



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA – Bejaia
Faculté de Technologie
Département de Génie des Procédés

Mémoire de Fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme MASTER en Génie des procédés
Option : polymère et composites

Thème

Elaboration Et Caractérisation D'un Polymère Naturel
Antibactérien

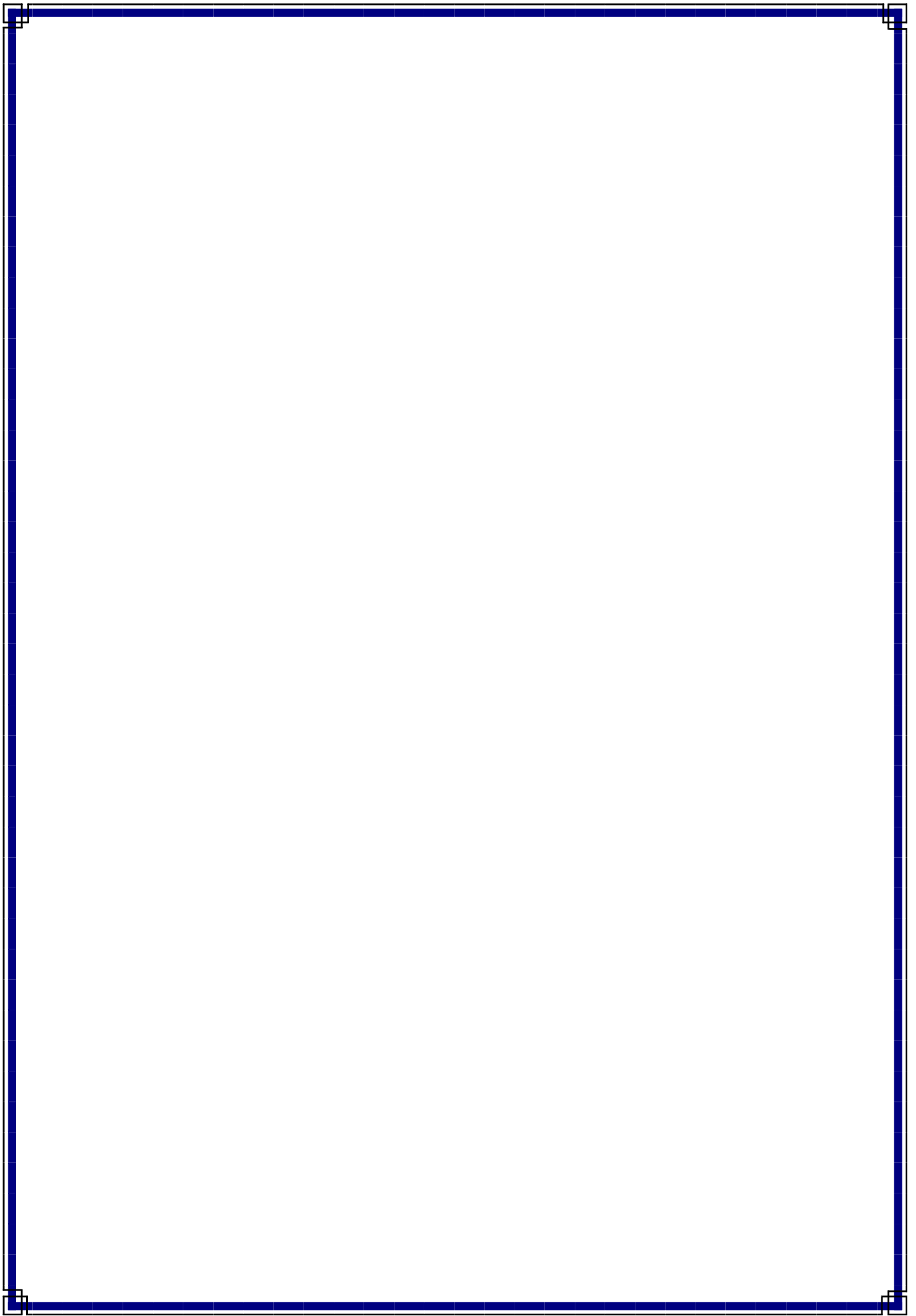
Présenté par :

- AYOUDJ Saoussa
- BAHOUCE Hassiba

Encadré par :

Pr : H. DJIDJELLI
Et Mr. A.CHENNI

Promotion 2014-2015



REMERCEMENT

Nous remercions tout d'abord Dieu pour tous ce qu'il nous offre le courage, la patience et qui a guidé nos pas vers le savoir et qui nous a donné la force de concevoir ce travail.

Nous exprimons notre profonde gratitude au notre promoteur Professeur H. DJIDJLLI, et pour le Co-promoteur Mr A. CHENNI pour tous les efforts qu'ils ont consentis tout au long de l'élaboration de ce modeste travail. Leurs encouragements, leurs précieux conseils et la confiance qu'ils ont toujours témoignée ont été d'une grande aide.

Nous tenons à remercier Monsieur et madame les membres de jury :

Pr A. BOUKERROU, Dr N. CHIBANI et Dr S. NEDJMA d'avoir accepté de juger et d'examiner ce travail

Ce travail a été effectué au laboratoire des matériaux polymères avancés du département de génie des procédés ; Faculté des sciences et technologie de l'université de Bejaia, nous tenons à remercier le Pr A. BOUKKEROU ; à qui nous avons adressé nos sincères remerciements pour nous avoir accepté au sein de sont laboratoire.

Nous tenons à remercier particulièrement nos parents qui nous ont encouragés durant les moments difficiles de notre travail.

Dédicace

Au Nom de Dieu Clément et Miséricordieux.

C'est avec un grand plaisir que je dédie ce modeste travail à la plus proche qui m'a beaucoup encouragé à poursuivre le bon chemin, qui ma donné l'amour, la tendresse et la volonté, c'est grâce à toi, chère maman.

Je dédie ce travail à mon père qui ma donné tendresse et volonté.

A mes frères MENAD, HOUSSAM et surtout AYMEN.

A mes sœurs NAIMA, SOUNIA, leurs enfants AXCEL, FERAL et RAYEN et ma petite sœur MISSILA.

Je dédie ce travail à mon cher fiancé SALIM et sa famille.

A mon binôme SAOUSSA et sa famille.

A toutes mes amies KAHINA, DJAMILA, SILIA.

B. Hassiba

Dédicace

Je dédie Ce travail à :

- ***A mes très chers parents***
- ***A mon cher époux Rafik***
- ***A mes petits princes Dhya, Anis, Ramzi***
- ***A mes chers frères et ma chère sœur et a sont mari***
- ***A toutes ma famille surtout ma grand mère***
- ***A mon binôme Hassiba et pour sa famille***
- ***A tout mes amis surtout la promotion de Génie des Polymères***

A. Saoussa

Liste des abréviations

ABS : Acrylonitrile Butadiène Styrène.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ARN : Acide ribonucléique.

ATG : Analyse thermogravimétrique.

CEN: Comité Européen de Normalisation.

Chit : Chitine.

CS : Chitosane.

DA : Degré d'acétylation.

DD : Degré de désacétylation.

DRX : Diffraction des rayons X.

Icr : Indice de cristallinité.

IRTF : Infrarouge à transformé de Fourier.

PA: Polyamides.

PCL : Polycaprolactones.

PE: Polyéthylènes.

PEA : Polysteramide.

PEBD: Polyéthylène à bases densité.

PEHD: Polyéthylène à haute densité.

