvelles nanostructures à base d'oxyde et de carbure de Fe," Citeseer, 2012.
- [13] Fabia, J., Slusarczyk, Cz, and Gawlowski, A., "Supermolecular Structure of Alginate Fibres for Medical Applications Studied by Means of WAXS and SAXS Methods," *FIBRES & TEXTILES in Eastern Europe*, vol. 13, p. 53, 2005.

- [14] Faria, Marta da Rocha, "Development and Characterization of Magnetoliposomes for Drug Delivery Applications," ed. INSTITUTO SUPERIOR TECNICO- Universidade Tecnica de Lisboa 2011.
- [15] Filippov, M. P. and Kohn, R., "Determination of composition of alginates by infrared spectroscopic method," *Chemicke Zvesti*, vol. 28, pp. 817-819, 1974.
- [16] Goujon, I., "Les Alginates : excipients d'origine marine utilisés dans l'industrie pharmaceutique - Application à la synthèse d'un gel chimique," 2004.
- [17] Hariani, Poedji Loekitowati, Faizal, Muhammad, Ridwan, Ridwan, Marsi, Marsi, and Setiabudidaya, Dedi, "Synthesis and Properties of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanoparticles by Coprecipitation Method to Removal Procion Dye," *International Journal of Environmental Science and Development*, pp. 336-340, 2013.
- [18] Harper, Bonnie Allison, "Understanding interactions in wet alginate film formation used for in-line food processes," 2013.
- [19] Hassan, Refat M., Zaafarany, Ishaq A., and Gobouri, Adil, "Temperature-Dependence of Electrical Conductivity for Some Natural Coordination Polymeric Biomaterials Especially Cross-Linked Tetravalent Metal-Alginate Complexes with Correlation between the Coordination Geometry and Complex Stability," *Advances in Biosensors and Bioelectronics, Advances in Biosensors and Bioelectronics*, vol. 2, 2013.
- [20] I., Donati and Paoletti, S., "Material Properties of Alginates," dans *Alginates: Biology and Applications*. vol. 13, Bernd H. A. Rehm, Ed., ed Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2009.
- [21] Kamaruddin, Mohamad Anuar, Yusoff, Mohd Suffian, and Aziz, Hamidi Abdul, "Preparation and Characterization of Alginate Beads by Drop Weight," *International Journal of Technology*, vol. 5, p. 121, 2014.
- [22] Kampf, N., Zohar, C., and Nussinovitch, A., "Alginate coating of *Xenopus laevis* embryos A2 - Nishinari, Katsuyoshi," dans *Hydrocolloids*, K. Nishinari, Ed., ed Amsterdam: Elsevier Science, 2000, pp. 371-379.
- [23] Khan, Boon-Beng Lee • Eng-Seng Chan • Pogaku Ravindra • Tanveer Ahmad, "Surface tension of viscous biopolymer solutions measured using the du Nouy ring method and the drop weight methods," *Springer*, 2012.
- [24] Li, Jian, Qiu, Xiaoyan, Lin, Yueqiang, Liu, Xiaodong, Gao, Rongli, and Wang, Anrong, "A study of modified Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles for the synthesis of ionic ferrofluids," *Applied Surface Science*, vol. 256, pp. 6977-6981, 2010.

