

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE**

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA 1

Faculté de Technologique

Département de Génie des Procédés



Mémoire

En vue de l'obtention Du Diplôme de

MASTER EN GENIE DES PROCEDES

Option : Génie et science de l'environnement

Intitulé du mémoire

*Élaboration et étude de comportement d'un nouveau matériau à base
de PVA/CHITOSANE pour l'utilisation comme film*

Présenté par:

Aissani Radia

Mentalecheta Wafa

Encadré par:

Pr. Laribi Hassiba

Dr. boulahbel Ilyes

Année universitaire 2020/2021

Remerciements

Je dois tout d'abord remercier et me prosterner devant ALLAH, Dieu Le Tout Puissant, qui m'aide et m'offre tout ce que j'ai aujourd'hui.

Je tiens tout particulièrement à remercier Madame La Professeure Laribi Hassiba qui a dirigé cet mémoire.

Pour sa disponibilité, son soutien et ses conseils qui ont été nombreux et importants.

Mme Laribi Hassiba a beaucoup œuvré pour la mise en valeur de mon travail. J'ai tant apprécié en sa présence l'environnement de notre équipe qui s'est solidifié. J'ai appris beaucoup de choses avec elle. Je lui adresse toute ma reconnaissance et mon affection.

J'exprime mes vifs remerciements à Monsieur Le Dr. Boulahbal Ilyes qui m'a toujours aidé sur tous les plans surtout scientifiques. Pour les qualités de ses orientations et de ses connaissances et pour sa sympathie qu'il m'a témoignées. Qu'il trouve ici la reconnaissance de ma profonde gratitude.

Nous remercions également ; Les membres du jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant l'évaluation de notre travail.

Nos remerciements vont également tous les enseignants du département de génie des procédés qui nous aidés, conseillés et guidés afin de finaliser ce présent mémoire dans des bonnes conditions.

Nous tenons a remercié vivement Mme boutmak **, chef de département génie des procédés pour son accueil et la confiance qui nous a accordé.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

A l'homme de ma vie, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, mon cher père qui m'a soutenu éternellement et qui a consacré sa vie afin de faire de moi ce que je suis.

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

A mes chères sœurs source d'espoir et de motivation.

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

A mon binôme Wafa, pour sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

Je ne saurai terminer sans citer mes meilleures amies :

Selma, Hafida, , Nesrine.

Je tiens à adresser des remerciements très chaleureux à madame Laribi.H pour tous ces conseils et leur soutien moral et à monsieur Boulahbal.I pour ses efforts et sa patience.

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.

Aissani Radia

Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ce qui quelque soient les termes embrasser, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

A L'homme mon précieux offre de dieu qui doit ma vie ma réussite et tout mon respect : Mon cher père.

A La femme qui a souffert sans me laisser souffrir et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : Mon adorable mère.

A mes chères sœurs qui m'ont encouragé, et mes deux frères.

A mon cher fiancé l'amour de ma vie Bilal qui n'a pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études, et qui m'a aidé et supporté dans les moments difficiles.

A ma belle-famille et mon adorable belle-sœur pour son soutien morale.

A tous mes amis, qui m'a toujours déstressé durant mes études.

A mon binôme Radia, pour sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

Enfin je le dédie à ma meilleure promotrice Laribi.H pour ses efforts sa patience et sa compréhension tout au long ce projet et à monsieur Boulahbal.I pour tous ces conseils.

Mentalecheta Wafa

SOMMAIRE

DEDICACE

REMERCIEMENTS

RESUME

ABSTRACT

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

INTRODUCTION GENERALE

Chapitre 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1	Polymères biodégradables	7
1.1	Définition :	7
1.2	Classification :	7
1.3	Polymères biodégradables issus de la pétrochimie	7
1.4	Polymères biodégradables issus des ressources renouvelables	7
2	Chitine :	8
2.1	La définition de La chitine :	8
2.2	Historique de la chitine et chitosane :	8
2.3	Structure de la chitine.....	9
2.4	Structure cristalline de la chitine :	9
2.5	Disponibilité de la chitine :	9
2.6	Procédé d'extraction de la chitine :	10
2.6.1	La déminéralisation.....	10
2.6.2	La déprotéinisation.....	10
2.6.3	L'étape de blanchiment.....	11
2.7	Propriété physico-chimique de la chitine	11
2.8	L'application de la chitine	11
3	Chitosane :	12
3.1	Définition :	12
3.2	la structure de chitosane :	12
3.3	Structure cristalline du chitosane :	13

3.4	Sources de chitosane :	13
3.5	Production de chitosane :	13
3.6	Propriétés Principales du chitosane :	14
3.7	Propriétés physico-chimiques :	15
3.7.1	Solubilité :	15
3.7.2	Degré de désacétylation(DDA) :	16
3.7.3	Viscosité :	17
3.7.4	Poids moléculaire :	17
3.7.5	Flexibilité :	17
3.7.6	Cristallinité :	17
3.8	Propriétés antibactériennes du chitosane :	18
3.8.1	Aspects microbiens :	18
3.8.2	Facteurs environnementaux	19
3.9	Principales applications du chitosane.....	19
3.10	Application de chitosane dans l’emballage alimentaire :	20
4	Alcool polyvinylique (PVA) :	20
4.1	Définition:	20
4.2	Historique PVA :	20
4.3	Structure chimique du PVA :	21
4.4	Propriétés chimiques et physiques du PVA :	22
4.5	Mode d’obtention du PVA :	23
4.6	Applications du polyvinyle alcool :	23
5	Le mélange PVA /CS :	25
5.1	Généralités sur les mélanges	25
5.2	Types de mélanges :	25
5.3	Méthodes d’élaboration des mélanges :	26
5.3.1	Mélange en solution (casting).....	26
5.3.2	Mélange par voie fondue	26
5.4	La plastification :	26
5.5	Mécanismes mis en jeu lors de la plastification.....	26

Chapitre 2: MATERIEL ET METHODE

Introduction :	30
Produits et Matériels :	30
Méthodes expérimentales :	31

1	Prétraitement des plumes.....	31
2	Transformation de la chitine en chitosane :.....	32
2.1	Déminéralisation :	33
2.2	Déprotéinisation	33
2.3	Blanchiment	33
2.4	Désacétylation	33
3	Préparation du gel.....	34
4	Préparation des membranes du chitosane pure.....	35
5	Préparation des membranes du PVA pure	35
6	Préparation des membranes du mélange Chitosane/PVA :	35
7	Techniques de Caractérisation de chitosane	37
7.1	Teneur en eau	37
7.2	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF).....	37
7.3	Microscopie Electronique à Balayage (MEB)	37
7.4	Détermination du poids moléculaire par viscosimétrie :.....	38

Chapitre 3: RESULTATS ET DISCUSSION

1	Extraction de la chitine et sa transformation par voie chimique en chitosane	41
1.1	Rendements des réactions	41
2	Caractérisation de la chitine et du chitosane préparés :.....	41
2.1	Teneur en eau :	41
2.2	Test de solubilité	42
2.3	Analyse par Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier(FTIR)	43
2.3.1	Détermination de degré désacétylation DDA	44
2.4	La microscopie électronique à balayage MEB :.....	45
2.5	Détermination du poids moléculaire du chitosane par viscosimétrie :.....	45
3	Résultat des membranes du mélange Chitosane/PVA :.....	45
	Conclusion générale :.....	47

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATION

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE.

TABLE DES MATIÈRES

Tableau 1 : Teneur en chitine par espèces.....	10
Tableau 2: Propriétés du chitosane.....	15
Tableau 3 : quelques applications du chitosane dans différents domaines.....	19
Tableau 4 : produits et matériels.....	30
Tableau 5 : pourcentage en Chitosane / PVA dans les membranes.....	36
Tableau 6 : Rendements des différentes étapes d'extraction et de transformation de la chitine en chitosane.....	41
Tableau 7: teneur en eau de chitine et du chitosane.....	42
Tableau 8 : principales bandes d'adsorption IR du chitosane synthétisé et leurs groupements attribués.....	44
Tableau 9 : degré de désacétylation du chitosane extrait.....	44

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Structure de la chitine.....	9
Figure 2 : Structure de chitosane.....	12
Figure 3 : Conversion de la chitine en chitosane par désacétylation.....	14
Figure 4 : <i>Exemple de structure pour une chitine désacétylée à 40 %</i>	16
Figure 5 : Structures du chitosane en milieu acide (A) et en milieu neutre (B) d'après.....	18
Figure 6 : Formule développée pour le PVA : (a) partiellement hydrolysé; (b) entièrement hydrolysé.....	21
Figure 7 : (a) La structure de l'alcool vinylique; (b) Le PVA est synthétisé par hydrolyse d'acétate de polyvinyle	22
Figure 8 : Tautomérisation du vinyle alcool en acétaldéhyde.....	23
Figure 9 : Sources du volume libre utilisées pour la plastification : (a) mouvements des groupes terminaux, (b) mouvements des chaînes latérales, (c) mouvements de type « manivelle » de la chaîne principale, (d) mouvements d'un plastifiant externe.....	28
Figure 10 : préparation de la plume de calamar.....	31
Figure 11 : Étapes de production de chitosane.....	32
Figure 12 : Conversion de la chitine en chitosane par désacétylation	34
Figure 13 : la chitine dés acétylée (chitosane).....	34
Figure 14 : gel de chitosane	35
Figure 15 : méthode de préparation des membranes ; A Chitosane pur, B PVA pur, et C les mélanges des deux polymères.....	36
Figure 16 : Microscopie électronique à balayage de type FEI QUANTA 650 MEB.....	38
Figure 17 : la chitine et le chitosane dans une solution AC1%.....	42
Figure 18 : Spectres FTIR du chitosane extrait et du chitosane commerciale.....	43
Figure 19 : Micrographie MEB des surfaces de chitosane.....	45
Figure 20 : Membranes de mélange chitosane/PVA à différents pourcentages.....	46

Résumé

Depuis plusieurs années, le besoin d'utiliser des polymères d'origine naturelle dans l'industrie des plastiques se fait de plus en plus pressant. Le chitosane, qui est un polysaccharide naturel, en plus des propriétés antibactériennes qui peuvent être intéressantes dans de nombreux domaines comme l'industrie de l'emballage alimentaire. Le but de ce travail est de développer des films biodégradables à partir de chitosane et de polyvinyle alcool (PVA) comme des biospolymères de base pour les emballages alimentaires. Dans ce travail deux étapes ont été réalisées : d'abord la préparation de chitosane par désacétylation de la chitine extraite à partir des plumes de calamars après déminéralisation et déprotéinisation. Le produit obtenu a été caractérisé par la spectroscopie infra rouge (FTIR) et par la microscopie électronique à balayage (MEB). Ensuite, l'élaboration des membranes à base de chitosane pur et de PVA pur et mélange du chitosane avec le polyvinyle alcool (PVA) à différents pourcentage.

Mots clés : Chitine, Chitosane, déminéralisation, déprotéinisation, degré de déacétylation, Alcool polyvinylique.

Abstract

For several years, the need to use naturally occurring polymers in industry has been recognized plastics are becoming increasingly urgent. Chitosan, which is a natural polysaccharide, has in addition antibacterial properties that can be interesting in many areas such as the food packaging industry. The goal of this work is to develop biodegradable films from chitosan and polyvinyl alcohol (PVA) as bios base polymers for food packaging. In this work two steps were achieved: first, the preparation of chitosan by deacetylation of chitin extracted from squid feathers after demineralization and deproteinization. The product obtained was characterized by infra-red spectroscopy (FTIR) and electron microscopy scan (MEB). Next, the development of pure chitosan and pure ACP membranes and mixing of chitosan with polyvinyl alcohol (PVA) at different percentages.

Keywords: Chitin, Chitosan, demineralization, deproteinization, deacetylation, Polyvinyl alcohol.

ملخص

منذ عدة سنوات ، نمت بشكل متزايد الحاجة إلى استخدام البوليمرات ذات الأصل الطبيعي في صناعة البلاستيك. يحتوي الشيتوزان ، وهو عديد السكاريد الطبيعي ، على خصائص إضافية مضادة للجراثيم قد تكون ذات أهمية في العديد من المجالات مثل صناعة تغليف المواد الغذائية. الهدف من هذا العمل هو تطوير أغشية قابلة للتحلل من الكيتوزان وكحول البولي فينيل كبوليمرات حيوية أساسية لتغليف المواد الغذائية. في هذا العمل تم تنفيذ خطوتين: أولاً تحضير الكيتوزان عن طريق (PVA) نزع الأسيتيل من الكيتين المستخرج من ريش الحبار بعد التنقية ونزع البروتين. تم تمييز المنتج الذي تم الحصول عليه بواسطة التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء و المسح المجهر الإلكتروني. بعد ذلك يتم تطوير الأغشية على أساس الشيتوزان و البوليفينيل .

Introduction générale :

La conservation d'une denrée alimentaire consiste à maintenir le plus longtemps possible ses qualités hygiéniques, nutritionnelles et organoleptiques en agissant sur les divers mécanismes d'altération pour en ralentir ou en supprimer les effets.

Il existe des problèmes de compatibilité entre les emballages plastiques et les aliments. En effet, les interactions entre plastique et aliment sont inévitables. Elles entraînent parfois des défauts de qualité tant sur le plan organoleptique que toxicologique.

Le plus connu de ces problèmes est la migration de monomères résiduels ou d'adjuvants qui peuvent être relargués par l'emballage et contaminer les aliments [1].

Avec la demande mondiale croissante en matière plastique qui a dépassé les 250 millions de tonnes en 2012 [1], le prix alarmant du pétrole et les préoccupations environnementales, les matières plastiques biodégradables se positionnent parmi les meilleures alternatives.

Dans le secteur de l'emballage, premier secteur demandeur en plastique [2,3], l'emballage alimentaire est celui qui présente la croissance la plus élevée [4]. C'est de là que découle notre intérêt pour le développement d'un nouvel emballage alimentaire biodégradable. On a choisi de synthétiser ce dernier à partir des deux polymères, l'alcool polyvinylique (PVA) et le chitosane (CS), vu leur disponibilité, leur coût, leur biodégradabilité et surtout leur propriétés complémentaires.

La chitine et le chitosane sont des polymères naturels produits dans les plumes des calamars, qui n'ont pas été utilisés efficacement à ce jour.

La chitine est classée en deuxième rang parmi les composés organiques sur terre, dont la majorité sont éliminées comme des déchets [5],[6]. Par conséquent, le chitosane par modification chimique de la chitine a été l'un des ressources naturelles les plus bénéfiques, d'intérêts économiques et publics par recyclage des déchets.

L'alcool polyvinylique (PVA), qui est essentiellement fabriqué à partir d'acétate de polyvinyle par hydrolyse, est facilement dégradé par les organismes biologiques et dans l'eau est un polymère à structure cristalline solubilisé [7]. Ce polymère est largement utilisé en mélange avec d'autres composés polymères, tels que des bio polymères et d'autres polymères aux propriétés hydrophiles ; il est utilisé pour diverses applications industrielles pour améliorer les propriétés mécaniques des films en raison de sa structure compatible et de ses propriétés hydrophiles [8]. Certains polymères synthétiques, qui sont fabriqués à partir de sources non renouvelables et non biodégradables, comme le PVA, sont disponibles [9]. Les polymères biodégradables proviennent de matières synthétiques à base de pétrole, qui se décomposent naturellement dans des conditions aérobies (compostage) ou anaérobies (mise en décharge) [10,11]. Le PVA est un polymère thermoplastique largement utilisé qui est inoffensif pour les tissus vivants, inoffensif et non toxique.

Notre travail se dirige dans la voie de concevoir à la fois un polymère hybride, en incorporant un bio polymère biodégradable et hydrolysable issu des ressources renouvelables. Sous un objectif principal constitué à conférer une sensibilité aux attaques microbiennes en premier lieu la

dégradation du chitosane ensuite la fragmentation de la matrice PVA, et de réduire l'utilisation des additifs tel que les phtalates qui ont un potentiel cancérigène.

Dans une première partie de ce mémoire, on a fait une étude bibliographique sur les polymères biodégradables en général et nos polymères de base en particulier, ainsi que sur les méthodes de synthèses des systèmes PLA/CS.

Dans une deuxième partie, on a exposé le matériel et méthodes utilisés pour réaliser le chitosane et les films de PLA/CS et les caractériser, pour finir avec une partie d'interprétation de nos résultats ainsi qu'une proposition de certaines perspectives.



Chapitre I – Étude bibliographique

1 Polymères biodégradables

1.1 Définition :

Selon *American Society for Testing and Material* (société américaine pour les essais et les matériaux), un plastique dégradé est conçu pour subir un changement important dans sa structure chimique sous des conditions environnementales résultant en une perte de certaines propriétés qui peuvent varier telles que mesurées par des essais normalisés appropriés.

Les plastiques peuvent être désignés comme photodégradables (dû à l'action des rayons UV et des radicaux libres), dégradables chimiquement par hydrolyse ou par oxydation et dégradables mécaniquement par cisaillement et coupure des chaînes (par exemple le broyage) [12]. Entre Octobre 1990 et Juin 1992, une confusion quant à la véritable définition de «biodégradable» conduit à des procès concernant la publicité environnementale trompeuse. Ainsi, il est devenu évident à la ASTM et à ISO que des méthodes de test communes et des protocoles pour les plastiques dégradables soient nécessaires [13]. La biodégradation correspond à la destruction d'un produit par des agents biologiques. Étant donné que la biodégradabilité peut s'effectuer n'importe où (sol, eau, milieu de compostage ou de décharge), un consensus s'est dégagé autour de la notion d'impact sur l'environnement. C'est ainsi que la définition suivante a été adoptée: La biodégradation correspond à la défragmentation, par l'action de micro-organismes, avec perte des propriétés mécaniques ou avec modification chimique. La structure du matériau se simplifie pour finalement se convertir en H₂O, CO₂, CH₄ et/ou en une biomasse nouvelle et éventuellement un résidu non toxique pour l'homme et l'environnement. La biodégradation est donc une dégradation catalysée par des micro-organismes [14].

1.2 Classification :

Le développement des bioplastiques est encore à son début, il représente approximativement 5 à 10 % du marché du plastique qui est de 200 millions de tonnes par an [15]. Les matières plastiques ou matériaux biodégradables peuvent avoir deux origines: l'industrie pétrochimique ou les ressources renouvelables.