PET : Polyéthylène téréphtalate.

PGA : Acide polyglycolique.

PHA : Polyhydroxyalcanoate.

PHB : Poly β -hydroxy Butyrate.

PHBV : Polyhydroxyvalerate.

PLA : Polyacide lactique.

PLGA: Acide polylactique-Co-glycolique.

PMMA :Polyméthacrylate de méthyle.

PP: Polypropylènes.

PS : Polystyrène.

PUR: Polyuréthane.

PVC: Polychlorure de vinyle.

RMN : Résonance magnétique nucléaire.

TD: Thermodurcissables.

T_f : Température de fusion.

T_g : Température de transition vitreuse.

TMC : Thermo- Mechano-chemical.

TP : Thermoplastiques.

W : Teneur en eau.

Liste des figures

Figure 1 : Classification des polymères biodégradables.

Figure 2 : Structures chimiques de la chitine.

Figure 3 : Fabrication de la chitine et de ses dérivés.

Figure 4 : Structure chimique du chitosane.

Figure 5 : Structure moléculaire du polyacide lactique.

Figure 6 : Structure de l'acide D-lactique ; structure de l'acide L-lactique.

Figure 7: Réaction de polycondensation de l'acide lactique.

Figure 8 : Synthèse du lactide le dimère cyclique de l'acide lactique.

Figure 9: Les différents isomères du lactide.

Figure 10: Etats métastables du PLA amorphes selon WITZKE.

Figure 11: Différentes applications de PLA.

Figure 12: Carapaces de crevettes avant et après prétraitement.

Figure 13 : Procédé d'extraction de la chitine.

Figure 14: Conversion de la chitine en chitosane par désacétylation.

Figure 15: Viscosimètre capillaire d'Ubbelohde.

Figure 16: L'appareillage de FTIR.

Figure 17 : La machine de DRX expert prof panalytical.

Figure 18: L'appareillage ATG

Figure 19: Film chitosane pur

Figure 20 : Films de PLA pur.

Figure 21: Préparation des films de Chitosane pur (A), de PLA pur (B) et leur mélange (C).

Figure 22: Films de mélanges Chitosane/ PLA à différents pourcentages.

Figure 23: Films de mélanges PLA / chitosane à différents pourcentages.

Figure 24: Les photographies de la chitine extraite dans une solution acide acétique de 1%.

Figure 25: Les photographies du chitosane extrait dans une solution acide acétique de 1%.

Figure 26 : Structure chimique du chitosane.

Figure 27: Variation de la viscosité spécifique (η_{sp}) en fonction de la concentration du chitosane extrait.

Figure 28: Spectre FTIR de la chitine extraite.

Figure 29: Spectre FTIR de la chitine Commerciale.

Figure 30: Structure linéaire de la chitine.

Figure 31: Spectre FTIR du chitosane extrait.

Figure 32: Spectre FTIR du chitosane commercial.

Figure 33: Spectre FTIR de chitosane extrait.

Figure 34: Spectre FTIR de la chitine extraite.

Figure 35: Spectre de DRX de la chitine extraite et commerciale.

Figure 36: Spectre de DRX du Chitosane extrait et commercial.

Figure 37: Thermogrammes ATG de la chitine Commerciale.

Figure 38: Thermogrammes ATG de la chitine extrait.

Figure 39: Thermogrammes ATG de chitosane extrait.

Figure 40: Film du chitosane pur.

Figure 41 : Films du PLA pur.

Figure 42: Films de mélanges Chitosane/ PLA à différents pourcentages.

Figure 43: Films de mélanges PLA / Chitosane à différents pourcentages.

Figure 48: Le spectre FTIR de PLA pur et du Chitosane pur.

Figure 49: Spectres FTIR des films chitosane / PLA avec différents pourcentages.

Figure 50: Diffraction des rayons X des films du chitosane pur et des différents pourcentages.

Figure 51: Formation des liaisons hydrogène intermoléculaires entre Composants de PLA et du Chitosane dans les mélanges

Figure 52: Les photographies des coupons du chitosane / PLA avec différents pourcentages avec la souche de S- aureus.

Figure 53: Les photographies des coupons du chitosane / PLA avec différents pourcentages avec la souche de E coli.

Figure 54: Les photographies des coupons du chitosane / PLA avec différents pourcentages avec la souche de Salmonella.

Figure 55: Les photographies des coupons du chitosane / PLA avec différents pourcentages avec la souche de Listeria innocua.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques des thermodurcissables.

Tableau 2. Caractéristiques des thermoplastiques.

Tableau 3 : Applications de quelques polymères usuels.

Tableau 4 : Arrangement des chaînes dans les trois formes de chitine.

Tableau 5 : Sources potentielles de chitine.

Tableau 6 : Les applications de la chitine et chitosane.

Tableau 7: Produits chimiques utilisés dans l'extraction de la chitine.

Tableau 8: Valeurs de 'a' correspondant aux différentes conformations du polymère.

Tableau 9: Les différents solvants et constantes reliées à l'équation de Mark-Houwink.

Tableau 10: Différente formulation de Chitosane /PLA.

Tableau 11: Différent formulation de PLA / chitosane.

Tableau 12: Les résultats de la chitine extraite et du chitosane extrait.

Tableau 13: Résultats d'analyse de teneur en eau de la chitine et du chitosane.

Tableau 14: Résultats d'analyse de teneur en cendre de la chitine et du chitosane.

Tableau 15: Les concentrations ainsi les viscosités et les temps d'écoulements.

Tableau 16: Valeurs de la viscosité intrinsèque (σ) et la masse moléculaire moyenne du chitosane extrait.

Tableau 17: Principales bandes d'absorption IR de la chitine et leurs groupements attribuées.

Tableau 18: Principales bandes d'absorption IR du chitosane et leurs groupements attribuées.

Tableau 19: Le degré désacétylation DD (%) de la chitine et du chitosane (extrait et commerciales).

Tableau20: L'indice de cristallinité de la chitine et du chitosane (extrait et commercial).

Tableau 21: Perte d'eau et de masse des différents échantillons.

SOMMAIRE

Remerciements
Liste des tableaux
Liste des figures
Introduction générale

Chapitre I : Généralités sur les polymères

I.1 Notions sur les polymères.....	3
I.1.1 Définition d'un polymère.....	3
I.1.2 Classification des polymères.....	3
I.1.3 Propriétés et application.....	5
I.2 Notions sur les polymères biodégradables.....	5
I.2.1 Définition d'un polymère biodégradable.....	5
I.2.2 Classification des polymères biodégradables.....	6
I.2.3 Application des polymères biodégradables.....	8
I.3 Notion sur les biopolymères.....	8
I.3.1. Définition d'un biopolymère.....	8
I.3.2. Avantages et inconvénients des biopolymères.....	9
I.3.2.a. Les principaux avantages des biopolymères.....	9
I.3.2.b. Inconvénients des biopolymères.....	9
I.3.3. Classification des biopolymères.....	9
Références Bibliographiques	

Chapitre II : Généralités sur la chitine, chitosane et sur polyacide lactique(PLA)

II. Historique et découverte de la chitine et chitosane.....	10
II.1. La chitine.....	11
II.1.1. La structure de la chitine.....	11
II.1.2. La source de la chitine.....	12
II.1.3. la production de la chitine et ses dérivées.....	13
II.1.3.1. La méthode chimique.....	14
A. Déminéralisation.....	14
B. Déprotéinisation.....	14
C. Blanchiment.....	15

