

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université A. MIRA – BEJAIA
Faculté de Technologie
Département de Génie des Procédés



En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

En Génie des Procédés
Option : Génie Alimentaire

Thème

Valorisation de la biomasse marine dans la conception de biomatériaux destinés à l'emballage alimentaire

Présenté par :

M^{elle} : BELKHERRAZ Meryem

M^{elle} : HOCINI Rahma

Soutenu devant le jury composé de :

Mme. HAMMICHE Dalila

MCA

Présidente

Mme. HAMOUR Nora

MCB

Examinatrice

Mme. IHAMOUCHEM Chadia

MCB

Promotrice

Mr. DJIDJELLI Hocine

Pr

Co-promoteur

Promotion 2017-2018

Remerciements



Avant toute chose, on tient à remercier Dieu le tout puissant, de nous avoir donnée la force, la patience et le courage pour réaliser ce travail.

- *Nous tenons d'abord à exprimer nos vifs remerciements à notre encadreurs **Dr. IHAMOUCHEM Chadia** et le **Pr. DGIDGELLI Hocine** Pour l'honneur qu'ils nous ont fait de nous avoir encadrées, pour leur disponibilité, leur suivi quotidien, leur aide précieuse et leur soutien et tout particulièrement pour la patience et la confiance qu'ils nous ont témoigné tout au long de ce travail.*
- *Nous tenons à remercier **Dr. HAMMICHE. Dalila** de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de notre soutenance.*
- *Nos remerciements s'adressent aussi au **Dr. HAMOUR Nora** d'avoir accepté d'examiner notre travail.*
- *Nous exprimons nos sincères remerciements aussi et notre profonde gratitude à **M^{lle} BENSSIDHOUM .L.** pour le temps précieux et l'intention qu'il nous a consacré en dépit de ses nombreuses taches.*
- *Un grand merci aux ingénieurs et techniciens de notre département*
- *En fin nous tenons à remercier tous nos ami(e)s pour leurs soutiens au long de l'élaboration de ce mémoire.*

Rahma et Meryem



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à:

Mon très cher père pour tous ce qu'il a fait pour moi durant tout mes années d'étude, pour ses encouragements et ses orientations .

Ma très chère mère pour son sacrifice, son aide ,ses conseils et sa patience.

Mes très chers frères et sœurs "abdrzak, adel, ilyas, salima ,suhila"

Mes beaux frères et belles sœurs "hamid, farid, naima, faiza"

*Mes chères neveux et nièces "imanne,
tinhinane, amine, fouad, wassin, rinad, kawthar, raouf, yasmine, bidrou"*

*Mes très chères ami(e)s en particulier "meriem
, tata, kenza, fahima, nawal; nouara" En témoignage de l'amitié sincère qui nous a
liées et des bons moments passés ensemble, je vous dédié ce travail en vous
souhaitant un avenir radieux*

*Mon très cher abdou pour tous ce qu'il a fait pour moi , pour ses
encouragements .*

Mes enseignants qui m'ont suivi tout au long de mon cursus universitaire.

A tous mes collègues de la promotion 2018 génie Alimentaire.

Belkheraz Meryem

Dédicaces

C'est avec un grand honneur que je dédie ce modeste travail aux deux personnes qui se sont sacrifiées pour que je grandisse avec un savoir faire et qui m'ont appris à ne jamais baissé les bras

A mes chers parents, pour leur affection, leur effort qu'ils ont déployé durant toutes ces années, j'espère que ce travail soit l'expression de ma pleine gratitude et de mon profond respect.

Je dédie ce travail également :

A mes chères sœurs: Souhila, Meriem et Chafia

A mon frère : Fares

A toute ma famille : Ma chère grand-mère qui nous a quitté récemment paix à son âme, mes tantes Souad et Rachida, mes oncles, mes cousins et cousines je vous adore tous.

A mes chères amis(es) en particulier : Hanane, Zahra, Lahna, Saliha, Bilal, Yanis et Hamid. Pour leur présence et le soutien de tous les instants qu'ils m'ont apportés; avec toute mon affection et ma reconnaissance.

A tous ceux qui me sont chers.

Hocini Rahma

Sommaire

Sommaire

Liste des abréviations	i
Liste des figures	ii
Liste des tableaux	iii
Introduction générale	1
Chapitra I : Synthèse bibliographique	3
Partie I : Le poly (acide lactique), Synthèse, propriétés et applications	3
I.1. Introduction	3
I.2. Définitions	3
I.2.2. La biodégradation	3
I.2.1. Bioplastique	3
I.3. Le poly (acide lactique)	4
I.3.1. Le monomère (acide lactique)	5
I.3.2. Synthèse du PLA	6
a. Polymérisation par la polycondensation	6
b. Polymérisation par l'ouverture du cycle	6
I.3.3. Propriétés du PLA	7
c. Stéréochimie et cristallinité du poly (acide lactique)	7
d. Propriétés thermiques	7
e. Propriétés mécaniques	7
I.3.4. Les applications du PLA	8
a. En médecine et pharmacie	8
b. En emballage	9
Partie II. Les Algues	9
II.1. Définition des algues	9
II.2. Classification des algues	10
II.2.1. Les microalgues ou phytoplancton	10
a. Les Cyanobactéries	10
II.2.2. Les macro algues	11
a. Algues vertes (Chlorophycées)	12
b. Les algues brunes (Phéophycées)	12

c. Les Algues rouges (Rhodophycées)	13
II.3. Facteurs de répartition des algues	13
II.3.1. La lumière	13
II.3.2. La température	13
II.3.3. La salinité	14
II.3.4. La nature du substrat	14
a. L'industrie alimentaire.	14
b. L'industrie des phycocolloïdes	14
c. La recherche et le développement	15
d. L'agriculture et l'élevage	15
e. La cosmétologie	15
II.4.2. La production des algues	16
I.5. Compositions Chimiques des algues	17
II.6.1. Définition	18
II.6.2. Origines des alginates	18
II.6.3. Composition chimique des alginates	18
II.6.4. Grandeurs caractéristiques de l'alginate	20
II.6.4.1. Masses moléculaires moyennes	20
a. Masse moléculaire moyenne en nombre	20
b. Masse moléculaire moyenne en poids	20
c. Indice de polydispersité (Ip)	20
II.6.4.2. Rapport M/G	21
II.6.4.3. Solubilité	21
II.6.4.4. Caractérisation rhéologique	21
II.7. Microorganismes et activité antimicrobienne	21
II.7.1. Qu'est ce qu'une bactérie ?	22
II.7.2. Classification des bactéries	22
II.7.3. La structure de la bactérie	23
II.7.4. Les microorganismes alimentaires	23
II.7.5. Méthode d'étude	24
II.7.6. Test antibactérien	24
Partie III : Les emballages alimentaires	25
III.1. Historique	25

III.2. Définition	25
III.3. Type d'emballage alimentaire	25
III.4. Les interactions entre l'emballage et l'aliment	26
a. Phénomène de migration	26
b. Phénomène de perméation	27
c. Phénomène de sorption	27
III.5. Règlementation sur les emballages alimentaires	27
a. La limite de migration globale (LMG)	28
b. La limite de migration spécifique (LMS)	28
c. La concentration par unité de surface (QMA)	28
Chapitre II : Matériaux et techniques expérimentaux	30
II. 1. Matériaux	30
II.1.1. Poly (acide lactique)	30
II.1.2. Les algues	30
II.1.3. Réactifs	31
II.1.4. Souches bactériennes	32
II.2. Protocoles expérimentaux	33
II.2.1. Extraction de l'alginate de sodium	33
a. Formolisation	33
b. Acidification ou lixiviation	33
c. Carbonatation	33
d. Filtration et précipitation	33
e. Séchage et broyage	34
II.2.2. Formulations	34
II.2.3 Préparation des films	35
II.3. Techniques de caractérisation	36
II.3.1. Caractérisation de l'alginate de sodium	36
a. Détermination de taux d'extraction (Rendement)	36
b. Viscosimètre capillaire détermination de la masse moléculaire	36
II.3.2. Caractérisation des films	38
a. Spectroscopie infrarouge à transformé de Fourier (IRTF)	38
b. Diffraction des rayons X (DRX)	39
c. Analyse thermogravimétrique	40

d. Taux d'humidité	40
e. Analyse microbiologique	40
Chapitre III : Résultats et discussion	43
III.1. Caractérisation de l'alginat de sodium	43
III.1.1. Détermination du taux d'extraction (Rendement)	43
III.1.2. Détermination de la masse molaire par viscosimétrie	44
III.1.3. La diffraction des rayons X (DRX)	45
III.1.4. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)	46
III.2. Caractérisation des films.	47
III.2.1. Caractérisation par la diffraction des rayons X (DRX)	47
III.2.2. Analyse thermogravimétrique (ATG).	49
III.2.3. Détermination le taux d'humidité	52
III.2.4. Activité antibactérienne	52
III.2.5. Activité antifongique	56
Conclusion générale	58
Références bibliographiques	59

Liste des abréviations

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique	Mn : Masse moléculaire moyenne en nombre
ATCC : American type culture collection	PHA : Polyhydroxyalcanoates
ATR : Attenuated total reflectance	PLA : Poly acide lactique
ATG : Analyse thermogravimétrique	PCL : Polycaprolactone
ATD : Analyse thermique différentielle	PLLA : Poly acide (L)- lactique
CMC : Carboxy methyl cellulose	PDLA : Poly acide (D)- lactique
DJA : Dose journalière admissible	PDLLA : Méso poly acide lactique
DRX : Diffraction des rayons X	PH : Potentiel hydrogène
DTG : Dérivé de la perte de masse	QM : Concentration maximale
FAO : Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture	QMA : Concentration par unité de surface
IRTF : Infrarouge à transformé de Fourier	RMN : Résonance magnétique nucléaire.
IP : Indice de polydispersité	SEC : Chromatographie d'exclusion stérique
LMG : Limite de migration globale	TSB : Bouillon Tryptone Soja
LMS : Limite de migration spécifique	TSA : Tryptone soya agar
MH : Mueller Hinton	UPAC : Union internationale de chimie pure et appliquée.
Mw : Masse moléculaire moyenne en poids	UV : Rayonnement Ultraviolet

Liste des Figures

Liste des figures

Figure I.1: Classification des polymères biodégradables..... 4

Figure I.2: Structure chimique du poly (acide lactique)..... 5

Figure I.3: Obtention de l'acide lactique par fermentation de l'amidon... .. 5

Figure I. 4: Les deux énantiomères de l'acide lactique... .. 6

Figure I.5: Synthèse de l'acide lactique .1): polycondensation directe, 2): polymérisation par ouverture du cycle... .. 7

Figure I.6: Différentes applications du PLA dans le secteur médical..... 8

Figure I.7: Différentes applications du PLA dans le secteur de l'emballage alimentaire..... 9

Figure I.8: Les micro-algues... .. 10

Figure I.9: Représentation des cyanobactéries (ou algues bleues)..... 11

Figure I.10: Les macro-algues... .. 11

Figure I.11: Les algues vertes (chlorophycées)... .. 12

Figure I.12: Les algues brunes (phéophycées)... .. 12

Figure I.13: Les algues rouges (rhodophycées)... .. 13

Figure I.14: Place des phycocolloïdes par rapport aux autres sources de colloïdes en terme de quantité produites (CMC: carboxy methyl cellulose) 15

Figure I.15: Production mondiale en milliers de tonnes d'algues par capture et aquaculture de 1950 à 2011 (FAO 2013) 16

Figure I.16: Production mondiale des trois types d'algues (rouges, brunes et vertes) de 1950 à 2010 (FAO 2013) 17

Figure I.17: Structure chimique du mannose et les deux monomères de l'alginate 19

Figure I.18: Conformation des monomères... .. 20

Figure I.19: Structure de la cellule bactérienne 23

Figure I.20: Types d'interactions entre l'emballage plastique et l'aliment... .. 26

Figure II.1: L'espèce *Dictyoptie polypodioides*... .. 31

Figure II.2: Etapes de conditionnement des algues après prélèvement... .. 31

Figure II.3: Les étapes d'extraction de l'alginate de sodium et de l'acide alginique... .. 34

Figure II.4: Les différents films préparés... .. 36

Figure II.5: Viscosimètre capillaire de type Ubblohe..... 37

Figure II.6: Photo du spectrophotomètre infrarouge 38

Figure II.7: L'appareil de mesure de la DRX..... 39

Figure III.1 : Evolution de la viscosité réduite en fonction de la concentration de la solution d'alginate de sodium...	44
Figure III.2 : Le spectre DRX de l'alginate de sodium...	45
Figure III.3 : Spectre IRTF de l'alginate de sodium	46
Figure III.4: Diffractogrammes des rayons X des films PLA/ Alginate	47
Figure III.5 : Thermogrammes TG des Films PLA/Alginate	49
Figure III.6: Thermogrammes DTG des Films PLA/Alginate	50
Figure III.7 : Principe de la méthode de diffusion sur disque « Control positif »	53
Figure III.8 : Effet des Films sur la bactérie <i>Pseudomonas</i> . a) Films PLA Alginate, b) Films PLA /Poudre d'algue.....	54
Figure III.9 : Effet des Films PLA/ Alginate sur la bactérie <i>Staphylococcus aureus</i>	54
Figure III.10: Effet des Films PLA/ Poudre d'algue sur la bactérie <i>Staphylococcus aureus</i> .55	
Figure III.11 : Effet des Films PLA/ Alginate sur le champignon <i>Botrytis</i>	56
Figure III.12 : Effet des Films PLA/ Alginate sur le champignon <i>Penicillium</i>	56

Liste des Tableaux

Liste des tableaux

Tableau II.1: Principales caractéristiques physico-chimiques du PLA... ..	30
Tableau II.2: Caractéristiques des différents réactifs utilisés dans l'extraction... ..	32
Tableau II.3: Caractéristiques des différents réactifs utilisés dans la préparation des films.	32
Tableau II.4 : Références des souches bactériennes testées... ..	32
Tableau II.5: Compositions des différentes formulations	35
Tableau III.1 : Comparaison de la teneur en alginate de l'espèce étudiée par rapport aux autres alginophyte	43
Tableau III.2: Viscosité intrinsèque de l'alginate de sodium... ..	45
Tableau III.3 : Valeurs du taux de cristallinité des films du PLA /Alginate	48
Tableau III.4 : Comparaison des principaux paramètres thermiques des différents échantillons... ..	51
Tableau III.5: Taux d'humidité des films PLA/ Alginate	52
Tableau III.6 : Effet des films PLA/Alginate et PLA /poudre d'algue sur les champignons <i>Penicillium</i> et <i>Botrytis</i>	57

Introduction générale

Introduction générale

L'emballage alimentaire est le premier secteur demandeur en matière plastique. Notamment grâce à une demande accrue pour des produits alimentaires pratiques à emporter et préparer. Mais au delà de leurs nombreux atouts, Les polymères synthétiques, présentent plusieurs inconvénients tels que: génération des volumes importants de déchets. Diminution des réserves de ressources pétrolières et gazières. Les préoccupations environnementales relativement à leur dégradation. Risques de toxicité pour les consommateurs relativement à la migration de monomères, d'oligomères ou d'additifs vers les substances comestibles [1]. De nombreuses initiatives fleurissent dans le monde pour réduire l'impact écologique et développer des substances d'intérêts biotechnologiques à partir de ressources naturelles et renouvelables.

Les Océans et mers représentent près des trois-quarts (soit 71%) de la surface du globe. L'environnement marin est un écosystème rendu unique en raison de la diversité des organismes qu'il abrite. Parmi ses organismes, les algues font preuve d'une incroyable richesse. De nouvelles espèces sont identifiées perpétuellement. Ces dernières ont été moins étudiées que leurs analogues terrestres à cause du manque de connaissance du milieu marin.

Les algues sont des organismes vivants chlorophylliens photosynthétiques que l'on trouve dans les milieux aquatiques [2]. On distingue deux grandes catégories d'algues: les micro-algues (unicellulaires) et les macro-algues (multicellulaires). L'aquaculture des algues s'est massivement développée pour faire face à une demande de plus en plus importante, à laquelle la cueillette ne pouvait plus répondre. Ils constituent aujourd'hui un enjeu majeur de développement économique. Les 15 milliards de tonnes de produits fabriqués dans le monde, représentent un marché total annuel de 6 milliards de dollars. Les principales substances extraites sont les polysaccharides, désignés sous le nom de phycocolloïdes comme les agars, les carraghénanes et les alginates. Ce travail est centré sur les alginates [3].

Les alginates sont naturellement présents sous forme de sels dans les parois cellulaires des algues brunes. Ce sont des polysaccharides complexes composés de deux unités dérivées du mannose, l'acide mannuronique et l'acide guluronique. La proportion de l'un par rapport à l'autre détermine les caractéristiques plus ou moins gélifiantes du produit. Chacun de nous les consomme ou les utilise régulièrement sans même le savoir. Cette lacune vient notamment du fait de l'incompréhension des ingrédients contenus dans les produits commercialisés. En effet, comment peut-on deviner à quoi correspond l'ingrédient E400 sur une étiquette ? Ils

permettent de donner à la plupart des solutions aqueuses que nous utilisons couramment, la texture souhaitée, sans en modifier la saveur, la couleur ou la forme. Ses applications sont nombreuses et diverses : agroalimentaire, textile, pharmacie, peintures, papeterie et cosmétique [4].

Ainsi, l'exploitation du milieu marin Algérien dans ce sens pourrait être d'un grand intérêt, car l'Algérie est un pays avec une face maritime s'étalant sur 1200 Km. L'étude de la flore algale d'Algérie a fait l'objet d'un certain nombre de travaux [5]. Cependant, ces travaux algologiques sont essentiellement de type inventaire, des contributions d'ordre chimique qui ont porté sur l'extraction et la purification des alginates (El Hattab- Bouzidi, 2003) sont très rares.

C'est dans ce contexte que s'inscrit ce travail, à double objectifs. Le premier consiste à la valorisation de la biomasse marine par l'extraction de l'alginate de sodium à partir des algues brune de types *Dictyopteris polypodioides* et le deuxième est la conception d'un nouveau matériau à base d'extrait d'algue (alginate) et d'un polymère biodégradable qui le PLA pour des applications en emballage alimentaire.

Ce travail a été organisé en trois chapitres. Le premier chapitre est une synthèse bibliographique divisé en trois parties, la première sur le poly (acide lactique), Synthèse, propriétés et applications, la deuxième sur les algues, en particulier les algues brunes, et la troisième sur les interactions entre l'emballage et l'aliment. Dans le deuxième chapitre, sont donnés les matériaux et les méthodes utilisées pour atteindre nos objectifs. Les résultats et la discussion sont présentés dans le troisième chapitre.

Chapitre I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Synthèse bibliographique

Partie I : Le poly (acide lactique), Synthèse, propriétés et applications

I.1. Introduction

Les plastiques traditionnels d'origine fossile sont souvent critiqués, surtout pour des applications à courte durée de vie comme les emballages alimentaires. La quantité de matières résiduelles qu'ils génèrent, leur caractère non biodégradable et leur matière première d'origine fossile sont parmi les critiques formulées à leur égard. Les bioplastiques sont présentés comme des solutions de rechange plus respectueuses de l'environnement. Ils sont souvent biodégradables et issus de ressources renouvelables, deux caractéristiques utilisées comme arguments promotionnels [6].

I.2. Définitions

I.2.2. La biodégradation

La biodégradation se traduit par une dégradation biotique ou abiotique qui met en jeu l'action des micro-organismes comme les bactéries, les champignons et les algues, par voie enzymatique conduisant à une décomposition au niveau moléculaire et chimique. Il en résulte alors la formation de CO₂, H₂O et/ou (CH₄) et une nouvelle biomasse non toxique [7].

I.2.1. Bioplastique

Plusieurs définitions existent et varient selon les auteurs, la définition proposée et retenue pour ce travail est plus large. Le terme bioplastique est utilisé pour désigner deux réalités distinctes : l'origine de la ressource (bio) et la gestion de la fin de vie (biodégradable et compostable) [6]. Il englobe donc les plastiques des quatre catégories suivantes qui sont représentées à la figure I.1.

- ✓ Les bioplastiques naturels issus d'agro-ressources extraites directement de la biomasse, exp : polysaccharides, protéines et lipides.
- ✓ Les bioplastiques issus des microorganismes par fermentation microbienne, exp : les polyhydroxyalcanoates (PHA).
- ✓ Les bioplastiques obtenus par synthèse à partir de monomères renouvelables, exp : le poly (acide lactique) (PLA).
- ✓ Les bioplastiques pétrochimiques biodégradables, exp: comme l'acide polyglycolique, le polybutylène succinate et le polycaprolactone (PCL).