1.3 Polymères biodégradables issus de la pétrochimie

Ces polymères peuvent être divisés en quatre sous-groupes :

- Les polyesters aliphatiques, comme l'acide polyglycolique, le polybutylène succinate et le polycaprolactone.
- Les polyesters aromatiques ou mélanges de polyesters aliphatiques et aromatiques, tel que le butylène succinate téréphtalate.
- Les alcools polyvinyliques.
- Les polyoléfines (comme le polyéthylène ou le polypropylène) modifiés avec des agents spécifiques sensibles à la température ou à la lumière.

1.4 Polymères biodégradables issus des ressources renouvelables

Ils sont généralement classés en trois sous-groupes :

- Les polymères naturels.
- Les polymères d'origine bactérienne.
- les polymères synthétiques.

✓ **Les polymères naturels ou biopolymères**

Les biopolymères sont synthétisés par les végétaux, les animaux ou les microorganismes et sont souvent divisés en trois sous-groupes : les polysaccharides, les protéines et les élastomères hydrocarbonés.

- Les polysaccharides : Ils constituent les biopolymères les plus utilisés et les plus répandus. Parmi ces polymères, on cite l'amidon de maïs, la cellulose et le chitosane.
- Les protéines : elles peuvent être extraites des plantes (caféine, gluten de blé) ou des tissus animaux (collagène, gélatine) et produits animaux (caséine).
- Les élastomères hydrocarbonés : comme le caoutchouc naturel.

✓ **Les polymères d'origine bactérienne**

Ces polymères sont synthétisés à l'intérieur des bactéries lors de la fermentation et sont accumulés dans le cytoplasme. La fermentation a souvent comme matière première les sucres et l'amidon et donne des polymères tels le PHV (Poly hydroxy valérate et le PHB (Poly hydroxy butyrate).

✓ **Les polymères synthétiques**

Les monomères dans ce cas sont obtenus par fermentation bactérienne et sont ensuite polymérisés par polycondensation (par chauffage).

2 Chitine :

2.1 La définition de La chitine :

La chitine est le deuxième biopolymère naturel le plus abondant dans la nature après la cellulose. [16; 17 ; 18] Sa biosynthèse annuelle d'origine marine est estimée à plus de 109 tonnes. [19] C'est un biopolymère biodégradable et biorésorbable, deux propriétés primordiales à notre époque où la protection de l'environnement joue un rôle important. De plus, la chitine est non toxique et biocompatible. [20] Largement présente au sein du règne animal, elle constitue le squelette polysaccharidique de plusieurs groupes : arthropodes, annélides, mollusques et cœlentérés. Ainsi le traitement annuel des rejets de conserveries de crustacés fournit environ 37300 tonnes de chitine de par le monde.

2.2 Historique de la chitine et chitosane :

En 1811, le Pr. Henri Braconnot, Directeur du jardin biologique à Nancy (France) a isolé une substance fibreuse d'un certain type de champignon. De plus, il a observé que cette substance n'est pas soluble dans les solutions aqueuses d'acides. Une décennie plus tard, en 1823, la même substance a été trouvée dans certains insectes (coléoptère) et a été ensuite nommée chitine (provient du mot grec "kitos" qui signifie l'enveloppe). En 1859, le Pr.C. Rouget a soumis la chitine à un traitement alcalin et a observé les différentes solubilités de la chitine. La substance, résultat du traitement alcalin, a pu être dissoute dans les acides. Cependant, seulement en 1894 cette substance a été nommée chitosane par Hoppe-Seyler [21]. Entre 1930 et 1940, ces biopolymères ont suscité beaucoup d'intérêt dans le monde oriental, principalement pour l'application dans le domaine médical et la purification de l'eau. Et depuis 1970, la production industrielle et divers utilisation de ces deux biopolymères sont en constante augmentation, en particulier dans le cadre de protection de l'environnement de fait de leur abondance est leur propriétés intéressantes (floculation et biodégradabilité). [22]

2.3 Structure de la chitine

La chitine possède une structure chimique similaire à celle de la cellulose et chitosane, Tiemann confirma la présence d'un groupement amine sur le carbone 2 et la configuration Dglucose du chitosane. [23] Ce n'est qu'en 1912 que Brach et von Fürth conclurent que la chitine était un N-acetyl-D-glucosamine polymérisé. [24] Figure I-1.

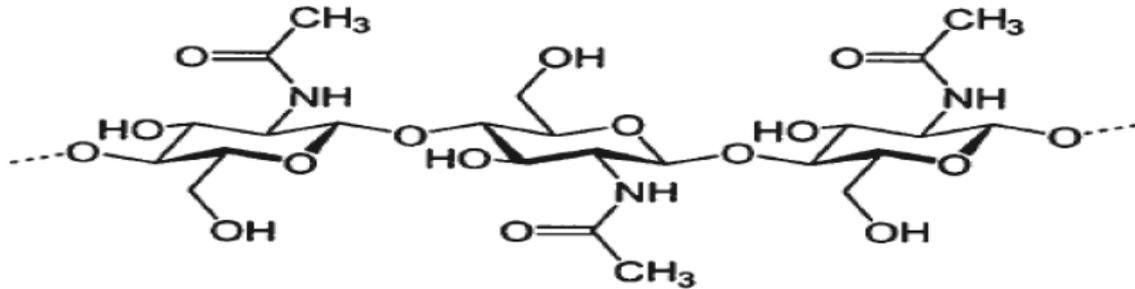


Figure 1 : Structure de la chitine, Adapté par Hirano 1996. [25]

2.4 Structure cristalline de la chitine :

A l'état naturel, la chitine présente une structure fibreuse rigide. Cette propriété induit une insolubilité dans la plupart des solvants. Ce polymère existe sous trois formes polymorphiques selon la source : la chitine α , la chitine β et la chitine δ , qui diffèrent par l'arrangement des chaînes dans les régions cristallines, et qui impliquent différents réseaux de liaisons d'hydrogène [26].

Différents arrangements des chaînes de la chitine sont possibles. Ces chaînes, sous forme d'hélice, sont toutes dirigées suivant le même axe et donnent lieu à trois allomorphes distincts.

- ✓ La chitine α : Les chaînes sont disposées de façon antiparallèle avec de nombreux ponts hydrogène, ce qui explique la rigidité et la faible réactivité de la chitine α . L'analyse par diffraction des rayons X de la chitine α met en évidence une structure cristalline de type orthorhombique.
- ✓ La chitine β : Les chaînes sont parallèles entre elles. Les ponts d'hydrogène sont inexistant, ce qui confère à la chitine β des propriétés de solubilité et de caractère hydrophile avec l'eau.
- ✓ La chitine β est cristallisée dans une maille. - La chitine δ : Elle possède une structure parallèle et antiparallèle, qui est une combinaison des deux formes α et β .

2.5 Disponibilité de la chitine :

La chitine est l'un des polymères naturels les plus abondants sur le globe avec la cellulose. Ces deux polysaccharides sont similaires du point de vue de leur structure et leurs fonctionnalités. La chitine entre dans la composition de la cuticule des arthropodes et de certains mollusques (les céphalopodes), dans la paroi de certains microorganismes tels que les micro-algues et les moisissures. Les teneurs en chitine varient d'une espèce à l'autre. Le tableau I.1 montre les écarts qui existent selon les ressources disponibles pour produire la chitine [26].

Tableau 1 : Teneur en chitine par espèces

Sources	Teneur en chitine (en % mat sec)	Sources	Teneur en chitine (en % mat sec)
Arthropodes	2 à 72	Crabes chionoecetes opilio	26,6
Mollusques	6 à 40	Crevettes Pandallus borealis	17,0
Ponophores	33	Crevettes Cangron cangron	33
Cnidaires (capsules œufs)	3 à 30	Crevettes Penaeus monodon	3 à 30
Annélides	0,2 à 38	Ecrevisses Procamborus darkia	0,2 à 38
Brachiopodes	4 à 29	Bouquet	4 à 29
Champignons	2,9 à 20,1	Plume de calmar	2,9 à 20,1
Algues/ Lichen	Faible	Krill Euphasia superba	Faible

2.6 Procédé d'extraction de la chitine :

Les déchets de l'industrie des crustacés sont une source très importante de chitine. De nombreuses méthodes ont été développées afin de préparer la chitine à partir des exosquelettes. De manière générale, ces méthodes consistent à éliminer les protéines (déprotéinisation), les éléments minéraux (démminéralisation), la couleur (blanchiment) [27].

2.6.1 La déminéralisation

Le traitement acide élimine les minéraux, qui passent en solution sous forme de sels. Pour des raisons économiques, l'acide hydrochloridrique (HCl) est privilégié. La concentration minimale, pour mener cette étape, est déterminée par l'équation chimique (I.1) de la réaction entre l'élément minéral majoritaire, le carbonate de calcium, et le HCl. En principe, la déminéralisation est complète dès lors où les proportions sont stœchiométriques, mais dans les faits, les entreprises utilisent des solutions en excès.



Les concentrations en HCl rencontrées sont comprises 0,5 et 11 N et le ratio substrat/solvant entre 1:10 et 1:40. La déminéralisation dure entre 15 min et 48 h, de la température ambiante à 50 °C. [28; 29] La réaction avec le carbonate de sodium est achevée lorsque le dégagement de CO₂ cesse.

2.6.2 La déprotéinisation

Lors de la description de la structure des cuticules, la forte interaction entre les protéines et la chitine a été décrite. Ceci implique des conditions drastiques pour les séparer.

Un traitement basique permet d'éliminer les protéines par solubilisation. Les réactifs employés pour cette étape sont des bases fortes comme l'hydroxyde de potassium (KOH). Le plus courant, pour des raisons d'économie et technique, est l'hydroxyde de sodium (NaOH).

Les concentrations utilisées sont comprises entre 0,3 et 2,5 M, selon un ratio compris entre 1:10 et 1:40. La température est comprise entre 50 et 110 °C et la durée peut varier de 1 h à plus de 24

h. [28; 30] Ces deux paramètres sont liés, ainsi la durée doit être augmentée si la température est baissée, et réciproquement.

L'augmentation de la concentration, de la durée et de la température de réaction, améliorent la déprotéinisation (De Hollanda et Netto, 2006). Cependant, tout comme la déminéralisation, les conditions drastiques de la déprotéinisation modifient la structure native de la chitine. Par conséquent, le choix du couple temps-température est dicté par les caractéristiques de la chitine à obtenir. Les modifications que peuvent entraîner des conditions trop drastiques concernent la perte de poids moléculaire ou l'oxydation des extrémités réductrice. [31]

2.6.3 L'étape de blanchiment

Cette étape est optionnelle, elle n'est pas nécessaire si le barème temps-température penche en faveur d'une longue durée. Cependant, il est très difficile d'obtenir un produit pur à cause des fortes interactions entre la chitine, les pigments et les protéines. Une autre cause de coloration des produits peut être la réaction de Maillard qui implique les groupes azotés et les aldéhydes. [32]

Généralement, l'agent de blanchiment employé est le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), dont la concentration est comprise entre 0,1 et 33 %, il peut également être mélangé avec du HCl. La durée du traitement est souvent très courte, de l'ordre de quelques minutes. [28]

En effet, tout comme les deux précédentes étapes, les conditions de décoloration induisent une altération de la structure de la chitine, qui se traduit par une réduction du poids moléculaire. Les autres agents de blanchiment sont l'hypochlorite de sodium (NaClO), le permanganate de potassium (KMnO₄), l'acétone, l'éthyle-acétate et l'acide oxalique. [33 ; 34 ;

35 ; 36] Du et al. (2009) utilisent le peroxyde d'hydrogène pour hydrolyser le chitosane, afin d'augmenter sa solubilité, et privilégient l'éthanol pour le blanchiment.

Le traitement chimique modifie le poids moléculaire et le degré d'acétylation de la structure originelle de la chitine, il détruit également la structure des protéines. [34] Pour réduire le risque d'altération du polymère lié à la déminéralisation et la déprotéinisation, il est conseillé de répéter plusieurs fois l'opération, pendant une courte durée et intercaler des phases de rinçage à l'eau distillée. [28] D'après ArguellesMonal et al. (2000), 420 l d'eau par kilogramme de chitine sont consommés au cours de l'extraction chimique.

2.7 Propriété physico-chimique de la chitine

Sous forme cristalline, la chitine est un robuste biopolymère insoluble dans presque tous les solvants sauf quelques acides très concentrés et certains solvants organiques halogénés. [37 ; 38]

La forme α est de loin la plus répandue dans la nature et constitue le principal composant de la paroi cellulaire des mycètes, de la carapace des crustacés et de la cuticule des insectes. La forme β se retrouve sous forme liée à des protéines pour former la plume des céphalopodes ou des tubes sécrétés par des ponts hydrogènes provenant des groupements acétamides. Les feuillettes de polymères qui composent les micro fibrilles de la chitine β ne sont pas retenus entre eux par des ponts hydrogènes ce qui lui permet une certaine « perméabilité » à certains éléments sans toutefois la rendre soluble. [38] A l'inverse, la forme α est stabilisée par des ponts hydrogènes au sein de feuillettes et entre les microfibrilles, ce qui la rend encore plus inerte que la forme β .

Toutes ces propriétés font de

la chitine un matériau difficile à traiter et à transformer malgré sa très grande abondance.

2.8 L'application de la chitine

La chitine elle-même a relativement peu, d'applications industrielles, mais son hydrolyse en milieu acide ou alcalin permet d'obtenir des oligosaccharides de chitine et de chitosane qui sont reconnus pour leurs nombreuses propriétés biologiques. De nombreuses études ont souligné les propriétés antitumorales, antibactériennes, antifongiques et même d'agent « immun modulateur

» associées aux aligomères de chitine et de chitosane (Hirano comme éléments régulateurs de la photosynthèse et des systèmes de défense des plantes.[39]

Il n'est donc pas surprenant de trouver des applications de ces biopolymères dans des domaines aussi diversifiés que l'industrie alimentaire, pharmaceutique, des cosmétiques, de l'agriculture, dans le traitement des eaux usées et dans le domaine biotechnologique.

3 Chitosane :

3.1 Définition :

Le chitosane, est un polysaccharide naturel cationique de glucosamine partiellement acétylé, forme d'unités D-glucosamine et N-acétyl-D-glucosamine, est dérivé par désacétylation de la chitine [40]

Le terme chitosane, loin de répondre à une seule et unique structure chimique bien définie, s'adresse à toute une famille de copolymères linéaires à arrangement aléatoire d'unités N-acétyl-D-glucosamine et de D-glucosamine en proportions variables, et liées entre elles par des liaisons β (1-4) qui confèrent au chitosane de bonnes caractéristiques filmogènes.

Il est présent dans la paroi cellulaire de certains micro-organismes fongiques (champignons), et dans les exosquelettes de certains crustacés et insectes [41].

3.2 La structure de chitosane :

Le chitosane a trois types de groupes fonctionnels un groupement amine et deux groupements hydroxyles en positions C2, C3 et C6 respectivement (Figure I-3). Grâce à ses groupements amines libres ce composé possède des propriétés très intéressantes. Le chitosane, soluble dans les acides faibles, possède une charge positive alors que la plupart des polysaccharides sont chargés négativement. [42]

Le degré de désacétylation (DD) représente la proportion d'unités amine-Dglucosamine par rapport au nombre total d'unités glycosidiques. Dans le cas du chitosane, le DD est supérieur à 60% pour les produits commerciaux. Cette valeur détermine également la limite de solubilité de ce polymère dans les solutions acides diluées ($2 < \text{pH} < 6$). Le DD est un paramètre structural qui influence les propriétés physico-chimiques telles que la solubilité, la charge globale et la réactivité, les propriétés mécaniques comme l'élongation à la rupture, la résistance à la traction et les propriétés barrière. Il influence également les propriétés biologiques [43] comme la biocompatibilité, la biodégradabilité et l'activité biostimulante et anticholestémiant.

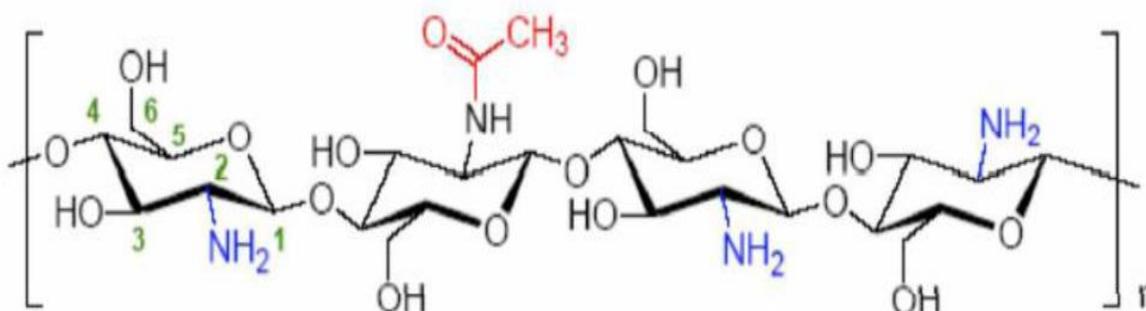


Figure 2: Structure de chitosane.

3.3 Structure cristalline du chitosane :

Le chitosane cristallise dans le système orthorhombique. Il présente deux types de cristallinité différents. Le type I correspond à un faible degré de désacétylation (60 %) (sels de chitosane). Il est plus désordonné que le type II qui présente un fort degré de désacétylation (90 %) (Forme amine libre).

-Les principales propriétés chimiques et biologiques du chitosane sont :

- ✓ Propriétés chimiques : Polyamine cationique, densité de charge élevée à $\text{pH} < 6,5$, adhère à des surfaces chargées négativement, forme des gels avec les polyanions, chélate certains métaux de transition, contient des groupements réactifs d'amines et d'hydroxydes.
- ✓ Propriétés biologiques : polymère d'origine naturel, biodégradable, non toxique, hémostatique, anti cancérigène.

3.4 Sources de chitosane :

Il faut retenir que la source majeure du chitosane provient de la désacétylation de la chitine obtenue à partir de crustacés.

La production de chitosane provient, en effet, des crevettes et des crabes qui représentent les deux sources naturelles les plus abondantes. Ce sont donc des produits d'origine animale [44].

En revanche, le chitosane est une substance très peu répandue dans la nature. Elle n'est signalée que dans les exosquelettes de certains insectes (la paroi abdominale des reines de termites) et dans la paroi cellulaire d'une classe particulière de champignons (les zygomycètes), de bactéries et de levures. Il n'y a pas donc de sources primaires de chitosane exploitable la production étant assurée par transformation de déchets issus de la pêche. [45].