SOMMAIRE

II.1.3.2. La méthode biologique	15
II.2. Le chitosane.....	15
II.2.1. Structure du chitosane.....	15
II.2.2. La production du chitosane.....	16
II.3. Propriétés de la chitine et le chitosane.....	17
II.4. Application de la chitine et du chitosane.....	20
II.5. Le Polyacide lactique (PLA).....	22
II.5.1. Obtention du PLA.....	23
II.5.2. Méthodes de synthèse du Polyacide lactique (PLA).....	23
II.5.3 Propriétés du Polyacide lactique.....	25
II.5.4. Applications du Polyacide lactique.....	27
Références Bibliographiques	

Chapitre III : Partie Expérimentale

I. Extraction et caractérisation de la chitine et du chitosane	29
I.1. Matériaux et méthodes utilisées.....	29
I.2. Prétraitement des carapaces de crevettes.....	30
I.3. Extraction et déacétylation de la chitine pour la préparation du chitosane.....	31
I.3.1. Extraction de la chitine.....	31
A. Déminéralisation.....	31
B. Déprotéinisation	32
C. Blanchiment.....	32
I.3.2. Déacétylation de la chitine.....	33
I.4. Techniques de caractérisation.....	34
I.4.1. Teneur en eau et en cendre	34
I.4.2. Test de solubilité.....	35
I.4.3. Mesure de la masse viscosimétrique Moyenne.....	35
I.4.4. Analyse spectrale.....	38
I.4.4.1. Infrarouge à transformé de Fourier (IRTF).....	38
I.4.4.2. Diffraction des rayons X (DRX).....	41
I.4.5. Analyse thermique	42
I. 4. 5.1. Analyse thermogravimétrique (ATG).....	42
II. Elaborations et caractérisations des films composites	43
II.1. Matériaux utilisés.....	43
II.2. Protocole expérimental.....	44
II.2.1. Elaboration des films de chitosane pur.....	44

SOMMAIRE

II.2.2. Elaboration des films PLA pur.....	44
II.2.3. Elaboration des films Chitosane / PLA.....	45
II.3. Test antibactérien des films élaborés.....	48
Références Bibliographiques	

Chapitre V: Résultats et discussions

Conclusion Générale.....	73
Références Bibliographiques	

Introduction

Les Polymères biodégradables issus des ressources renouvelables sont généralement classés en trois catégories selon leur nature chimique, leur mode de productions ou leur mécanisme de dégradation :

- Issu de ressource naturelle (renouvelable, non renouvelable) (PLA, PCL).
- Issu de micro-organisme (PHA).
- Issu d'agro-ressource (polysaccharide).

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

Les polysaccharides simples ou complexes synthétisés par des organismes vivants entrent dans la composition de la plupart des cellules (microbiennes, animales et végétales). Ces polysaccharides sont constitués de 100 à 1000 motifs D-glucopyranose reliés entre eux par des liaisons acétal. Les polysaccharides ont des propriétés physico-chimiques remarquables qui aboutissent à de nombreuses applications industrielles dans l'agro-alimentaire, la médecine, le domaine cosmétique, l'industrie papetière...etc.

Donc les polysaccharides constituent les biopolymères les plus utilisés et les plus répandus. Parmi ces biopolymères, on cite l'amidon de maïs, la cellulose et le chitosane.

Le chitosane est un polymère linéaire de *N*-acétyl-D-glucosamine et de D-glucosamine liés en β (1-4). Il est biocompatible et peut être biodégradé. Ce polysaccharide est obtenu par la désacétylation de la chitine. Aujourd'hui, la chitine est le deuxième polysaccharide le plus important et le plus abondant dans la nature après la cellulose. Elle est principalement extraite de la carapace de crustacés et aussi présente dans les champignons et chez les insectes. Le degré d'acétylation (DA) est une caractéristique essentielle de la chitine et du chitosane. Il représente la fraction d'unités *N*-acétyl-D-glucosamine par rapport au nombre total d'unités sucrées. Le chitosane a des propriétés intéressantes, telles que son caractère filmogène, sa non toxicité et ses propriétés antimicrobiennes, capables d'inhiber la croissance d'une large gamme de pathogènes alimentaires.

Le PLA est le polymère le plus largement utilisé. C'est un thermoplastique produit par fermentation à partir de ressources renouvelables. Il peut également être synthétisé soit par polymérisation par condensation d'acide lactique ou par polymérisation par ouverture de cycle du lactide en présence d'un catalyseur.

L'emballage alimentaire est celui qui présente la croissance la plus élevée. C'est de là que découle notre intérêt pour le développement d'un nouvel emballage alimentaire biodégradable. Notre choix est porté sur la préparation d'un composite PLA et le chitosane.

Malgré l'incompatibilité du PLA et du CS, leur mélange est d'un grand intérêt pour les chercheurs vu ses différentes propriétés telles la biodégradabilité, la biocompatibilité, l'activité antimicrobienne, etc. Les efforts ne cessent d'être déployés pour synthétiser le mélange de PLA et de CS selon différentes techniques, dépendamment de l'application visée. Le mélange a été réalisé en utilisant la voie en solution ou casting.

Le mémoire est structuré comme suit :

Le premier chapitre sera consacré à une synthèse bibliographique afférent notre étude.

Le deuxième chapitre est concerné par la présentation de quelques généralités sur la chitine, le chitosane et sur polyacide lactique (PLA).

Le troisième chapitre c'est la partie pratique où les méthodes expérimentales, sont représentées les différentes matières premières, et les techniques de caractérisation.

Le quatrième chapitre sera consacré à la discussion des résultats obtenus

Une conclusion générale sera donnée à la fin du mémoire et par laquelle nous récapitulerons succinctement les différents travaux entrepris dans ce mémoire et mettrons en valeur les principaux résultats obtenus.

I.1 Notion sur les polymères

➤ Définition d'un polymère

Le terme polymère vient du grec "polus" plusieurs et "meros" parties, ce qui signifie qu'il s'agit d'une structure ayant une architecture le plus souvent linéaire (chaîne de polymère) ou tridimensionnelle (réseau tridimensionnel) constituée par l'enchaînement covalent de plusieurs unités chimiques de répétitions ou motifs unitaires. La différence avec une grosse molécule quelconque provient de cette répétition de molécules identiques ou similaires et constituant une chaîne ou une portion de chaîne [1].

➤ Classification des polymères

Les polymères peuvent être classés comme suit :

a) Les thermodurcissables (TD)

Les thermodurcissables sont des polymères constitués d'un réseau macromoléculaire tridimensionnel obtenu par la réaction de réticulation (liaisons covalentes) sous l'effet de la chaleur ou d'un durcisseur ; une fois durci il devient infusible et insoluble, c'est une réaction irréversible. Les différents composants chimiques (les adjuvants) rajoutés à cette résine permettent de contrôler la viscosité, la réaction chimique de réticulation de la pâte ainsi que son retrait lors de la cuisson [2].

Parmi les thermodurcissables on cite :

- ✓ Les epoxydes
- ✓ Polyesters insaturés
- ✓ Les phénoliques

Le tableau suivant nous donne quelques exemples des polymères thermodurcissables et leurs caractéristiques :

Tableau 1: Caractéristiques des thermodurcissables [2].