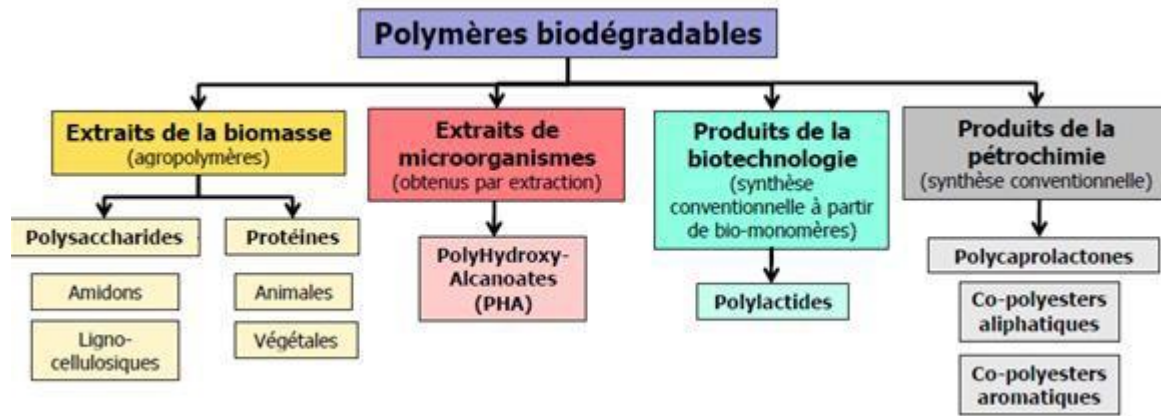


Figure I.1: Classification des polymères biodégradables

Dans notre étude, on s'intéresse à la troisième catégorie, et en particulier au poly (acide lactique), issu de ressources renouvelables. D'un point de vue environnemental, sa fabrication génère moins d'émissions de gaz à effet de serre et son caractère biodégradable est mis en évidence afin de promouvoir son usage dans le secteur de l'emballage, premier secteur demandeur en plastique. Cependant, malgré l'enthousiasme que suscitent ces matériaux, ces derniers ne constituent pas encore une alternative aux plastiques conventionnels du fait de propriétés physiques jugées insuffisantes pour de nombreuses applications industrielles. Le challenge est donc d'améliorer les propriétés, mécanique, thermique et barrières de ces matériaux biodégradables et biosourcés, afin d'obtenir des produits avec des caractéristiques similaires à leurs concurrents synthétiques.

I.3. Le poly (acide lactique)

Le poly (acide lactique) ou acide polylactique noté PLA est un polyester aliphatique biodégradable qui appartient à la famille des thermoplastiques et qui a reçu un intérêt considérable comme alternative aux polymères non -biodégradables. L'intérêt principal de ce polymère réside dans la disponibilité et la faible coût de son monomère, l'acide lactique [8]. La structure moléculaire du PLA est présentée sur la **figure I.2**.

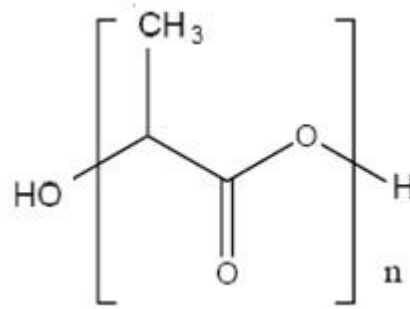


Figure I.2: Structure chimique du poly (acide lactique)

I.3.1. Le monomère (acide lactique)

C'est un acide carboxylique hydroxylé de formule $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$, sa nomenclature selon l'UPAC est L'acide 2-hydroxypropanoïque, issu de la fermentation de saccharide (amidon).

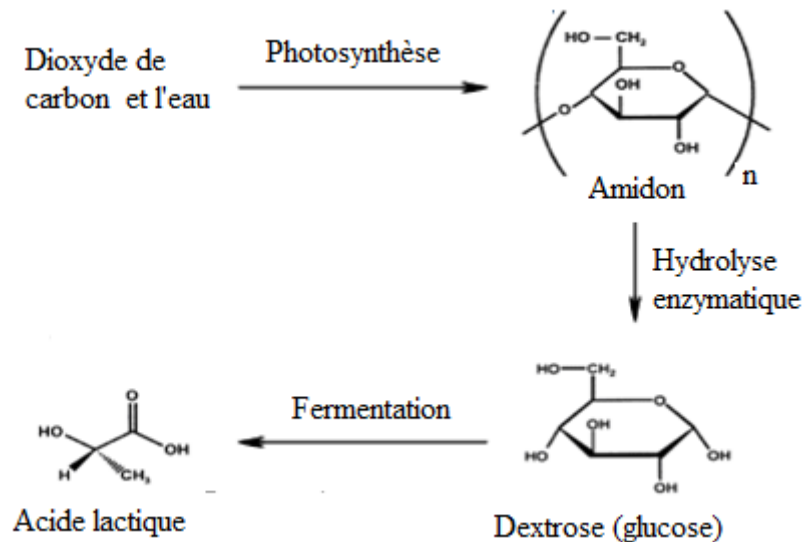


Figure I.3: Obtention de l'acide lactique par fermentation de l'amidon

L'existence d'un carbone asymétrique dans sa structure rend la molécule d'acide lactique chirale. Il se présente donc sous forme de deux énantiomères [9]. (Voir **figure I.4.**)

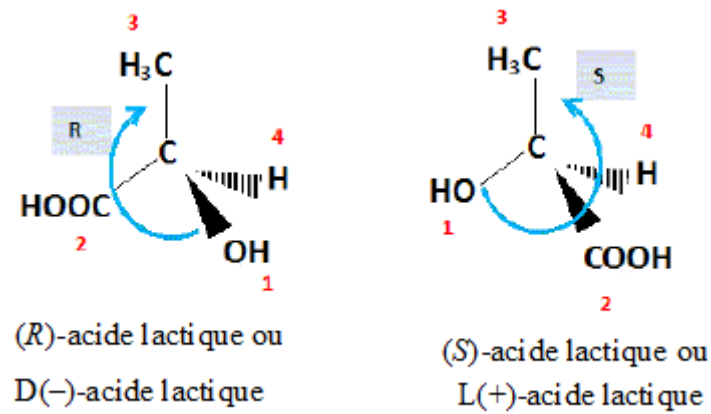


Figure I. 4: Les deux énantiomères de l'acide lactique

I.3.2. Synthèse du PLA

Deux voies d'obtention du polylactide peuvent être répertoriées: la polycondensation de l'acide lactique ou la polymérisation d'ouverture de cycle du lactide. La synthèse du polyacide lactide est donnée par l'ensemble des réactions illustrées sur la figure

a. Polymérisation par la polycondensation

La polycondensation nécessite un solvant, et un système sous haute pression et des monomères d'une très grande pureté, afin d'éviter la formation d'eau durant cette polymérisation qu'il faut éliminer après [10].

b. Polymérisation par l'ouverture du cycle

Elle se fait en deux étapes, premièrement l'acide lactique se polymérise sous forme d'oligomères de faible masse molaire, qui va jouer ensuite le rôle d'intermédiaire, puisqu'il est dépolymérisé en lactide selon un protocole contrôlé (température supérieure à 200°C) et faible pression inférieure à 1 mbar). Deuxièmement le lactide se polymérise par ouverture du cycle pour donner un PLA à haut poids moléculaire. Le procédé de polymérisation est décrit sur la figure I.5.

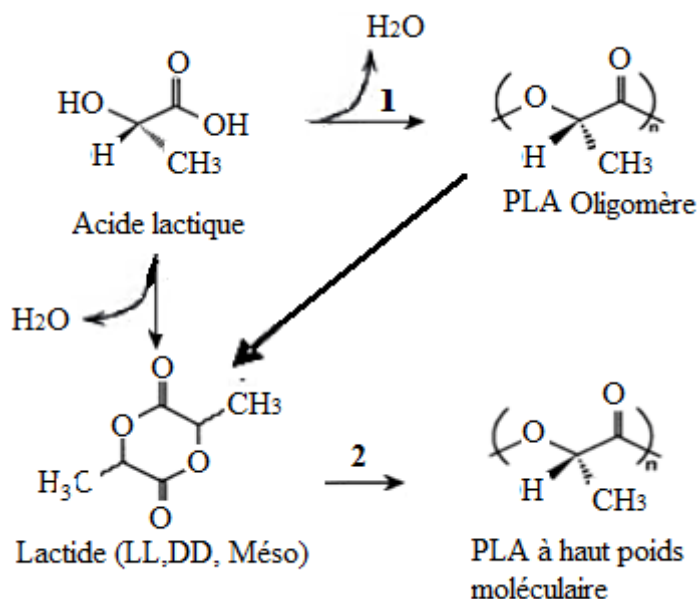


Figure I.5: Synthèse de l'acide lactique .1): polycondensation directe, 2): polymérisation par ouverture du cycle

I.3.3. Propriétés du PLA

Toutes les propriétés du PLA (physiques, thermiques, mécaniques, etc.), ainsi que sa biodégradabilité dépendent fortement de la stéréochimie des unités répétitives (L, D ou DL) et de leur distribution le long de la chaîne, de la cristallinité de la tacticité et de la masse moléculaire [11].

c. Stéréochimie et cristallinité du poly (acide lactique)

En raison de la chiralité de la molécule de l'acide lactique trois formes de PLA existent. Le poly (L-acide lactique) (PLLA), le poly (D-acide lactique) (PDLA), et le méso-poly (acide lactique) (PDLLA) Le PLLA et le PDLA peuvent avoir des structures fortement ordonnées, alors que le méso lactide peut être formé par copolymérisation du L et du D-lactide

d. Propriétés thermiques

Comme tout polymère thermoplastique, le poly (acide lactique) possède une température de transition vitreuse qui se situe entre 55°C et 59°C et à point de fusion qui varie entre 159 °C à 182 °C. Ces paramètres dépendent de la masse molaire, de la pureté optique

e. Propriétés mécaniques

Les propriétés mécaniques de base du PLA sont similaires à celles du polystyrène et du PET. C'est un matériau rigide et cassant, qui pour une large utilisation nécessite d'être renforcé. Sa grande fragilité a incité plusieurs chercheurs à entreprendre des études afin

d'améliorer sa résistance mécanique et sa flexibilité [12], par l'ajout de plusieurs polymères biodégradables ou non et des plastifiants d'origine renouvelable.

En plus de toutes ces propriétés le PLA présente d'autres propriétés applicatives dans le domaine emballage :

- ✓ De très bonnes propriétés optiques en termes de transparence et de brillance.
- ✓ De bonnes propriétés barrière aux graisses, aux huiles et aux arômes.
- ✓ Un niveau de perméabilité à la vapeur d'eau intermédiaire qui peut être utilisé dans l'emballage des fruits et légumes.
- ✓ des propriétés de barrière aux gaz (O_2 , CO_2)
- ✓ Une bonne rétention au pli, propriété utilisée pour l'emballage de friandises.
- ✓ Le fait d'être fabriqués à partir de métabolites, le PLA est un matériau biodégradable, biocompatible et biorésorbable.

I.3.4. Les applications du PLA

Trois grands créneaux d'applications sont identifiés par rapport aux propriétés des bios polymères : médicales et pharmaceutiques et les emballages, l'agriculture

a. En médecine et pharmacie

Les premières applications du PLA étaient limitées au domaine biomédical, vu sa biocompatibilité vis-à-vis des tissus humains et d'autant plus que leurs cout élevés de départ se justifient dans ces applications à haute valeur ajoutée. Il est surtout utilisé dans des applications médicales et pharmaceutiques (libération contrôlée du principe actif dans des médicaments), en orthopédies (prothèses ou orthèses), dispositifs médicaux à usage unique (des seringues, des gants, sondes urinaires, matérielles de transfusion, poches à sang, les pansements) [13].



Figure I.6: Différentes applications du PLA dans le secteur médical

b. En emballage

Le PLA est vite apparu sur le marché des emballages dits bio, d'une part pour sa biodégradabilité, pour son caractère non toxique vis à-vis des aliments mais aussi pour sa perméabilité à la vapeur d'eau intéressante qui lui permet d'emballer des produits frais comme les fruits et les légumes. Il est utilisé aussi comme barquettes, bouteilles, étiquettes, sacherie, et dans des domaines très variés : le cosmétique, le textile, le domaine des emballages de matériel électronique, comme les coques de téléphone, boîtier de PC portable et autres gadgets [14].



Figure I.7: Différentes applications du PLA dans le secteur de l'emballage alimentaire

Partie II. Les Algues

II.1. Définition des algues

Les algues sont des organismes vivants chlorophylliens photosynthétiques à mode de vie autotrophes, que l'on trouve dans les milieux aquatiques d'eau douce ou marine, sur des rochers humides, ou sur un sol mouillé mais aussi dans de nombreux milieux terrestres [15]. L'appareil végétatif des algues est appelé « Thalle », elles ont des formes, textures et des dimensions très variables [16], comme elles peuvent être uni- ou pluricellulaire. Elles comprennent 20 000 à 30 000 espèces dans le monde, soit 18% du règne végétal. L'étude des algues s'appelle la phycologie.

II.2. Classification des algues

On distingue deux grandes catégories d'algues: les micro-algues, organismes unicellulaires et les macro-algues multicellulaires. Les différences entre algues et micro-algues portent essentiellement sur leur taille et leur structure moléculaire. Ce sont les macro-algues qui, au niveau industriel, sont utilisées pour extraire les phycocolloïdes faisant l'objet de ce document: les alginates

II.2.1. Les microalgues ou phytoplancton

Sont des algues monocellulaires, procaryotes (qui n'ont pas de noyau), espèces non fixées, qui flottent ou nagent en pleine eau. Les plus fréquentes sont :

- Les Diatomées : 90 % du plancton marin, leur élément commun est la silice
- Les Chlorophycées
- Les Cyanophycées : *Spiruline*, la Chlorelle ou l'algue bleu vert, le groupe le plus ancien sur Terre)

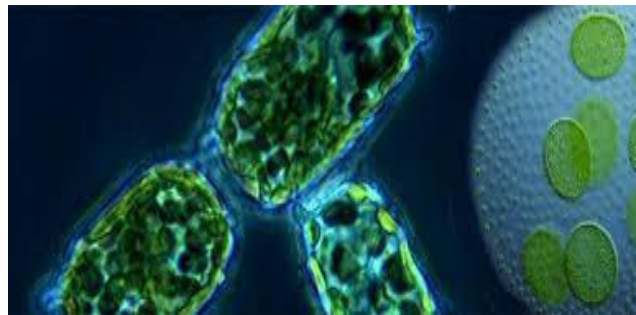


Figure I.8: Les micro-algues

a. Les Cyanobactéries

Les cyanobactéries ou les algues bleues sont constituées des colonies de taille, de forme et de couleur très variables. Comme les algues rouges, elles possèdent des pigments surnuméraires. En dépit de leur nom ancien d'algues bleues, elles sont rarement bleues mais plus souvent rouges, vertes avec des reflets bleutés, violets, bruns, jaunes ou orangés. La plupart d'entre elles ont une consistance gélatineuse voire gluante en raison des mucilages qu'elles sécrètent [17].



Figure I.9: Représentation des cyanobactéries (ou algues bleues)

II.2.2. Les macro algues

Sont des algues multicellulaires, essentiellement eucaryotes (elles contiennent un noyau avec de l'ADN), espèces fixées au fond de l'eau grâce à leurs racines. Elles contiennent de précieux éléments nutritifs, en particulier un grand nombre d'Oligo éléments, y compris l'iode qui est très important pour l'homme. Un autre composant très important de la plante est l'alginate, qui est utilisé aujourd'hui dans beaucoup de domaines, entre autres dans la fabrication d'aliments. Une première classification pourra être faite selon la couleur de l'algue. Les macro-algues sont réparties en trois groupes. Chaque groupe contient des classes, et chaque classe contient des centaines d'espèces [17].

- Les algues vertes ou Chlorophytes,
- Les algues brunes ou Chromophytes,
- Les algues rouges ou Rhodophytes.



Figure I.10: Les macro-algues.

a. Algues vertes (*Chlorophycées*)

Elles sont de formes très variées, uni- ou pluricellulaires. Leurs plastes sont colorés en vert par les chlorophylles a et b, auxquelles sont associés des carotènes et des xanthophylles. La plupart des algues vertes vivent en eau douce ou en milieux marins, mais certaines espèces peuvent également se développer sur terre. Elles jouent un rôle important dans l'oxygénation des eaux, favorisent ainsi la vie animale [17].



Figure I.11: Les algues vertes (chlorophycées)

b. Les algues brunes (*Phéophycées*)

La couleur brune de ces algues brunes résulte de la dominance du pigment xanthophylle, la fucoxanthine, qui masque les autres pigments (chlorophylle a et c, ainsi que la bêta-carotène). Toutes possèdent une structure pluricellulaire, mais leurs dimensions varient depuis les éléments microscopiques jusqu'aux très grands spécimens. La grande majorité des algues brunes sont marines [17].

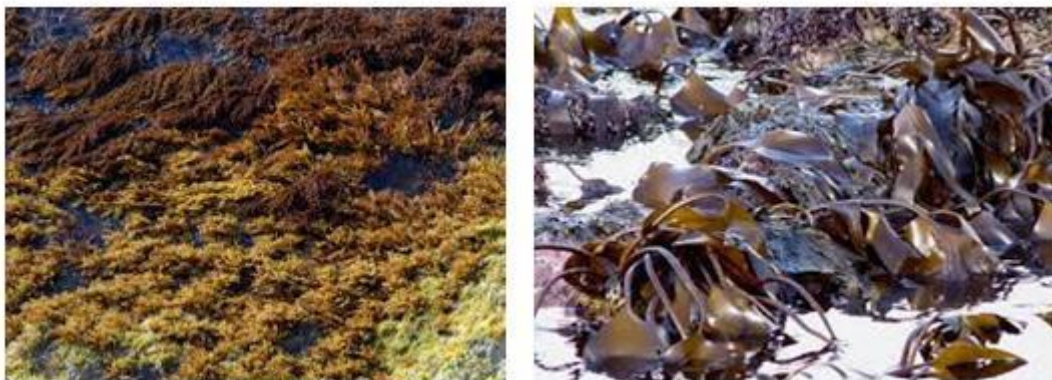


Figure I.12: Les algues brunes (phéophycées)

c. Les Algues rouges (*Rhodophycées*)

Les algues rouges forment un groupe très diversifié. Ces algues doivent leur couleur à la présence de plastes roses dans lesquels un pigment rouge, la phycoérythrine, est associé à plusieurs autres pigments dont les chlorophylles. La plupart de ces algues rouges sont pluricellulaires et marines, mais il existe quelques formes unicellulaires et quelques une vivent également en eau douce [17].



Figure I.13: Les algues rouges (rhodophycées)

II.3. Facteurs de répartition des algues

Les algues peuvent s'installer dans tous les types d'habitat suffisamment humides et éclairés. On peut les retrouver en eau douce, en mer, sur sol humide et même sur la neige. La présence de la lumière, la température, la salinité, le pH, la nature du substrat, les prédateurs, etc. sont des paramètres aboutissants à une variété d'habitats qui vont avoir alors un impact sur la répartition spatiale des espèces [18].

II.3.1. La lumière

Comme dit précédemment, les algues sont des organismes photosynthétiques, par conséquent la lumière est un paramètre indispensable à leur développement. Ce facteur intervient sur deux plans : sa quantité (intensité lumineuse), sa qualité (nature des radiations).

II.3.2. La température

La température des océans varie de $-1,9^{\circ}\text{C}$ à 30°C . Il existe des variations verticales dues à la profondeur (pression, densité), qui sont nettement plus importantes que les variations horizontales qui sont fonction de la latitude. La température est un facteur qui va induire des modifications au niveau de la teneur en pigment [19].

II.3.3. La salinité

Le chlorure de sodium n'est qu'un des très nombreux sels composant l'eau de mer. D'autres éléments (sulfate, bicarbonate, sodium, magnésium, calcium, potassium, brome, fluor, etc.) entrent dans sa composition et vont entraîner des variations de nombreuses propriétés (densité, conductivité, pression osmotique, etc.). Certaines algues sont capables de supporter de grandes variations de salinité, d'autres sont incapables. La salinité présente un effet sur la composition biochimique. Lorsqu'elles sont cultivées à faible salinité, elles présentent une teneur en protéines plus élevée que lorsqu'elles sont cultivées en conditions normales. De même, à faible salinité, une augmentation du contenu en sucres solubles est constatée.

II.3.4. La nature du substrat

La nature chimique du substrat est a priori sans influence sur le développement de l'algue. Cependant, il joue un rôle fondamental par sa texture et son degré de cohésion, qui sont deux paramètres pouvant limiter la solidité de la fixation de l'algue [19].