3.5 Production de chitosane :

L'étape la plus délicate reste la désacétylation qui nécessite de substituer suffisamment les groupements acétylés pour aboutir au chitosane, ce qui peut entraîner une réduction excessive de la longueur de chaîne du polymère. En jouant sur la durée du traitement alcalin et sur l'élévation de la température, il est donc possible d'obtenir différents chitosanes à partir d'une même chitine. Un degré d'acétylation (DA) inférieur à 10% est rarement atteint par un procédé simple.[5]

Le rendement de désacétylation et la qualité du chitosane varient selon l'origine de la matière première utilisée (crevettes, crabes, calmars,...) et de la procédure d'extraction (la température, la durée, la concentration d'alcalin, les traitements préalables pour l'obtention de la chitine, l'atmosphère (air ou azote), la quantité de chitine par rapport à la solution alcaline, la densité de la chitine et la taille des particules). Des conditions trop drastiques conduisent à une dégradation physique du biopolymère (avec une chute importante de la masse moléculaire et/ou une oxydation des extrémités réductrices des chaînes macromoléculaires), alors que des conditions trop douces ne permettent pas une désacétylation suffisante. Ceci permet d'expliquer parfois la difficulté d'obtenir de manière reproductible des produits de composition prédéterminée.[46]

Par rapport à la chitine, le chitosane présente des caractéristiques et des propriétés particulièrement intéressantes.

Ainsi, ce polymère est biocompatible, biodégradable, non antigénique et non toxique.

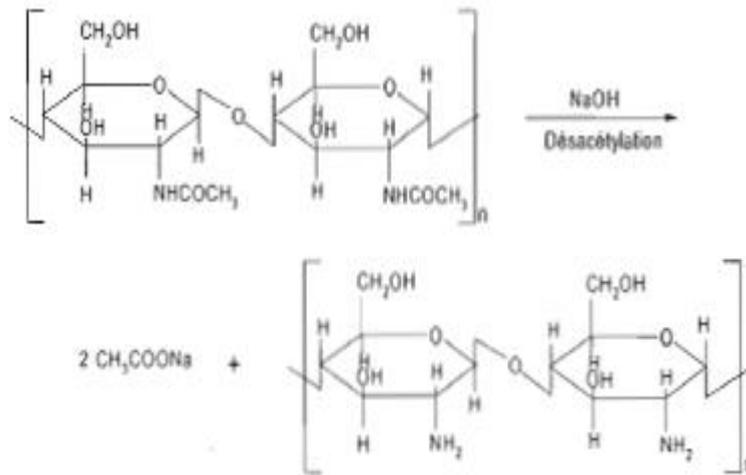


Figure 3 : Conversion de la chitine en chitosane par désacétylation

3.6 Propriétés Principales du chitosane :

Les chaînes macromoléculaires du chitosane sont caractérisées par leur masse moléculaire et leur degré d'acétylation. La troisième caractéristique importante porte sur la cristallinité du polymère (le chitosane est une substance semi-cristalline). D'un point de vue chimique, sa structure est similaire à celle de la cellulose. Par contre, la présence d'une fonction amine primaire de pKa proche de 6,3 (le pKa est fonction du DA) en position du noyau glucopyranose confère au chitosane des propriétés chimiques et physico-chimiques qui en font un polymère possédant un ensemble de propriétés remarquables (tableau 1). Le chitosane est à la fois une macromolécule polyaminée et polyhydroxylée qui devient un polyélectrolyte lorsque le groupement aminé est protoné (il se solubilise en milieu acide). [47]

Il possède alors un fort potentiel en raison de son caractère polycationique qui le distingue des autres polymères naturels qui sont en général anioniques. Ce biopolymère présente également des propriétés biologiques variées (tableau 1).

Les propriétés intrinsèques du chitosane influent sur sa solubilité en milieu aqueux, son hydratation, sa structure tridimensionnelle, sa viscosité, son aptitude à participer dans des interactions ioniques, sa capacité à lier des molécules organiques et des sels de métaux lourds et autres, et sa facilité à subir des modifications chimiques qui permettent de créer une multitude de dérivés aux propriétés physico-chimiques et biologiques variées [47].

Tableau 2: Propriétés du chitosane

Propriétés	Description
Physico-chimiques	<ul style="list-style-type: none"> • polyamine linéaire, hydrophile • structure semi-rigide, réactive • matériau brut non poreux
Polyélectrolytes en milieu acide	<ul style="list-style-type: none"> • polymère cationique à forte densité de charges
Biologiques	<ul style="list-style-type: none"> • matériau non toxique • substance biocompatible, biorésorbable et biodégradable • activité antibactérienne et antifongique • agent hypocholestérolémiant • activité hémostatique • stimule la croissance cellulaire
Filmogènes : interactions avec d'autres substances	<ul style="list-style-type: none"> • complexation/chélation • propriétés de coagulation/floculation et d'adsorption • propriétés de rétention d'eau • propriétés d'adhésion

3.7 Propriétés physico-chimiques :

Le chitosane est parfaitement stable en phase solide. Il est en équilibre avec la Pression atmosphérique normale et sa teneur en humidité se situe entre 10 et 14 %. C'est un matériau non-poreux ayant des formes physiquement modifiées.

Grace à sa structure chimique particulière, le chitosane est apte à interagir avec d'autres Substances chimiques (ions, molécules et macromolécules). [48]

Ce comportement est lié :

- à son caractère hydrophile dû à la présence des groupes hydroxydes des unités glucoses qui permettent de former des ponts hydrogènes et des liaisons inter ou intramoléculaires.
- a la présence de groupements hydroxyle, acétamide et amine dotés d'une grande réactivité.
- et à la structure flexible des chaînes de polymères (fonction du pH et de la Température). Le chitosane possède également un important potentiel de rétention d'eau, de chélation d'ions, de complexations et d'adsorption de molécules ou de polymères [48].

3.7.1 Solubilité :

Le chitosane est presque insoluble dans l'eau et dans les solutions alcalines aussi bien concentrées que diluées. Cependant, il est soluble dans plusieurs solvants organiques, aqueux et légèrement acides. L'acide organique le plus couramment employé pour la préparation d'une

solution de chitosane, est l'acide acétique dilué. En général, le chitosane est parfaitement soluble à un pH d'environ 4. Les groupes aminés du chitosane sont protonés à partir de pH = 3, et le polymère positivement chargé, devient soluble. [48]

Le chitosane est soluble dans les mélanges aqueux contenant 50 % à 60 % de méthanol ou 40 % d'acétone. Les propriétés intrinsèques du chitosane influent sur sa solubilité en milieu aqueux, son hydratation, sa structure tridimensionnelle, sa viscosité, son aptitude à participer dans des interactions ioniques, sa capacité à lier des molécules organiques et des sels de métaux lourds et autres, et sa facilité à subir des modifications chimiques qui permettent de créer une multitude de dérivés aux propriétés physicochimiques et biologiques variées [48].

3.7.2 Degré de désacétylation(DDA) :

Le chitosane devient riche en groupements amine hautement réactifs, ceci fait du degré de désacétylation un paramètre important structural qui influe sur les propriétés physico-chimiques telles que la masse moléculaire, la viscosité, la solubilité, la charge globale et la réactivité, les propriétés mécaniques comme l'élongation à la rupture, la résistance à la traction et les propriétés barrière. Il influe également sur les propriétés biologiques et donc détermine les applications du chitosane. [49]

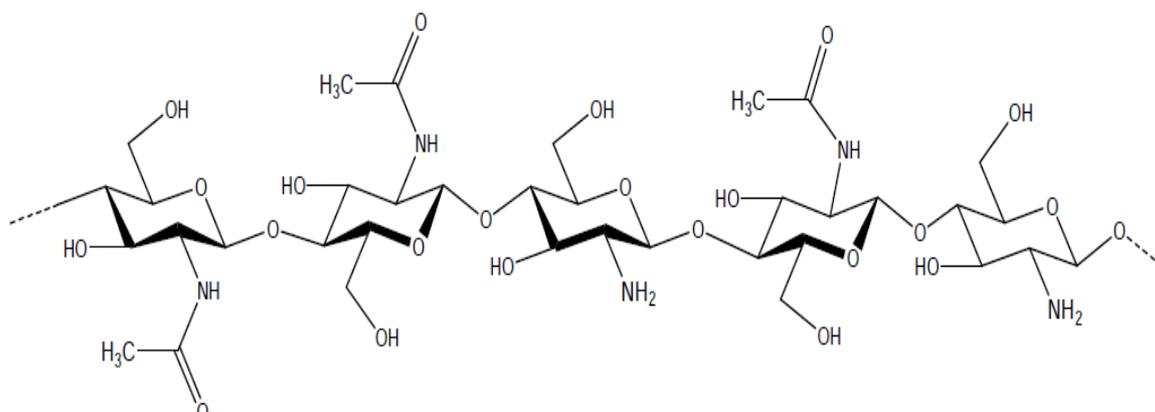


Figure 4 : Exemple de structure pour une chitine dé acétylée à 40 %

Le degré de désacétylation du chitosane varie entre 56 et 99% avec une moyenne de 80%, dépendamment des espèces de crustacés et des méthodes de préparation [49].

Le degré de désacétylation (DDA) du chitosane est défini comme le rapport :

$$\frac{\text{GlcN}}{\text{GlcNAc} + \text{GlcN}}$$

Le degré de désacétylation (DDA=1-DA) représente la proportion d'unités amine-D-glucosamine par rapport au nombre total d'unités glycosuriques.

Le degré d'acétylation (DA), peut être obtenu soit par titration volumétrique soit par des méthodes spectroscopiques comme l'infrarouge (IR), ou l'ultraviolet. D'autres analyses sont aussi utilisées comme :

- ✓ La spectroscopie à résonance magnétique (RMN) du ¹H.
- ✓ La spectroscopie à résonance magnétique (RMN) du ¹³C.
- ✓ L'hydrolyse acide.
- ✓ La chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).l'analyse élémentaire.
- ✓ La spectrophotométrie.

✓ Le titrage colloïdal.

La méthode la plus fréquemment utilisée pour l'estimation du DA du chitosane, est la spectroscopie IR proposée pour la première fois par Moore et Roberts en 1980.[47]

3.7.3 Viscosité :

La viscosité du chitosane dépend du degré de désacétylation (DD) de ce polymère.

Plus il est dés acétylé, plus il y a de groupements amines libres, plus le chitosane est soluble et par voie de conséquence sa viscosité est plus importante. La viscosité dépend également : de la concentration du polymère (elle augmente avec la concentration), de la température (elle chute lorsque la température augmente), du poids moléculaire (la

Viscosité intrinsèque augmente en fonction de l'augmentation du poids moléculaire) et enfin du pH (plus il est bas plus la viscosité est élevée). [47]

Il existe différentes méthodes pour déterminer la viscosité. La plus employée est « la viscosimétrie ». Elle nécessite la connaissance des paramètres K et a de la relation de Mark- Houwink :

- $[\eta] = K.M^a$
- $[\eta]$: la viscosité intrinsèque.
- M : le poids moléculaire moyen du polymère.
- K et a : des paramètres qui dépendent du système polymère-solvant à une T donnée.

3.7.4 Poids moléculaire :

Le poids moléculaire d'un agent polymérique coagulant est considéré comme étant une des caractéristiques les plus importantes affectant la fonctionnalité du polymère en question.

Parmi les différentes méthodes décrites dans la littérature, la chromatographie par permutation de gel est la plus couramment utilisée pour la détermination du poids moléculaire du chitosane ainsi que de sa polydispersité. Par ailleurs, la viscosimétrie demeure une méthode simple et rapide.

A l'instar de sa composition, le poids moléculaire du chitosane varie avec la source du matériel brut ainsi que de sa méthode de préparation. En général, les hautes températures, l'oxygène dissout, et les conditions drastiques peuvent provoquer la dégradation du chitosane induisant la diminution de son poids moléculaire. [2]

3.7.5 Flexibilité :

Le chitosane est souvent considéré comme un copolymère cationique, linéaire et flexible. La flexibilité diminue avec le DD. En effet, les chaînes de chitosane dont le DD est égale à 85 % sont flexibles seulement pour des pH supérieurs à 3. [6]

3.7.6 Cristallinité :

La cristallinité est un paramètre important car elle contrôle un certain nombre de propriétés comme l'accessibilité des sites internes dans les chaînes macromoléculaires, les propriétés de gonflement dans l'eau ou encore les propriétés de fusionnelle. La cristallinité est, en général, déterminée par des mesures de diffraction de rayons X. [6]

Le chitosane est une substance semi-cristalline. Il se cristallise dans le système orthorhombique. Deux types de chitosane sont connus : le chitosane I (faible DD, sous forme de sel) qui est plus désordonné que le chitosane II (fort DD, forme amine libre). [2] poly électrolyte **en milieu acide**.

Le chitosane est l'un des rares poly électrolytes naturels cationiques et il est une base faible présentant un pKa voisin de 6,3. Il se dissout en milieu acide par protonation des fonctions amine présentes sur la macromolécule. [66] En dessous de ce pKa, les groupements amines sont protonés et font du chitosane un poly électrolyte cationique, soluble dans l'eau acidifiée [67].

Au-dessus du pKa, les groupements amines sont déprotonés et le chitosane est insoluble dans l'eau (Figure I-4). Le pKa du chitosane dépend du degré de neutralisation des groupes NH₃⁺ et du DD. En général, la valeur du pKa augmente quand le DD diminue. [66]

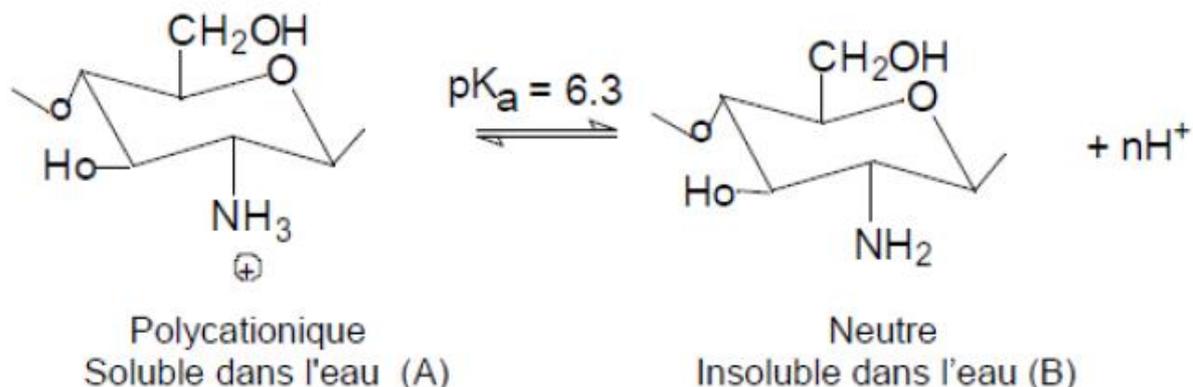


Figure 5: Structures du chitosane en milieu acide (A) et en milieu neutre (B) d'après. [68]

3.8 Propriétés antibactériennes du chitosane :

Le chitosane est un matériau intéressant pour le domaine de l'emballage alimentaire de par ses propriétés antibactériennes ainsi que sa biodégradabilité et sa non toxicité. Il a été démontré que le chitosane a un effet antibactérien sur plusieurs bactéries, champignons ou [26,27]

Plusieurs facteurs peuvent influencer l'activité antibactérienne du chitosane : l'aspect microbien (type de bactéries, l'âge des cellules), le chitosane lui-même (densité de charges positives, le poids moléculaire, le degré de déacétylation, la concentration, le caractère hydrophile ou hydrophobe ou la capacité de former des complexes), l'état physique (film, fibre, sphère ou hydrogel) et les facteurs environnementaux (le pH, la température, le temps ou la présence de cations métalliques) [28]

3.8.1 Aspects microbiens :

L'effet du chitosane n'est pas le même sur les champignons, sur les bactéries Gram-positif ou sur les bactéries Gram-négatif. Ces deux types de bactérie sont distincts de par leur structure cellulaire. La couche externe des bactéries Gram-positif contient une épaisse paroi cellulaire ou une structure peptidoglycane (PGN). La couche interne est une membrane cytoplasmique poreuse (CM) qui consiste en une bicouche lipidique. La membrane externe des bactéries Gram-négatif est une bicouche lipidique et la couche interne est une membrane cytoplasmique. Elles sont séparées par une fine couche peptidoglycane [29].

Les bactéries, leur mode d'élimination est un procédé complexe qui dépend des caractéristiques de la paroi cellulaire, c'est pour cela que l'effet du chitosane n'est pas le même sur les bactéries Gram-positif ou sur les bactéries Gram-négatif. Plusieurs études ont été effectuées à ce sujet sans pour autant apporter d'informations précises. En effet, des études ont conclu que l'effet du chitosane est plus important sur les Gram-négatif que sur les Gram-positif

[30,31], quand d'autres ont conclu l'inverse [32] ou encore qu'il n'y avait pas de différence entre les deux [33].

3.8.2 Facteurs environnementaux

Comme dit précédemment, le premier facteur environnemental sur l'activité antibactérienne est le pH. En effet, plus le pH est faible, plus le chitosane est efficace pour l'inhibition des bactéries [34]

Le temps est aussi un paramètre à prendre en compte. Une équipe de recherche a montré que après 15 jours de stockage d'une solution de chitosane, l'activité antibactérienne est plus faible que le jour de mise en solution du chitosane [35].

Enfin, la température a aussi une influence. Le chitosane est plus actif contre les bactéries à 37 °C qu'à 4 °C. À basse température, la structure cellulaire en surface est modifiée, le nombre de sites de fixation en surface est réduit [36].

3.9 Principales applications du chitosane

Le tableau I-4 présente quelques applications du chitosane dans différents domaines d'exploitation. Omniprésent dans l'industrie sous une forme ou une autre, on retrouve le chitosane en agriculture (pour protéger les plantes), dans l'industrie cosmétique (stabilisant, régénérant cellulaire, antibactérien) ou encore l'industrie du papier (propriétés mécaniques)

Tableau 3 : quelques applications du chitosane dans différents domaines.