Polymère	Masse spécifique (Kg /dm ³)	Résistance à la traction (MPa)	Module de Flexion (GPa)
Polyester	1,2	50-65	3
Phénolique	1,2	40-50	3
Epoxyde	1,1-1,4	50-90	3
Polyuréthane	1,1-1,5	20-50	1
Polyamide	1,3-1,4	30-40	4

b) Les thermoplastiques (TP)

La structure des thermoplastiques se présente sous formes de chaînes non liées (libres), il faut les chauffer pour les mettre en formes, les chaînes se ramollissent et les refroidir pour les bloquer. Cette opération est réversible. Ils sont solubles, recyclables.

Parmi les thermoplastiques usuels, on cite les suivants :

- ✓ Les polyamides (PA)
- ✓ Le polychlorure de vinyle (PVC)
- ✓ Les polyéthylènes (PE)
- ✓ Les polypropylènes (PP)

Le tableau suivant nous donne quelques exemples des polymères thermoplastiques et leurs caractéristiques [3].

Tableau 2: Caractéristiques des thermoplastiques [3].

polymère	Résistance à la traction (Mpa)	Module d'Young (Mpa)	Allongement à la rupture %
PP	77-100	6,3-8,9	200-700
PEHD	55-100	2,4-7,1	20-1000
PEBD	11-63	0,55-2,2	50-800
PVC	27-63	13,8-23,7	200-450
PS	35-70	2,30-3,30	1-3
PMMA	50-90	2,25-3,25	2-6

c) Les élastomères

Sont des composés macromoléculaires linéaires de grande souplesse, avec des liaisons pontales entre elles. Ces liaisons chimiques forcent les molécules à revenir à leurs longueurs initiales après une déformation et on dit qu'ils ont un comportement caoutchouteux [4].

Parmi ces élastomères on peut citer :

- ✓ Polyisoprène
- ✓ Polybutadiène
- ✓ Polyisobutylène

➤ Propriété et application des polymères

Les polymères sont utilisés essentiellement pour leur souplesse, pour leur facilité de mise en forme, pour leur légèreté, pour leurs propriétés isolant de surface. Le tableau suivant nous indique quelques applications des polymères usuels.

Tableau 3 : Applications de quelques polymères usuels.

Polymères	Usages
Polystyrène (PS)	Ordinateurs, cassettes audio et vidéo...
Polyuréthane (PUR)	Semelles de chaussures de sport...
Polypropylène (PP)	Meubles de jardin, téléphones...
Poly Chlorure de vinyle (PVC)	Cartes de crédit, tubes, tuyaux...
Polyéthylène à bases densité (PEBD)	Sacs, sacs-poubelles, flacons...
Polyéthylène à haute densité (PEHD)	Bouteilles, tuyaux, poubelles ...

I.2 Notion sur les polymères biodégradables

Dans la nature, les matériaux polymères peuvent subir une dégradation par l'action d'agents biologiques, chimiques et/ou physiques (mécaniques).

Généralement, ces voies interviennent de manière concomitante dans le processus de dégradation [5].

Selon les facteurs conduisant à la modification de la structure moléculaire du polymère et par conséquent à la détérioration des propriétés macroscopiques, on parlera d'une dégradation chimique (oxydation, hydrolyse), physiques (photo dégradation, thermo dégradation) ou biologique qui implique une action enzymatique et/ou une décomposition chimique causée par les organismes vivants (bactéries, champignons, levures, insectes, ...) ou par leurs produits de sécrétions [6].

I.2.1. Définition d'un polymère biodégradable

Un polymère biodégradable est un polymère qui est digère entièrement par les micro-organismes définis comme des bactéries, des champignons ou des algues [6].

Le terme dégradation désigne de manière générale toutes les altérations d'origine chimique et/ou physique qu'un matériau est susceptible de subir.

D'après le Comité Européen de Normalisation(**CEN**), la notion de dégradation est décrite Comme suit :

« La dégradation est un processus irréversible entraînant un changement significatif dans la structure du matériau, ce changement est classiquement caractérisé par une perte des propriétés initiales (poids moléculaire, structure moléculaire, résistance à la traction) et/ou une fragmentation. La dégradation est affectée par les paramètres environnementaux et se déroule en une ou plusieurs étapes. » [7].

I.2.2. Classification des polymères biodégradables

Les Biopolymères diffèrent suivant leur nature chimique, leur mode de productions ou leur mécanisme de dégradation. On peut les classés suivant leur mode de production.

❖ Biopolymères issus d'agro-ressources

Ils se forment à l'intérieur des cellules des végétaux par des mécanismes métaboliques complexes. Il s'agit principalement des polysaccharides (Cellulose, Amidon, chitine...) et des protéines. Ces polymères sont très abondants dans la nature et leur coût reste modéré [8].

❖ Biopolymères issus de micro-organismes

Ils sont synthétisés par fermentation de matière première d'origines naturelles, puis excrétés ou stockés par des microorganismes.

❖ Biopolymères issus de la biotechnologie

Ce sont des polymères dont les monomères sont produits par des bactéries. Une fois le monomère extrait, le polymère est synthétisé par voie chimique classique.

Suivant l'origine des matières premières et des voies de synthèse, différentes classifications de polymères biodégradables sont proposées. La figure ci-dessous permet de distinguer deux grandes familles de polymères biodégradables: Les agro-polymères et les polyesters biodégradables [8, 9, 10].