II.4. L'industrie des algues et le marché des phycocolloïdes

II.4.1. Secteurs d'activités

Les cinq grands secteurs d'activités industrielles concernés par les algues marines [20] sont :

a. L'industrie alimentaire.

L'alimentation humaine est la principale utilisation des algues (50%). Leur consommation est localisée dans les pays du sud-est asiatique, principalement en Chine, en Corée et en Japon. Elles sont soit directement consommées fraîches ou bien transformées par le biais de l'industrie agro-alimentaire pour obtenir des produits séchés, congelés, incorporées dans des aliments (tartares, terrines, pâtes, sushis,...) ou en tant que légumes

b. L'industrie des phycocolloïdes

Le deuxième grand secteur d'exploitation des algues est L'industrie des phycocolloïdes (40%, soit un marché de près de 585 millions de dollars). On distingue trois familles de phycocolloïdes : les alginates, les agars et les carraghénanes, extraits d'algues rouges et brunes. Ils sont utilisés dans l'industrie agroalimentaire pour leurs propriétés rhéologiques (agents gélifiants-texturants, épaississants, émulsifiants ou stabilisants) (**figure I.14**)

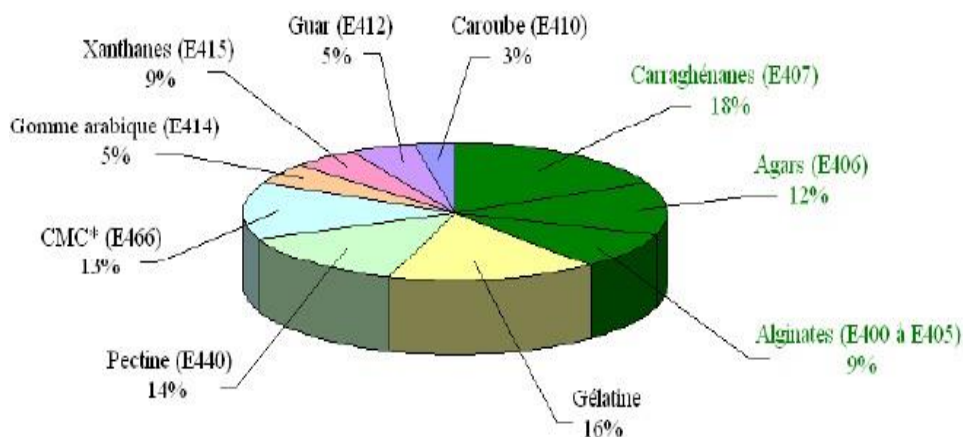


Figure I.14: Place des phycocolloïdes par rapport aux autres sources de colloïdes en terme de quantité produites (CMC: carboxy methyl cellulose)

En dehors de l'alimentation humaine et de la production de phycocolloïdes, les algues sont également utilisées dans :

c. La recherche et le développement

Plusieurs composés chimiques isolés des macro-algues sont biologiquement actifs dont certains possèdent une activité pharmacologique efficace [21]. Aujourd'hui, environ 4000 nouveaux métabolites ont été isolés à partir de divers organismes marins, ce sont les algues qui ont le plus intéressé les chercheurs. Ils sont intégrés dans le domaine de la pharmacie, thalassothérapie, parapharmacie.

d. L'agriculture et l'élevage

Depuis longtemps les populations littorales fertilisaient leurs terres à l'aide des macro-algues. Ils sont utilisés pour la rétention d'eau et comme apport de minéraux et leurs propriétés physiques aident à améliorer la structure du sol.

e. La cosmétologie

Chaque famille ou type d'algue possède ses propres vertus. Elles permettent généralement de nourrir l'épiderme, de le protéger, de l'apaiser, et de ralentir son vieillissement. Ses principes actifs (acides aminés, sels minéraux, oligo-éléments, vitamines...) agissent en douceur, sans agresser la peau. Qu'elles soient utilisées en masque, gommage ou savon, crèmes antirides, elles revitalisent et tonifient votre corps, et protègent votre peau des agressions du quotidien [22].

II.4.2. La production des algues

Les algues sont toujours considérées comme une bio-ressource. D'après la FAO (Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture) chaque année, 15 milliards de tonnes de produits fabriqués à base d'algues soient élaborés dans le monde, qui représentent un marché total annuel de 6 milliards de dollars [23].

Dans les années 50, la production mondiale était due uniquement à la cueillette (93,7%) puis l'aquaculture s'est massivement développée pour faire face à une demande de plus en plus importante, à laquelle la cueillette ne pouvait plus répondre. Depuis les années 1990, la production par aquaculture s'est intensifiée pour représenter 96% de la production mondiale (soit seulement 4% par cueillette) en 2011 (**Figure I.15**).

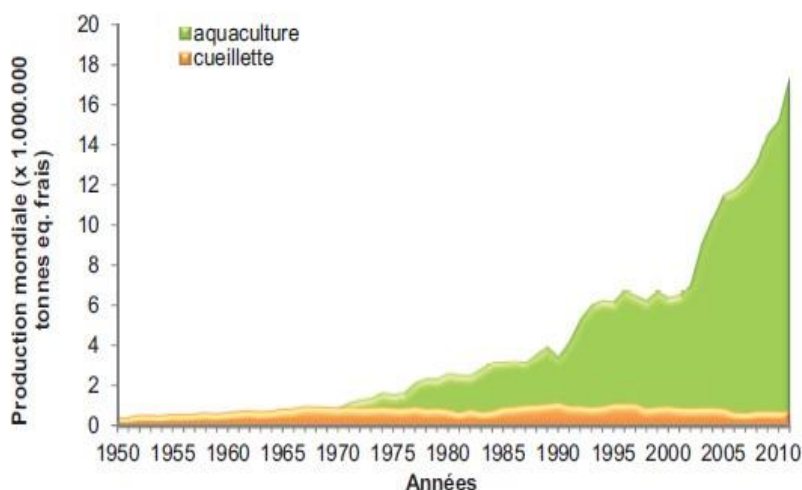


Figure I.15: Production mondiale en milliers de tonnes d'algues par capture et aquaculture de 1950 à 2011 (FAO 2013)

Les algues vertes sont très peu cultivées avec seulement 21.335 tonnes produites en 2011 (soit 0,12 %), tandis que 7,15 millions de tonnes d'algues brunes sont cultivées (soit 41,14 %) et les plus cultivées sont les algues rouges avec 10,2 millions de tonnes produites (soit 58,73 %) (**Figure I.16**).

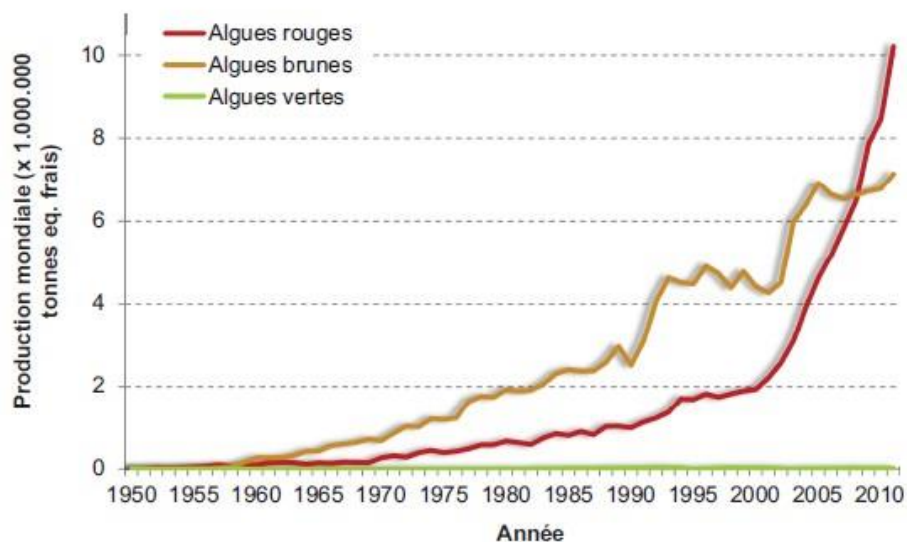


Figure I.16: Production mondiales des trois types d'algues (rouges, brunes et vertes) de 1950 à 2010 (FAO 2013).

I.5. Compositions Chimiques des algues

Les algues constituent des sources importantes de fibres (de 33 à 61 %) ayant des structures variées et originales, différentes des fibres des végétaux terrestres. Les algues, d'une manière générale, se composent de 80% d'eau. Séchées elles n'en contiennent plus que 10 à 20% et se composent de 80 à 90 % d'hydrate de carbone (carbohydrates), protéine, minéraux, vitamine et très peu de graisse, soit environ 1 à 2 % [24].

➤ **Les carbohydrates :** La plupart sont des sucres et des polysaccharides (40-60%) agars carraghénanes chez les algues rouges, alginates chez les algues brunes, et glucane et amidon chez les algues vertes), on trouve également le glucose qui est présent dans plusieurs espèces, la cellulose l'hémicellulose la pectine qui se trouvent principalement sur les membranes cellulaires des algues vertes.

➤ **Les protéines :** le contenant en protéines est variable (de 4 à 44%) selon les espèces, la saison et d'autres facteurs. On parle de variétés riches en protéines telles que certaines *Ulva* et *Spirulina*.

➤ **Les lipides :** la teneur en graisse des algues est très faible. Les acides gras insaturés sont les plus nombreux. Le principal acide gras est l'acide oléique.

➤ **Les glucides :** les principaux sucres dans les algues sont le mannitol dans les algues brunes et le sorbitol dans les algues rouge. Le sorbitol, sucre très doux, est utilisé dans les régimes et spécialement pour les diabétiques

- **Minéraux et Oligo-éléments** en abondance : L'iode, argon, aluminium, chlore, iode, phosphore, plomb,... etc.
- **Vitamines** : on trouve les vitamines : B1, B2, B3, B6, C, E, F, K, ainsi la vitamine B12 (dont les algues sont les seules végétaux à le contenir puisque c'est une vitamine d'origine animale).
- **Les pigments**: caroténoïdes, chlorophylles

II.6. Les alginates

II.6.1. Définition

L'alginate est un polysaccharide linéaire, anionique présent dans la paroi cellulaire des algues brunes sous forme de sels de magnésium, calcium et sodium. Il a été découvert en 1881 par le pharmacien et chimiste l'anglais Stanford, suite à une extraction alcaline sur l'algue *Laminaria digitata*, une substance gélatineuse alors appelée algine [25]. Ce produit ayant une tendance à libérer des ions H⁺ en solution aqueuse, on lui donna ensuite le nom d'acide alginique.

II.6.2. Origines des alginates

L'alginate naturel est produit presque uniquement par les algues brunes des espèces *Laminaria*, *Fucus*, *Halopteris*, *Cystoseira* et *Turbinaria*. Cependant, certaines bactéries telles que *Azotobacter vinelandii* et plusieurs espèces de *Pseudomonas* sont susceptibles de produire l'alginate par des processus de fermentation microbienne suivis d'une polymérisation [26]. Mais à l'heure actuelle, l'extraction d'alginate algal reste beaucoup plus rentable.

II.6.3. Composition chimique des alginates

Les alginates sont des copolymères binaires linéaires constitués des sels de deux acides uroniques dérivant du mannose, l'acide β -D-mannuronique (noté M) et l'acide α -L-guluronique (noté G), qui sont liés par des liaisons glycosidiques β -(1-4) et α -(1-4) respectivement (**figure I.17**).

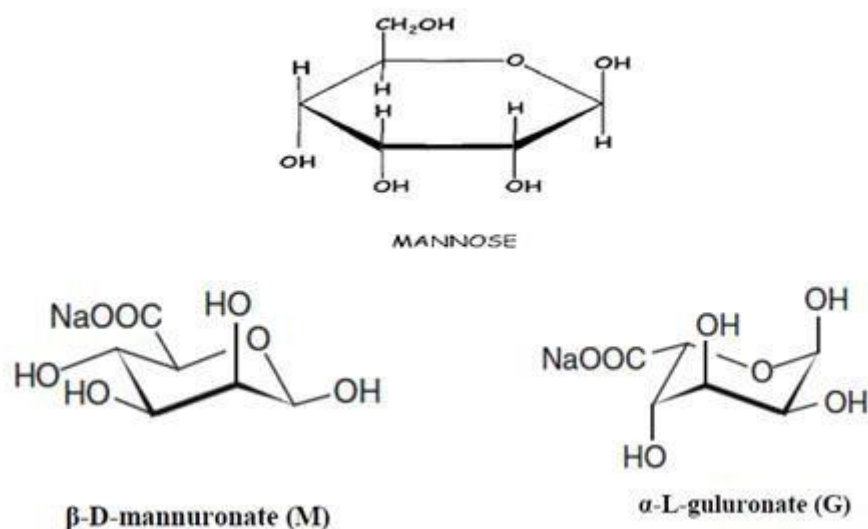


Figure I.17: Structure chimique du mannose et les deux monomères de l'alginate

La structure de la molécule est formée d'un enchaînement de fragments de 3 types:

- Deux d'entre elles contiennent quasi-exclusivement des ensembles homopolymères de motifs G et M respectivement (bloc M-M et bloc G-G), ces séquences forment également des blocs "durs" et difficiles à dépolymériser.
- Une troisième possède des fragments mixtes des 2 acides: M-G-M-G- ; avec des régions de structure alternée (blocs MG). Ce sont des zones fragiles au niveau desquelles se fait souvent la cassure.

Les alginates sont donc considérés comme de vrais copolymères à blocs composés de régions homopolymères de M (blocs MM) et de G (blocs GG) séparées par des zones aux structures alternées (blocs MG). Chacun de ces fragments a un degré de polymérisation d'environ 20. La plupart des alginates industriels ont un degré de polymérisation variant de 100 à 1000 soit un poids moléculaire compris entre 20 000 et 200 000 [27]. Les propriétés physiques des chaînes d'alginate proviennent principalement de la conformation adoptée par les deux types de monomères.

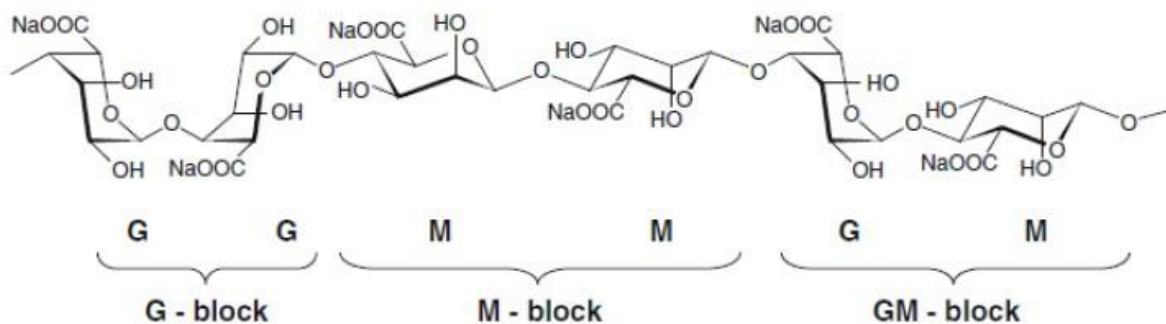


Figure I.18: Conformation des monomères

II.6.4. Grandeurs caractéristiques de l'alginate

L'alginate est caractérisé par différents paramètres tels que les masses moléculaires moyennes en poids (M_w) et en nombre (M_n), l'indice de polydispersité (I_p). D'autres facteurs sont très utiles pour l'appréciation de ses propriétés. Ce sont le rapport $\frac{M_w}{M_n}$, les fractions en monomères et en diamètre ou encore la longueur moyenne des chaînes d'alginate.

II.6.4.1. Masses moléculaires moyennes

a. Masse moléculaire moyenne en nombre

$$\bar{M}_n = \frac{\sum_i N_i \times M_i}{\sum_i N_i}$$

b. Masse moléculaire moyenne en poids

$$\bar{M}_w = \frac{\sum_i N_i \times M_i^2}{\sum_i N_i \times M_i}$$

c. Indice de polydispersité (I_p)

$$I_p = \frac{\bar{M}_w}{\bar{M}_n}$$

Avec : N_i est le nombre de chaînes de masse molaire M_i .

II.6.4.2. Rapport M/G

La structure, la qualité et les propriétés des alginates dépendent fortement du rapport M/G, c'est-à-dire le rapport du nombre de monomères mannuronate sur le nombre de monomères guluronate. Plus il est faible, plus l'aptitude à la gélification est forte. Celui-ci varie selon l'origine, les espèces d'algues, les traitements effectués sur celui-ci mais aussi selon la partie de l'algue considérée, mais se situe en majorité entre 0,25 et 2,25. Il peut être déterminé par RMN ou par chromatographie liquide échangeuse d'ions. [28].

II.6.4.3. Solubilité

L'acide alginique est insoluble dans l'eau mais certains de ses sels de sodium, calcium fer, lithium et d'ammonium sont solubles dans l'eau.

II.6.4.4. Caractérisation rhéologique

La méthode la plus classique pour caractériser le comportement rhéologique d'un alginate en solution aqueuse est l'utilisation d'un rhéomètre ou d'un viscosimètre capillaire. La connaissance de la masse moléculaire moyenne d'un alginate constitue également un critère d'appréciation de ses propriétés rhéologiques. Différentes méthodes peuvent être utilisées pour déterminer la distribution des masses moléculaires et la masse moléculaire moyenne. Une des plus courantes est la chromatographie d'exclusion stérique (SEC) mais elle peut également être déterminée via la viscosité intrinsèque. Ces deux grandeurs sont en effet reliées suivant la loi de Mark-Houwink [29].

$$[\eta] = K_v \cdot M_w^a$$

Avec : $[\eta]$: Viscosité intrinsèque ($L \cdot g^{-1}$)

K_v , a : Paramètres caractéristiques du système Polymère /Solvant à une température donnée

M_w : Masse moléculaire viscosimétrique ($g \cdot mol^{-1}$).

II.7. Microorganismes et activité antimicrobienne

La colonisation bactérienne chez l'homme débute dès sa naissance, l'interaction durable entre la flore microbienne formée et l'organisme de l'homme est responsable de maladies infectieuses. Pour faire face à ces infections bactériennes, l'homme a recours à des substances qui sont capables d'empêcher le développement et la progression de ces bactéries pathogènes sans toutefois présenter une toxicité pour son organisme.

II.7.1. Qu'est ce qu'une bactérie ?

Les bactéries sont des micro-organismes vivants, au même titre que les virus et les champignons. Elles ont été découvertes à la fin du 17^{ème} siècle par Anthoni Van Leeuwenhoek, naturaliste hollandais [30]. Elles sont unicellulaires et autonomes, procaryotes qui ne contiennent pas des noyaux et qui se trouvent en très grand nombre parce qu'ils peuvent se multiplier rapidement. Il y a beaucoup de types de bactéries qui sont toutes séparées dans différents groupes et chaque groupe ayant des propriétés uniques. Chaque cellule bactérienne est le siège d'un nombre considérable de réactions qui lui permettent de créer les molécules nécessaires à sa vie à partir des molécules de son environnement.

Leur pouvoir peut être soit commensal, soit pathogène. Les bactéries pathogènes provoquent chez l'homme des infections dont les symptômes sont caractérisés par des éruptions cutanées, toux, écoulement nasal, fatigue, nausée, fièvres, etc. Alors que les bactéries commensales participent aux maintiens de la santé en stimulant le système de la défense et en permettant de reconstruire l'immunité. Elles occupent des places au niveau de la muqueuse accessibles, nez bouche, intestin, etc.

Les bactéries représentent un groupe étonnant complexe et fascinant. Tandis que la plus part des bactéries doivent trouver des aliments (sucres, protéines et vitamines) pour vivre, certaines sont capables de faire leur propre alimentation avec des éléments trouvés dans l'environnement (lumière du soleil et CO₂) [31]. Couvrant ainsi leurs besoins énergétiques élémentaires et spécifiques. Sur le plan pratique, ces besoins sont satisfaits dans des milieux élaborés par l'homme en vue d'étudier les bactéries et sont appelés de ce fait, milieux de culture [53].

II.7.2. Classification des bactéries

Les bactéries peuvent se différencier, par leur forme, leur taille ou leur structure, par leurs activités chimiques, par les éléments nutritifs qui leur sont nécessaires, par la forme de l'énergie qu'elles utilisent, par des conditions physiques dans lesquelles elles peuvent croître et par leurs réactions à certains colorants. [32]. Les bactéries peuvent ainsi être classées et identifiées en fonction [33].