- interactions in metal–alginate complexes studied with FTIR spectroscopy," *Carbohydrate Research*, vol. 345, pp. 469-473, 2010.
- [38] Pereira, Leonel, Amado, Ana M., Critchley, Alan T., van de Velde, Fred, and Ribeiro-Claro, Paulo J. A., "Identification of selected seaweed polysaccharides (phycocolloids) by vibrational spectroscopy (FTIR-ATR and FT-Raman)," *Food Hydrocolloids*, vol. 23, pp. 1903-1909, 2009.
- [39] Purohit, Satish B., Lalpalikar, S. R., Pare, Sachin, and Jain, Vikas, "Characteristics of ferro fluid," *Indian Journal of Science and Technology*, vol. 4, pp. 1505-1509, 2011.
- [40] Reddy, S. Giridhar and Pandit, Akanksha Saxena, "Biodegradable sodium alginate and lignosulphonic acid blends: characterization and swelling studies," *Polímeros*, pp. 13-17, 2013.
- [41] Sakugawa, Keiju, Ikeda, Atsushi, Takemura, Akio, and Ono, Hirokuni, "Simplified method for estimation of composition of alginates by FTIR," *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 93, pp. 1372-1377, 2004.
- [42] Santana, A. A. and Kieckbusch, T. G., "Physical evaluation of biodegradable films of calcium alginate plasticized with polyols," *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, vol. 30, pp. 835-845, 2013.
- [43] Saquing, Carl D., Tang, Christina, Monian, Brinda, Bonino, Christopher A., Manasco, Joshua L., Alsberg, Eben, *et al.*, "Alginate–Polyethylene Oxide Blend Nanofibers and the Role of the Carrier Polymer in Electrospinning," *Industrial & Engineering Chemistry Research*, vol. 52, pp. 8692-8704, 2013.
- [44] Sartori, Celine, "The characterisation of alginate systems for biomedical applications," Brunel University School of Engineering and Design PhD Theses, 1997.
- [45] Serna, C. J. and Morales, M. P., "Maghemite ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ): A Versatile Magnetic Colloidal Material," dans *Surface and Colloid Science*, Egon Matijević and Michal Borkovec, Eds., ed Boston, MA: Springer US, 2004, pp. 27-81.
- [46] Shima, P. D., "Synthesis, characterization, thermal and rheological studies in Nanofluids," *INFLIBNET*, 2011.
- [47] Sundarrajan, Parani, Eswaran, Prabakaran, Marimuthu, Alexander, Subhadra, Lakshmi Baddireddi, and Kannaiyan, Pandian, "One Pot Synthesis and Characterization of Alginate Stabilized Semiconductor Nanoparticles," *Bulletin of the Korean Chemical Society*, vol. 33, pp. 3218-3224, 2012.

- [48] Taylor, P. and Owen, D. G., "Comparison of the solubilities of synthetic hematite ( $\alpha$ -FeO<sub>3</sub>) and maghemite ( $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)," Atomic Energy of Canada Ltd. AECL--11668, 1997 1997.
- [49] Thapa, Deepa, Palkar, V. R., Kurup, M. B., and Malik, S. K., "Properties of magnetite nanoparticles synthesized through a novel chemical route," *arXiv:cond-mat/0406184*, 2004.
- [50] Turbiani, Franciele Rezende Barbosa and Kieckbusch, Theo Guenter. (2007). *Desenvolvimento e caracterização de filmes ativos de alginato de sodio reticulados com benzoato de calcio* [Dissertação de Mestrado].
- [51] Udaseen, Sagar, Asthana, Somya, Raveendran, Nimal T., Kumar, Krishna, Samal, Ajit, Pal, Kunal, *et al.*, "Optimization of process parameters for nozzle—free electrospinning of poly (vinyl alcohol) and alginate blend nano-fibrous scaffolds," *Int J Enhanced Res Sci Technol Eng*, vol. 3, pp. 405-411, 2014.
- [52] Urquiza, Turner K. Vidal, Pérez, O. Perales, and Saldaña, M. Gálvez. (2011). *Effect of the Cross-Linking with Calcium Ions on the Structural and Thermo-Mechanical Properties of Alginate Films*.
- [53] Zaafarany, Ishaq A., "Temperature-Dependence of Electrical Conductivity for Some Natural Coordination Polymeric Biomaterials Especially Some Cross-Linked Trivalent Metal-Alginate Complexes with Correlation between the Coordination Geometry and Complex Stability," *Journal of Advanced Chemical Engineering*, vol. 4, 2015.
- [54] Zhang, Ming, *Nonaqueous Synthesis of Metal Oxide Nanoparticles and Their Surface Coating*: ProQuest, 2008.

### Conclusion générale

L'étude réalisée lors de ce projet nous a permis à la fois de préparer des nanoparticules de magnétite de taille moyenne de 8 nm, de les stabiliser dans le HTMA selon la méthode de Massart et de les utiliser dans la conversion d'un biopolymère non magnétique en préparant des membranes biocomposites d'Alg-NPM.