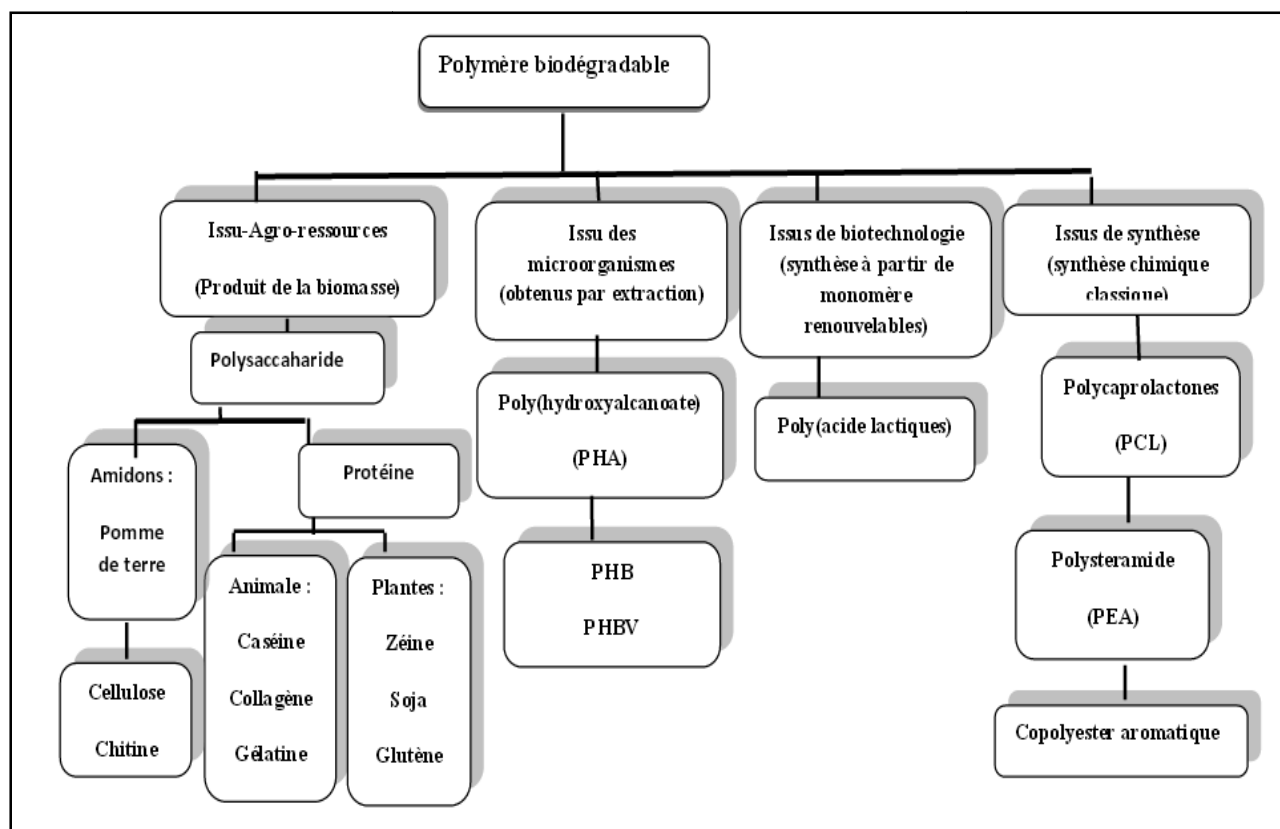


Figure 1: Classification des polymères biodégradables [8, 9, 10].

Les agro-polymères sont directement extraits de la biomasse et sont fabriqués à partir de polymères naturels d'origine végétale ou animale. La famille la plus importante est celle des polysaccharides (glucides) comme l'amidon, la cellulose, la lignine ou des protéines comprenant la caséine, le gluten ou le collagène qui sont sujets actuellement à de nombreux travaux. On retrouve ces polymères dans le bois, la viscose, la cellophane et dans toutes les fibres textiles d'origine naturelle (coton, lin, sisal...) [8, 11].

Les polyesters biodégradables sont, soit produits par des microorganismes, soit issus de monomères bio-dérivés ou de la pétrochimie, les polyesters se divisent en deux grands groupes, les polyesters aliphatiques et les polyesters aromatiques. Alors que les polyesters aromatiques classiques tel que le polyéthylène téréphtalate (PET) présentent d'excellentes propriétés (résistance aux chocs, à la traction ...).

Les polyesters aliphatiques bio-sourcés, en revanche, sont facilement biodégradables, mais leurs propriétés mécaniques sont parfois insuffisantes pour certaines applications. La plupart des polyesters aliphatiques synthétiques sont synthétisés à partir des diols et des acides dicarboxyliques par l'intermédiaire d'une polymérisation de condensation [12].

I.2.3. Applications et propriétés des polymères biodégradables

Les premières applications des polymères biodégradables sont médicales (sutures chirurgicales, greffes vasculaires, dispositifs de fixation d'os, etc.), où leurs coûts élevés peuvent être compensés par une haute valeur ajoutée. Par exemple pour le PLA, le PGA (acide polyglycolique), le PLGA (acide polylactique-Co-glycolique), leurs propriétés de biocompatibilité (sans effets indésirables sur l'environnement biologique) et de biorésorbabilité (décomposition naturelle dans l'organisme humain) associées à leur résistance mécanique sont très importantes pour assurer les fonctions attendues dans ce domaine [13,14]. Ces biopolymères ne présentent aucune toxicité pour l'organisme.

La plupart des polymères biodégradables comportent des liaisons hydrolysables telles que amide, ester, acétal, anhydride etc. La présence de fonctions chimiques sur les molécules leur attribue des propriétés particulières et des facilités à réagir avec d'autres molécules [13].

I. 3 Notions sur le biopolymères

Un biopolymère est défini comme un polymère biosourcé et/ou biodégradable [15]. Le terme biosourcé signifie qu'il est issu de ressources agricoles ou de résidus de cultures.

La production mondiale de biopolymère en 2003 était supérieure à 250 000 tonnes et avoisinait les 550 000 tonnes en 2005. La part de marché de ces matériaux correspondait en 2005 à 0,3% de l'ensemble des polymères alors qu'il n'était que de 0,03% en 2000.

On peut répartir l'utilisation des biopolymères suivant la filière d'exploitation de la façon suivante :

- Sac de compostage (38%).
- Emballages alimentaires (6%).
- Agriculture (6%).
- Autres : emballages non alimentaires, récipients de produits cosmétiques, prothèses médicales, etc. (50%) [16].

Les biopolymères ont pour vocation de remplacer les polymères thermoplastiques de grande diffusion (polyoléfines, PVC, PS,...) afin de faciliter le recyclage et la gestion de fin de vie des matériaux.

I.3.2. Avantages et inconvénients des biopolymères

I.3.2.a. Les principaux avantages des biopolymères

- Neutralité en termes de cycle CO₂.
- Gestion de fin de vie facilitée par le compostage.
- Panel varié de biopolymères disponibles.
- Issus de ressources abondamment renouvelables.
- Transformables par le processus traditionnels (extrusion, extrusion gonflage, injection, thermoformage).
- Haute valeur ajoutée.

I.3.2.b. Inconvénients des biopolymères

- Prix de vente élevé (cout+faible production).
- Propriétés physiques parfois limitées.
- Flou normatif et législatif concernant la notion de biodégradabilité (secteur du polymère peu structuré internationalement).
- Compostage industriel des déchets bio-polymériques peu développé.
- L'inconvénient majeur de ces biopolymères est leur cout de revient élevé, avoisinant 7.5 €/Kg [17].

I.3.3. Classification des biopolymères

Les biopolymère peuvent être classés en trois grandes catégories :

✓ **Polymères naturels**

Ils proviennent directement des ressources naturelles (végétale ou animale). Nous pouvons citer par exemple la cellulose, les alginates, la laine ou la soie.

✓ **Polyesters synthétisés par les microorganismes**

Ces polymères sont obtenus par fermentation directe en présence de microorganismes (exemple : polyhydroxyalkanoates).

✓ **Polymères synthétiques – polyesters aliphatiques**

Ils sont synthétisés à partir de monomères issus de pétrole ou de ressources agricoles. Dans le premier cas, les monomères proviennent des produits de distillation du pétrole. C'est le cas du poly (ϵ -caprolactame) qui est biodégradable, d'où sa classification parmi les biopolymère.

Dans le second cas, les monomères sont obtenus par fermentation. C'est le cas de l'acide poly (lactique), PLA, qui est biosourcé et biodégradable [18].

II. Historique et découverte de la chitine et du chitosane

En général, le chitosane obtenu se présente sous la forme d'un solide amorphe ayant une couleur orange brûlée. La chitine a été isolée pour la première fois à partir d'un champignon en 1811 par le chimiste français Henri Braconnot qui l'appelle fungina [19]. Toutefois, c'est en 1823 qu'Auguste Odier isole le même résidu insoluble et le nomme chitine, du terme grec signifiant tunique (enrobage) [20].

En 1859, C. Rouget obtient une chitine modifiée par traitement avec de la potasse concentrée à température élevée : un produit soluble dans les solutions aqueuses acides, baptisé Chitosane ou chitosane par le chimiste allemand Félix Hoppe-Seyler en 1894[21]. En 1879, Ledderhose a proposé de produire la chitine avec de la glucosamine et de l'acide acétique. Cette composition chimique a été confirmée par E. Gilson en 1894[20].

La chitine, le chitosane et la cellulose ont été confondus pendant longtemps. En 1886, Tiemann confirma la présence d'un groupement amine sur le carbone 2 de la configuration D-glucose du chitosane. Ce n'est qu'en 1912 que Barchet von Furth conclurent que la chitine était un N- acétyl -D glucosamine polymérisée [22].