- De leur morphologie microscopique (bactérie de type coque, bacille, vibrion ; isolés, par deux, en chaînettes...)
- De leur morphologie macroscopique (taille, forme, couleur... des colonies sur milieux de culture gélosés)
- De leur mobilité (mobilité ou immobilité à une température donnée)

- Du résultat de la coloration de Gram (les bactéries colorées en bleu-violet seront dites à Gram positif et celles en rose à Gram négatif).
- De la température de croissance (4° C, 20° C, 30° C, 37° C...)
- Du type respiratoire (aérobie, anaérobie.)
- Des besoins nutritionnels (nécessité de substances particulière pour le développement
- De la capacité à utiliser certaines sources de carbone ou d'azote

II.7.3. La structure de la bactérie

La structure des bactéries est plus rudimentaire que celle des cellules animales ou végétales. Elle peut être plus ou moins riche en organismes divers. Chez toutes les bactéries, on trouve des éléments communs et constants (paroi bactérienne, membrane cytoplasmique, cytoplasme et génome) et les éléments facultatifs que nous retrouvons chez certaines espèces (plasmides, capsule, flagelle, et pli). Chacun de ces éléments à un rôle particulier dans la vie de la cellule [34].

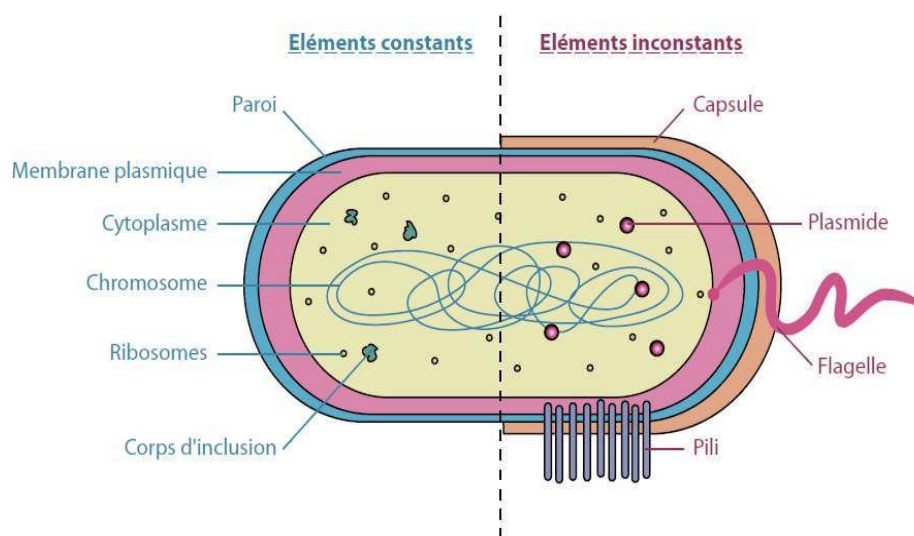


Figure I.19: Structure de la cellule bactérienne

II.7.4. Les microorganismes alimentaires

Les microorganismes impliqués dans l'alimentation peuvent être divisés en 2 catégories: ceux qui sont bénéfiques et ceux qui ne le sont pas. Les microorganismes bénéfiques favorisent la valeur nutritionnelle ou les qualités organoleptiques de l'aliment. Ils sont utilisés en industrie alimentaire pour la transformation des aliments. On rencontre par exemple les bactéries lactiques comme l'espèce *Streptococcus thermophilus* utilisée pour la fabrication de yaourt et

l'espèce *Lactococcus lactis* utilisée pour la fabrication de fromage. Les bactéries lactiques qui ne présentent pas de potentiel pathogène sont largement utilisées pour la fermentation des aliments tels que les produits laitiers, la choucroute, les saucisses... Les microorganismes non bénéfiques sont ceux qui sont pathogènes. Ils peuvent également induire des effets non souhaités dans les aliments : diminution de la valeur nutritionnelle, détérioration du caractère organoleptique, production des toxines [35].

II.7.5. Méthode d'étude

La plupart des milieux sont vendus dans le commerce sous forme de poudre déshydratée, alors il suffit de les dissoudre dans un volume d'eau distillée, on les stérilise et on les répartit dans des récipients stériles adéquats. Pour des milieux à base de gélose, la solution préparée est chauffée pour dissoudre la gélose puis stérilise le tout à l'autoclave et on laisse refroidir jusqu'à 45°C environ, température à laquelle la gélose reste fluide. Ensuite quelque 15 à 20 ml de milieu gélosé fondu sont coulés dans une boîte de pétri stérile, Avant l'usage, la surface d'une boîte nouvellement préparée avec les échantillons à tester doit être séchée en les plaçant, couvercle ouvert, dans un incubateur à 37°C, pendant 20 minutes environ [36].

II.7.6. Test antibactérien

Le test biologique est l'une des techniques les plus utilisées pour tester l'activité antibactérienne ou la croissance bactériennes. En effet, les zones d'inhibition apparaissent en clairs autour des disques et signifient que la croissance des bactéries a été inhibée dans ces régions. Tandis que les sombres autour des disques ou zones de stimulation signifient que la croissance de la bactérie dans ces régions a été stimulée [37].

Partie III : Les emballages alimentaires

III.1. Historique

Le besoin d'emballer les aliments date de la préhistoire, en effet les chasseurs préhistoriques enveloppaient leurs gibiers dans des peaux d'animaux afin de faciliter le transport d'une part et d'autre part pour les protéger des intempéries. En outre, cette technique rudimentaire permettait également de préserver les aliments plus longtemps. Pendant cette période des matériaux naturels comme les feuilles, les écorces d'arbre, les pierres creuses et les coquillages ont été aussi utilisés. C'est vers 6000 avant JC, qu'apparaît l'utilisation des tissus, des céramiques, des paniers et des poteries. Des premiers récipients en verre furent utilisés par les égyptiens à partir de 1500 avant JC, plus tard, c'était le tonneau qui faisait son apparition avec les gaulois et 1746, les anglais créaient le premier produit emballé [38]. Jusqu'à la fin du XIX^e siècle, des matériaux bruts (tels que le cuir, le bois, le liège, les fibres) et des matériaux transformés (tels que le verre, les métaux, le papier) étaient prépondérants. L'essor du matériau moderne et pratique que le plastique se conjugue avec les innovations du XX^e siècle [39].

III.2. Définition

C'est l'ensemble des techniques et des matériaux utilisés pour contenir, protéger, conserver et transporter des produits pendant leur distribution, leur stockage et leur manutention, ainsi que pour les identifier, donner leur mode d'emploi et assurer leur promotion [40].

III.3. Type d'emballage alimentaire

On distingue de façon générale, trois types d'emballages [41]. selon la fonction qu'ils remplissent :

✓ L'emballage primaire ou emballage de vente : c'est la plus petite unité de contenu en contact avec le produit de consommation. les professionnels du milieu l'appellent aussi "conditionnement".

✓ L'emballage secondaire ou emballage de groupage est le rassemblement de plusieurs emballages primaires contenant des denrées. Il est aussi appelé suremballage (surpackaging).

✓ L'emballage tertiaire ou emballage de transport, c'est le regroupement des emballages secondaires en colis compacts de grande taille, ou parle de packaging.

III.4. Les interactions entre l'emballage et l'aliment

Moyens indispensables de protection, de conservation, de transport, d'information, d'usage des aliments, les emballages sont omniprésents dans la vie du consommateur. Dans ce secteur des conditionnements alimentaires, le plastique a conquis une place prépondérante. Or lors de la fabrication et pendant la conservation des aliments, il existe des phénomènes d'interactions entre le matériau utilisé et la denrée alimentaire en contact, dus notamment à la migration de composants du plastique vers l'aliment [42].

Pour assurer la santé publique, la réglementation a fixé un cadre général et impose deux grands volets d'obligations :

- S'assurer de l'innocuité des matériaux constitutifs
- Respecter les seuils de migration autorisés

Les phénomènes d'échange entre le produit alimentaire et son environnement, entraînant des effets sur le produit et/ou l'emballage. Les principaux types d'interaction entre un aliment et son emballage surtout les emballages plastique sont :

- La migration.
- La perméation.
- Sorption

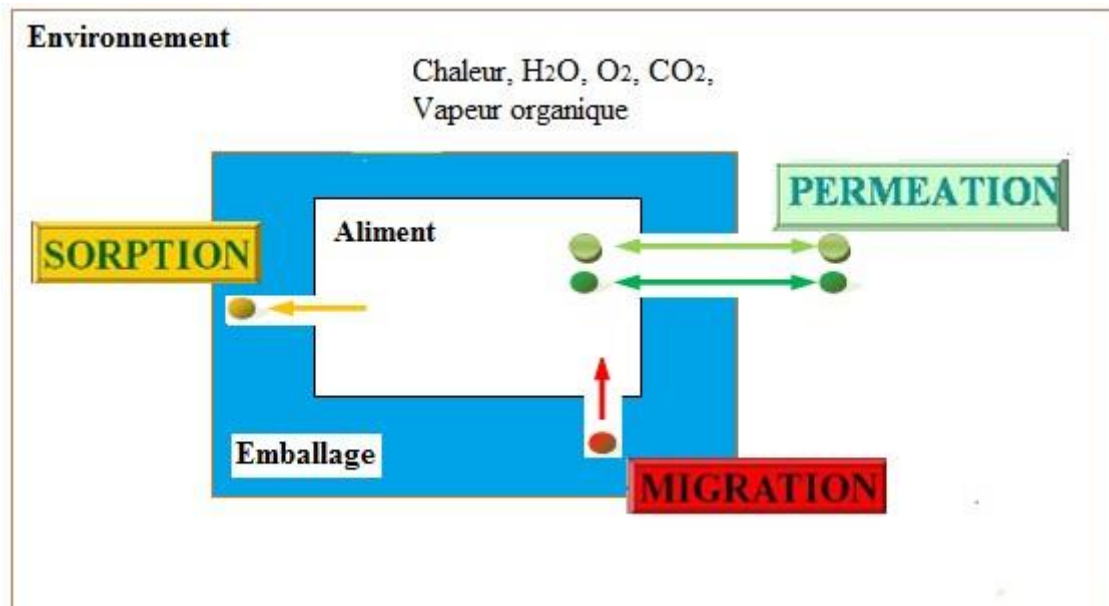


Figure I.20: Types d'interactions entre l'emballage plastique et l'aliment

a. Phénomène de migration

La migration correspond à la diffusion des constituants de l'emballage vers l'aliment, il peut s'agir d'adjuvant technologique de monomères, d'oligomères, de pigments et solvant des

encres d'impression ou de produits de dégradation, la migration peut induire, des problèmes de toxicité mais également des odeurs indésirables.

b. Phénomène de perméation

La perméation décrit le phénomène de solubilisation, diffusion de molécules volatiles venant l'aliment et /ou de l'extérieur (gaz comme O₂, CO₂, N₂, vapeur d'eau, composés d'arome) ou à travers l'emballage, la perméation peut ainsi provoquer des pertes d'aromes et donc des modifications des propriétés organoleptique du produit. En sens inverse c.à.d. du milieu extérieur vers l'aliment, ce phénomène s'accompagne de détérioration des qualités de l'aliment. Ainsi la perméation à l'oxygène est un phénomène critique dans la conservation de l'aliment emballé, Elle peut provoquer le développement des micro-organismes ou des réactions d'oxydation.

c. Phénomène de sorption

des substances concernées sont très diverses (pigment, acide, composés d'arome, elle présentent pour cela une affinité chimique avec la nature polymérique de l'emballage; ainsi de fait de leur faible masse molaire ,la sorption des composés d'aromes dans l'emballage se poursuit par leur diffusion dans le matériaux, allant dans certains cas jusqu'à la traversée totale du matériaux.

III.5. Règlementation sur les emballages alimentaires

La réglementation relative aux matériaux en contact alimentaire évoque le principe d'inertie entre le matériau et l'aiment en contact mais ce n'est pas toujours le cas. Des différents échanges (interactions) pouvant avoir lieu entre le milieu extérieur, le matériau et le produit. La réglementation des emballages s'intéresse donc en priorité à ces phénomène en imposant que l'emballage ne cède pas aux aliment des constituants, en quantité susceptible de présenter un danger à la santé humaine, et d'entraîner une modification inacceptable de la composition ou des caractères organoleptique et toxicologique de ces denrées. C'est le principe d'inertie (règlement 1935/2004 du parlement européen et du conseil, directive 2002/72/CE amendée en 2004). Une directive spécifique à donc établie une liste positive regroupant les composés qui sont autorisés comme adjuvant technologique pour l'emballage alimentaire, comme les monomères et additif à l'exclusion des colorants, pigments [43]. Quatre types de migration potentiels peuvent être présents dans un matériau polymérique.

- Des résidus de monomères ayant servi à la polymérisation ;
- DES adjuvants de réaction ou de dégradation des adjuvants, des monomères et des polymères,
- Des adjuvants technologiques des polymères,

- Des substances ne faisant pas partie des listes positives

Dans les différents pays de la communauté européenne, plus de 4.000 textes réglementaires concernant le secteur des produits alimentaires sont actuellement en vigueur. En Algérie, tous les textes réglementaires portant sur les denrées alimentaires, reposent sur la loi N° 89-2 du 07 février 1989, relative aux règles générales de protection du consommateur. La directive définit les limites de migrations de ces différentes substances [44].

a. La limite de migration globale (LMG)

Cette limite est indépendante de la toxicité du migrant, elle est fixée à 60 mg/kg de produit. Les emballages qui présentent une LMG supérieure à cette valeur ne sont pas aptes au contact alimentaire.

b. La limite de migration spécifique (LMS)

Cette Limite fixe la quantité acceptable d'une substance donnée (migrant) dans l'aliment. La LMS est fixée en fonction de la dose journalière admissible (DJA) en mg/kg de masse corporelle. La concentration maximale dans le matériau (QM) est le type de restriction utilisée, car il est plus facile de mesurer un migrant dans un plastique que dans un aliment.

c. La concentration par unité de surface (QMA)

Elle est habituellement exprimée en mg/dm². Elle est employée pour des substances en très faible quantité, lorsque la migration est très faible (généralement inférieure à 0.05mg/kg d'aliment) ou encore lorsque la migration totale de la substance reste acceptable d'un point de vue toxicologique.

Chapitre II : Matériaux et techniques expérimentales

Chapitre II : Matériaux et techniques expérimentaux

Ce chapitre est consacré à la présentation des matériaux utilisés, les différents protocoles expérimentaux suivis, ainsi que les différentes techniques de caractérisation.

II. 1. Matériaux

II.1.1. Poly (acide lactique)

Le poly (acide lactique) utilisé dans cette étude a été fourni par « *NATURE WORKS* » sous forme de granulés, désigné sous la référence industriel « *7001D* ». Ses principales caractéristiques sont regroupées sur le tableau II.1.

Tableau II.1: Principales caractéristiques physico-chimiques du PLA

Propriétés	Valeurs
Densité	1,24
Indice de fluidité (210°C, 2,16Kg)	6 g/10min
Température de transition vitreuse	55-60°C
Température de fusion	145-160°C
Clarté	Transparent

II.1.2. Les algues

Les algues retenues pour cette étude sont les algues brunes, correspondant à l'espèce *Dictyopteris polypodioides*, d'après la caractérisation botanique qui a été effectuée au département de biologie de l'Université A.MIRA de Bejaia. Le site de collecte se situe dans la wilaya de Bejaia, plus particulièrement sur les cotes de Saket. Ils ont été collectés durant le mois de février. Les algues collectées sont d'abord lavées à l'eau de mer, puis transportées directement au laboratoire dans des sacs en plastique. Une fois au laboratoire, les algues sont triées manuellement afin d'éliminer toute source de contamination (épiphytes, larves, crustacées, sable...), lavées successivement à l'eau du robinet et rincés à l'eau distillée puis divisés en deux parties. La première a été séchée à l'air libre durant 48 à 72 heures puis dans l'étuve à 60°C pendant 24 heures, ensuite broyée dans un broyeur de laboratoire et calibrée à travers un tamis de 120 µm et conservés dans des sachets en plastique hermétiquement

fermés. Quand à la deuxième partie, elle a été conservée dans une solution formolée à 2%, afin de conserver les algues fraîches pour une utilisation ultérieure.



Figure II.1: L'espèce *Dictyopteris polypodioides*



Figure II.2: Etapes de conditionnement des algues après prélèvement.

II.1.3. Réactifs

✚ Les réactifs utilisés pour la partie de l'extraction de l'alginate de sodium à partir de l'espèce d'algue *Dictyopteris polypodioides* sont répertoriés dans **le tableau II.2**.

Tableau II.2: Caractéristiques des différents réactifs utilisés dans l'extraction.

Réactifs	Formule brute	Masse molaire (g/mol)	Pureté (%)	Densité	Fournisseurs
Formaldéhyde	CH ₂ O	30,03	/	1.08-1.09	/
Acide sulfurique	H ₂ SO ₄	98,07	96-98	/	Biochem Chemopharma
Carbonate de sodium	Na ₂ CO ₃	106	/	/	Biochem Chemopharma
Ethanol	C ₂ H ₆ O	46.07	/	0.79	Sigma-Aldrich
Acétone	C ₃ H ₆ O	58.08	/	/	/

✚ Les réactifs utilisés pour la préparation des films PLA/Alginate et PLA /Poudre d'algue sont répertoriés dans le **tableau II.3**.

Tableau II.3: Caractéristiques des différents réactifs utilisés dans la préparation des films

Réactifs	Formule brute	Masse molaire (g/mol)	Pureté (%)	Fournisseurs
Chloroforme	CHCl ₃	119.38	99-99.4	Sigma-Aldrich
Glycérol	C ₃ H ₈ O ₃	92,09	99.5	Biochem Chemopharma

II.1.4. Souches bactériennes

Deux souches bactériennes ont été utilisées, l'une à gram positif (*Staphylococcus aureus*) et l'autre à gram négatif (*pseudomonas*), et deux types de champignons, *Botrytis* et *Penicillium*. Ces souches ont été fournies par le laboratoire de microbiologie de l'université se Bejaia. Les références des souches bactériennes testées sont numérotées sur le **tableau II.4**.

Tableau II.4 : Références des souches bactériennes testées

Souches	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas</i>
Références	6726TSB	ATCC29522

II.2. Protocoles expérimentaux

II.2.1. Extraction de l'alginate de sodium

Le protocole d'extraction est similaire à celui de Torres et al [45], avec quelques modifications. Globalement, les différentes étapes du procédé d'extraction des alginates sont les suivantes:

a. Formolisation

Une certaine quantité d'algue fraîche, soigneusement lavée est découpée, en particules de 2 à 3 mm, puis réhydratées dans une solution formolée à 2 % pendant 24 h à température ambiante. Le but de cette opération est d'éviter les contaminations microbiennes et de stabiliser les phénols qui s'oxyderaient lors de l'étape suivante. Une réaction formol-phénol transforme les phénols en produits insolubles qui ne peuvent alors plus s'oxyder et restent dans la phase solide

b. Acidification ou lixiviation

Les morceaux d'algue préalablement découpés sont rincés abondamment et plusieurs fois à l'eau distillée pour éliminer le formol. Ils sont ensuite immergés dans une solution d'acide sulfurique H_2SO_4 à 0.2 N pour déminéralisation pendant au moins une nuit. Plusieurs rinçages à l'eau distillée sont nécessaires. Les eaux de lavage entraînent avec elles les sels minéraux et une partie des pigments.

c. Carbonatation

La masse d'algue fraîche récupérée après filtration est placée dans un bécher. Une mesure du poids sec est réalisée en parallèle pour déterminer le pourcentage de masse sèche des algues en vue du calcul de rendement. Ainsi la biomasse fut trempée dans une solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 à 4%. À cet instant correspondant au début de la réaction d'extraction qui s'effectue sous agitation constante pendant 10 heures toujours à température ambiante de façon à préserver une haute viscosité. Au terme de cette opération de carbonatation, l'acide alginique insoluble dans l'eau est converti en alginate de sodium soluble dans la phase liquide.

d. Filtration et précipitation

La phase liquide est alors isolée par filtration sous vide après avoir été dilué 2 à 4 fois avec de l'eau distillée. A la fin de cette étape, on obtient un jus de carbonatation, lequel va être précipité avec de l'éthanol à 95%, afin d'obtenir un précipité blanc qui est l'alginate de sodium.

e. Séchage et broyage

Une fois précipité, La masse ainsi obtenues est lavée à l'acétone permettant son blanchiment puis mise à sécher dans une étuve à 60°C pendant 48h et en fin broyées sous forme de poudre.