La partie théorique nous a servi d'appui pour appréhender le comportement des réactifs de base utilisés durant l'expérience, également pour l'interprétation de certains de nos résultats.

Concernant la partie expérimentale, sur une base bibliographique nous avons choisi les méthodes de synthèse et de préparation qui ont aussi été sélectionnées selon la disponibilité du matériel et des réactifs au niveau du laboratoire.

D'après nos expériences, nous sommes parvenus à mettre au point une deuxième méthode de préparation des membranes biopolymériques et biocomposite nommée « méthode *in-situ* » qui s'est révélée avoir un impact dans le cas des membranes biocomposites.

Les tests visuels et magnétiques effectués sur les nanoparticules et les biomembranes magnétiques préparés, affirment qu'il s'agit de matériaux magnétiques. Ces derniers répondent effectivement à l'application d'un champ magnétique.

Suite à l'étude de la tension superficielle des solutions filmogènes et du ferrofluide, nous avons pu établir quelques explications en ce qui concerne les phénomènes qui régissent le comportement interfacial solution filmogène-air et ferrofluide-air.

La caractérisation structurale et morphologique, à savoir par IRTF, DRX et MEB vient affirmer et confirmer l'authenticité des ingrédients de base, mais aussi des produits synthétisés.

Une comparaison entre les membranes biopolymériques et biocomposites préparés de deux diverses méthodes a été établie pour les tests *in-vitro* et l'incorporation de NPM au sein de la matrice polymérique influence clairement le taux de gonflement, la capacité de rétention en eau/solvant et la diffusion des membranes biopolymérique en interférant les interactions inter-chaines polymériques.

## Conclusion générale

Notamment, le test de diffusion a montré un comportement pulsatile des membranes biopolymériques, particulièrement pour les membranes biocomposites. Cette propriété est intéressante dans le cas de leur application dans la biomédecine.

En somme, les objectifs visés dans notre introduction ont été atteints et nous en concluons que la post-magnétisation de matériaux naturellement non-magnétiques est reproductible au niveau du laboratoire. Par la même occasion, ces biocomposites présentent l'avantage d'être magnétiquement influencés, voire, contrôlés tout en gardant leur biocompatibilité ce qui en fait un atout en vue d'une application biomédicale transdermique magnéto-programmée ou magnéto-contrôlée en incorporant des substances actives dans le système.

Cependant, nous suggérons d'entreprendre des investigations plus approfondies sur le sujet, permettant la mise en œuvre d'un nouveau système de médication qui révolutionnerait le monde biopharmaceutique et biomédical.



## Annexe

Les appareils utilisés pour la caractérisation des matériaux préparés au laboratoire sont illustrés dans cette partie, on note toutefois que nous n'étions dans la capacité de photographier l'ensemble des appareillages.