Applications	Exemples
Traitement de l'eau	Piégeage d'ions métalliques Floculant/coagulant : <ul style="list-style-type: none">- protéines- colorants- acides aminés Filtration
Industrie des pâtes et papiers	Traitement de surface Papier photographique Papier pour copies, sans carbone
Domaine médical	Bandages, éponges Vaisseaux sanguins artificiels Contrôle du cholestérol sanguin Inhibition des tumeurs Membranes Inhibition de la plaque dentaire Peaux artificielles Lentilles de contact Libération contrôlée de médicaments Traitements d'affections osseuses
Cosmétique	Poudre de maquillage Vernis à ongles Crèmes hydratantes Dentifrice Soins capillaires
Biotechnologies	Immobilisation d'enzymes Séparation de protéines Chromatographie d'affinité Immobilisation de cellules
Agriculture	Enrobage de graines Enrobages de feuilles Engrais
Alimentaire	Piégeage de colorants, d'acides Conservateur Complément d'alimentation animale
Membranes	Osmose inverse Contrôle de perméabilité Séparation de solvants

3.10 Application de chitosane dans l'emballage alimentaire :

En 1936, Rigby avait obtenu un brevet pour avoir fabriqué des films de chitosane et un deuxième brevet pour l'élaboration de fibres de chitosane. Les films obtenus étaient décrits comme flexibles, durs, transparent et incolore avec une résistance à la traction de 6210 kPa [37].

L'utilisation des films de chitosane pour prolonger la durée de vie et améliorer la qualité des aliments frais et congelés a été examinée [38,39], vu les excellents propriétés de ces films.

L'utilisation des films de N, O- carboxy méthyle chitosane pour préserver les films pour une longue période a été approuvée au Canada et aux USA [40]. Grâce à sa capacité de former des films semi-perméables, le chitosane devrait pouvoir modifier l'atmosphère interne, réduire les pertes dues à la transpiration et retarder la maturation des fruits [41,42]. Les propriétés mécaniques, la perméabilité, le point de décomposition thermique, la stabilité chimique, etc., sont des paramètres vitaux pour la sélection du film adéquat pour les applications spécifiques [43]. Les films de chitosane sont préparés en dissolvant le chitosane dans l'acide dilué et en l'étalant ensuite sur une surface plane pour le laisser sécher à la température ambiante. Les films peuvent aussi être séchés à 60°C dans un four en étalant la solution sur du plexiglas [44,45]. Ces procédés sont par contre demandeurs en temps.

Les films à base de chitosane peuvent aussi être fabriqués par 'casting' suivi d'un séchage à l'infrarouge (IR) [46], lequel est plus rapide que les méthodes conventionnelles. Ces films n'ont pas de différences significatives dans les propriétés mécaniques et barrières par rapport aux films obtenus avec les méthodes conventionnelles de séchage [47].

4 Alcool polyvinylique (PVA) :

4.1 Définition:

Est un polymère d'alcool vinylique de formule moléculaire $(C_2H_3OR)_n$, où R représente H ou $COCH_3$. En raison d'une instabilité de l'alcool vinylique, il est synthétisé en utilisant de l'acétate de vinyle comme monomère, qui polymérise à partir de l'acétate de polyvinyle.

Ensuite, il y a hydrolyse des esters d'acétate de polyvinyle, en présence d'hydroxyde de sodium, l'acétate étant remplacé par le groupe oxyhydride (OH), formant ainsi l'alcool polyvinylique. Ceci est principalement composé de liaisons 1-3 diols $[-CH_2-CH(OH)-CH_2-CH(OH)-]$ [48].

Cet alcool peut former des films à capacité émulsifiante et adhésive, capables de résister à de fortes contraintes. En plus d'être un matériau souple, l'alcool polyvinylique est hygroscopique et très soluble dans l'eau, ses propriétés étant affectées par le degré d'hydratation.

4.2 Historique PVA :

L'alcool poly vinylique à été découvert en 1924 par les scientifiques allemands Hermann et Haehmel .c'est un polymère semi cristallin, synthétique biodégradable d'origine pétrolière.

Il est soluble dans certain solvants tel que l'eau (49), le N, Ndiméthylformamide (DMF) (50), le diméthylsulfoxyde (DMSO) (51,52) et dans le système de solvant DMSO /DMF (53).

Sa linéarité permet aux molécules polyvinylique alcool de s'aligner par des liaisons hydrogènes ce qui lui confère des propriétés filmogènes et adhésives excellentes (54).

Cependant, les propriétés physiques du PVA dépendent généralement de la méthode de préparation comme les autres polymères (55).

4.3 Structure chimique du PVA :

Les propriétés de l'acétate de polyvinyle dépendent de l'étendue ou du degré de son hydrolyse, en particulier si elle est complète ou partielle (figure 1), qui à son tour dicte sa catégorisation en deux groupes, à savoir, (a) partiellement hydrolysé et (b) totalement hydrolysé.

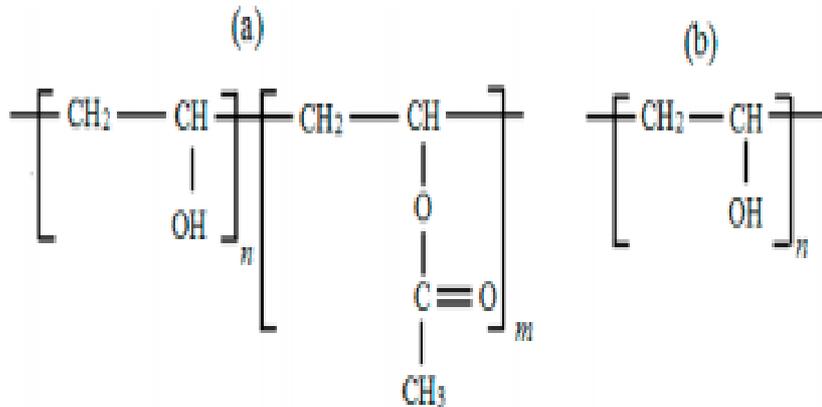


Figure 6 : Formule développée pour le PVA : (a) partiellement hydrolysé; (b) entièrement hydrolysé [56]

Les poids moléculaires obtenus pour les produits PVA peuvent varier (20 000 à 400 000), selon la longueur du polymère d'acétate de vinyle initial, le niveau d'hydrolyse pour éliminer les groupes acétate et si elle se produit dans des conditions alcalines ou acides [56]. Chiffre2 montre la structure de PVA. Les niveaux d'hydrolyse varient de ce qui est considéré comme une valeur typique de 80 % pour atteindre plus de 99 %. Des formes presque entièrement hydrolysées entraînent la formation d'hydrogels de PVA avec des propriétés ajustables par réticulation des polymères linéaires, qui entraînent par la suite des espèces polymère (gel)-fluide (sol). Les teneurs en polymère affectent l'état physique du matériau résultant : une faible teneur en polymère donne des matériaux mous car le fluide se déplace librement à travers la matrice, tandis qu'une teneur plus élevée en polymère entraîne un raidissement et un renforcement considérables de la matrice du matériau [57]. Les études sur la perméabilité diffusives des solutés dans les membranes de gel PVA et l'application pour la séparation ont été délimitées en raison de la stabilité chimique, en particulier sur la formation de film, et l'hydrophobie [58].

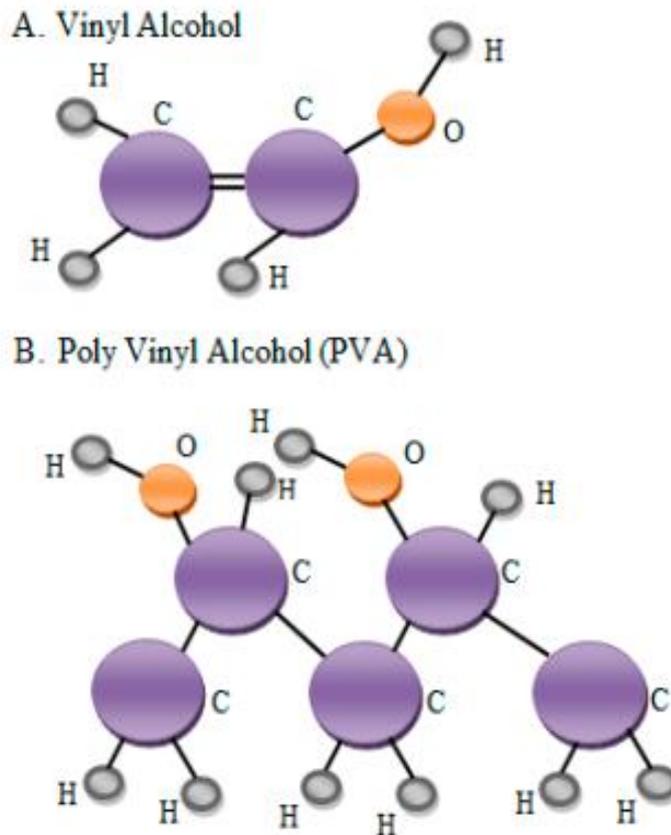


Figure 7 : (a) La structure de l'alcool vinylique; (b) Le PVA est synthétisé par hydrolyse d'acétate de polyvinyle [54].

4.4 Propriétés chimiques et physiques du PVA :

Les propriétés chimiques et physiques du PVA peuvent varier en fonction du pourcentage d'hydrolyse, qui détermine la qualité du PVA et son poids moléculaire [52]. Les propriétés de surface des charges PVA sont fondamentalement importantes dans les critères de sélection des charges PVA [59]. Le PVA lui-même a une résistance à la traction substantielle, une plus grande flexibilité et des caractéristiques de dureté et de barrière aux gaz et aux arômes. Comparé à tout autre polymère connu, le PVA présente des caractéristiques remarquablement supérieures en tant que barrière à l'oxygène ; cependant, pour éviter la dégradation de sa perméabilité au gaz, il doit être protégé de l'humidité [60]. Le PVA, comme les protéines, est un polymère hydrosoluble. La solubilité dans l'eau et les propriétés physiques du PVA, y compris sa forme de film, sont fortement affectées par le degré d'hydrolyse, le poids moléculaire et sa précipitation cristalline. Le PVA est partiellement cristallin lors de sa formation et se caractérise par des propriétés telles que la résistance chimique, la solubilité dans l'eau et la biodégradabilité. La similitude des propriétés physiques le rend compatible avec les tissus humains. Le PVA biocompatible a une structure qui peut absorber les molécules de protéines et s'engager avec une adhérence cellulaire minimale et n'a pas d'effets toxiques, par conséquent, les membranes PVA ont été largement développées pour des applications biomédicales [58]. Le PVA peut être lié chimiquement ou physiquement enchevêtré avec une surface de nanoparticules [59]. Les PVA sont des polymères très courants, largement utilisés comme matériaux de surface, qui doivent être retenus à la surface de l'eau, dans une vaste gamme de domaines comme les films et des colles en raison de leurs propriétés chimiques et physiques exceptionnelles : biocompatibilité, stabilité aux variations de température et non-toxicité [63,64].

4.5 Mode d'obtention du PVA :

Le polyvinyle alcool ne peut pas être synthétisé directement à partir de son monomère vinyle alcool, cela est dû à l'instabilité du vinyle alcool qui se tautomérise en acétaldéhyde plus stable [69](figure 1.3).

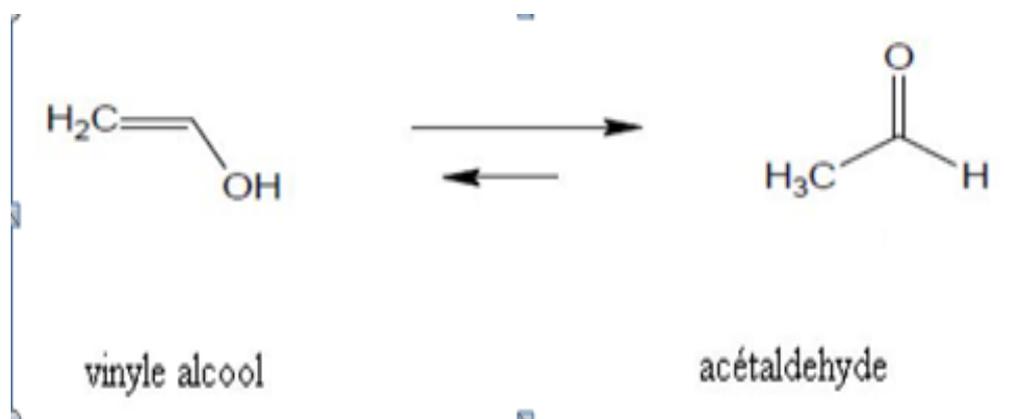


Figure 8 : Tautomérisation du vinyle alcool en acétaldéhyde. [64]

Le polyvinyle alcool est souvent synthétisé en deux étapes : La première étape, implique la synthèse du poly (vinyle ester) (PVEst) approprié et la deuxième étape consiste en l'hydrolyse du PVEst au PVOH. Le PVEst est transformé en PVOH par différentes techniques : transestérification/saponification (figure 1.4), hydrolyse (figure 1.5) et aminolyse (figure 1.6). La saponification et l'hydrolyse peuvent utiliser soit des catalyseurs basiques tels que l'hydroxyde de sodium ou de potassium, soit des catalyseurs acides tels que l'acide sulfurique [64].

4.6 Applications du polyvinyle alcool :

L'application du polymère est en rapport avec sa structure. Le PVOH est un polymère de poly hydroxyle (avec une structure 1,3 glycol) capable de faire des liaisons hydrogènes intra et intermoléculaires. Son caractère hydrophile fait du polyvinyle alcool, une bonne barrière aux huiles, aux graisses et aux solvants organiques. Ils possèdent également d'excellentes propriétés adhésives et émulsifiantes. Il est caractérisé par une faible perméabilité aux gaz comme à l'oxygène et à la vapeur d'eau. Malgré son origine pétrolière, la présence des groupements hydroxyles rend le polyvinyle alcool biodégradable [63].

Le polyvinyle alcool réticulé a une bonne stabilité chimique, thermique et mécanique. Il devient alors approprié pour les membranes destinées à être utilisées sous un gradient de pression, et ceux pour être utilisées dans les procédés de traitement des eaux, telles que la microfiltration (MF), pour éliminer un matériau particulier, les résidus de cellules microbiennes et la turbidité, en ultrafiltration (UF) pour la séparation de grandes molécules organiques, nanofiltration (NF) pour l'élimination de petites molécules organiques, et en osmose inverse (RO) pour le dessalement. La nature hautement polaire de PVOH minimise le fouling dans de telles applications, car il est bien établi que les surfaces non polaires encouragent l'adsorption des contaminants de l'eau en raison des interactions hydrophobes, que ce soit composés organiques naturels tels que les acides humique et fulvique ou la matière microbienne. En raison de leurs propriétés oléophobes, les membranes PVOH sont utiles dans le traitement des eaux usées. Ils sont également utilisés pour récupération du produit et séparation des composés organiques l'un de l'autre ou de l'eau par évaporation (PV), où la vapeur d'un composant est sélectivement transféré à travers la membrane sur la base de la polarité, pas la différence de volatilité. Les membranes PVOH seraient particulièrement adaptées aux procédures de déshydratation. En raison de sa nature hydrophile, la PVOH doit être modifiée pour minimiser le gonflement dans l'eau. Une littérature croissante existe sur cet aspect. La stabilité du PVA réticulé dans des milieux très acides ou hautement alcalins ont été démontrés. Alors que la littérature sur les applications de ce matériau autant que membrane ou support dans le traitement des eaux est spasmodique. Dans le domaine de la biotechnologie les membranes PVOH sont utilisées pour la récupération des protéines. Les gels de PVA ont été largement étudiés autant que biomatériaux pour mettre au point des reins et des pancréas artificiels, des capteurs de glucose, des membranes d'immuno-isolément, le cartilage artificiel, les lentilles de contact et les systèmes d'administration de médicaments. Cependant, à cause de son hydrophobicité élevée, le PVOH nécessite une modification pour améliorer ses performances et étendre ainsi son application dans le domaine des composites. Ces modifications comprennent la congélation, le traitement thermique, l'irradiation et la réticulation chimique.[63]

5 Le mélange PVA /CS :

Les méthodes de synthèse du mélange de chitosane et du PVA sont très variées, dépendamment des applications ciblées. En effet ce mélange est utilisé dans le domaine médical comme vecteur de substance active vu sa biocompatibilité dans l'industrie textile et dans l'emballage. Les propriétés du mélange obtenu varient selon plusieurs critères: la méthode de synthèse utilisée, la composition du PVA et du chitosane, la présence ou non d'un comptabilisant et d'un plastifiant.

5.1 Généralités sur les mélanges

L'élaboration des mélanges a généralement pour but d'améliorer les caractéristiques d'un polymère dédié à une certaine application. Ceci peut être en améliorant les propriétés mécaniques [65.66], comme la résistance à l'impact [67.68], en réduisant la sensibilité à l'eau [69.70.71] ou simplement en réduisant le coût [72.73.74]. Parmi les propriétés les plus étudiées des mélanges de bio polymères, il y a les propriétés thermiques, surtout la température de transition vitreuse, T_g , et les propriétés mécaniques comme la rigidité [75,76,77], la résistance [76,78,79], la flexibilité et la déformabilité [78,80,81,82]. Moins fréquemment, d'autres propriétés sont discutées comme les caractéristiques optiques [78,83], la biodégradabilité [84,85], l'inflammabilité [86] et le prix [65-74].

5.2 Types de mélanges :

On distingue trois types de mélanges [87] :

- ✓ Les mélanges totalement miscibles

Pour ces mélanges, $\Delta H < 0$ vu l'existence d'interactions spécifiques. L'homogénéité est observée à l'échelle nanométrique au moins, si ce n'est à l'échelle moléculaire.

- ✓ Les mélanges partiellement miscibles

Dans ces mélanges, une partie d'un composé est dissoute dans l'autre. Ce genre de mélange a une bonne morphologie des phases et des propriétés satisfaisantes, et sont donc considérés compatibles. Les deux phases du mélange (l'une riche en polymère 1 et l'autre en polymère 2) sont homogènes, et ont leurs propres T_g qui sont déplacées de la T_g du composé pur vers la T_g de l'autre composé.