Les recherches ont commencé à partir des années 1930. A cet effet, on peut signaler les 9 brevets pris en 1936 par G.W.Rigby, employé de la société du pont de Nemours et Co. Cependant, les recherches ont véritablement démarré après la seconde guerre mondiale, (dès 1950) ces biopolymères de glucosamine ont été principalement appliqués dans le domaine médical et le traitement des eaux usées. Mais ce n'est qu'en 1970 que ces polymères ont commencé à susciter un réel intérêt en raison notamment des grandes quantités de déchets que produisaient les conserveries de crustacés. Le premier congrès international de chitine-chitosane a eu lieu aux Etats-Unis(Boston) en 1977 [23].

Les travaux de Muzzarelli durant l'année 1980, ont considérablement amélioré la compréhension de ces matériaux. Aujourd'hui, on connaît que la chitine et le chitosane, appelés aussi substances chitineuses, sont des sources renouvelables et abondantes dans la nature, elles font l'objet de plusieurs études et ont retenu l'attention en tant que candidat pour plusieurs applications en médecine (anti tumoral, antiviral, antimicrobien, relargage de principes pharmaceutiques...), dans le traitement des eaux [24] en biotechnologie, etc. [21]. La 10^{ème} conférence internationale sur la chitine et le chitosane (10th ICCCE-Euchis'2004) qui

s'est tenue en septembre 2006 à Montpellier a montré l'importance de la communauté des scientifiques intéressés par la chitine à travers le monde, une autre conférence à Venise en 2009.

II.1. La Chitine

La chitine est le biopolymères naturel le plus abondant dans la nature après la cellulose, est un polysaccharide de couleur blanche [25]. Dur et non élastique, un élément structurel important des téguments de certains invertébrés .Elle n'existe que sous la forme de complexes avec des protéines et des minéraux. La chitine est présente aussi dans certaines levures et bactéries.

II.1.1. Structure de la chitine

La chitine est un polysaccharide linéaire formé d'unités de N-acétyl Glucosamines liées entres elles par des liens glycosidiques de type B (1 $\rightarrow$ 4).

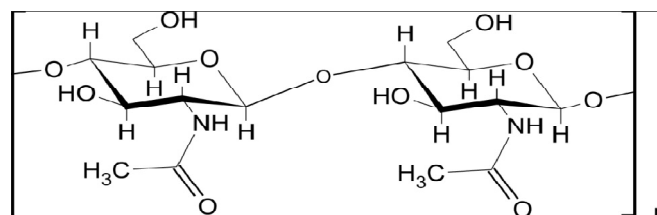


Figure 2 : Structure chimique de la chitine.

❖ Cristallographie de la chitine

La chitine est fortement cristalline possédant des chaines bien ordonnées et selon la source d'extraction elle se trouve sous formes α , β , et γ chitine.

α -chitine est extraite des carapaces des crevettes, des crabes, des homards et dans les carapaces de crustacés bivalves tels que les palourdes et les huîtres.

La forme α constituée de chaines antiparallèles [26]. Représente la forme la plus répandue et la plus stable dans la nature des arthropodes [27].

La forme β est caractérisée par un alignement parallèle des chaines polyccharidique [28] représente la forme la moins stable et la plus dégradable de la chitine [29].

Elle est rencontrée chez les mollusques tels que les calmars, les cocons d'insectes ainsi que la paroi des champignons [30].

La forme γ constituée d'un mélange de chaînes parallèles et antiparallèles est rencontrée dans l'estomac du calmar loligost [30]. Et les cocons d'insectes [31].

Ses différents formes liées à la chitine peuvent être distinguer les une des autres par différents techniques d'analyses à savoir la spectroscopie IR, la DRX et l'RMN en phase liquide. Ces formes différent dans leurs arrangements de chaînes dans les régions cristallins comme c'est présenté sur le tableau suivant :

Tableau 4 : Arrangement des chaînes dans les trois formes de chitine.

Forme	Arrangement des chaînes	Schématisation
Chitine- α	Antiparallèle	↓ ↑ ↓ ↑ ↓ ↑
Chitine- β	Parallèle	↑ ↑ ↑ ↑ ↑ ↑
Chitine- γ	Deux parallèles pour une antiparallèle	↑ ↑ ↓ ↑ ↑ ↓

II.1.2. Source de la chitine

La chitine est présentée dans la plupart des familles des espèces vivantes, et constitue le polymère de structure des cuticules de tous les arthropodes, l'endosquelette de tous les céphalopodes, et les carapaces de crustacés. On peut également trouver la chitine dans la matrice extracellulaire de la plupart des champignons etc. [32].

La chitine est un polysaccharide de couleur blanche, dur et non élastique, elle n'existe que sous la forme de complexes avec des protéines et des minéraux (calcaire et phosphate de calcium) [33].

Le tableau suivant montre les écarts qui existent selon les ressources disponibles pour produire la chitine.

Tableau 5 : Sources potentielles de chitine [34].

Sources de chitine	Teneur en chitine
Champignon	5-20
Les scorpions	30
Les agaignées	38
Les cafards	35
Les crevettes	40
Le crabe ermite	69
Crabe marbré	10
Crabe rouge	10
Homard	17

II.1.3. La production de la chitine et de ses dérivés

De nombreuses méthodes ont été développées afin de préparer la chitine qui principalement extraite de carapace de crustacés tels que le homard, les crevettes. Ces méthodes consistent à éliminer les éléments minéraux (déminéralisation), les protéines (Déprotéinisation) et la couleur (blanchiment) [35]. La matière première doit être traitée dès que possible après son obtention pour limiter la dégradation microbologique et enzymatique qui réduit le rendement en chitine.

Suivant la source exploitée, la chitine est produite par les méthodes suivantes : la méthode chimique et la méthode biologique ou enzymatique [36].

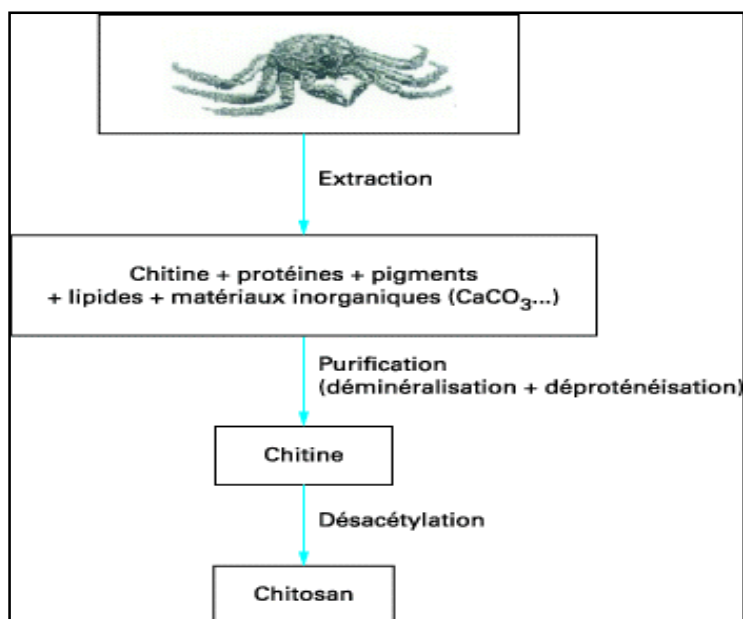


Figure 3 : Fabrication de la chitine et de ses dérivés.