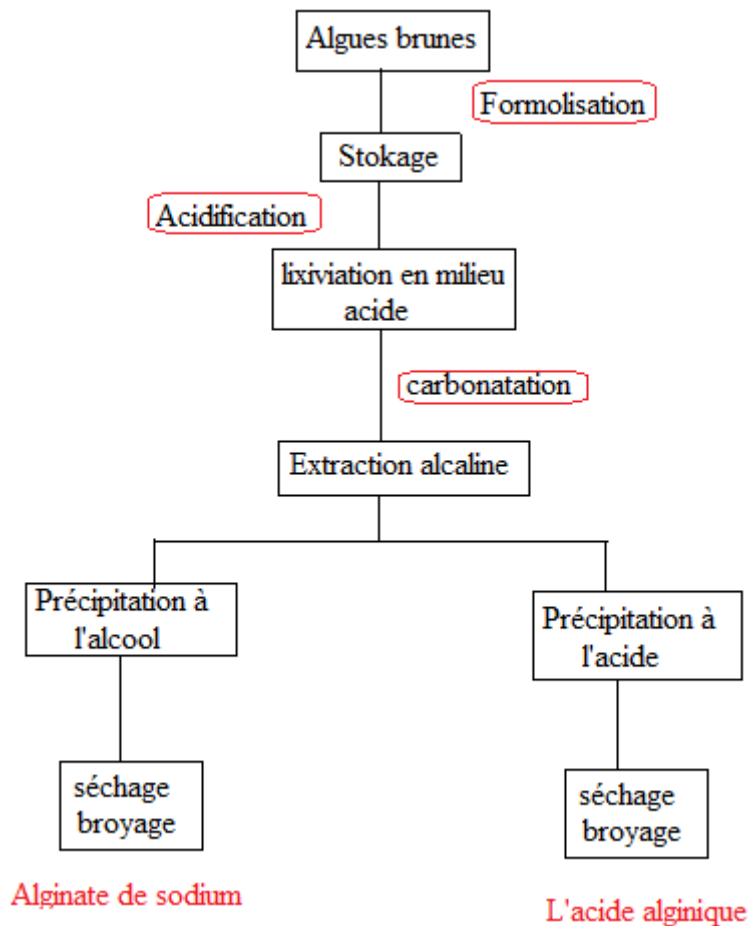


Figure II.3: Les étapes d'extraction de l'alginate de sodium et de l'acide alginique

II.2.2. Formulations

Différentes formulation on été élaborés, à savoir :

- Une formulation vierge avec 100% du PLA notée F0
- Trois formulations à base du PLA et de l'alginate de sodium extrait en variant les le taux (5, 10 et 20%) notées F_{5A}, F_{10A} et F_{20A} respectivement.
- Trois formulations à base du PLA et de la poudre d'algue en variant les taux (5, 10 et 20%) notées F_{5P}, F_{10P} et F_{20P} respectivement

Les proportions de chaque formulation sont représentées dans le **tableau II.5** ci-dessous :

Tableau II.5: Compositions des différentes formulations

Produits (%) Formulations	PLA	Alginate de sodium	Poudre d'algue
F0	100	0	0
F₅A	95	5	0
F₁₀A	90	10	0
F₂₀A	80	20	0
F₅P	95	0	5
F₁₀P	90	0	10
F₂₀P	80	0	20

II.2.3 Préparation des films

La préparation des films en solution est effectuée selon le mode opératoire suivant : On pèse 1g de chaque formulation indiqué sur le **tableau II.5** (masse totale du mélange). On fait dissoudre le PLA à part dans 25 ml de chloroforme, sous agitation jusqu'à la dissolution complète (environ 30 min) dans un petit bécher. En parallèle on fait de même pour d'alginate de sodium, mais dans 15 ml d'eau distillée et toujours sous agitation jusqu'à la dissolution totale. Une fois dissout on mélange le contenu des deux béchers et on ajoute 2 à 3 gouttes de tween 80 (Pour rendre le mélange miscible) et on laisse agité encore 30 minutes, puis on ajoute 1 ml de glycérol au mélange pour plastifié les films et l'opération continue pendant 2 heures. Quand le mélange est bien homogène, on a arrêté l'agitation, le mélange est versé dans des boites pétries et laissé sécher pendant 24 h à température ambiante, puis les films sont récupérés.

Même procédure utilisé pour les films PLA/ poudre d'algue, à l'exception, les deux constituant on été dissout à la fois dans le chloroforme.



Figure II.4: Les différents films préparés.

II.3. Techniques de caractérisation

Dans cette partie on s'intéressera à la description des différentes méthodes de caractérisation des échantillons.

II.3.1. Caractérisation de l'alginate de sodium

a. Détermination de taux d'extraction (Rendement)

Une mesure de la masse sèche des algues avant extraction est réalisée en vue du calcul de rendement. Si le poids d'algue sec utilisé pour l'extraction (étape de carbonatation) est M_{AS} et la masse de l'extrait sec (l'alginate de sodium) est M_{Alg} . Le taux d'extraction ou le rendement sera donné par la relation suivante :

$$R \% = \frac{M_{Alg}}{M_{AS}} * 100$$

Avec :

M_{Alg} : Masse sèche de l'alginate de sodium extraite (g)

M_{AS} : Masse sèche d'algue utilisée pour l'extraction (g)

b. Viscosimètre capillaire détermination de la masse moléculaire

Pour déterminer la masse moléculaire moyenne, la détermination de la viscosité intrinsèque via le viscosimètre capillaire est utilisée. Ces deux grandeurs sont en effet reliées suivant la loi de Mark-Houwink selon l'équation (1) [29].

$$= K_v * M_w^a \dots \dots \dots (1)$$

Avec : $[\eta]$: Viscosité intrinsèque (L. g⁻¹)

K_v , a : Paramètres caractéristiques du système Polymère /Solvant à une température donnée

M_w : Masse moléculaire viscosimétrique (g. mol⁻¹).

Les mesures ont été réalisées à l'aide d'un capillaire de type Ubbelohde (**Figure II.5**). Le viscosimètre est rempli d'un volume de 15 ml de solution d'alginate de sodium, et une fois l'équilibre thermique atteint, le temps d'écoulement est chronométré (passage du ménisque entre les 2 repères du capillaire).

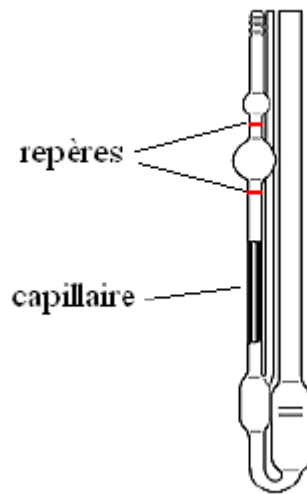


Figure II.5: Viscosimètre capillaire de type Ubbelohde

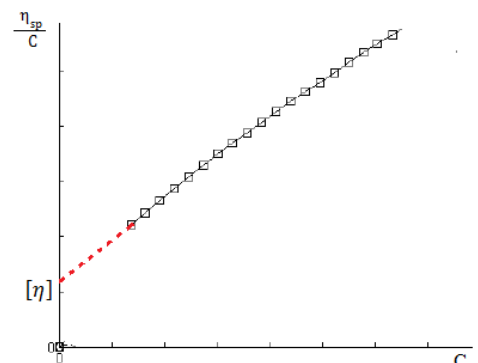
A partir des mesures de temps d'éluion de l'échantillon (t) et du solvant pur (t_s), on peut déterminer la viscosité spécifique (η_{sp}) selon l'équation (2)

$$\eta_{sp} = \frac{t-t_s}{t_s} \dots \dots \dots (2)$$

Puis on détermine la viscosité réduite (η_{Red}) qui est le rapport entre à la viscosité spécifique et la concentration de la solution (c), selon l'équation (3).

$$\eta_{Red} = \frac{\eta_{sp}}{c} \dots \dots \dots (3)$$

Le graphe d'évolution de la viscosité réduite en fonction de la concentration est trace et une régression linéaire permet



d'obtenir la valeur de l'ordonnée à l'origine correspondant à la viscosité intrinsèque (par définition la viscosité intrinsèque correspondant à la valeur de la viscosité réduite lorsque la concentration en soluté tend vers 0, l'approximation est acceptable pour des faibles valeurs de concentration).

Finalement, la masse moléculaire moyenne est estimée à partir de la viscosité intrinsèque grâce à la relation de Vold (2006) [46] selon l'équation (4).

$$= 0.00504 * M_w^{1.01} \dots\dots\dots(4)$$

II.3.2. Caractérisation des films

a. Spectroscopie infrarouge à transformé de Fourier (IRTF)

L'obtention d'un spectre infrarouge (IRTF) peut se faire selon deux modes : par transmission, pour les échantillons transparents ou par la réflectance totale atténuée (ATR en l'anglais : *Attenuated Total Reflectance*) pour les échantillons opaques ou épais. La spectroscopie infrarouge est une technique d'analyse utilisée pour l'identification des groupements fonctionnels qui apparaissent sous forme de bande d'absorption.

L'appareil utilisé est un spectrophotomètre de type SHIMADZU FTIR -8400 S, piloté par un ordinateur muni d'un logiciel de traitement avec une résolution de 4 cm^{-1} dans l'intervalle $400\text{-}4000 \text{ cm}^{-1}$ avec un nombre de scans de 32. L'analyse est réalisée sur les films composites et sur l'extrait de l'alginate de sodium.

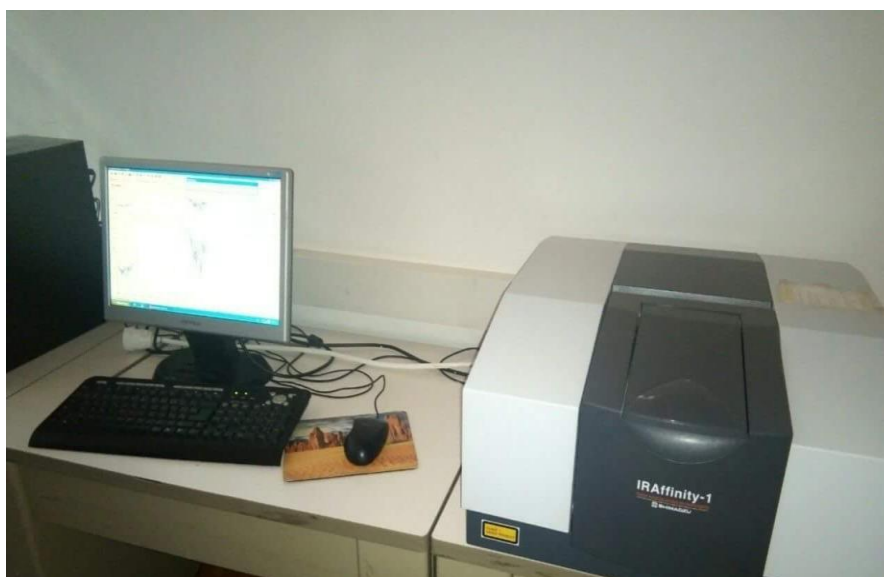


Figure II.6: Photo du spectrophotomètre infrarouge

b. Diffraction des rayons X (DRX)

Soumis à un faisceau de rayons X, un échantillon cristallin renvoie des faisceaux diffractés dont les écarts angulaires avec le faisceau incident renseignent sur les plans cristallins qu'il contient et leurs distances caractéristiques. Les résultats obtenus peuvent être analysés à l'aide de la relation de Bragg :

$$2 d \sin \theta = n \cdot \lambda$$

Avec, θ : l'angle du faisceau incident par rapport au plan

n : un nombre entier positif appelé ordre de la diffraction

λ : la longueur d'onde du faisceau incident

d : la distance interreticulaire, caractéristique du matériau

La caractérisation par diffraction des rayons X on été effectuées à l'université A. Mira de Bejaïa sur un appareil de type X Pert Pro Panalytical en utilisant la raie $\text{K}\alpha_1$ du cuivre de longueur d'onde $\lambda = 1.540598 \text{ \AA}$, les diffractogrammes ont été enregistrés de 2° à 70° avec un pas de 0.016. Le pourcentage de cristallinité (taux) est calculé à partir du rapport de l'aire de la phase cristalline à l'aire totale, selon l'équation suivante

$$X_c \% = \frac{A_c}{A_c + A_a} * 100$$

Avec : X_c , le pourcentage de cristallinité

A_c , l'aire de la phase cristalline

A_a , l'aire de la phase amorphe



Figure II.7: L'appareil de mesure de la DRX

c. Analyse thermogravimétrique

L'analyse thermogravimétrique est une méthode d'analyse quantitative qui consiste à mesurer la variation de masse d'un échantillon soumis à un traitement thermique, en fonction de la température et du temps. Les courbes ATG peuvent fournir de nombreuses informations relatives aux réactions chimiques : thermodynamique, cinétique, mécanismes, produits intermédiaires et finaux, etc. Elles fournissent aussi des informations sur la stabilité thermique des matériaux. L'appareil utilisé est un analyseur thermogravimétrique, composé essentiellement d'un four dans lequel l'échantillon est placé et d'une microbalance permettant la mesure des gains ou des pertes de masse. Les thermogrammes des différents échantillons ont été enregistrés à l'aide d'un appareil de type *SETERAM TG/DTA92*, constitué d'un ATG/DTG/ATD couplé et piloté par un micro-ordinateur. Ce modèle peut fonctionner jusqu'à 20 à 900 C°, avec une précision de masse pouvant aller de 10 mg jusqu'à 20 mg. Les mesures sont faites sous atmosphère d'azote avec une vitesse de chauffe de 10C°/min.

d. Taux d'humidité

C'est la masse de liquide contenue par unité de masse de matière à sécher. L'analyse a été effectuée sur les films de dimension carrée de 2cms sur 2 cm. Pour évaluer la quantité d'eau retenue, il ya lieu de peser les échantillons carrés de 2 cm de coté (m_0) sur une balance analytique de précision 0.0001g, puis de les sécher dans une étuve 60°C pendant 48 heures, ensuite les peser à nouveau (m). Le taux d'humidité en (%) est donné par relation suivante :

$$TH \% = \frac{m_0 - m}{m_0} * 100$$

Avec : m_0 : Masse de l'échantillon avant étuvage (g)

m : Masse de l'échantillon après étuvage (g)

TH : Taux d'humidité exprimé en %.

e. Analyse microbiologique

Les agents antimicrobiens sont utilisés depuis des décennies pour traiter les maladies transmissibles et prévenir les infections, le mode d'action de ces agents sur les bactéries, peuvent être bactériostatique, lorsque la substance inhibe la multiplication des bactéries ou bactéricide : lorsque la substance détruit totalement les bactéries.

Préparation des milieux de culture

Un milieu de culture est un support qui permet la culture des cellules, des bactéries, des levures et moisissures afin de permettre leur étude. En principe les cellules trouvent dans ce milieu les composants indispensables pour leur multiplication en grand nombre rapidement.

Pour préparer les milieux Tryptone Soya Agar (TSA) et Mueller Hinton (MH), on a suivi les étapes suivantes:

1. Peser la quantité de poudre requise.
2. Faire dissoudre la poudre dans un peu d'eau distillé avec une agitation continue, puis complété avec l'eau distillé jusqu'à avoir un litre.
3. Faire chauffer le milieu jusqu'à l'obtention d'une dilution complète et d'une ébullition, pendant minimum une minute.
4. Verser les dans des flacons en verre bien fermés.

Test antibactérien

La solution préparée est chauffée à 100°C dans un bain pour dissoudre la gélose puis et on laisse refroidir jusqu'à 60°C environ, température à laquelle la gélose reste fluide. Ensuite quelque 15 à 20 ml de milieu gélosé fondu sont coulés sur les boîtes pétris stériles, Avant l'usage, la surface d'une boîte nouvellement préparée avec les échantillons à tester doit être séchée en les plaçant, couvercle ouvert, dans un incubateur à 37°C, pendant 20 minutes environ pour la stérilisation [36]. *Staphylococcus aureus* à Gram positif (6726TSB) et *Pseudomonas* à Gram négatif (ATCC 29522) ont été utilisés.

- Il est important d'inscrire (type de gélose, de souche, date de préparation....) sur les boîtes pétris renfermant la gélose et non sur leur couvercle.
- Verser environ 25ml de liquide dans les boîtes pétris, et couler les géloses
- Laisser les plaques entrouvertes, jusqu'à ce qu'elles soient solidifiées. Cette technique évitera le dépôt de condensation sur la surface.
- Lorsque les plaques sont solidifiées, fermer le couvercle et déposer la gélose dans un support (le couvercle vers la bas).

Les boîtes pétries ont ensuite été incubés à 37 °C pendant 24 h et les comptes bactériens ont été effectués après incubation. Les zones d'inhibition apparaissent en clairs autour des disques et signifient que la croissance des bactéries a été inhibée dans ces régions. Tandis que les sombres autour des disques ou zones de stimulation signifient que la croissance de la bactérie dans ces régions a été stimulée [37].

Test antifongique

Même procédure et même étapes ont été suivies, sauf que cette fois ci se sont les champignons *Botrytis* et *Penicillium* qui ont été testés, et l'incubation à été faite à 25°C pendant 48 heures.

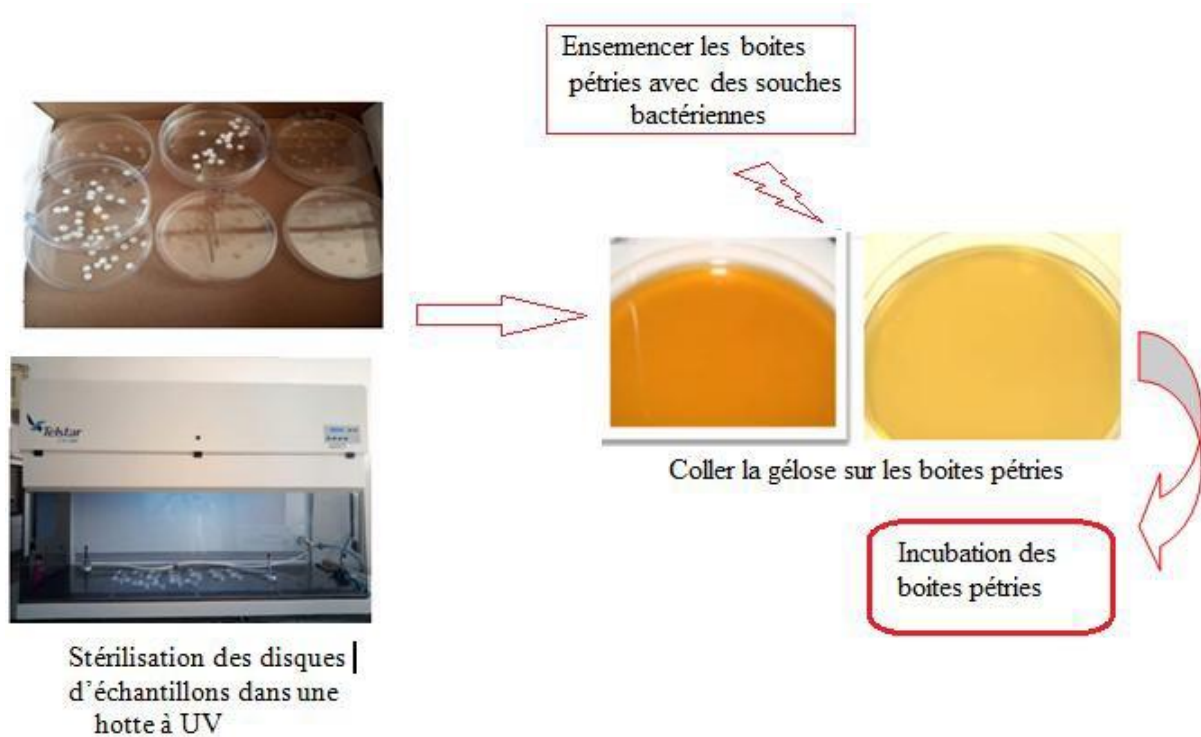


Tableau II.8: Protocole expérimental du test antibactérien

Chapitre II : Résultats et discussion

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Caractérisation de l'alginate de sodium

III.1.1. Détermination du taux d'extraction (Rendement)

Le rendement en alginate de sodium pour l'espèce *Dictyopteris polypodioides*, est de l'ordre de 30 % PS (% en alginate de sodium par rapport au poids sec initialement utilisé). En comparaison avec les données de la littérature (Tableau 1), la teneur en alginate de l'espèce *Dictyopteris polypodioides* s'avère très prometteuse et avoisine celles de certaines alginophytes telles que, *Laminaria dégitata* (22-36 %PS), *Laminaria heperborea* (24-33 % PS). Ces teneurs restent néanmoins inférieures par rapport aux alginophytes qui dominent le marché mondial de l'industrie des alginates comme par exemple les espèces *Durvillaea antarctica* (53 % PS) et *Ecklonia cava* (35-38 % PS). Cette variation peut être expliquée par plusieurs facteurs qui influencent la composition biochimique de l'algue tels que, la partie utilisée du thalle, l'âge du thalle, les lieux de récolte, la saison, la concentration de la solution de carbonate de sodium et la durée d'extraction. La concentration optimale pour obtenir à la fois un rendement maximum et une durée d'extraction minimum, est d'environ 4%, ce qui correspond à la concentration utilisée classiquement en industrie et en laboratoire.