- ✓ Les mélanges entièrement immiscibles

Les plupart des mélanges appartiennent à cette catégorie. Ils ont une morphologie de phase grossière, l'interface est nette, et l'adhésion entre les deux phases (chacune ayant la T_g du composé pur) est faible, ce mélange est donc inutile sans comptabilisant. Il faut toutefois faire une distinction entre 'miscibilité' et 'compatibilité'. La miscibilité est un terme thermodynamique qui, à l'aide d'un modèle approprié, décrit le comportement d'une paire de polymère en spécifiant le nombre de phases qui se forment dans le mélange et leur composition. Le modèle le plus fréquemment utilisé à cet effet est celui de Flory-Huggins [88.89].

D'un autre côté, la compatibilité est un terme technique définissant le profil de propriété du mélange en vue d'une certaine application [87]. Un mélange est dit compatible s'il a des propriétés désirées et utiles, d'un point de vue commercial, que ce soit par une miscibilité totale ou partielle, ou par l'utilisation d'une technique de comptabilisation adéquate [87]. La compatibilité des polymères est généralement modifiée par des moyens physiques (comptabilisant, les blocs de copolymères) ou chimiques (comme le traitement réactif)[90].

5.3 Méthodes d'élaboration des mélanges :

Deux des procédés les plus utilisés sont le 'casting' et le mélange par voie fondue.

5.3.1 Mélange en solution (casting)

Cette méthode repose sur le caractère filmogène du chitosane, sans lequel on ne pourrait obtenir des films à partir du mélange. Elle consiste à dissoudre chacun des polymères dans un solvant adéquat et à mélanger les différentes solutions par la suite. La solution obtenue est étalée sur une surface plane pour que les solvants s'évaporent et que le film se forme [91.92.93.94.95]. Toutefois, le séchage peut avoir lieu de différentes manières. Il peut être effectué à la température ambiante ou avec un chauffage, sous vide ou non et il peut durer jusqu'à 48 h.

Plusieurs études ont déjà porté sur la synthèse des films de chitosane par la technique du 'casting' et se sont intéressées à l'effet de la concentration du plastifiant [94], du temps de stockage [97], du type d'acide utilisé et de sa concentration [96], du poids moléculaire du chitosane [98] et de son degré de déacétylation [99] sur les propriétés mécaniques et barrières des films.

5.3.2 Mélange par voie fondue

Dans l'industrie, pour mélanger des polymères par voie fondue, on utilise généralement un mélangeur interne (batch) ou un mélangeur continu, tel que l'extrudeuse bi-vis [100].

Le mélangeur interne est l'un des instruments de malaxage les plus utilisés à l'échelle du laboratoire. Il nécessite une faible quantité de matière et est généralement utilisé en tant qu'étape de test préliminaire pour vérifier le comportement des polymères à l'état fondu, les réactions chimiques dans les polymères, la réticulation et la dégradation des polymères, avant de procéder par extrusion [101].

Les facteurs qui affectent l'évolution de la morphologie du mélange durant le malaxage sont: la température, la durée et l'intensité du malaxage, la composition du mélange, le rapport entre les viscosités des composantes polymériques et leur niveau d'élasticité et aussi la tension inter faciale [100].

5.4 La plastification :

La plastification est une technique généralement utilisée pour améliorer la processabilité, la flexibilité, l'élongation à la rupture ou la durabilité des polymères.

5.5 Mécanismes mis en jeu lors de la plastification

Il existe deux types de plastifiant définis comme étant internes ou externes [101]

Les plastifiants dits **internes** font partie de la molécule du polymère plastifié, c'est-à-dire qu'ils sont co-polymérisés dans la structure du polymère, par greffage ou réaction avec le polymère originel. Il est plus difficile pour les chaînes du polymère de s'ajuster et de se compacter étroitement entre elles. Les polymères deviennent plus souples, par un abaissement de leur température de transition vitreuse et une réduction de leur module de Young.

Les plastifiants dits **externes** sont plutôt des molécules faiblement volatiles qui sont ajoutées pour interagir avec le polymère à plastifier et entraîner son gonflement sans réaction chimique. Cela va mettre en jeu les forces moléculaires internes entre les molécules du plastifiant et entre le plastifiant et le polymère, comme les forces de Van der Waals (effets d'induction ou de dispersion), les interactions dipôle-dipôle ou les liaisons hydrogènes.

Il y a trois théories différentes expliquant les mécanismes de plastification : la théorie de la lubrification, la théorie des gels et la théorie du volume libre (Mekonnen, et al., 2013; Sears & Darby, 1982).

- ✓ Dans la **théorie de la lubrification**, le plastifiant agit comme un lubrifiant afin de réduire la friction et de favoriser la mobilité des chaînes. Pour cela, le plastifiant va s'insérer entre deux chaînes de polymère et va réduire les forces de liaisons inter chaînes. Lorsque le polymère se déforme, les macromolécules se meuvent les unes sur les autres, et le plastifiant va lubrifier ces surfaces de glissement. Pour simplifier, il est présumé qu'il n'y a pas de liaison entre les macromolécules au-delà des irrégularités de surface. Il est aussi supposé que les liaisons entre les molécules du plastifiant lui-même et/ou entre les molécules du plastifiant et du polymère soient faibles comme la faible énergie inter faciale qu'il y a entre un solide et un lubrifiant liquide.
- ✓ La **théorie des gels** considère qu'une structure tridimensionnelle est à l'origine de la rigidité d'un polymère. La rupture de liaisons à différents intervalles dans les chaînes du polymère conduit à l'obtention d'un gel. C'est le plastifiant qui va briser certains ponts inter chaînes et masquer le

Centre des forces attractives (liaisons hydrogènes, Van der Waals ou forces ioniques), qui avaient jusque là maintenu les chaînes du polymère ensemble, en solvatant les chaînes en ces points. Cela va réduire la rigidité de la structure gel et donc la flexibilité du polymère. Parallèlement, des molécules du plastifiant non liées au polymère vont aider à gonfler ce dernier et faciliter le mouvement de ses molécules, augmentant la flexibilité. Pour des polymères semi-cristallins, le plastifiant va d'abord affecter la phase amorphe et les régions cristallines imparfaites. Si son pouvoir de solubilisation est assez important, il peut aussi causer la dissolution de certains cristaux, mais si une structure gel demeure, il ne pourra pas dissoudre définitivement tous les cristaux.

- ✓ Enfin, dans la **théorie du volume libre**, on définit le volume libre comme étant la différence entre le volume d'un cristal (d'un liquide, d'un solide ou d'un gaz) à la température du zéro absolu (0 K) et le volume d'un cristal à la température d'utilisation. Le volume libre ou trous

D'un polymère vont permettre les mouvements limités des éléments de la structure maillée. Plus le volume libre sera important, plus les mouvements des chaînes seront faciles. La plastification consiste donc à :

- augmenter le volume libre en agissant sur ses différentes sources, comme illustré dans la Figure 1-6.
- augmenter le nombre de groupes terminaux (diminution du poids moléculaire), Figure 1-6a,
- par réaction avec le plastifiant (plastification interne) : augmentation du nombre ou de la longueur des chaînes latérales, Figure 1-6b,
- augmenter les mouvements des chaînes principales par l'introduction de segments de faible empêchement stérique et de faible attraction intermoléculaire (plastification interne), Figure 1-6c.
- insérer un composé compatible avec le polymère à plastifier ayant un plus faible poids moléculaire (plastification externe), Figure 1-6d,
- passage de la matière à l'état plastique en augmentant la température.

La théorie du volume libre explique pourquoi la température de transition vitreuse d'un polymère diminue lors de l'addition d'un plastifiant.

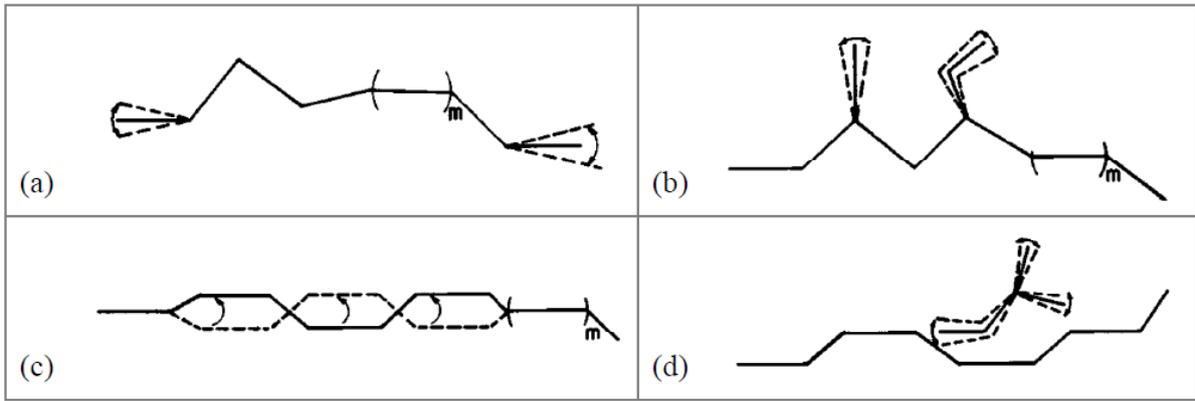


Figure 9 : Sources du volume libre utilisées pour la plastification : (a) mouvements des groupes terminaux, (b) mouvements des chaînes latérales, (c) mouvements de type « manivelle » de la chaîne principale, (d) mouvements d'un plastifiant externe (Sears & Darby, 1982).

Chapitre II- Matériels et méthodes

Introduction :

Grâce à leur stabilité chimique, leur capacité de former des films et leur caractère absorbant, les membranes des bios polymères sont largement utilisés pour la diffusion des solutions et la séparation des liquides ; parmi ces bios polymères, il y a celui formé du chitosane et le poly vinyle alcool(PVA), qui sont deux polymères biocompatible et non toxique, leur membranes est développée pour plusieurs application, parmi eux les application biomédicales.

Dans ce travail nous avons procédé d'abord à l'extraction de la chitine à partir des plumes de calamars en suivant deux étapes principales : élimination des protéines et élimination des sels minéraux. Par la suite nous sommes passés à la désacétylation de la chitine par un traitement alcalin pour obtenir le chitosane. Le produit, ainsi obtenu, est caractérisé par la spectroscopie infra rouge (FTIR) et la microscopie électronique à balayage (MEB).

Dans une deuxième étape, nous avons procédé à la préparation des membranes obtenues par des mélanges de différent pourcentage du chitosane et du PVA.

Produits et Matériels :

Tableau 4 : produits et matériels.

Les produits	Le matériel
<ul style="list-style-type: none">• Plume de calamar.• Le polyvinyle alcool (PVA).• L'hydroxyde de sodium NaOH (en pastille).• L'acide chlorhydrique HCL 37%.• L'acide acétique CH₃COOH 99%.• L'eau Distillée.• Acétone.	<ul style="list-style-type: none">• Un pH mètre.• Une plaque de chauffage t d'agitation.• Un tamis de laboratoire ayant une ouverture de maille inferieure a 200µm.• Etuve.• Balance analytique.• Boites de pétris.• Pipettes pasteur.• Bécher.• Fiole.• Spectrophotomètre Infrarouge.

Méthodes expérimentales :

1 Prétraitement des plumes

A partir de plumes de calamars, la chitine peut être extraite et transformée en chitosane, pour cela il faut passer par plusieurs étapes, ces dernières permettent le plus souvent l'obtention d'un chitosane plus raffiné. Pour commencer les plumes de calamars sont lavées puis séchées (à 40°C dans l'étuve pendant 24h), puis broyées à l'aide d'un blinder, la masse des plumes prétraitées est de 50 g. [102]

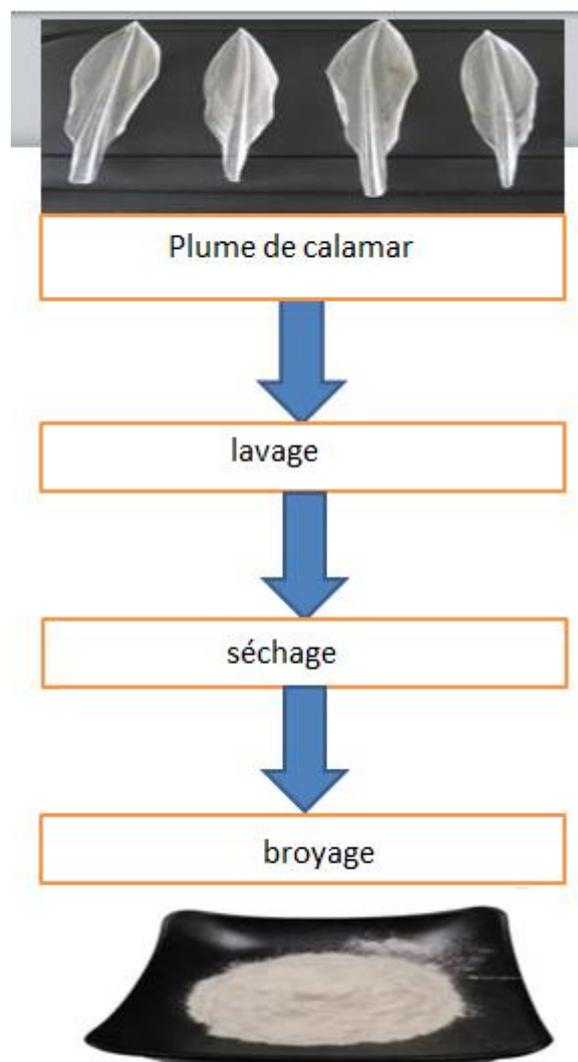


Figure 10: préparation de la plume de calamar.

2 Transformation de la chitine en chitosane :

A partir de plumes de calamars, la chitine peut être extraite et transformée en chitosane, pour cela il faut passer par plusieurs étapes dont certaines sont facultatives, ces dernières permettent le plus souvent l'obtention d'un chitosane plus raffiné. Pour commencer les plumes de calamars sont lavées puis séchées (à 100°C dans l'étuve pendant 24h), puis broyées.

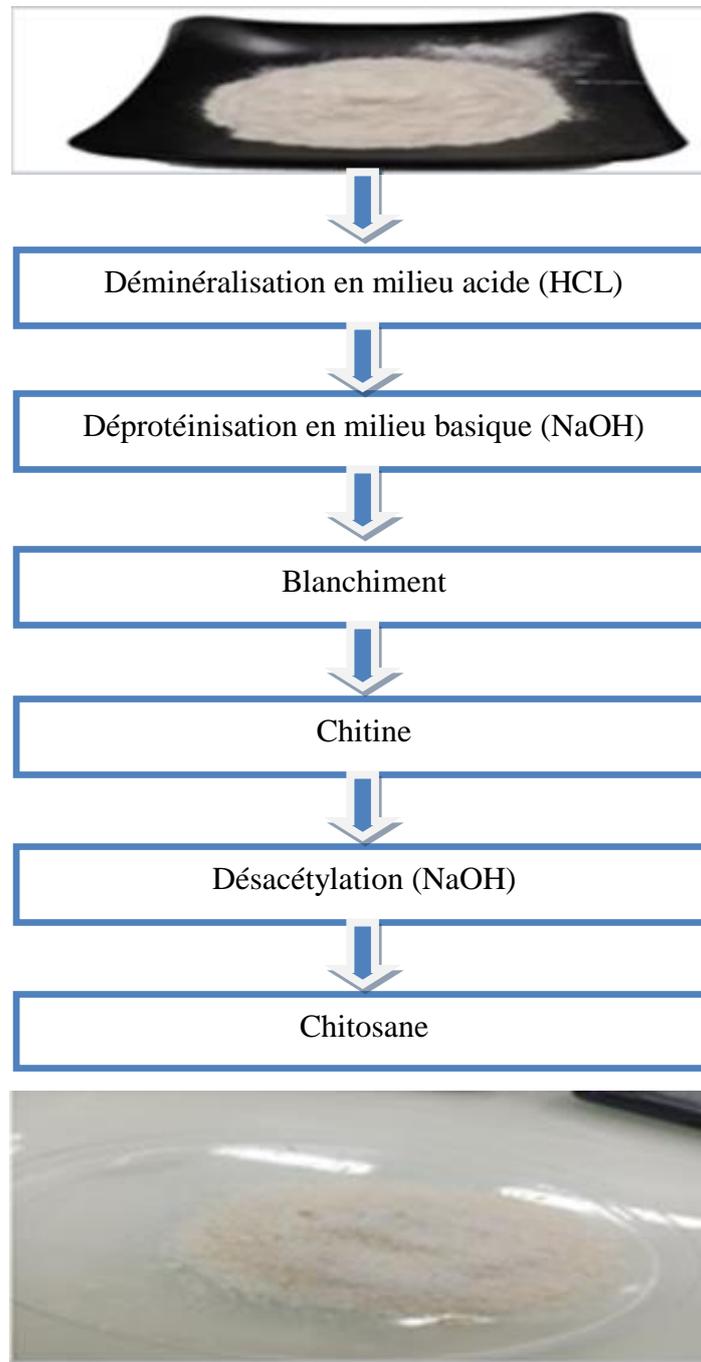


Figure 11: Étapes de production de chitosane.

2.1 Déminéralisation :

La déminéralisation a été réalisée, par un traitement de poudre avec de l'acide chlorhydrique HCl. Ce traitement consiste à éliminer les éléments minéraux CaCO_3 . On remarque un dégagement de CO_2 , c'est une signature de l'action de l'acide sur le CaCO_3 .



Ensuite on met l'échantillon dans un bécher avec une concentration de 0.55M de HCl avec un ratio (m /v) (1 /10) avec une agitation pendant 30 minutes à température ambiante, le produit obtenu est rincé avec de l'eau distillé puis filtré.

2.2 Déprotéinisation

Cette méthode consiste à éliminer les protéines d'après un traitement alcalin l'hydroxyde de sodium (NaOH) avec ratio de (m /v) (1 /10) avec une concentration de 0.3M de NaOH. Le traitement consiste à immerger X ml de solution d'hydroxyde de sodium dans un cristalliseur avec une masse Y g des plumes. Le mélange a été agité pendant 24 heures à 80 °C, le produit ainsi obtenu est rincé avec de l'eau distillé jusqu'à l'obtention d'un pH neutre puis filtré et séché a l'étuve (50°C) pendant une nuit.

2.3 Blanchiment

Le blanchiment des plumes permet d'éliminer les pigments et de blanchir la chitine obtenue par l'acétone, pour cela les plumes sont trempées successivement dans l'acétone pendant 2heures, la chitine ainsi blanchie est rincé a l'eau distillée jusqu'à pH neutre, puis séchée a l'étuve a 50°C.