II.1.3.1. La méthode chimique

L'extraction de la chitine fait appel à utilisation des acides et des bases elle est basée sur les trois étapes : La première étape est de broyer finement les carapaces des crevettes ou des crabes, la source principale de la chitine [36]. La deuxième étape est la Déprotéinisation suivie de la déminéralisation et en fin la purification [37].

A. Déminéralisation

Généralement réalisée à température ambiante par un traitement à la présence de l'un des acides (HCL, HNO₃, H₂SO₄, CH₃COOH et HCOOH) [38]. Le plus utilisé est l'acide chlorhydrique(HCL) afin de dissoudre le CaCO₃ Le produit légèrement rose obtenu est la chitine [34].

B. Déprotéinisation

A l'état naturel, la chitine se présente en association avec les protéines, ces dernières sont éliminées par un traitement basique en utilisant une des bases suivantes : Na₂CO₃, NaHCO₃, KOH, K₂CO₃, Ca(OH)₂, NaHSO₃ et CaHSO₃ [38]. En général en utilisant des solutions à base de NaOH ou KOH. La température est comprise entre 50 et 110°C et la durée peut varier de 1h à plus de 24h [39] et ces deux paramètres sont liés.

C. Blanchiment

Les pigments caroténoïdes sont extraits avec l'acétone, l'éthanol ou les agents oxydants (KMnO_4 , NaOCl , SO_2 , ou H_2O_2). Le blanchiment doit être effectué plus d'une heure pour aboutir à un produit blanc acceptable commercialement [34,37].

II.1.3.2. La méthode biologique

Ces méthodes sont réalisées par voie enzymatique en cultivant des bactéries protéolytiques sur les surfaces des carapaces pour la dégradation des protéines, la fermentation avec l'acide lactique peut être aussi utilisée comme méthode biologique d'extraction de la chitine. Dans ce processus l'acide lactique produit va dissoudre les carbonates de calcium contenu dans les carapaces ; une matière liquide est produite, à partir de laquelle les protéines, la chitine et les pigments sont obtenus [36].

II.2 Le chitosane

Le chitosane, dérivé de la chitine, est peu répandu dans la nature. il se trouve dans certains champignons, les zygomycètes, et dans la paroi de certaines algues vertes.

Le chitosane est un polyaminosaccharide naturel, non toxique, biodégradable et biocompatible [40].

Le chitosane est bio-adhésif et peut se lier aux surfaces biologiques riches en glycosaminoglycannes tel que le cartilage [41]. Finalement, son abondance dans la nature rend sa production intéressante à la fois du point de vue monétaire et écologique [42].

II.2.1. Structure du chitosane

Le chitosane est un enchainement de monomères B-D-glucosamine reliés par une liaison glycosidique β (1 $\rightarrow$ 4) [42].

En fait, le terme chitosane est donné à tout copolymère formé d'unités constitutives N-acétyl-D-glucosamine et D-glucosamine, dont le degré d'acétylation est inférieur à 50% [44].

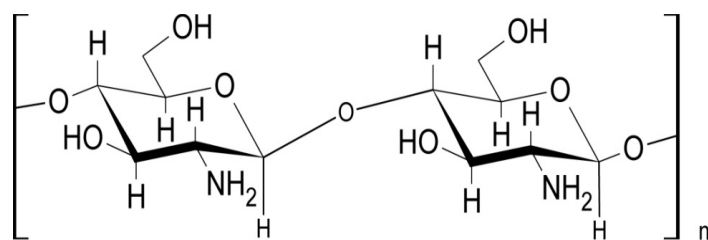


Figure 4 : Structure chimique du chitosane.

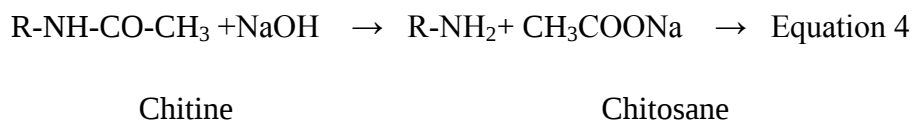
- **La structure cristalline du chitosane**

Le chitosane se cristalline dans le système orthorhombique. Samuel propose pour le chitosane deux types de cristallinité différents. Le type I du chitosane correspondant à un faible degré de désacétylation (60%) (Sels de chitosane) est plus désordonné que le type II. Celui-ci a un fort degré de désacétylation (90%) (Forme amine libre) [45].

II.2.2. La production du chitosane

Le chitosane est connu pour être un biopolymère à la fois naturel, non-toxique, biodégradable et biocompatible. C'est aussi un biopolymère très réactif dont les modifications au niveau des groupements fonctionnels sont d'un grand intérêt car elles permettent d'élargir ses domaines d'applications

La production de la chitosane se fait par la désacétylation ou cette dernière consiste à l'hydrolyse des groupements acétyles de la chitine. Le produit est introduit dans un réacteur avec une solution de NaOH à 50 % et chauffé à 145 °C- 150 °C pendant 5 à 15 minutes. La réaction est la suivante (4) :



La réaction a lieu sous atmosphère inerte (N₂) et sous agitation. La quantité de soude à 50 % doit être cinq fois supérieure en poids à la quantité de chitine déterminée par mesure de la matière sèche. Le mélange bouillant est ensuite refroidi à l'eau froide. Le chitosane est collecté par filtration, lavé à l'eau distillée jusqu'à neutralité du mélange [46].

❖ Fonctionnalisation enzymatique du chitosane

Parmi les méthodes de modification, le greffage enzymatique apparaît comme le plus intéressant dans une démarche de chimie verte. Ce greffage permet de lier, de façon covalente, des dérivés fonctionnels, appelés greffons, sur les chaînes macromoléculaires du

chitosane. La plupart des études concernant la modification enzymatique du chitosane implique l'utilisation de composés phénoliques. Le chitosane possède, en effet, deux types de groupements réactifs pouvant être greffés: d'une part, les fonctions amines libres des unités désacétylées, et d'autre part, les groupements hydroxyles présents sur les carbones C-3, 6 des unités acétylées et/ou désacétylées.

II.3 Propriétés de la chitine et du chitosane

II.3.1 Les propriétés physico-chimiques

Ces propriétés influencent l'utilisation industrielle de la chitine et du chitosane. Les plus importantes à prendre en considération sont :

a) Le degré de déacétylation (DD%) et le degré d'acétylation (DA%)

Les noms chitine et chitosane correspondent à la même famille de polymère. Ils varient seulement en nombre de groupement acétyles qui est désigné par le degré d'acétylation [24].

Le degré d'acétylation (DA) est défini comme étant le nombre de groupe N-acétylglucosamine présent sur le polymère par rapport au nombre total d'unités [47]. On parlera de chitine lorsque DA est supérieur à 70% [48].

Le degré de déacétylation (DD), défini comme étant le nombre de groupe D-glucosamine par rapport au nombre totale d'unités, est relié au DA ($DD=100-DA$) [49].

$$DA = 100-DD$$

$$DD = \%NH_2$$

a) La solubilité

La chitine est insoluble dans les solvants seulement utilisés pour la cellulose [22]. Elle est fortement hydrophobe et insoluble dans les solvants organiques usuels à cause de sa structure cristalline [25].

Elle se dissout dans quelques solvants corrosifs et toxiques tels que: hexafluorure iso propanol, hexafluoro acétone, chlore alcools en présence d'acide minéraux. Elle est également soluble dans l'acide chlorhydrique, l'acide sulfurique, l'acide acétique et l'acide phosphorique à 78-97% [50].