Tableau III.1 : Comparaison de la teneur en alginate de l'espèce étudiée par rapport aux autres alginophytes

Espèces	Teneurs en alginates (% poids sec)	Références
<i>Laminaria japonica</i>	20-26	
<i>Laminaria hyperborea</i>	24-30	
<i>Laminaria digitata</i>	22-36	[47]
<i>Ecklonia cava</i>	35-38	
<i>Durvillaea antarctica</i>	53	[48]
<i>Lessonia trabeculata</i>	25.67	[49]
<i>Dictyopteris polypodioides</i>	30	Cette étude

Plusieurs facteurs peuvent influencer sur le rendement d'extraction, des études ont montrées que les facteurs intrinsèques (tels que les facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur sa valeur [50].

III.1.2. Détermination de la masse molaire par viscosimétrie

La méthode choisie pour déterminer la masse molaire de l'échantillon est la mesure de viscosité capillaire, détaillée dans le (paragraphe II.3.1.b). La masse molaire a été calculée à partir de l'équation HMS (Houwink- Mark-Sakurada) liant la viscosité intrinsèque à la masse molaire moyenne en masse :

$$= K * M_w^a$$

Les paramètres a et K dépendent de la nature du solvant et du polymère. Dans le cas précis des alginate solubilisés dans l'eau, il est possible d'utiliser les paramètres caractéristiques de la relation décrite par Vold [46] :

$$= 0.00504 * M_w^{1.01} \quad \text{Avec } [\eta] \text{ en mL/g et } M_w \text{ en g/mol.}$$

Le tracé de la viscosité réduite en fonction de la concentration est représenté sur la **figure III.1**. Une régression linéaire permet d'obtenir la valeur de l'ordonnée à l'origine correspondant à la viscosité intrinsèque $[\eta]$, l'approximation est acceptable pour des faibles valeurs de concentration).

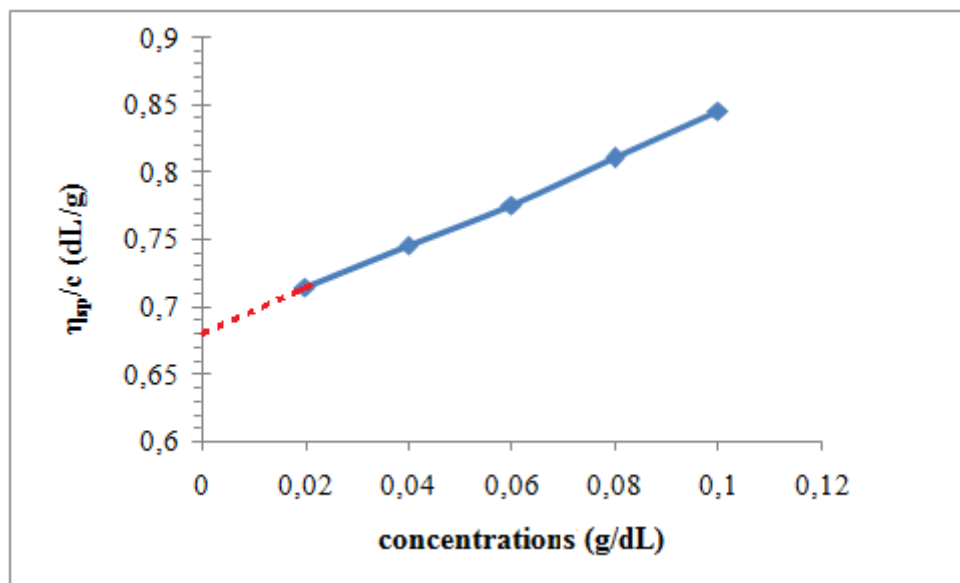


Figure III.1 : Evolution de la viscosité réduite en fonction de la concentration de la solution d'alginate de sodium

La valeur de la viscosité intrinsèque et de la masse moléculaire moyenne sont regroupées dans le **Tableau III.2**.

Tableau III.2: Viscosité intrinsèque de l'alginate de sodium

Echantillon	$[\eta]$ (d/g)	M (g/mole)
Alginate de sodium	0.668	117 931,48

On constate que la masse molaire de notre échantillon d'alginate se situe dans l'intervalle donné par la littérature [51,52]. Les masses molaires des alginates extraits d'algues marines varient généralement entre environ 50 000 g/mol et 200 000 g/mol.

III.1.3. La diffraction des rayons X (DRX)

La figure III.2 représente le spectre de la DRX de l'alginate de sodium

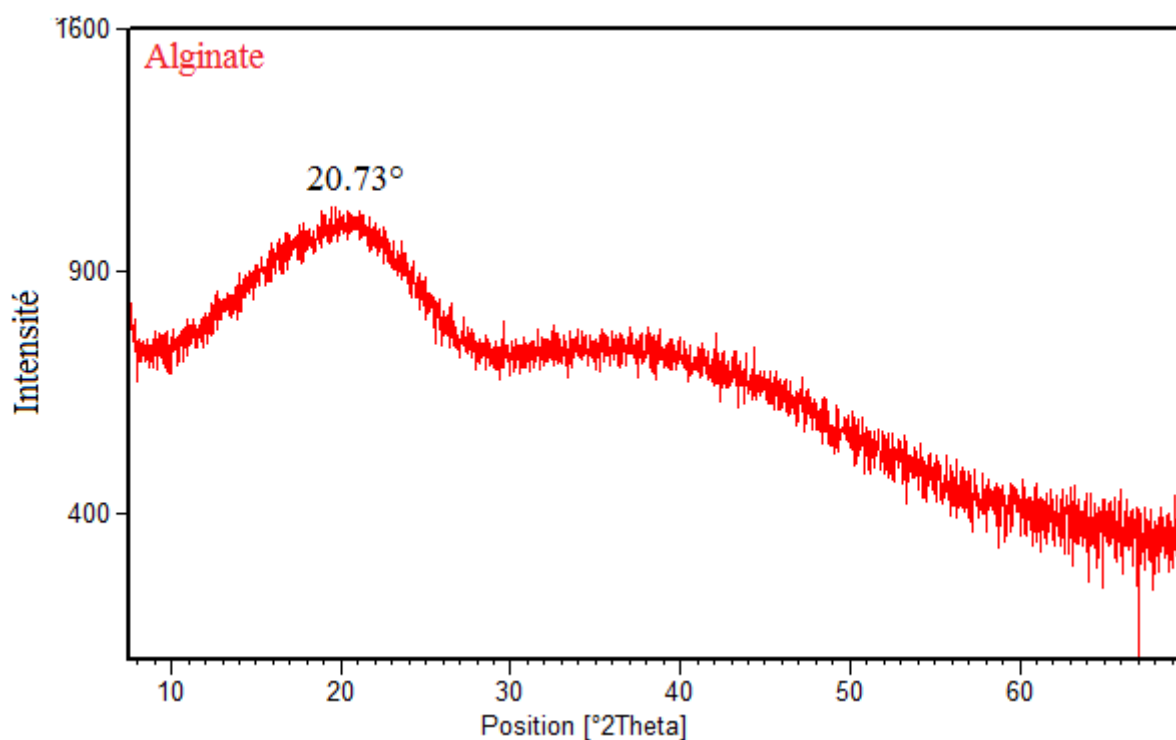


Figure III.2 : Le spectre DRX de l'alginate de sodium

La poudre d'alginate présente un large pic dans la gamme 15° à 24° avec une position centrale à $2\theta = 20.73^\circ$, caractéristique de la structure d'alginate et qui correspond à la région amorphes de l'alginate. En comparaison avec les résultats de la littérature et selon Paşcalău, et al, 2012 [53], pour le film d'alginate non plastifié, ce pic était plus net en raison du réarrangement probable des chaînes d'alginate. Un tel phénomène a également été observé dans le cas du

chitosane plastifié [54]. Autrement dit, lorsque la quantité du plastifiant (glycérol), augmente, l'intensité du pic diminue, indiquant une proportion plus grande de la structure amorphe.

III.1.4. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)

Les spectres IRTF de l'alginate de sodium isolé à partir de *Dictyopterus polydoides est* présenté sur la Figure III.3.

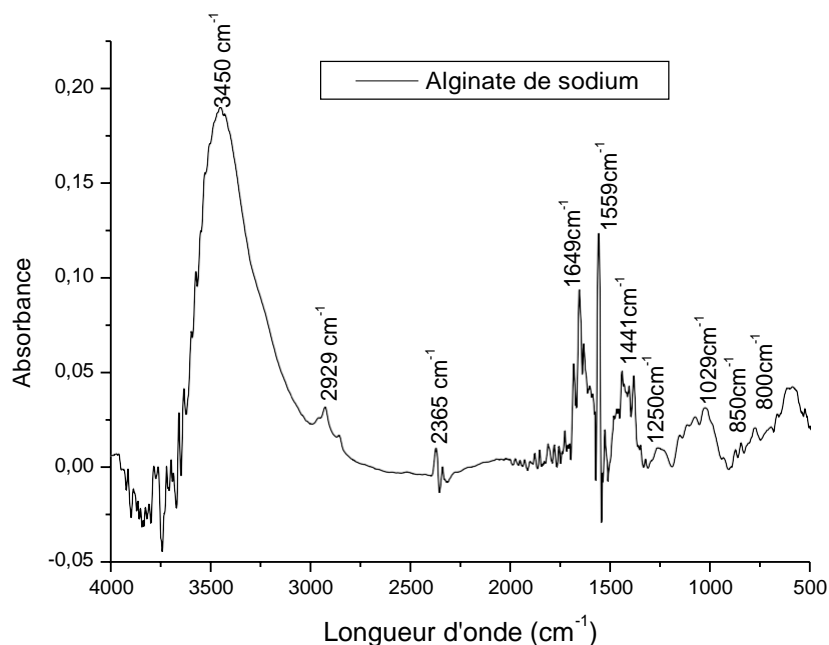


Figure III.3 : Spectre IRTF de l'alginate de sodium

Selon la bibliographie, plusieurs auteurs [55], ont déjà identifié, Les bandes caractéristiques de l'alginate de sodium et parmi elles on distingue :

- ✓ Une large bande à 3450 cm^{-1} qui correspond à l'élongation du groupement O-H et une à 2929 cm^{-1} qui peut être attribuée à l'élongation du groupement C-H.
- ✓ Une autre bande caractéristique apparaît à 1649 cm^{-1} et elle est attribuée à l'élongation asymétrique du groupement carboxylate COO, confirmant la haute teneur en acide uronique du polysaccharide [56].
- ✓ Une bande faible située vers 1559 cm^{-1} correspondant aux vibrations des élongations C=C.
- ✓ Une bande située vers 1442 cm^{-1} correspondant aux vibrations de déformations O-H. avec la contribution de l'étirement symétrique du groupement carboxylate COO [56,57].

- ✓ Une bande située vers 1254 cm^{-1} correspondant aux vibrations d'élongations C-C-O.
- ✓ Une bande située vers 1022 cm^{-1} correspondant aux vibrations de valence -C-O.
- ✓ La région entre $850\text{--}600\text{ cm}^{-1}$ a été largement discutée par Mathlouthi et Koenig, 1986 et Silverstein et al, 1991. [56,57] D'après ces auteurs la bande très faible située à $850,2\text{ cm}^{-1}$, caractéristique d'un composé cyclique qui a été affecté à l'étirement C-O vibration des résidus d'acide uronique, et un à 800 cm^{-1} affecté à la vibration de déformation C-H des résidus d'acide α -L-guluronique.

III.2 Caractérisation des films.

III.2.1. Caractérisation par la diffraction des rayons X (DRX)

Les diffractogrammes DRX des films PLA /Alginate sont présentés sur les figures III.4.

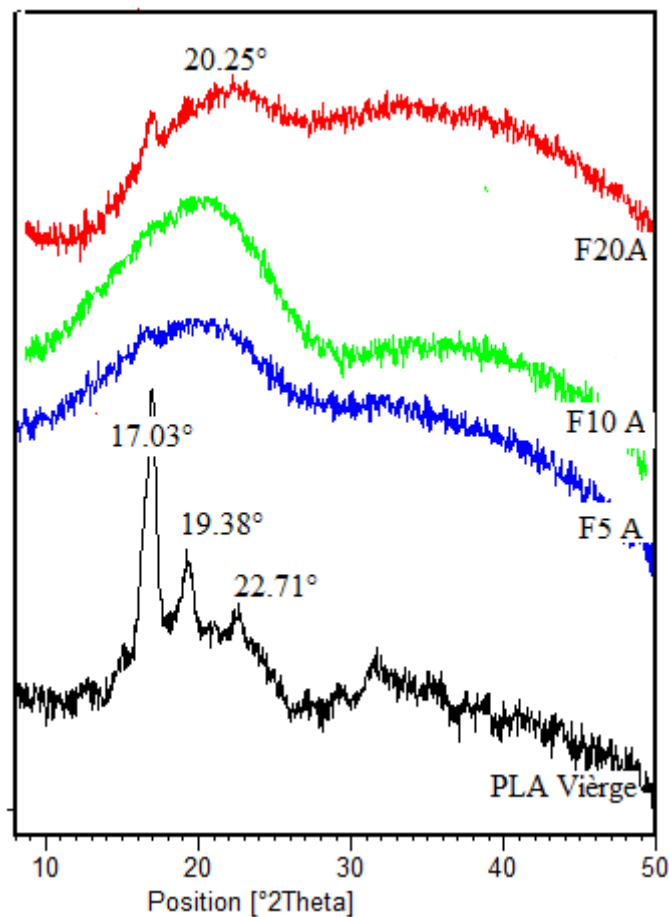


Figure III.4: Diffractogrammes des rayons X des films PLA/ Alginate.

Selon la figure III.4, le diagramme de diffraction du PLA montre un pic intense avec un maximum à 17.03° et deux autres pics de faible intensité localisés à 19.38° et 22.71° indiquant ainsi son état semi-cristallin. Ces résultats sont en parfaite accord avec d'autres études précédentes, ou le spectre DRX du PLA pur a été décrit par Mihai et al. [58] et

Mohammed Mizanur et al [59]. Lesquels ont observé la présence des trois pics décrit auparavant vers $16,50^\circ$, 19° et $22,3^\circ$.

L'ajout de 20% d'alginate de sodium dans la matrice PLA a permis la diminution de l'intensité du premier pic, la réduction progressive de l'intensité était due à la différence de la cristallinité relative entre le PLA et l'alginate de sodium déjà décrit auparavant.

En revanche, pour des taux moins élevés de l'alginate (5 et 10%), les pics se transforment en épaulement très large centré à $20,25^\circ$ caractéristique de la structure d'alginate et qui correspond à la forme amorphe de cette dernière. En outre, les pics de diffraction de PLA/Alginate à $19,38^\circ$ et $22,71^\circ$ ont disparu, ce qui suggère que la structure cristalline régulière a été perturbée en raison des liaisons hydrogène et l'interaction électrostatique établie entre alginate et PLA [60] et que ce dernier est entièrement dissout et dispersé dans la phase amorphe de l'alginate de sodium quel que soit le taux de chargement [61], qui a rapporté l'existence d'un faible pic large centré à 19° .

La méthode de diffraction des rayons X nous a permis de déterminer le taux de cristallinité des films préparés avec l'alginate de sodium et la poudre d'algue à l'aide d'un logiciel approprié. Les résultats obtenus sont regroupés dans le **tableau III.3**.

Tableau III.3 : Valeurs du taux de cristallinité des films du PLA /Alginate.

Formulations	F0 (PLA vierge)	F5 A	F10 A	F20 A
Taux de cristallinité (%)	44	0,44	0,97	2,48

D'après les résultats du tableau, on remarque que le taux de cristallinité du PLA vierge est de 44 %, un taux bien supérieur à celui des différents films PLA/Alginate. Car on suggère que la charge (Alginate) réagit d'abord dans les régions amorphes de la matrice PLA, meilleure accessibilité. A l'inverse, les difficultés seront plus importantes pour les régions cristallines de structure compacte et ordonnée, ensuite il réagit en bout des chaînes ou en surface des cristallites, entraînant l'ouverture des chaînes liées par liaisons hydrogènes, favorisant ainsi à la formation de la phase amorphe.

Pour les films chargés, le taux de cristallinité augmente avec l'augmentation du taux de charges, d'où ces charges jouent le rôle d'un agent de nucléation, qui accélère le processus de cristallisation.

III.2.2. Analyse thermogravimétrique (ATG).

L'analyse thermogravimétrique a été réalisée pour étudier la stabilité thermique des films préparés. Les courbes TG et DTG du PLA, de l'alginate de sodium et des films chargés à 5 et 20 % de charge sont représentées sur les **Figures III.5 et III. 6**.

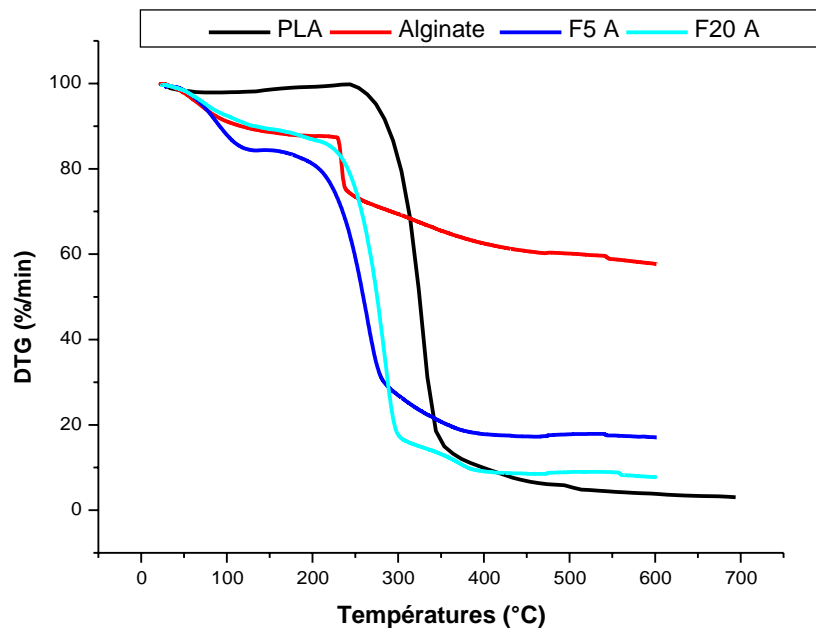


Figure III.5 : Thermogrammes TG des Films PLA/Alginate

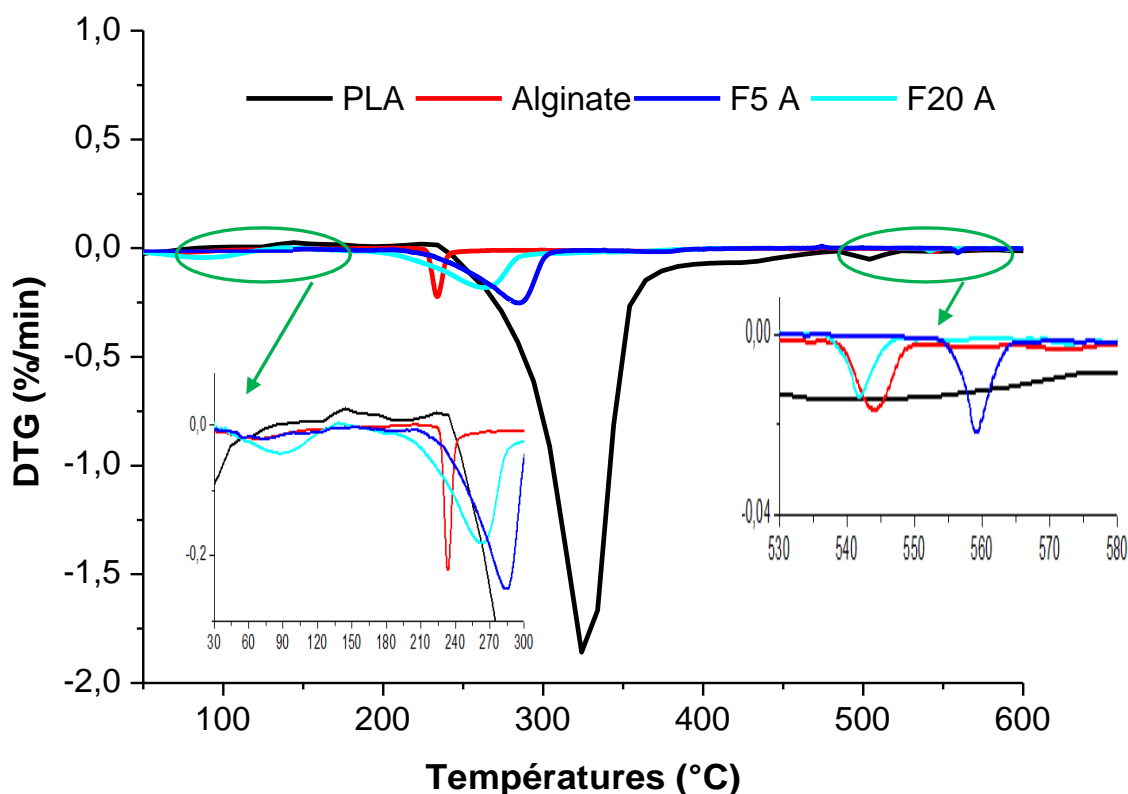


Figure III.6: Thermogrammes DTG des Films PLA/Alginate

Sur le thermogramme TG du PLA, on enregistre un premier palier de stabilité, qui s'étale entre 25°C à 230°C où l'échantillon est stable thermiquement. À partir de la température de début de décomposition qui est estimée à 250 °C, le PLA subit une perte de masse très importante estimée à plus de 92% et elle est attribuée à leur dépolymérisation ou à la décomposition des chaînes de PLA. Au delà de 265°C, un troisième palier de stabilité est enregistré et il correspond à la formation du résidu.