2.4 Désacétylation

La transformation de la chitine en chitosane consiste essentiellement à l'hydrolyse des groupements acétyles présents dans la chitine pour avoir des groupes amines. [103]

Cette étape consiste à traiter la chitine par la soude NaOH à 40% (m/V : 1/50) à température supérieure à 100°C pendant un temps allant de 2 à 4 heures.

La solution est ensuite filtrée et le chitosane obtenu est rincé avec l'eau distillée jusqu'à atteindre la neutralité, puis sécher à 50°C pendant 24 heures. La masse de chitosane obtenue est 31.65 g. la réaction de l'obtention de chitosane à partir la chitine peut être schématisée comme suit :

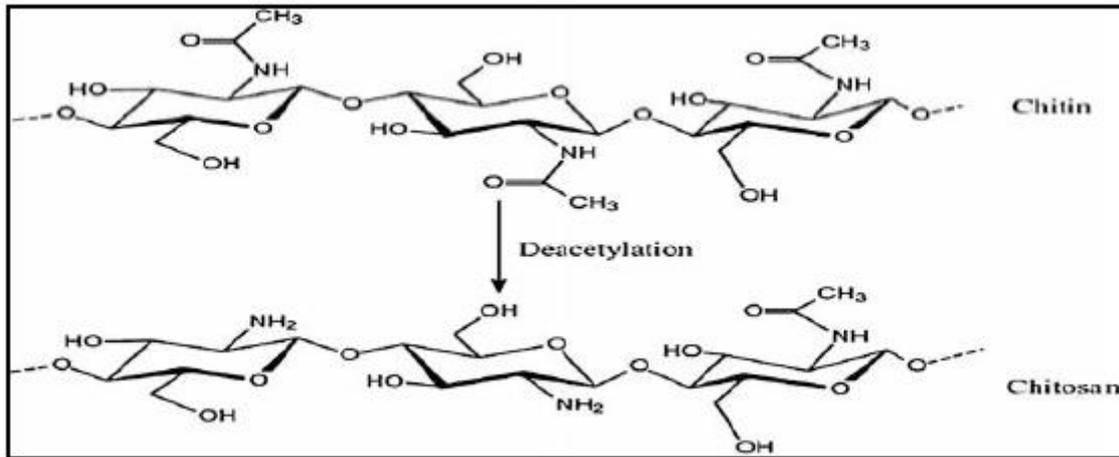


Figure 12 : Conversion de la chitine en chitosane par désacétylation

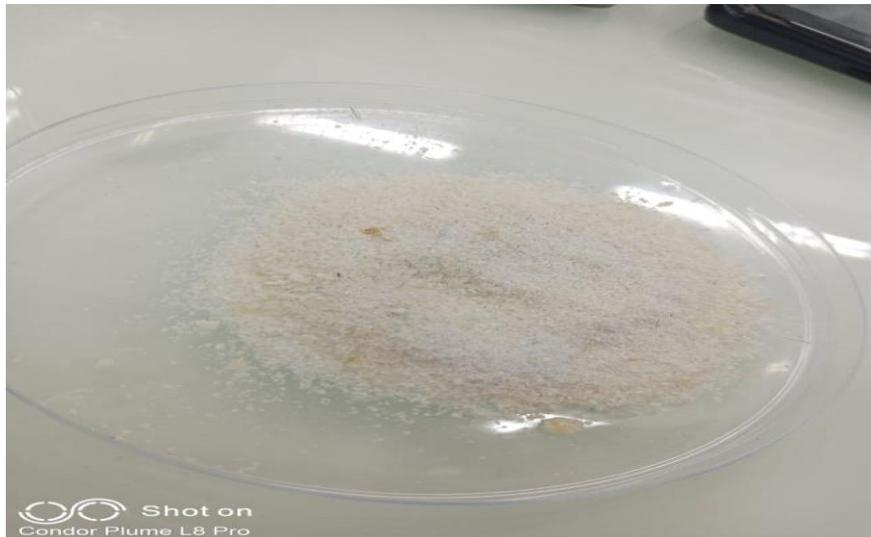


Figure 13: la chitine dés acétylée (chitosane).

3 Préparation du gel

Une masse de 1g de chitosane est introduite dans 100ml d'eau distillée, la réaction de dissolution du chitosane est réalisée par l'ajout d'un volume de 1 ml d'acide acétique ; le mélange ainsi obtenu est maintenu sous agitation, jusqu'à l'obtention d'un gel. [104]



Figure 14 : gel de chitosane

4 Préparation des membranes du chitosane pure

La préparation des membranes à base du chitosane peut être effectuée par plusieurs méthodes (presque identique), proposée par plusieurs chercheurs, mais la méthode la plus utilisée est celle proposée par [Muzzareli].

Les membranes de chitosane pur ont été préparées selon la procédure suivante ; une solution de chitosane à 0.5% est préparée par dissolution de 0.5g de chitosane dans 47.5ml d'une solution d'acide acétique à 1% sous agitation magnétique durant 2h, la solution obtenue est filtrée et coulée dans des boîtes de pétrie et séchée à l'étuve pendant 15min à 60°C. Les membranes formées sont ensuite démoulées.[105]

On note que les membranes de chitosane pur obtenues ont une belle apparence d'une couleur jaunâtre transparente, lisse et flexible.

5 Préparation des membranes du PVA pure

Pour la préparation des membranes de PVA on a procédé de la manière suivante ; dissolution de 10 g de PVA dans 90 g d'eau distillée, chauffée à une température de 70°C, sous agitation magnétique durant 2h, la solution obtenue est coulée dans des boîtes rectangulaires et séchée à l'étuve pendant 10min à 60°C. [106]

On note que les membranes de PVA pur obtenues ont une belle apparence lisse d'une couleur transparente, et un peu dure par rapport à celles obtenues de chitosane pur

6 Préparation des membranes du mélange Chitosane/PVA :

Afin de réaliser les membranes des mélanges chitosane (0.5%) et PVA (10%) il faut d'abord [6].

- Préparer une solution de chitosane à 0.5% en poids.
- Ensuite préparer une solution de PVA à 10%.

- Enfin préparer les mélanges des deux solutions à différents pourcentages du chitosane et de PVA, le mélange des deux solutions sera gardé sous agitation magnétique pendant 1h, la solution obtenue est coulée dans des boîtes rectangulaire et séchée à l'étuve à 60°C pendant 15min.

Le tableau 2 illustre les pourcentages des différents mélanges en chitosane et en PVA

Tableau 5 : pourcentage en Chitosane / PVA dans les membranes.

Abréviation	Les pourcentages dans les membranes	
	Chitosane (%)	PVA (%)
100 % Chit	100	00
80 % Chit / 20 % PVA	80	20
60 % Chit / 40 % PVA	60	40
40 % Chit / 60 % PVA	40	60
20 % Chit / 80 % PVA	20	80
100 % PVA	00	100

La méthode de préparation des membranes Chitosane / PVA et illustré sur la figure suivante :

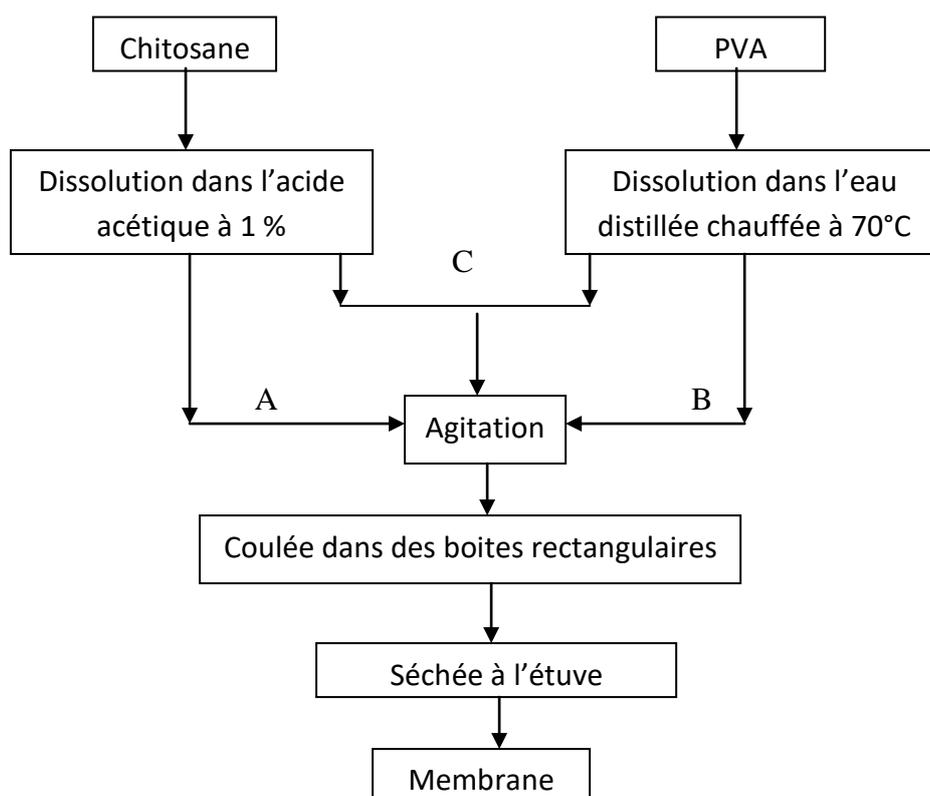


Figure 15 : méthode de préparation des membranes ; A Chitosane pur, B PVA pur, et C les mélanges des deux polymères.

7 Techniques de Caractérisation de chitosane

7.1 Teneur en eau

La teneur en eau des échantillons (chitine, chitosane) a été déterminée en séchant les échantillons à 60°C pendant 24 heures jusqu'à l'obtention des masses constantes, cette méthode est inspirée de celle de **Hulleman et al. (1998)**. La teneur en eau a été calculée en utilisant l'équation :

$$\% \text{ Te} = (M_i - M_f) / M_f \times 100$$

M_i et M_f sont respectivement la masse initiale et la masse finale (après séchage) des échantillons. [108].

7.2 Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF)

La technique spectroscopique IRTF est l'une des méthodes les plus utilisées pour l'analyse qualitative et quantitative des matières organiques, est basée sur l'absorption des rayonnements infrarouge par le matériau analysé. Elle est exploitée dans l'identification des groupements fonctionnels, elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques.

L'analyse s'effectue à l'aide d'un spectromètre à transformée de Fourier qui envoie sur l'échantillon un rayonnement infrarouge et mesure les longueurs d'onde auxquelles le matériau absorbe et les intensités de l'absorption. C'est un outil efficace pour étudier les modifications de structure des polymères résultant de traitement chimiques.

Les différents spectres ont été enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre infra rouge à transformée de Fourier de modèle **SHIMADZU FTIR-8400** piloté par un ordinateur muni d'un logiciel de traitement avec une résolution de 400 cm^{-1} . L'analyse est réalisée sur des mélanges de KBr-chitosane sous forme de pastilles.

- **Degré de déacétylation (DD)**

Le degré de déacétylation (DD%) représente une caractéristique essentielle de la chitine et du chitosane. Il représente la fraction d'unité glucosamine par rapport au nombre total d'unités les mesures ont été réalisées à l'aide d'un spectrophotomètre infrarouge. Le degré de déacétylation de chitosane a été calculé par l'équation de **Baxter, Dillon, Taylor, Roberts, 1992 ; Muzzarelli, 2009**.

$$\text{DD}\% = [(A_{1655}/A_{3450}) / 1.33] * 100$$

7.3 Microscopie Electronique à Balayage (MEB)

La microscopie électronique à balayage est basée sur l'interaction entre un faisceau d'électron pour obtenir une image de l'échantillon irradié avec une résolution de 0.01 μm . cette technique donne des informations sur relief de l'échantillon, la morphologie de graines et leur agencement.

La poudre de chitosane est observée grâce à un microscope électronique à balayage FEI QUANTA 650 à différents grossissements.

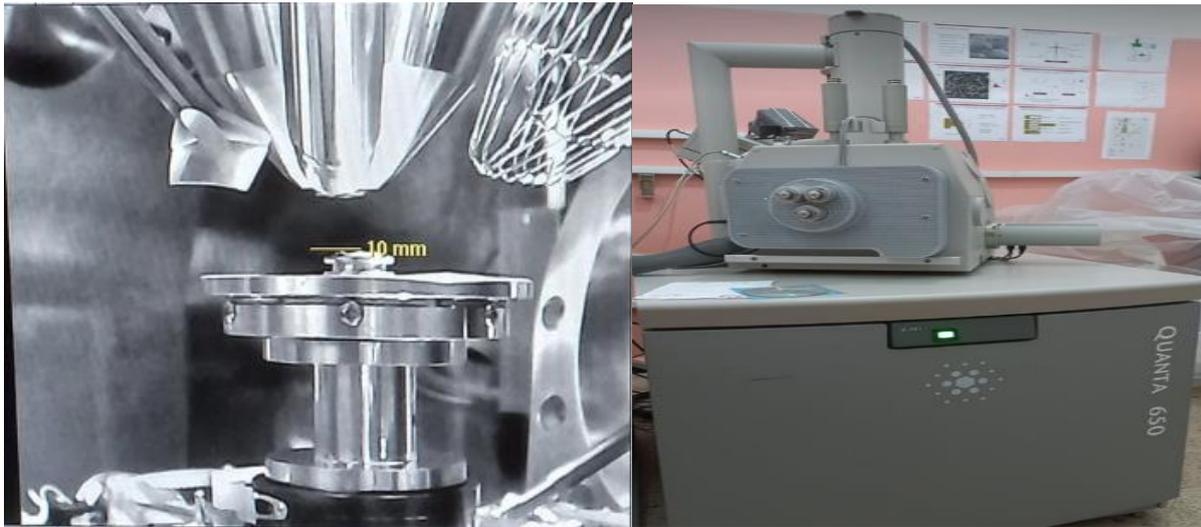


Figure 16 : Microscopie électronique à balayage de type FEI QUANTA 650 MEB.

7.4 Détermination du poids moléculaire par viscosimétrie :

Le poids moléculaire du chitosane est calculé à partir de sa viscosité intrinsèque notée $[\eta]$ en appliquant la relation de

$$[\eta] = k \times PM_v^a \longrightarrow [1]$$

$[\eta]$: viscosité intrinsèque ($dl.g^{-1}$).

PM_v : poids moléculaire moyen viscosimétrique du polymère (KDa).

K et a : paramètres qui dépendent du système polymère-solvant à une température donnée.

Dans notre étude, on a utilisé le solvant acide acétique ; $a=0.72$, $k=4.74 \times 10^{-5} g.dl^{-1}$ (kassai, 2007).

On détermine $[\eta]$ en calculant :

En premier, la viscosité relative par la mesure du temps d'écoulement de la solution d'échantillon et celle du solvant. Ainsi, elle s'écrit :

$$\eta_{rel} = \frac{t}{t_0} \longrightarrow [2]$$

t : temps d'écoulement de la solution de chitosane de concentration C_i

t_0 : temps d'écoulement du solvant.

La mesure du temps a été effectuée en suivant les étapes expérimentales suivantes :

- ✓ Dissoudre 1g du chitosane dans 100 ml d'une solution d'acide acétique à 1% (solution mère).

- ✓ A partir de la solution mère, préparer 05 solutions diluées de chitosane dans de l'acide acétique (1%) à des teneur suivantes (g.dl⁻¹) : C₁=0.1 ; C₂=0.08 ; C₃=0.06 ; C₄=0.04 ; C₅=0.02.
- ✓ Verser le contenu de chaque solution dans le viscosimètre ;
- ✓ Mesurer le temps d'écoulement du solvant (CH₃COOH) et de chacune des solutions.

En second, la division du logarithme de cette valeur par la concentration de la solution de chitosane (g.dl⁻¹), on obtient ce que nous appelons la viscosité inhérente :

$$\eta_{inh} = \left[\frac{\ln \eta_{rel}}{c_i} \right] \longrightarrow [3]$$

Ainsi, pour différentes concentrations de chitosane, on obtient donc différentes valeurs de viscosités inhérentes. Le tracé des viscosités inhérentes en fonction des concentrations donne lieu à une droite dont l'ordonnée à l'origine est égale à la viscosité intrinsèque.

Chapitre III- Résultats et discussion

1 Extraction de la chitine et sa transformation par voie chimique en chitosane

1.1 Rendements des réactions

Pour extraire la chitine à partir des déchets de calamars, nous avons utilisé une masse de 50g de poudre sèche des plumes, qui a été traitée avec une solution d'acide chlorhydrique HCL (0.55M) pour éliminer les composés minéraux qu'elle contient. Ensuite, on a continué l'extraction avec une solution basique d'hydroxyde de sodium (0.3M), pour dissocier le complexe chitine-protéines. Par la suite, on a poursuivi le traitement par un blanchiment avec l'acétone. Cette étape sert à éliminer les substances colorantes. On obtient à la fin du traitement une poudre de couleur blanche qui est la chitine. Cette dernière a été traitée par une solution basique concentrée d'hydroxyde de sodium NaOH, au profil d'une réaction de désacétylation qui conduit à l'obtention du polymère recherché, le chitosane.

Le rendement de chaque étape se calcule par l'équation suivante :

$$\text{Rendement \%} = \frac{\text{Masse de l'échantillon après réaction}}{\text{Masse de l'échantillon avant réaction}}$$

Les résultats des rendements obtenus de chaque étape d'extraction ainsi que l'étape de désacétylation, sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Rendements des différentes étapes d'extraction et de transformation de la chitine en chitosane.