### 1. Tensiomètre « K6 de Krüs » utilisé pour l'étude des propriétés interfaciales

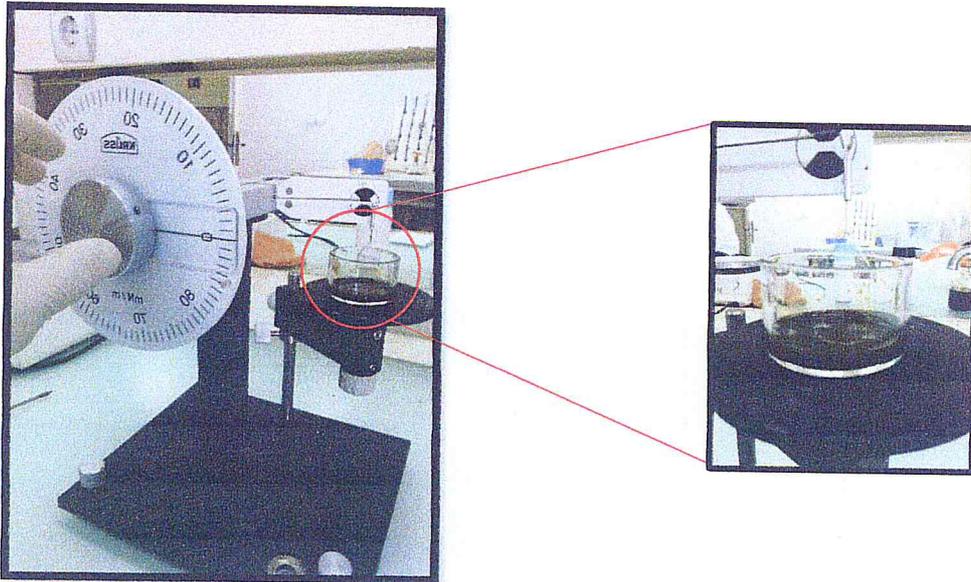


Figure 1 : Dispositif du tensiomètre utilisé

### 2. pH mètre « Martini Mi 151 » utilisé pour les mesures du pH

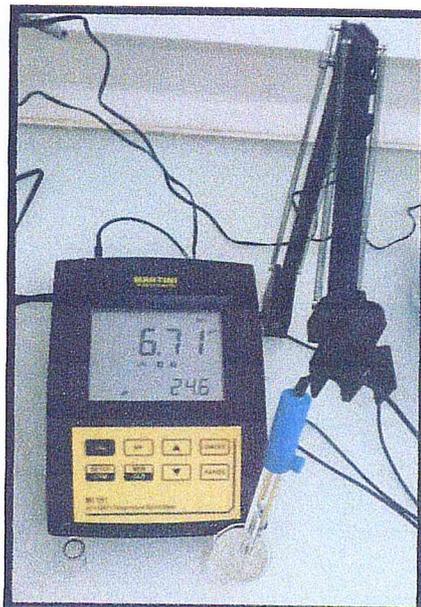


Figure 2 : pH-mètre "Martini Mi 151" utilisé pour les mesures de notre étude

3. Viscosimètre AND SV-10 utilisé pour la mesure de la viscosité des solutions filmogènes

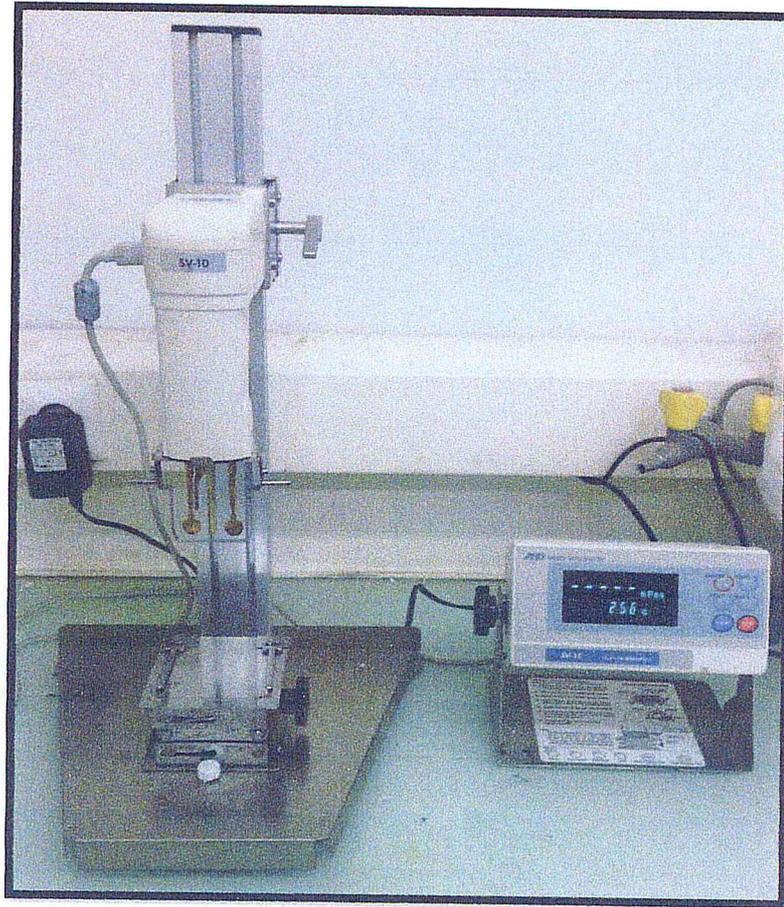


Figure 3: Viscosimètre AND SV-10 utilisé pour les tests de viscosité

**4. Spectrophotomètre IRTF utilisée pour nos analyses**



*Figure 4 : Dispositif utilisé pour l'analyse IRTF*