Le thermogramme de la poudre d'alginate présente trois étapes de dégradation. La première étape de perte de poids, entre 50 et 200 ° C, est principalement causée par l'évaporation de l'eau absorbée sur la surface de la fibre et à la rupture des liaisons glycosidiques [62].

La deuxième étape début entre 250 ° C à 450°C correspondant à la décomposition thermique de l'alginate [63]. A ce stade, la poudre d'alginate présente un pic aigu dans la courbe DTG, ce qui pourrait être attribué au chevauchement partiel des différents processus de dégradation tels que la rupture supplémentaire des liaisons glycosidiques, et la

déshydratation des cycles saccharidiques résultant en formation de matériau intermédiaire. La dégradation a laissé environ 58% de résidu de l'alginate à 600 ° C.

La troisième perte de poids de l'alginate entre la gamme 550 à 600°C a été observée uniquement sur les thermogrammes DTG (partie zoomée) mais a été retardée en présence de glycérol sur les thermogrammes TG. La différence est probablement due à l'évaporation du glycérol, qui chevauche partiellement la décomposition de l'alginate dans cette plage de température [64]. Cette étape est due à la dégradation des fragments formés dans la deuxième étape due à l'oxydation des résidus carbonés [65].

Même profile de dégradation pour les films chargés avec 5 et 20 % d'alginate de sodium. A partir des thermogrammes TG-DTG Plusieurs données thermiques ont été tirées et sont résumés dans le **tableau III.4**.

Tableau III.4 : Comparaison des principaux paramètres thermiques des différents échantillons

Composites	Td (°C)	Td (5%) (°C)	Td (50%) (°C)	Tmax de décomposition (°C)	Vmax de décomposition (% /min)	Taux de résidu (%)
PLA	250	275	330	325	2.12	4.8
Alginate	50	80	/	235	0.25	58
F5 A	60	80	260	290	0.26	18
F20 A	55	80	280	262.5	0.23	08

Les échantillons chargés présentaient une température de début de décomposition et des pertes de masse à (5% et 50%) nettement inférieure à celle de la matrice PLA. La vitesse maximale de décomposition diminue avec l'incorporation de l'alginate, et diminue d'avantage avec l'augmentation du taux de charge estimée à 0.23, 0.26 et 2.12 %/min pour les films F20, F5 et PLA respectivement. On remarque aussi un décalage des températures maximales de décomposition vers des valeurs inférieure, signature de la diminution de la stabilité thermique des films à base d'alginate par rapport à la matrice PLA. On remarque aussi que L'analyse (TG) indique également que les films PLA/ alginate génèrent plus de résidus. Des résultats similaires ont été précédemment observés [66], indiquant que la dégradation thermique a été accélérée en présence de l'alginate.

III.2.3. Détermination le taux d'humidité

Le problème majeur de l'utilisation des polysaccharides comme charge dans l'élaboration des matériaux composites est lié à leur sensibilité extrême vis-à-vis de l'humidité, qui provoque une diminution des propriétés. Les résultats du taux d'humidité des films PLA/ Alginate exprimés en pourcentage sont résumés dans le **tableau III.5**.

Tableau III.5: Taux d'humidité des films PLA/ Alginate.

Formulations	F0 (PLA vierge)	Alginate	F5 A	F10 A	F20 A
Taux d'humidité (TH %)	8,24	34,66	10,18	11,11	13,69

Grace à la fonction ester qu'il possède dans sa structure chimique, le PLA absorbe de l'humidité, Mais dans notre cas le film PLA vierge a absorbé plus de 8% d'humidité, une teneur en eau nettement importante qui peu s'expliquer par la présence du glycérol ajouté. En apportant une quantité croissante de groupes hydroxyles supplémentaire par le glycérol qui se lie aux molécules d'eau par des liaisons hydrogènes [67, 68].

Le taux d'humidité de l'alginate de sodium a été estimé 35%, un taux très élevé par rapport au PLA, cela en raison de sa structure chimique natif qui est très riche en groupements hydroxyles (polysaccharides) et à sa capacité de se protoner en milieu aqueux et aussi à la présence du glycérol qui joue le rôle du plastifiant. Cette tendance est en accord avec les études précédemment rapportées sur l'alginate plastifié au glycérol [69]. Dans leur étude, l'alginate plastifié au glycérol s'est avéré présenter une teneur en humidité significativement plus élevée que l'alginate pur. Une telle tendance a également été rapportée pour d'autres polysaccharides tels que l'amidon [70] et le chitosane [71]. Le taux d'humidité a augmenté avec l'augmentation de la teneur en alginate, du à l'augmentation de la quantité des groupements hydroxyles.

III.2.4. Activité antibactérienne

Nous avons utilisé la méthode d'antibiogramme basé sur la diffusion à partir d'un disque solide pour mettre en évidence l'activité antibactérienne de nos films vis-à vis de deux Germes pathogènes, bactérie à gram négatif (*Pseudomonas*), et bactérie à gram positif

(*Staphylococcus aureus*,) après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°C. [72, 73].

a. Lecture des résultats

La lecture des résultats se fait par la mesure des Ø d'inhibition, qui sont représentés par une auréole claire formée autour de chaque disque. Les résultats sont exprimés selon trois niveaux d'activité [74].

- (-) souche résistante ($D < 8 \text{ mm}$)
- (+) souche sensible ($9 \text{ mm} \leq D \leq 14 \text{ mm}$)
- (++) souche très sensible ($15 \text{ mm} \leq D \leq 19 \text{ mm}$)

b. Control positif

Avant de procéder aux tests antibactériens de nos films, un test préliminaire à control positif s'avère nécessaire d'être présenté afin de permettre à nos lecteurs de bien comprendre la suite. La figure IV-6 présente une zone d'inhibition pour un test positif sur la *Staphylocoque aureus*, les halos claires autour des disques traduisent des zones inhibitrices importantes et témoignent de l'efficacité de ces produits contre la stimulation de cette bactérie. Ces photos seront utilisées comme témoins à la suite de ce travail.

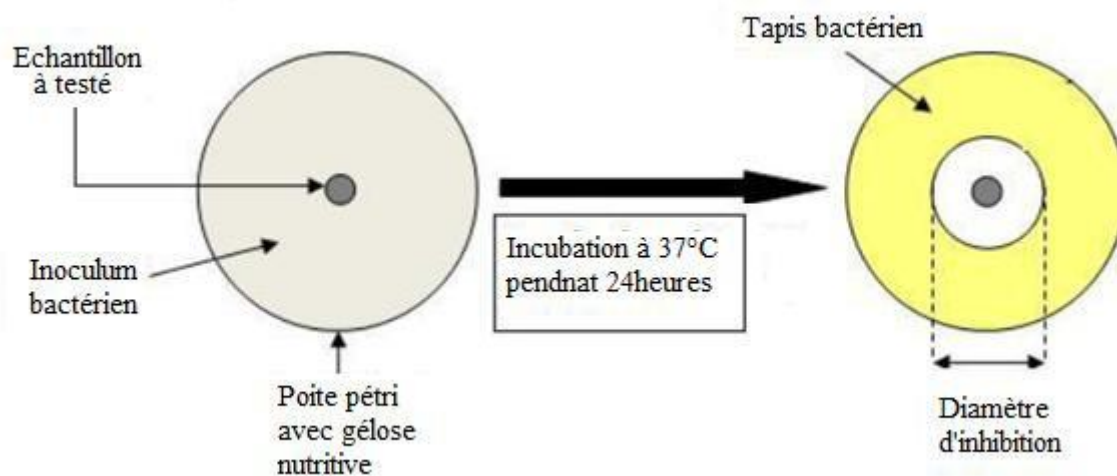


Figure III.7 : principe de la méthode de diffusion sur disque « Control positif »

c. Matériaux utilisés comme agents antibactériens

Les échantillons testés sont les films à base d'alginate de sodium et de la poudre d'algue brute pour des taux 5, 10 à 20 %. Ils sont utilisés, dans cette partie, comme des agents antibactériens en raison de tester leurs sensibilités contre les deux bactéries choisies. Les

figures (III.8, III.9 et III.10) présentent l'effet de nos différents films sur les deux bactéries testées.

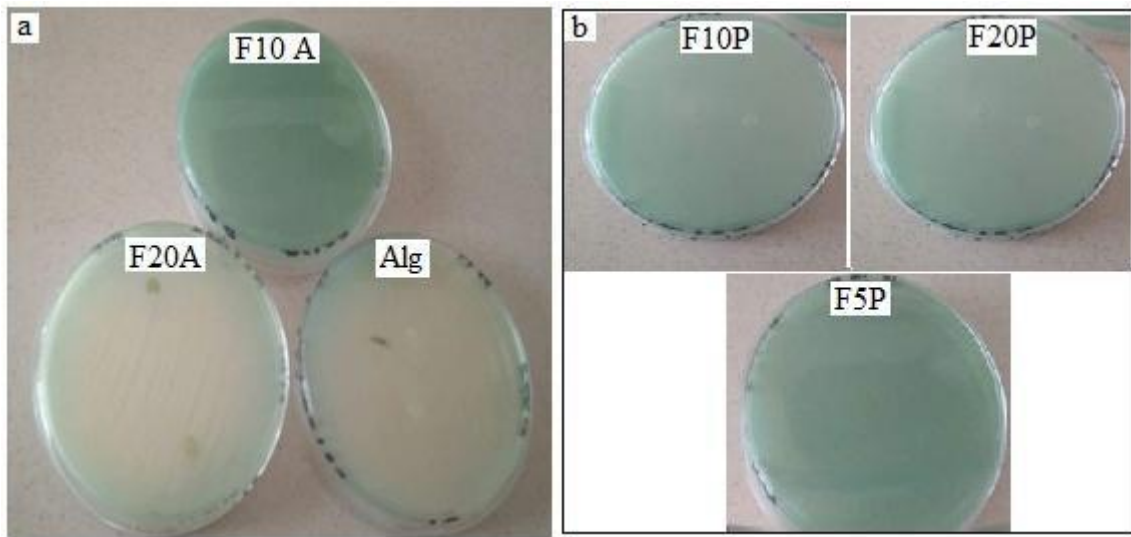


Figure III.8 : Effet des Films sur la bactérie *Pseudomonas*. a) Films PLA Alginate, b) Films PLA /Poudre d'algue

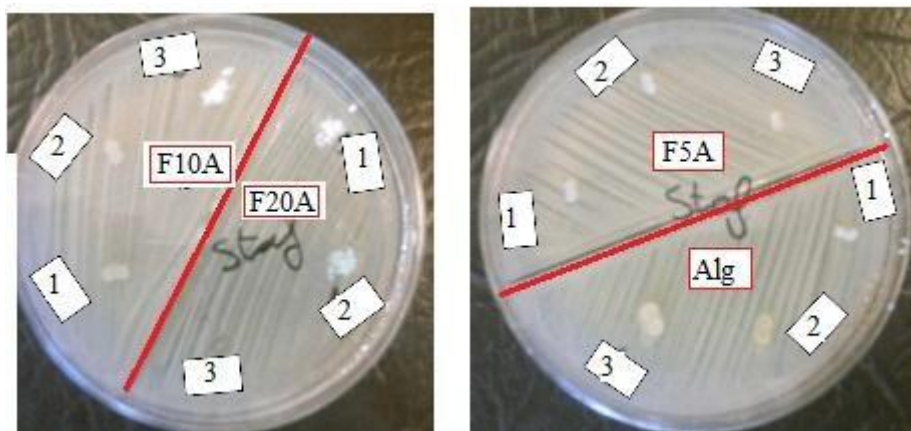


Figure III.9 : Effet des Films PLA /Alginate sur la bactérie *Staphylococcus aureus*

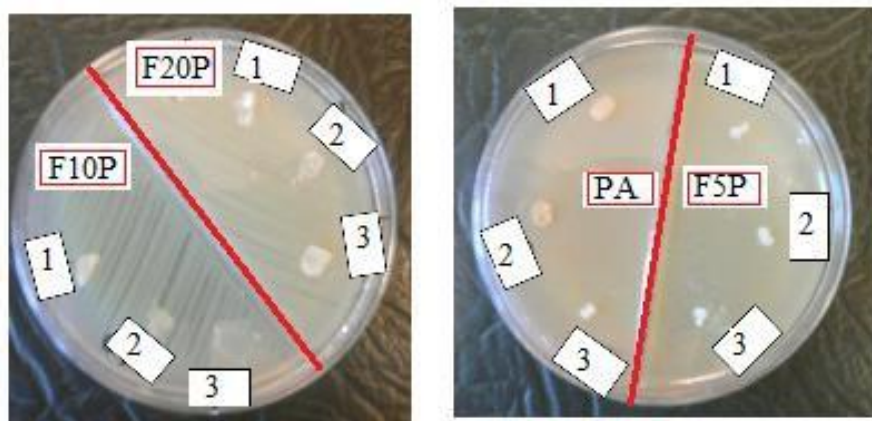


Figure III.10: Effet des Films PLA/ Poudre d'algue sur la bactérie *Staphylococcus aureus*

d. Lecture des résultats

Selon les photos numériques présentées sur les figures III.8 jusqu'au III.10, nous constatons qu'aucune activité n'a été décelée de nos produits sur les deux espèces utilisées. En fait, un test positif, doit être illustré par des halos clairs tout autour du produit testé alors que des zones sombres témoignent d'un phénomène de stimulation des bactéries. Nos produits ne montrent aucun de ces deux effets et donc ne se présentent pas comme le meilleur candidat pour l'inhibition. Néanmoins, les différents matériaux ne stimulent pas, de même, la croissance des bactéries.

Cowan (1999) [75] explique que les films dépourvus des groupements hydroxyles libres ont plus d'activité antimicrobienne par rapport à ceux qui possèdent, ce qui conduit à une augmentation de leur affinité chimique aux lipides membranaires. En fait, cette sensibilité est en relation avec le nombre des hydroxyles libres dont on constate que les films les moins hydroxylés sont les plus actifs.

Des travaux antérieurs ont montré l'effet inhibiteur de l'alginate sur des bactéries type Staphylocoque dorée et E. Coli. Toute fois, la souche utilisée dans notre étude est une souche de Staphylocoque Aureus, une variété très pathogène et plus virulente [76], ont constaté que l'extrait méthanolique de l'algue brune de types *Halopteris scoparia* et *Dictyopteris polypodioides* est actif vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et inactif à l'égard de *Pseudomonas*.

Plusieurs facteurs peuvent être à l'origine de cette non activité, dans des études antérieures [77, 78], certains auteurs que ces facteurs sont liés aux types et à la nature des substances bioactives produites à la variabilité intra spécifique de la production de métabolites

secondaires liée à des variations saisonnières, aux protocoles et aux solvants d'extraction, ainsi qu'à la différence des méthodes utilisées pour évaluer l'activité antibactérienne.

III.2.5. Activité antifongique

Les espèces fongiques sont susceptibles de coloniser les aliments et d'en altérer les qualités (diminution de la valeur nutritionnelle, détérioration du caractère organoleptique) et production de toxines. L'activité antifongique a été évaluée par la méthode d'antibiogramme basé sur la diffusion à partir d'un disque solide. Deux types de champignons ont été testés sur nos films à savoir : le « *Penicillium* » et le « *Botrytis* » après 48 heures d'incubation à une température adéquate de 40°C. Les résultats sont illustrés sur les figures III.11 et III.12 et regroupés sur le tableau III.6.

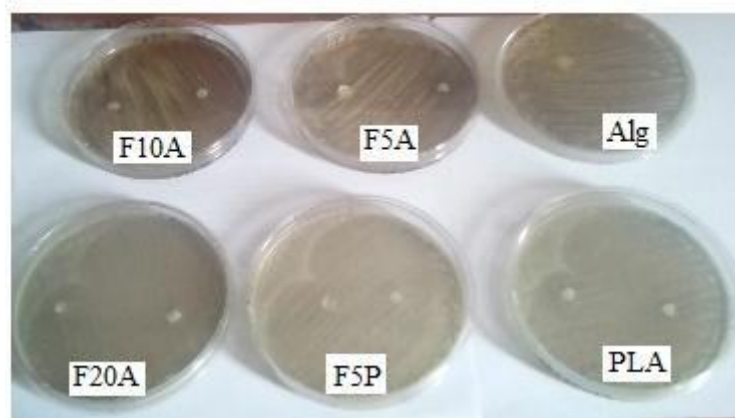


Figure III.11 : Effet des Films PLA/ Alginate sur le champignon *Botrytis*

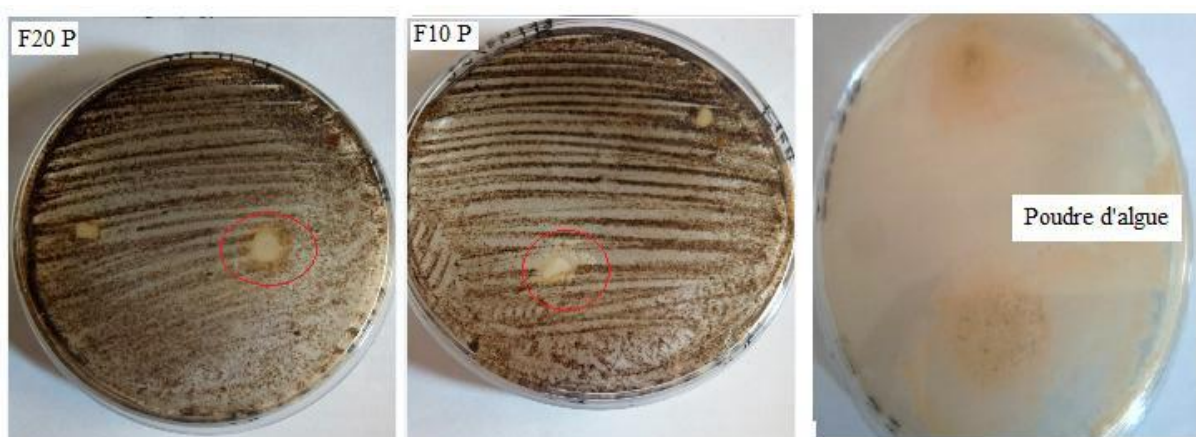


Figure III.12 : Effet des Films PLA/ Poudre d'algue sur le champignon *Penicillium*.

Tableau III.6 : Effet des films PLA/Alginate et PLA /poudre d'algue sur les champignons *Penicillium* et *Botrytis*.

Les films testés	Champignons	
	<i>Penicillium</i>	<i>Botrytis</i>
F0	-	-
Extrait d'alginate	-	-
F5 A	-	-
F10 A	-	-
F20 A	-	-
Poudre d'algue	+	-
F5 P	-	-
F10 P	+	-
F20 P	+	-

L'étude de l'activité des films, vis-à-vis des champignons *Penicillium* et *botrytis* montre que tous les films étudiés sont inactifs sur le champignon « *botrytis* » (**figure III.11**), mais les films à 10 et 20% de la poudre d'algue ainsi que la poudre elle-même présentent un effet inhibiteur sur le champignon *penicillium* (**Figure III.12**), Cette inhibition est probablement due aux substances actives présentes dans la poudre d'algue à savoir, les protéines, les lipides, les polyphénols qui sont extrêmement actives vis-à-vis de ce champignon [79]. Des études on montré que des extraits d'algue brune induisent une inhibition marquée de certains champignons tels que le *penicillium* et *Aspergillus fumigatus* [80]. Une analyse chromatographique montre que ces extraits renferment des substances de nature terpénique responsables de l'activité inhibitrice obtenue [80].