Etape	déminéralisation	Déprotéinisation	Blanchiment	Désacétylation
Rendement (%)	86	88.37	86.84	75.75

Le rendement global de synthèse du chitosane est exprimé par la relation suivante :

$$\mathbf{R \text{ (chitosane/plume)} = 50\%}$$

2 Caractérisation de la chitine et du chitosane préparés :

2.1 Teneur en eau :

La teneur en eau de l'échantillon a été déterminée en séchant l'échantillon à 60°C pendant 24 heures jusqu'à l'obtention d'une masse constante. Le tableau suivant présente la teneur en eau des différents échantillons.[110]

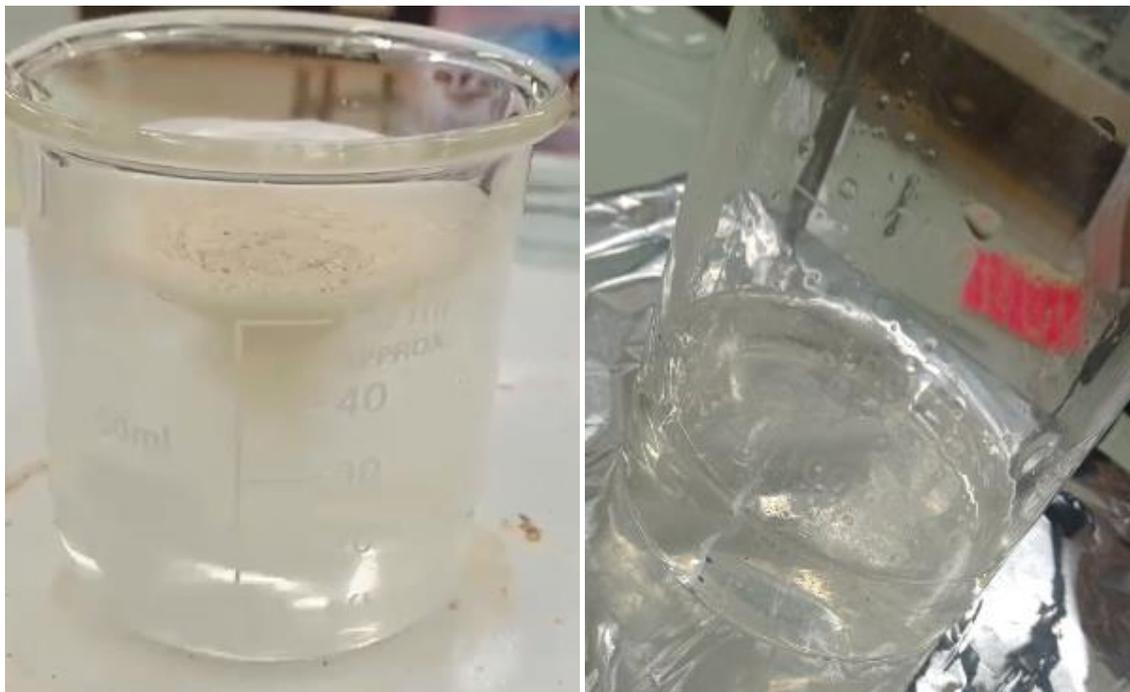
Tableau 7: teneur en eau de chitine et du chitosane.

	Masse initiale (g)	Masse après le séchage à 60°C pendant 24h (g)	Teneur en eau %
Chitine	1	0.66	8
Chitosane	1	0.908	10

Les résultats montrent que la teneur en eau de la chitine est beaucoup plus élevée que celle de chitosane cela peut être attribué à la quantité d'humidité absorbé par la chitine et le chitosane. La teneur en eau peut varier selon la saison, l'hygrométrie et l'intensité de la lumière du soleil.

2.2 Test de solubilité

La figure suivante représente la chitine et le chitosane dans une solution acide acétique de 1%



a) Chitine

b) chitosane

Figure 17: la chitine et le chitosane dans une solution Acide acétique 1%.

Nous pouvons clairement observer que la chitine est insoluble dans l'acide acétique, en revanche le chitosane est complètement soluble dans l'acide acétique. La chitine est insoluble dans l'acide acétique car il ne peut pas être protonisé à cause de l'absence de groupement amine et /ou un faible degré de déacétylation, en revanche le chitosane est complètement soluble dans l'acide acétique 1% et cela due au groupement amine qui se protonisé. Ces observation se corroborent avec ceux des travaux [Zhanget al,2012,II,Chen et Dong, 2001].

2.3 Analyse par Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier(FTIR)

Le spectre obtenu par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier du chitosane synthétisé est montré à la figure suivante :

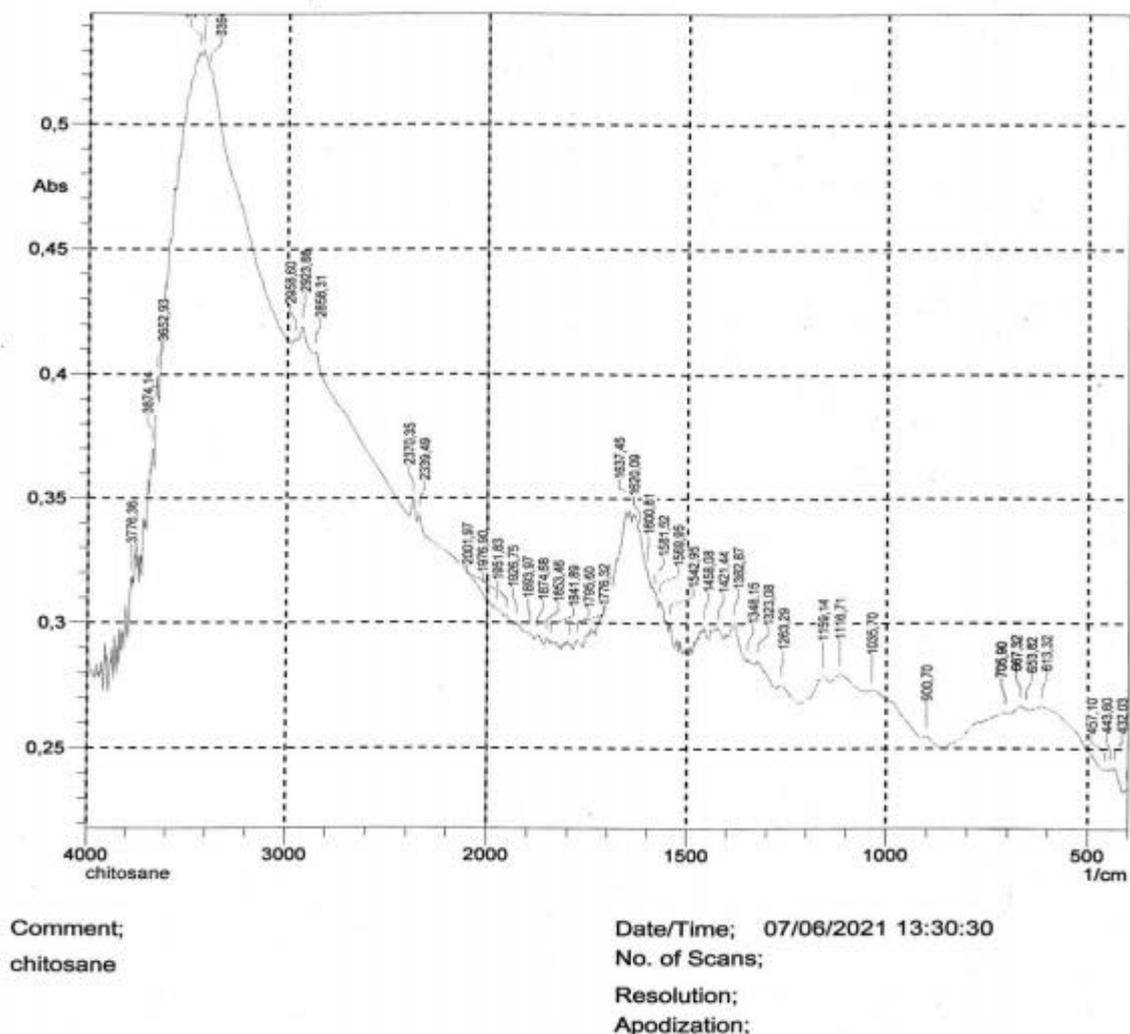


Figure 18: Spectres FTIR du chitosane.

L'ensemble des bandes d'adsorption attribuées au chitosane et leurs modes de vibration sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau8 : principales bandes d'adsorption IR du chitosane synthétisé et leurs groupements attribués.

Fréquence (cm ⁻¹) données par la littérature	Fréquence (cm ⁻¹) enregistrée	Attribution
3100-3500	3427.27	Vibration d'élongation de -NH et -OH
2800-3000	2923.88	Vibration d'élongation de -CH et -CH ₂
1650-1590	1637.45	Vibration d'élongation de C=O
	1542.95	Vibration de déformation de N-H
1500-1000	1323.08	Vibration de déformation de CH ₃ et de O-H
1150-1060	1159.14	Vibration d'élongation du C-O-C de cycle glucosidique.

2.3.1 Détermination de degré désacétylation DDA

Le degré de désacétylation est déterminé en utilisant l'équation de (Baxter,Dillon,Taylor,Roberts, 1992; Muzzarelli, 2009). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

$$\text{DDA (\%)} = (A_{1655\text{cm}^{-1}}/A_{3450\text{cm}^{-1}})*100/1,33$$

Tableau 9 : degré de désacétylation du chitosane extrait.

Chitosane	
A ₁₆₅₅	0.35392
A ₃₄₅₀	0.52018
DDA (%)	51.15

2.4 La microscopie électronique à balayage MEB :

Les photographies représentent la morphologie du chitosane en poudre. Nous remarquons que la morphologie de chitosane en poudre présente des pores irréguliers, désordonnés sans aucune forme particulière sur toute la surface.

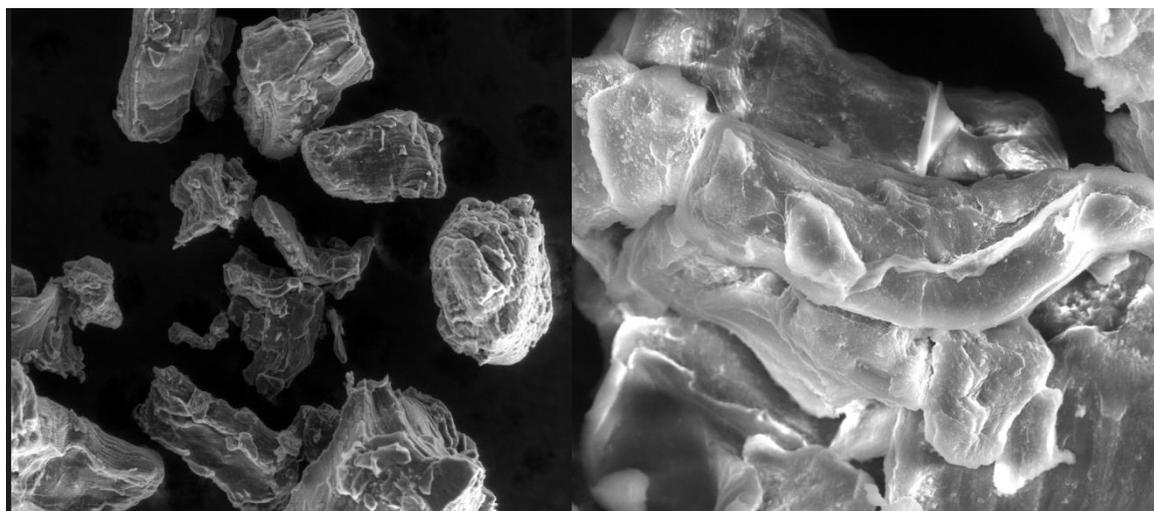


Figure 19: Micrographie MEB des surfaces de chitosane.

2.5 Détermination du poids moléculaire du chitosane par viscosimétrie :

La valeur du poids moléculaire (PM) d'un chitosane dépend intimement du procédé de préparation, car celui-ci peut induire une dépolymérisation des chaînes macromoléculaires ou dégradation lors de sa production (Jia et Shen, 2002).

Dans notre étude, la plume traitée par déacétylation conduit à un chitosane de degré de DDA (51.15%) et de poids moléculaire $PM = 122000KDA$.

3 Résultat des membranes du mélange Chitosane/PVA :

On note que les membranes du mélange Chitosane / PVA sont transparentes, avec une couleur légèrement jaunâtres qui diminue progressivement avec l'augmentation du pourcentage du PVA.

La souplesse des membranes obtenues diminue au fur et à mesure que le pourcentage du PVA augmente.



A/100% PVA B/80% PVA c/60% PVA d/40% PVA e/ 20% PVA
f/100% chitosane

Figure 20: Membranes de mélange chitosane/PVA à différents pourcentages.

Conclusion générale :

Ce travail s'est attaché à valoriser le chitosane extrait chimiquement à partir de s plumes de calamars, en tant qu'un emballage biodégradable. Ce matériau est bien connu pour ses propriétés antimicrobiennes mais il présente l'inconvénient d'être sensible à l'humidité et cassant limitant ses application dans le domaine de l'emballage. L'objectif principal de notre étude est donc d'améliorer la résistance à l'eau et l'élasticité de chitosane. Les plumes de calamars ont servis de source pour la synthèse du chitosane après une succession de plusieurs étapes : la déminéralisation, la déprotéinisation suivit d'un blanchiment par l'acétone. Ce traitement a conduit à l'extraction de la chitine, laquelle est transformée par voie chimique en chitosane, après une réaction de désacétylation par une solution d'hydroxyde de sodium concentré à 40%. Le poids moléculaire du chitosane a été déterminé par la méthode viscosimétrique qui est estimé à 122000 KDA, ainsi le degré de désacétylation du chitosane à été calculé est de 51.15%.

La caractérisation de chitosane par IRTF, MEB ont abouti à un ensemble de résultats, qui ont montré que le chitosane présente une structure chimique, et une morphologie désordonnés sans aucune forme particulière sur toute la surface. Nous avons exploré une méthode de gélification pour l'obtention des membranes de chitosane pur et de mélange de chitosane/PVA. Ces dernières ont donné des membranes avec une structure très homogène qui traduit une parfaite miscibilité entre les deux bios polymères.

Liste des ABREVIATIONS :

DDA : Degré d'acétylation.

DD : Degré de désacétylation.

FTIR : spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier.

CS : Chitosane.

HCl : l'acide hydrochloridrique.

NaOH : l'hydroxyde de sodium.

MEB : microscopie électronique à balayage.

Référence bibliographiques :

- [1] : A-M.Riquet, « L'emballage alimentaire et sécurité du consommateur », INRA, Paris (1998).
- [2] Delphine Rutot, Philippe Dubois. Les (bios) polymères biodégradables : l'enjeu de demain ?, *Chimie nouvelle*, 86,2004
- [3] PlasticsEurope, *Plastics – the Facts 2013*. An analysis of European latest plastics production, demand and waste data plastics.
- [4] Catherine Nettles Cutter. Opportunities for bio-based packaging technologies to improve the quality and safety of fresh and further processed muscle foods, *Meat Science* 74, 131–142, 2006.
- [5] Y. Doi, Ed., (Degradable plastic) (in japanese) CMC publishing Co., Ltd., Tokyo 1990, p. 1-2, 107-117.
- [6] Y. Doi, Ed., (polymeric Material of biodegradability) (in japanese), industrial investigation committee kogyo chousakai publishing Inc ., Tokyo 1990, p.177-197.
- [7] Razzak, MT ; Darwis, D.; Zainuddin; Sukirno. Irradiation d'alcool polyvinylique et d'hydrogel mélangé de polyvinylpyrrolidone pour pansement. *Radiat. Phys. Chem.* 2001, 62, 107-113. Demerlis, CC;
- [8] Limpan, N.; Prodpran, T.; Benjakul, S.; Prasarpran, S. Influences du degré d'hydrolyse et du poids moléculaire du poly(alcool vinylique) (PVA) sur les propriétés des films de mélange de protéines myofibrillaires de poisson/PVA. *Hydrocoll alimentaire*. 2012,29, 226-233.
- [9] Maria, TM ; Carvalho, RA ; Sobral, PJ; Habitantea, AM; Solorza-Ferriab, J. L'effet du degré d'hydrolyse du PVA et de la concentration en plastifiant sur la couleur, l'opacité et les propriétés thermiques et mécaniques des films à base de PVA et de mélanges de gélatine. *J. Food Eng.* 2008, 87, 191–199.
- [10] Qiu, K.; Netravali, une étude de compostage de résines à base d'alcool polyvinylique de type membrane et de nanocomposites. *J. Polym. Environ.* 2013, 21, 658-674.
- [11] Tang, Y. ; Zhou, D.; Zhang, J. Novel alcool polyvinylique/latex de caoutchouc styrène butadiène/nanocomposites de carboxyméthylcellulose renforcés de nanotubes d'halloysite modifiés. *J. Nanomater.* 2013, 2013, 128.
- [12] Baley, C., Grohens, Y., et Pillin, I., "State of the art regarding biodegradable composites". *Revue des Composites et des Matériaux Avancées*, 14(2): p. 135-166, 2004.
- [13] M. Kolybaba, L.G. Tabil, S. Panigrahi, W.J. Crerar, T. Powell, B. Wang. Biodegradable Polymers: Past, Present, and Future, presentation at the CSAE/ASAE Annual Intersectional Meeting, 2003.

- [14] El Hadji Babacar, Nouveaux matériaux composites thermoformables à base de fibres de cellulose, thèse de doctorat, 2008.
- [15] Valentina Siracusa, Pietro Rocculi, Santina Romani et Marco Dalla Rosa. Biodegradable polymers for food packaging: a review, *Trends in Food Science & Technology*, 19, 634-643, 2008.
- [16] Colonna P. Dossier agrobiologie, L'agriculture renouvelle l'art plastique de Les biomatériaux détrôneront-ils les plastiques ,, *Biofutur* 193, 15-18, 1999.
- [17] Shahidi F., Arachchi J. K. V., Jeon Y J. Food applications of chitin and chitosans, *Trends in Food science and Technology*, 10, 37-51, 1999.
- [18] Weber C. J. Biobased packaging materials for the food industry, *Foodstuffs Packaging Biopolymers*, 2000.
- [19] Rolland A., Mumper R. J. Chitosan related compositions and methods for delivery of nucleic acids and oligonucleotides into a cell, United States Patent, 6-184-037, 2001.
- [20] Felt O. Evaluation d'un polysaccharide cationique comme véhicule pour la voie ophtalmique, Thèse de Doctorat, Université de Genève, 1999.
- [21] Campana S. P., Signini R. Efeito de aditivos na desacetilação de quitina, *Pómeros :CiênciaTecnologia*, vol. 11, n°4, 169-173, 2001.
- [22] Jaouen D. Chitine, Chitosane et Dérivés. PhD Thèse en pharmacie, Université d'Angers, Angers (France) 1994.
- [23] Crini G., Badot P.M., Guibal E: Chitine et Chitosane. Du polymère à l'application: Presses universitaires de Franche-Comté, 2009.
- [24] F. Tiemann, *Ber.* 19-49, 1886.
- [25] J Blackwell. dans *Methods in Enzymology*, Éd. : W.A. Wood, S.T. Kellogg, Academic Press, New-York vol. 161- 435, 1988.
- [26] Tolaimate A., Desbrières J., Rhazi M., Alagui A, Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical property, *Polymer*, 44, 7939 (2003).
- [27] LE ROUX, Karine. 2012. « Purification de la chitine par hydrolyse enzymatique à partir de coproduits de crevette *Penaeus vannamei*. Caractérisations des produits et optimisation du procédé ». Thèse de doctorat. Université de Nantes. pp.15 -29.
- [28] Mr. Mokrani Nadir. (2013) . « Préparation et étude de comportement de membranes bio polymères Alginate de sodium/chitosane ». Thèse de Magister. Université de Boumerdes.
- [29] : Abdulhadi Aljawish. (2013). « Fonctionnalisation enzymatique du chitosane par des composés phénoliques : évaluation des propriétés biologique et physicochimique des ces nouveaux bio polymères ». Thèse de doctorat. Université de Lorraine.