**5. Diffractomètre à rayon X utilisé pour l'analyse des NPMs, des NPMt<sub>400</sub> et des NPMt<sub>700</sub>**



*Figure 5: Diffractomètre D2 Phaser de Brüker*

## 6. Dispositif utilisé pour le test de diffusion des membranes biopolymérique

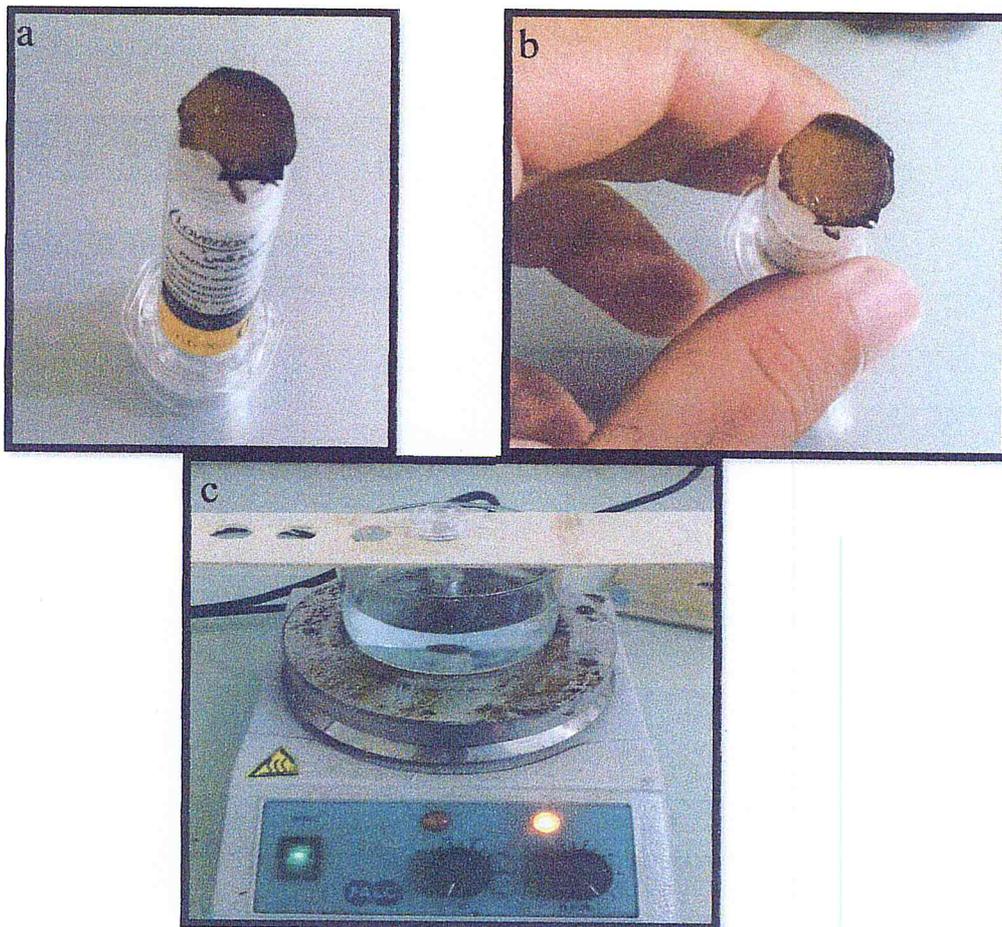


Figure 6: (a) et (b) La cellule de Lovenox<sup>®</sup> dont l'orifice est recouvert d'un film biocomposite magnétique; (b) I; (c) Immersion de la cellule de Lovenox<sup>®</sup> dont l'orifice est recouvert de biomembrane magnétique dans le bain de TPS sous agitation magnétique