Conclusion générale

Conclusion générale

Suite à notre étude portée sur la valorisation de la biomasse marine dans la conception de biomatériaux à base d'extrait d'algue brune (alginate de sodium) et d'une matrice PLA. Les conclusions tirées de cette étude sont :

✚ La teneur en alginate de l'espèce *Dictyopterus polypodioides* estimé à 30%, s'avère très prometteuse et avoisine celles de certaines alginophytes trouvés dans la littérature comme *Laminaria dégitata* (22-36 %PS), espèce la plus étudié.

✚ Les masses molaires des alginates extraits d'algues marines varient généralement entre environ 50 000 g/mol et 200 000 g/mol. On constate que la masse molaire de notre échantillon d'alginate se situe dans ce l'intervalle avec une valeur de 117 931,48 g/mole.

✚ L'analyse par spectroscopie IRTF de l'alginate de sodium isolé confirme bien la haute teneur en acide uronique du polysaccharide et la présence des résidus d'acide α -L-guluronique, signature que l'extraction à bien réussie.

✚ L'état amorphe de l'alginate de sodium à été confirmé par le spectre DRX.

Quant aux films PLA/ Alginate on peut conclure que :

✚ La diffraction des rayons X a montré que le PLA utilisé est un semi cristallin avec un taux de cristallinité de 44%, l'introduction de l'alginate dans la matrice PLA perturbe le réseau cristallin en raison des interactions établie entre alginate et PLA, car ce dernier est entièrement dissout et dispersée dans la phase amorphe de l'alginate de sodium. L'augmentation du taux d'alginate induit une augmentation du taux de cristallinité par effet de nucléation de cette charge.

✚ L'analyse thermogravimétrique montre clairement que la dégradation thermique a été accélérée par la présence de l'alginate et que les films PLA/ alginate génèrent plus de résidus.

✚ Le taux d'humidité à augmenté avec l'augmentation de la teneur en alginate, du à l'augmentation de la quantité des groupements hydroxyles présent dans la structure de l'alginate

✚ nous constatons qu'aucune activité n'a été décelée de nos produits sur les deux souches bactériennes testées à savoir : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas*. Quant à l'activité, vis-à-vis des champignons, Les films sont inactifs sur le champignon « *botrytis* », mais les films à 10 et 20% de la poudre d'algue ainsi que la poudre d'algue pur elle-même présentent un effet inhibiteur sur le champignon penicillium.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- [1]: Person J, lando D, mathiu D, 2010. Algues, filières du future : livre turquoise. Adebioihech.
- [2]: Siracusa V, Rocculi P, Romani S, et al, 2008. Biodegradable polymers for food packaging: a review. Trends in Food Science & Technology 19(12): 634-643.
- [3]: Peggy Vauchel. (2007). Optimisation de procédés innovants pour l'obtention de phycolloïdes. Thèse de doctorat. Université de Nantes,
- [4]: Isabelle Goujon. (2004). Les Alginates : excipients d'origine marine utilisés dans l'industrie pharmaceutique. Application à la synthèse d'un gel chimique. Thèse de doctorat. Université Henri Poincaré - Nancy I,
- [5]: Tebbal, A., (2011). Composition chimique et minérale de quatre algues benthiques de la région de Kouali (Tipaza). Mémoire de magister. Ecole nationale supérieure des sciences de la mer et de l'aménagement du littoral
- [6]: Richard Lapointe. (2012). Bioplastiques biodégradables, compostables et biosourcés pour les emballages alimentaires, distinctions subtiles mais significatives. Thèse de doctorat. Centre Universitaire de Formation en Environnement, Université de Sherbrooke,
- [7]: [S.Grima, (2002) «biodégradation de matériaux polymères a usage agricole ». Thèse de doctorat présentée à l'université de Toulouse
- [8]: Gupta, A.P., Kumar, V. (2007). New emerging trends in synthetic biodegradable polymers-poly lactide: A critique. European polymer journal, 43(10), 4053-4074.
- [9]: Raclot C. (2008);[on line] *cours chimie organique* ; www.chimix.com,
- [10]: Chen G-Q., Wu Q. The application of polyhydroxyalkanoates as tissue engineering materials .Biomaterials 2005;26:6565-6578.
- [11]: Ulery, B.D., Nair, L. S., Laurencien, C.T. (2011). Biomedical applications of biodegradable polymers. Journal of polymer science part B: Polymer Physics, 49(12), 832-864.
- [12]: Hao, Y.P., Ge, H.H., Ham, L. J., Dong, L.S, Sun, S.L. (2013). Thermal and mechanical properties of polylactide toughened with a butyl acrylate-ethyl acrylate –glycidyl methacrylate copolymer. Chinese Journal of polymer Science, 31(11), 1519-1527.
- [13]: Bew H. 2005; Biodégradabilité et matériaux polymères biodégradables ; Direction des Energies Renouvelables, des Réseaux et des Marchés Energétiques ; note de synthèse I

- [14]: Boudjema Hayet Latifa (2016). Elaboration de matériaux composites biodégradables issus de ressources renouvelables thèse de doctorat université d'Oran
- [15] : Michel c. (2000) Algues-opéron. Biologi module 1, diversité des algues et les plantes.
- [16] : Hervé B (2012) Ulves Valorisation Nutrition Santé Gen 2 Bio Lorient.
- [17] : Garon-Lardiere, S., 2004 Etude Structural des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonne maisoniale université de Limoges).
- [18]: Samaraweera A.M., Vidanarachchi J.K. et Kurukulasuriya M.S. (2011). "Industrial Applications of Macroalgae". Handbook of Marine Macroalgae, John Wiley & Sons, Ltd. **33**: 500-521
- [19]: Cabioc'h J., Floc'h J.Y., Toquin A.L., Boudouresque C.F., Meinesz A. et Verlaque M. (2006). "Guide des algues des mers d'Europe." Delachaux et Niestlé. 272 pp.
- [20]: Marfaing, H, 2004 les algues dans notre alimentation: Intérêt nutritionnel et utilisation Revue et nutrition pratique. Di et ecom Bretagne CEVA.
- [21]: Rorrer, G...L, Cheney, D, P, 2004. Bioprocess engineering of cell and tissue cultures for marine seaweeds aquaculturel engineering.
- [22]: Marianne Renoir, 2017. Les algues, source de beauté et de bien-être, https://www.lexpress.fr/styles/soins/les-algues-source-de-beaute-et-de-bienetre_1889539.html
- [23]: Wajahatullah K., Rayirath U., Subramanian S., Jithesh M., Rayorath P., Hodges D.M., Critchley A., Craigie J., Norrie J. et Prithiviraj B., 2009. "Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development." Journal of Plant Growth Regulation 28 (4): 386-399.
- [24]: Cayla M, 1995. Découvrez des algues propriétés applications recettes. Editions Chiron
- [25]: Stanford E.C.C., 1883. On algin: a new substance obtained from some of the commoner species of marine algae. Chemical News, 47, 254 et 267.
- [26]: Evans L.R. & A. Linker. 1973. Production and characterisation of the slime polysaccharide of *Pseudomonas aeruginosa*. Journal of Bacteriology, 116, 915-924.
- [27] : Michoud L., 2001. Synthèse de la communication réalisé par Laurent de ISP Alginates lors de polymex. Algorithme n° : 55 3ème trimestre b2001 p 4 et 5.
- [28] : Kloareg B. & R.S. Quatrano. 1988. Structure of the cell walls of marine algae and ecophysiological functions of the matrix polysaccharides. Oceanography and Marine Biology. An Annual Review, 26, 259-315.
- [29]: Carturan G., Campostrini R., Tognana L., Boninsegna S., Dal Toso R. & Dal Monte R. 2006. Gas-phase silicon alkoxide reactivity vs. Na-alginate droplets for conjugation of Alginate and sol-gel technologies. Journal of Sol-Gel Science and Technology, 37, 69-77
- [30]: JP. Flandrois, 2000. Bactériologie Médicale. Coll Azay. Puf. .

- [31]: K. Rhayour.2002. Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium fortuitum*. Thèse de doctorat, Université Mohamed Ben Abdellah, faculté des sciences, Dhar Mehraz-Fés
- [32] : T. Marc ; W. Gerard, L. Denis, 2001. Classification des anti-inflammatoires in Guide pharmacologie. Étudiants et professionnels paramédicaux.4ème Edition, p 426.
- [33] : Heart T. Shears P. Atlas de poche de microbiologie. Médecine-Sciences-Fla Evans L.R. & A. Linker., 1973. Production and characterisation of the slime polysaccharide of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 116, 915-924.
- [34]:T. Beveridge, 2006, *J.TOURNAL Bacteriology*, 181, p 4725-4753, 1999.
- [35]: Yanzhi Xia, Xihui Zhao, Qun Li, Xiaomei Ma, Fengyu Quan , Jianping Wang (2015).The preparation of alginate–AgNPs composite fiber with green approach and its antibacterial activity. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 24 188–195
- [36]: *Bacteria in Biology*, 1999.Biotechnology and Medecine, 6th edition.
- [37]: Guo Tong, Ma Yulong, Guo Peng, Xu Zirong, 2005. *Veterinary Microbiology* 105, 113-122.
- [38] : Souad Ghali, Juin 2017. Nanotechnologie et Emballages Alimentaires : Enjeux, Acteurs et Impacts (mémoire).Université Du Québec à Montréal.
- [39] : Basak Yilin Colok, 2014. Utilisation du caséinate de sodium pour la fabrication actifs pour l'emballage alimentaire: Etude des propriétés barrières aux gaz, de l'activité antimicrobienne de la biodégradation (thèse), L'université Saint-Etienne
- [40] : Bureau, G., Multon, J ; 1989. L'emballage des denrées alimentaire de grandes consommations. Technique et documentation .Lavoisier . Paris.322
- [41] : Heibrunn, B.Barré, B, 2012 .Le packagig .paris : presses universitaire de France "que sais-je».128p.
- [42] : Feigenbaum A. Multon & Bureau ed. – Lavoisier, 1996 .Evaluation de la migration des matériaux plastiques au contact des aliments, par des méthodes alternatives, dans l'emballage des denrées alimentaires de grande consommation
- [43]: Gaquerel S. et Costes R., 2004, DGCCRF, Note d'information n°2004-64 (communicable au 82 sens de la loi du 17 juillet 1978) du ministère de l'économie, des finances et de l'industrie, Matériaux en contact des denrées alimentaires.
- [44] : Cécilia Berlinet, 2006. Etude de l'influence d'emballage et de la matrice sur la qualité de jus d'orange (thèse), l'école Nationale supérieure des industries Agricoles et Alimentaires (ENSIA).

- [45] : Torres M. R., Sousa A. P. A., Silva Filho E. A. T., Melo D. F., Feitosa J. P. A., de Paulab R. C. M., Lima M. G. S., *Carbohydr. Res.* 342 (2007) 206-710
- [46] : Vold, 2006 I.M.N. Vold, K.A. Kristiansen, B.E. Christensen, A study of the chain stiffness and extension of alginates, in vitro epimerized alginates, and periodate-oxidized alginates using size-exclusion chromatography combined with light scattering and viscosity detectors. *Biomacromol.* 7: 2136-2146.
- [47] : Pérez R, 1997 Ces algues qui nous entourent : Conception actuelle, rôle dans la biosphère, utilisations, culture ifremer.272
- [48] : Miller I. J., 1996, *Phytochem.*(41) 1315.
- [49] : Chandía N. P., Matsuhira B., Vásquez A. E., 2001. *Carbohydr. Polym.* (46) 81.
- [50] : Bouzid W,yahia M ,Abdeddaim M ,Aberka, Mc et Ayachi A ,2011.Evaluation de l'activite qntioxydante et antimicrobienne des extraits de l'aubépine monogyne ,lebenese science journal .12,59-69.
- [51]: Ivana Lourenço de Mello Ferreira, Marcia Parente Melo da Costa, Marcia Cerqueira Delpech. (2017). Evaluation of single-point equations to determine intrinsic viscosity of sodium alginate and chitosan with high deacetylation degree. *Polymer Testing* 63 427-433
- [52]: Bahram Goliaei, Zahra Habibi Kelishomi, Hossein Mahdavi. (2016). Antioxidant activity of low molecular weight alginate produced by thermal treatment. *Food Chemistry* 196 897–902
- [53] : Paşcalău, et al, 2012, Paşcalău, V., Popescu, V., Popescu, G. L., Dudescu, M. C., Borodi, G., Dinescu, A., Perhaița, I., & Paul, 434 M. (2012). The alginate/k-carrageenan ratio's influence on the properties of the cross- linked 435 composite films. *Journal of Alloys and Compounds*, 536(1), 418-423
- [54]: Matet, M., Heuzey, M.-C., Pollet, E., Aji, A., & Avérous, L, 2013; Innovative thermoplastic chitosan 423 obtained by thermo-mechanical mixing with polyol plasticizers. *Carbohydrate Polymers*, 95(1), 424 241-251.
- [55]: Fenoradosoa T. A., Ali G., Delattre C., Laroche C., Petit E., Wadouachi A., Michaud P. (2010). *J. App. Phycol.* 22 131
- [56]: Silverstein R. M, Webster F. X, 1991. Spectrometric identification of organic compounds. Sixth. 21
- [57]: Mathlouthi M., Koenig J. L. Adv, 1989. *Carbohydr. Chem. Biochem.* 44 p 22
- [58]: M. Mihai, M.A. Huneault, B.D. Favis, H. Li, (2007). Extrusion foaming of semicrystalline PLA and PLA/thermoplastic starch blends, *Macromol. Biosci.* 7 907-920.

- [59]: Mohammed Mizanur Rahman, Romana Nasrin , Shanta Biswas , Taslim Ur Rashid , Sanjida Afrin. (2017). Preparation of Chitin-PLA laminated composite for implantable Application. *Bioactive Materials* xxx 1-9
- [60]: Hend E. Salama, Mohamed S. Abdel Aziz, Magdy W, 2018. Sabaa; Novel biodegradable and antibacterial edible films based on alginate and chitosan biguanidine hydrochloride *Biological Macromolecules*, doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.04.183
- [61]: ZHANG, C., GAO, D., MA, Y. and ZHAO, X, 2013. Effect of Gelatin addition on properties of pullulan films. *J. Food Sci.*78, C805–C810
- [62] X. Tang, S. Alavi, (2011). *Carbohydr. Polym.* 85 7–16.
- [63]: Azeredo, H. M. C., Miranda, K. W. E., Rosa, M. F., Nascimento, D. M., & de Moura, M. R., 2012. 380 Edible films from alginate-acerola puree reinforced with cellulose whiskers. *Lwt-Food Science and Technology*, 46(1), 294-297.
- [64]: Phetwarotai, W., Potiyaraj, P., & Aht-Ong, D, 2012. Characteristics of biodegradable 440 polylactide/gelatinized starch films: Effects of starch, plasticizer, and compatibilizer. *Journal of Applied Polymer Science*, 126, E162-E172
- [65]: Liu, Y., Zhang, C.-J., Zhao, J.-C., Guo, Y., Zhu, P., & Wang, D.-Y, 2016. Bio-based barium alginate film: Preparation, flame retardancy and thermal degradation behavior. *Carbohydrate Polymers*, 139, 106-114.
- [66]: Xie, F., Pollet, E., Halley, P. J., & Avérous, L, 2013. Starch-based nano-biocomposites. *Progress in Polymer Science*, 38 (10-11), 1590-1628
- [67]: Talja, R. A., Helen, H., Roos, Y. H., & Jouppila, K, 2007. Effect of various polyols and polyol contents on physical and mechanical properties of potato starch-based films. *Carbohydrate Polymers*, 458 67(3), 288-295.
- [68]: Schmid, M, 2013. Properties of cast films made from different ratios of whey protein isolate, 449 hydrolysed whey protein isolate and glycerol. *Materials*, 6, 3254-3269.
- [69]: Olivas, G. I., & Barbosa-Canovas, G. V, 2008. Alginate-calcium films: Water vapor permeability and 431 mechanical properties as affected by plasticizer and relative humidity. *Lwt-Food Science and Technology*, 41(2), 359-366
- [70]: Avérous, L., & Boquillon, N, 2004. Biocomposites based on plasticized starch: thermal and 373 mechanical behaviours. *Carbohydrate Polymers*, 56 (2), 111-122
- [71] : Epure, V., Griffon, M., Pollet, E., & Avérous, L, 2011. Structure and properties of glycerol-plasticized 398 chitosan obtained by mechanical kneading. *Carbohydrate Polymers*, 83(2), 947-952

- [72] : Carson c.f. hammer k.a. et riley t.v, 1995. Broth microdilution method for determining the susceptibility of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Microbios*, 82: 181.
- [73]: Cavallo j. d, chardon h, chidiac. choutet p., courvalin p.,dabernat h., drugeon h., dubreuil l., goldstein f., jarvalier v., nicolas-chanoine., pnlipon a., quentin c., rouveix b., sirot j., et soussy c.j, 2006. Communiqué de la comité française de l'antibiogramme. Société française de microbiologie. ed : de janvier
- [74]: Bansemir A, Blum M, SchröderS et Lindequist U, 2006. Screening of cultivated seaweeds for antibacterial activity against fish pathogenic bacteria. *Aquaculture*. 252, 79-84
- [75]: Cowan MM, 1999. Plant products as antimicrobial agents. *American Society for Microbiology*, 12 Suppl 4: 12-14.
- [76] : Gonzàlez et Silva, 2001. Biodiversidad química de macroalgas marinas En: *Sustentabilidad de la biodiversidad un problema actual*. Primera edición. Alveal K y T. Antezana (Eds.): Universidad de Concepción de Chile, pp. 415-496
- [77] : Manivannan K, Thirumaran G, Devi GK, Hemalatha A, Anantharaman P et Balasubramanian T, 2009. Proximate composition of different group of seaweeds from Vedalai coastal waters (Gulf of Mannar): Southeast coast of India. *Middle-East Journal of Scientific Research*. 4 Suppl 2: 72-77.
- [78]: Rajasulochana P, Dhamotharan R, Krishnamoorthy P et Murugesan S, 2009. Antibacterial Activity of the extracts of marine red and brown algae. *Journal of American Science*. 5 Suppl 3: 20-25.
- [79]: Reichelt J. L., Borowitzka M. A. Antimicrobial activity from marine algae: Result of a large screening programme. *Hydrobiol*. 1984, 116/117: 158-168.
- [80]: Moreau J., Pesando D., Caram B, 1984. Antifungal and antimicrobial screening of dictyotales from the French Mediterranean Coast. *Hydrobiol*, 116/117: 521-524.

Résumé

L'emballage alimentaire est le premier secteur demandeur en matière plastique. L'objectif de ce travail consiste à la valorisation de la biomasse marine par l'extraction de l'alginate de sodium à partir des algues brune de *Dictyopteris polypodioides* et la conception d'un nouveau matériau à base d'extrait d'algue et d'un polymère biodégradable qui est le PLA pour des applications en emballage alimentaire. Des films ont été préparés à base du PLA et poudre d'alginate de sodium (10, 20 et 30% en poids). Le rendement en alginate de sodium est environ 30% et les analyses IRTF et DRX confirment bien la haute teneur en acide uronique du polysaccharide et le caractère amorphe de l'alginate, signature que l'extraction a bien réussie. Aucune activité n'a été décelée de nos produits sur les deux souches bactériennes testées (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas*) et aussi vis-à-vis du champignon « *botrytis* », mais les films à 10 et 20% de la poudre d'algue ainsi que la poudre d'algue présentent un effet inhibiteur sur le champignon penicillium.

Mot clés : les algues, biodégradable, extraction, *Dictyopteris polypodioides*

Abstract

Food packaging is the first plastic applicant sector. The objective of this work is to valorize marine biomass by extracting sodium alginate from the brown algae of *Dictyopteris polypodioides* and designing a new material based on seaweed extract and a biodegradable polymer which is PLA for food packaging applications. Films were prepared based on PLA and sodium alginate powder (10, 20 and 30 % wt). The yield of sodium alginate is approximately 30% and the FTIR and XRD analyzes confirm the high uronic acid content of the polysaccharide and the amorphous nature of the alginate, a signature that has been successfully extracted. No activity was detected of our products on the two strains tested bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas*) and also vis-à-vis the fungus "botrytis", but the films with 10 and 20% of the powder of algae and that seaweed powder has an inhibitory effect on the penicillium fungus.

Key words: the algae, biodegradable, extraction, *Dictyopteris polypodioides*.