- [30] Blair D E., Schuttelkopf A W., Shrestha B., Tokuyasu K., Withers S G., Et van Alten D M. Structure and mechanism of chitin deacetylase from the fungal pathogen *Colletotrichum destructivum*. *Biochemistry* 45, 9416-9426, 2006.
- [31] Pa J H and Yu T L . Light scattering study of chitosan in acetic acid aqueous solutions. *Macromolecular Chemistry and Physics*. (202) 985-991, 2001.
- [32] Brugnerotto J., Lizardi J., Goycoolea F M., Arguelles-Monal W., Desbriares J and Rinaudo M. An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. *Polymer*. (42) 3569-3580, 2001.
- [33] Gregorio Crini ; Pierre-Marie Badot et Eric Guibal. « Chitine et chitosane du biopolymère à l'application ». Université de Franche Comté.
- [34] Chachou Fatima (2014) « synthèse de la magadiite et des composites magadiite-polysaccharides – Tests antibactériens ». Thèse de Magister. Université d'Oran.
- [35] Shahidi F ; Abuzaytoun R. (2005) « Chitin , chitosane and co-products : chemistry, production, applications and health effects ». *Adv. Food Nutr. Res.*, 49, 93-135.
- [36] Taouint Aissa Nadja. (2016). « Préparation de chitosane à partir de la biomasse marine. Application au conditionnement des boues urbaines ». Thèse de Magister. Université de Tizi-Ouzou.
- [37] Benali Ahmed (2013) « préparation des composites Argile-chitosane, application à la rétention des colorants ». Thèse de Magister. Université de Tlemcen.
- [38] Ben Dhieb Fatima (2014) « développement et caractérisation de films biodégradables à base d'acide poly lactique et de chitosane ». Université de Laval.
- [39] Vazquez-Duhalt R., Tinoco R., D'Antonio P., Topoleski L D T. and Payne G F. Enzyme conjugation to the polysaccharide chitosan: Smart biocatalysts and biocatalytic hydrogels. *Bioconjugate Chemistry*. (12) 301-306, 2001.
- [40] Thanou M and Junginger H . Pharmaceutical applications of chitosan and derivatives in: *Polysaccharide, Structural diversity and functional versatility* New York : Marcel Dekker 2ed. 661-670, 2005.
- [41] Grabovac V., Guggi D. and Bernkop-Schnurch A. Comparison of the mucoadhesive properties of various polymers. *Advanced Drug Delivery Reviews*. (57) 1713-1723, 2005.
- [42] Allan, C. R., & Hadwiger, L. A. (1979). The fungicidal effect of chitosan on fungi of varying cell wall composition. *Experimental Mycology*,
- [43] Hirano, S., & Nagao, N. (1989). Effects of chitosan, pectic acid, lysozyme, and chitinase on the growth of several phytopathogens. *Agricultural and Biological Chemistry*.

- [44]Kong, M., Chen, X. G., Xing, K., & Park, H. J. (2010). Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *International Journal of Food Microbiology*,
- [45] (Robinson,R.K. 2000). Encyclopedia of Food Microbiology, Volumes 1-3 C.A. Batt & P.D. Patel (Eds.),
Retrieved from <http://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpEFMV0004/encyclopedia-foodmicrobiology/encyclopedia-food-microbiology>
- [46] (Chung, Y.-C., Su, Y.-P., Chen, C.-C., Jia, G., Wang, H.-L., Wu, J. C. G., et al. (2004).Relationship between antibacterial activity of chitosan and surface characteristics of cell wall *Acta Pharmacologica Sinica*,
- [47] (No, Young Park, Ho Lee, & Meyers, 2002) Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *International Journal of Food Microbiology*.
- [48] LHcheM via Wikimedia Commons.
- [48] Zhong, Z., Xing, R., Liu, S., Wang, L., Cai, S., & Li, P. (2008). Synthesis of acyl thiourea derivatives of chitosan and their antimicrobial activities in vitro. *Carbohydrate Research*,
- [49] Wang, X., Du, Y., & Liu, H. (2004). Preparation, characterization and antimicrobial activity of chitosan-Zn complex. *Carbohydrate Polymers*,
- [50] Kong, M., Chen, X.-g., Xue, Y.-p., Liu, C.-s., Yu, L.-j., Ji, Q.-x., et al. (2008). Preparation and antibacterial activity of chitosan microspheres in a solid dispersing system. *Frontiers of Materials Science in China*,
- [51] No, H. K., Kim, S. H., Lee, S. H., Park, N. Y., & Prinyawiwatkul, W. (2006). Stability and antibacterial activity of chitosan solutions affected by storage temperature and time. *Carbohydrate Polymers*,
- [52] Tsai, G.-J., & Su, W.-H. (1999). Antibacterial Activity of Shrimp Chitosan against *Escherichia coli*. *Journal of Food Protection*,.
- [53] P.C. Srinivasa, R.N. Tharanathan. Chitin/Chitosan — Safe, Ecofriendly Packaging Materials with Multiple Potential Uses, *Food Reviews International*, 23:53–72, 2007
- [54] J.J. Kester, O. Fennema. Edible Films and Coatings: A Review. *J. Food Sci.*, 1986, 40, 47–59.
- [55] T.P. Labuza, W.M. Breene. Application of “Active Packaging” for Improvement of Shelflifeand Nutritional Quality of Fresh and Extended Shelflife Foods. *J. Food Process. Preserv.*,1989, 13, 1–69.

- [56] T.P. Labuza, W.M. Breene. Application of “Active Packaging” for Improvement of Shelflife and Nutritional Quality of Fresh and Extended Shelflife Foods. *J. Food Process. Preserv.*, 1989, 13, 1–69.
- [57] D.H. Davies, C.M. Elson, E.R. Hayes. N,O-Carboxymethyl Chitosan. A New Water Soluble Chitin Derivative. In Chitin and Chitosan; Skja-braek, G.; Anthonsen, T.; Sandford, P.; Eds.; *Elsevier Applied Science*: New York, 1989, 467–472.
- [58] F.S. Kittur, K.R. Kumar, R.N. Tharanathan. Functional Packaging Properties of Chitosan Films. *Eur. Food Res. Technol.*, 44, 206–208. 1998.
- [59] J.M. Krochta et C. De Mulder-Johnston. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. *Food Technology*. 51(2): 61–74. 1997.
- [60] E.A. Collins, J. Bares, F.W. Billmeyer. *Experimental Polymer Science*; John Wiley Interscience: New York, 99–120. 1973.
- [61] B.L. Butler, P.L. Vergano, R.F. Testin, J.M. Bunn, J.L. Wiles. Mechanical and Barrier Properties of Edible Chitosan Film as Affected by Composition and Storage. *J. Food Sci.*, 61, 953–955. 1996.
- [62] J.L. Wiles, P.J. Vergano, F.H. Barron, J.M. Bunn, R.F. Testin. Water Vapor Transmission Rates and Sorption Behavior of Chitosan Films. *J. Food Sci.*, 65, 1175–1179. 2000.
- [63] R.N. Tharanathan, P.C. Srinivasa, M.N. Ramesh. A Process for Production of Biodegradable Films from Polysaccharides. *Indian Patent* 85/DEL/2002. 2002.
- [64] P.C. Srinivasa, M.N. Ramesh, K.R. Kumar, R.N. Tharanathan. Properties of Chitosan Films Prepared Under Different Drying Conditions. *J. Food Eng.*, 63, 79–85. 2004.
- [65] M. Zhang, N.L. Thomas. Preparation and properties of polyhydroxybutyrate blended with different types of starch. *J. Appl. Polym. Sci.*; 116(2): 688–94. 2009.
- [66] Y. Parulekar, A.K. Mohanty. Extruded biodegradable cast films from polyhydroxyalkanoate and thermoplastic starch blends: fabrication and characterization. *Macromol Mater Eng*; 292(12): 1218–28. 2007.
- [67] X. Cao, L. Zhang, J. Huang, G. Yang, Y. Wang. Structure–properties relationship of starch/waterborne polyurethane composites. *J. Appl. Polym. Sci.*, 90(12): 3325–32. 2003.
- [68] Y. Lu, L. Tighzert, F. Berzin, S. Rondot. Innovative plasticized starch films modified with waterborne polyurethane from renewable resources. *Carbohydr Polym*; 61(2): 174–82. 2005.
- [69] Y. Yuan, E. Ruckenstein. Polyurethane toughened polylactide. *Polym Bull*; 40(4–5): 485–90. 1998

- [70] R. Belhassen, J.A. Méndez, S. Boufi, J.P.López, J. Puig, A. Pélach, P.Mutjé. Preparation and properties of biocomposites based on jute fibers and blend of plasticized starch and poly(b-hydroxybutyrate). *J Appl Polym Sci*;114(1):313–21.2009.
- [71] E. Landreau, L. Tighzert, C. Bliard, F. Berzin, C. Lacoste. Morphologies and properties of plasticized starch/polyamide compatibilized blends. *Eur Polym J*;45(9):2609–18.2009.
- [72] MSMR Thiré, TAA Ribeiro, CT Andrade. Effect of starch addition on compressionmolded poly(3-hydroxybutyrate)/starch blends. *J.Appl. Polym. Sci*;100(6):4338–47.2006.
- [73] T-M Don, C-Y Chung, S-M Lai, H-J Chiu. Preparation and properties of blends from poly(3-hydroxybutyrate) with poly(vinyl acetate)-modified starch. *Polym Eng Sci*;50(4):709–18.2010.
- [74] S-M Lai, T-M Don, Y-C Huang. Preparation and properties of biodegradable thermoplastic starch/poly(hydroxy butyrate) blends. *J Appl Polym Sci*;100(6):2371–9.2006.
- [75] K. Sungsanit, N. Kao, S.N. Bhattacharaya. Properties of linear poly(lactic acid)/polyethylene glycol blends. *Polym Eng Sci*;52(1):108–16.2011.
- [76] Y.X. Cao, F.G. Du, X.L. Wang, Y.Z. Meng. New biodegradable blends from aliphatic polycarbonate and poly(vinyl alcohol). *Polym Polym Compos*;14(6):577–84.2006.
- [77] Wisam H. Hoidy, Mansor B. Ahmad, Emad A. Jaffar Al-Mulla et Nor Azowa Bt Ibrahim. Preparation and characterization of Polylactic Acid/ Polycaprolactone Clay Nanocomposites, *Journa of Applied Sciences* 10 (2) : 97-106. 2010.
- [78] B. Meng, J.J. Deng, Q. Liu, Z.H. Wu, W. Yang. Transparent and ductile poly(lactic acid)/poly(butyl acrylate) (PBA) blends: structure and properties. *Eur Polym J*;48(1):127–35.2012.
- [79] J. Jiao, S.J. Wang, M. Xia, M. Xu, Y.Z. Meng. Processability, property, and morphology of biodegradable blends of poly(propylene carbonate) and poly(ethylene-covinyl alcohol). *Polym Eng Sci*;47(2):174–80.2007
- [80] K.Y. Zhang, X.H. Ran, X.M. Wang, C.Y. Han, L.J. Han, X. Wen, Y.G. Zhuang, L.S. Dong. Improvement in toughness and crystallization of poly(L-lactic acid) by melt blending with poly(epichlorohydrinco-ethylene oxide). *Polym Eng Sci*;51(12):2370– 80.2011.
- [81] M.L. Focarete, M. Scandola, P. Dobrzynski, M. Kovalczuk. Miscibility and mechanical properties of blends of (l)-lactide copolymers withatactic poly(3- hydroxybutyrate). *Macromolecules*;35(22):8472–7.2002.
- [82] L.J. Han, C.Y. Han, H.L. Zhang, S. Chen, L.S. Dong. Morphology and properties of biodegradable and biosourced polylactide blends withpoly(3-hydroxybutyrate-co-4 hydroxybutyrate). *Polym Compos*;33(6):850–9.2012.

- [83] J.W. Park, S.S. Im. Phase behavior and morphology in blends of poly(Llacticacid) and poly(butylene succinate). *J Appl Polym Sci*;86(3):647–55.2002.
- [84] B.Y. Shin, S.H. Jang, B.S. Kim. Thermal, morphological, and mechanical properties of biobased and biodegradable blends of poly(lacticacid) and chemically modified thermoplastic starch. *Polym Eng Sci*;51(5):826–34.2011.
- [85] H.L. Gao, S. Hu, F.H. Su, J. Zhang, G.N. Tang. Mechanical, thermal, and biodegradability properties of PLA/ modified starch blends. *Polym Compos*; 32(12):2093–100. 2011
- [86] M.A. Rodriguez-Perez, R.D. Simoes, S. Roman-Lorza, M. Alvarez-Lainez , C. Montoya-Mesa, C.J.L. Constantino, J.A. de Saja. Foaming of EVA/starch blends: characterization of the structure, physical properties, and biodegradability. *Polym Eng Sci*;52(1):62–70.2012
- [87] C.Koning, M. Van Duin, C. Pagnouille, R.Jerome. Strategies for compatibilization of polymer blends. *Prog Polym Sci*;23(4): 707–57.1998.
- [88] P.J. Flory. Thermodynamics of high polymer solutions. *J Chem Phys*;10(1):51– 61.1942.
- [89] M.L. Huggins. Solutions of long chain compounds.*J Chem Phys*;9(5): 440 .1941.
- [90] C.Koning, M. Van Duin, C. Pagnouille, R.Jerome. Strategies for compatibilization of polymer blends. *Prog Polym Sci*;23(4): 707–57.1998.
- [91] Tomonori Honma, Toshihiko Senda et Yoshio Inoue, Thermal properties and crystallization behaviour of blends of poly(ϵ -caprolactone) with chitin and chitosane, *Polym Int* 52:1839–1846 .2003.
- [92] O.S.Nastasescu, M.I. Popa, G. Lisa, L. Verestiuc. Films à base de chitosane et collagène: influence de la masse moléculaire du chitosane sur la compatibilité du biopolymère, *Revue Roumaine de Chimie*, 54(7), 549–555 ,2009.
- [93] Ruiyun Zhang, Wenyu Xu, et Fuqing Jiang. Fabrication and Characterization of Dense Chitosan/ Polyvinyl-Alcohol/ Poly-lactic-Acid Blend Membranes, *Fibers and Polymers* Vol.13, No.5, 571-575, 2012
- [94] I. Leceta, P. Guerrero, K. de la Caba. Functional properties of chitosan-based films, *Carbohydrate Polymers*, 2012.
- [95] M. Dunia, Garcia Cruz, L. Jose, Gomez Ribelles, Manuel Salmeron Sanchez. Blending Polysaccharides With Biodegradable Polymers. I. Properties of Chitosan/ Polycaprolactone Blends ,Wiley Periodicals, Inc. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater* 85B: 303–313, 2008.
- [96] C. Caner, P.J. Vergano, et J.L. Wiles. Chitosan film mechanical and permeation properties as affected by acid, plasticizer, and storage. *J. Food Sci.* 63: 1049–1053.1998.

- [97] H. Park, X. Li, C. Jin, C. Park, W. Cho, C. Ha. Preparation and properties of biodegradable thermoplastic starch/clay hybrids. *Macromol. Mater. Eng.* 287: 553–558.2002.
- [98] Je Kyun Lee, Chang Dae Han. Evolution of polymer blend morphology during compounding in an internal mixer, *Polymer* 40 ; 6277–6296. 1999.
- [99] J. Cha, J.L. White. Maleic anhydride modification of polyolefin in an internal mixer and a twin-screw extruder: experiment and kinetic model. *Polym. Eng. Sci.* 41, 1227–1237.2001.
- [100] B.Imre, B.Pukanszky. Compatibilisation in bio-based and biodegradable polymer blends ,*European Polymer Journal* 49 ; 1215–1233.2013.
- [101](Immergut Edmund & Mark Herman, 1965; Mekonnen, Mussone, Khalil, & Bressler, 2013).
- [102]Rao MS., Nyein KA., Trung TS., Stevens WF : Optimum parameters for production of chitin and chitosan from squilla (S. empusa). *J ApplPolymSci*, 103(6) :3694-3700,2007.
- [103]Charoenvuttiham P., Shi J., Mittal GS : Chitin extraction from black tiger shrimp (Penaeusmonodon) waster using organic acids. *Sep Sci Technol*, 41(6) :1135-1153, 2007.
- [104]Al Sagheer FA., Al-Sughayer MA., Muslim S. Elsabee MZ : Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf.*CarbohydrPolym*, 77(2) :410-419, 2009.
- [105]Einbu A : Characterisation of chitin and Study of its Acid-Catalysed Hydrolysis. Trondheim, Norwegian
- [106]No HK., Meyers SP : Crawfish chitosane as a coagulant in recovery of organic compounds from seafood processing streams. *J Agric Food Chem*, 37(3) :583, 1989.
- [107]Varum K.M., Myhr M.M., hjerde R.J.N. and Smidsra, dO.In vitro degradation rates of partially N-acetylated chitosans in human serum. *Carbohydrate Research*.(299) 99-101, 1997.
- [108]Onishi H.and Machida Y . Biodegradation and distribution of water-soluble chitosanin mice. *Biomaterials*. (20) 175-182, 1999.
- [109] (Mark-Houwink Sakurada ,Rinaudo et al.1993).
- [110]Olabarrieta, I., D. Forsstrom, U.W.Gedde and M.S. Hedenqvist (2001) transport properties of chitosan and whey blended with poly(ϵ -caprolactone) assessed by standard permeability measurements and microcalorimetry. *Polym.*, 42, 4408.