Le chitosane est soluble dans des solutions diluées d'acides organiques (l'acide acétique lactique, formique...) à des $\text{pH} < 6$. Néanmoins l'acide acétique est le solvant le plus approprié pour solubiliser le chitosane.

La solubilité du chitosane varie en fonction de son degré de désacétylation. Plus il est élevé, plus la solubilité augmente. Cela démontre l'importance des groupements NH_2 dans le mécanisme de solubilisation [51].



b) La viscosité

La viscosité du chitosane dépend de son degré désacétylation. plus il est désacétylé, plus il y a de groupements amine libres, plus le chitosane est soluble et par conséquent sa viscosité est plus importante. La viscosité dépend également de la concentration de polymère. de sa température, de son poids moléculaire et enfin du pH (plus il est bas plus la viscosité est élevée) [52].

Il existe différentes méthodes pour déterminer la viscosité. La plus employée est « la viscosimétrie ». Elle nécessite la connaissance des paramètres **K** et **a** de relation de Mark-Houwink [53].

$$[\eta] = K \cdot M^a$$

$[\eta]$: la viscosité intrinsèque.

M : le poids moléculaire moyen du polymère.

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

c) Le poids moléculaire

La définition du poids moléculaire des polysaccharides et la compréhension de ses conséquences sur les propriétés physico- chimiques, ont présenté un vrai défi aux chimistes pendant un certain nombre d'années. Dans le cas de la chitine, la connaissance de tel paramètre est très importante pour les usages industriels [47].

II.3.2 Les propriétés biologiques du chitosane

a) La biodégradabilité

La chitine et le chitosane peuvent être dégradés par plusieurs protéases, leur dégradation libère des oligosaccharides non toxiques. Donc la distribution des groupements acétyles affectent la biodégradabilité, la désacétylation et réduit la vitesse enzymatique de dégradation. Plusieurs études ont rapporté que la masse moléculaire (M_w) du polymère influence la biodégradabilité [54].

b) La biocompatibilité

Le chitosane présente une grande cyto-compatibilité in vitro que la chitine et cela a été démontré invitro sur des cellules myocardique, endothélial, épithélial et sur des fibroblastes, hépatocytes, condriocytes et kératinocytes.

La biocompatibilité est reliée uniquement au DD, quand la charge positive du polymère augmente les interactions entre le chitosane et les cellules augmentent à cause de la présence du groupement amine libre. L'adhésion cellule- polymère dépend à la fois du DD et de la nature des cellules, elle est plus importante avec des cellules fibroblastes qui présentent des charges négatives à leur surfaces que les kératinocytes et leur profifération diminue avec l'augmentation de DD [54].

c) Les Activités antibactériennes du chitosane

Deux mécanismes ont été suggérés pour expliquer l'action antimicrobienne du chitosane. Le premier mécanisme serait du à la charge positive du chitosane qui interagit avec les phospholipides membranaires chargés négativement. L'interaction crée une perturbation au niveau de la membrane avec une diminution des échanges de nutriments entre la bactérie et le milieu extérieur qui entraine la mort cellulaire. Par ailleurs, [55]. Le mécanisme d'action antimicrobienne de chitosane est du aux interactions entre les actions du chitosane et les anions à la surface des bactéries.

Le second mécanisme implique la perturbation du chitosane de la synthèse des ARN messagers en interaction avec l'ADN.

d) Activité antifongique du chitosane

Le chitosane peut interagir avec la membrane des cellules pour altérer leur perméabilité. Par exemple, la fermentation avec la lavure boulangère est inhibée par certains cations, qui agissent sur la surface des cellules de la levure en empêchant l'entrée du glucose.

Le chitosane forme des complexes avec les traces des métaux et ainsi il inhibe la production des toxines et la croissance des champignons [35].

II.4. Les applications de la chitine et du chitosane

Le chitosane est un produit méconnu pourtant très répandu, dont les applications sont nombreuses et variées parmi les :

❖ **Traitement des eaux**

Les propriétés polyélectrolytes complexantes du chitosane en font un bon candidat pour des applications environnementales [57, 58, 59] dans le traitement des eaux usées [60, 61], de l'eau potable (coagulation, floculation, filtration, adsorption), des eaux de piscines. Ses excellentes propriétés floculantes permettent l'élimination des matières minérales (colloïdes) et organiques (papeterie et textile) mais aussi des microorganismes et en font de lui un matériau de choix pour le traitement des eaux usées.

❖ **Agriculture**

Les matériaux encapsulés à base de chitosane se retrouvent également dans des produits agricoles [62,58, 63,64]. Le chitosane est utilisé comme ingrédient dans certaines applications et comme film comestible pour protéger les aliments, agent émulsionnant, stabilisant de couleur, additifs alimentaires des animaux.

❖ **Médecine**

Les propriétés biologiques du chitosane ont permis la réalisation de quelques produits forts intéressants comme le traitement des ulcères[65], la fabrication de peau artificielle utilisée pour le traitement des grands brûlés : à la fois perméable à l'air, hydratante, cicatrisante et bactériostatique [29, 66, 67].

❖ **Cosmétique**

L'industrie cosmétique s'est également intéressée au chitosane car il présente diverses fonctions jouant ainsi plusieurs rôles lui permettant d'être utilisés dans des formulations cosmétiques contemporaines. Le chitosane peut être utilisé à la fois comme agent hydratant, mouillant, tensioactif, épaississant, antimicrobien dans une même formulation cosmétique [68].

Le tableau suivant résume autres applications et leurs domaines [56] :

Tableau 6: Les applications de la chitine et chitosane.

Domaines	Applications
Chimie industrielle	Purification d'eau ; traitement des boues ; séparation des gaz ; production de films d'emballage biodégradables ; la catalyse.
Industrie alimentaire	Régime alimentaire et fibre diététique ; la conservation des nourritures de la détérioration microbienne ; la bioconversion pour la production de produits alimentaires à valeur additionné ; rétablissement des déchets de la transformation des produits alimentaires clarification et désacidification des jus de fruit et des boissons ; agent émulsionnant ; stabilisant de couleur ; additifs alimentaires des animaux...
Biotechnologie	Immobilisation des cellules et des enzymes ; matériaux stimulants de cellules ; matrice pour l'affinité ou les membranes.
Pharmaceutique	Commandes de micro capsules ; transporteur des médicaments à libération contrôlée produits dermatologiques (traitement de l'acnée)

II.5. Polyacide lactique

Le PLA est un polyester aliphatique biodégradable, produit à partir des ressources renouvelables, qui a suscité beaucoup d'attention dans la recherche des polymères biodégradables alternatifs [69]. La structure moléculaire est présentée schématiquement dans la figure ci-dessous :

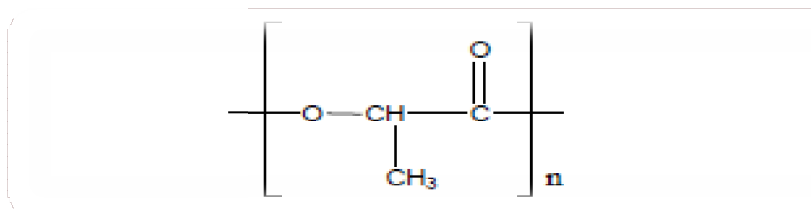


Figure 5 : Structure moléculaire du polyacide lactique [70].

Le monomère

L'acide lactique, le monomère du PLA, est un acide carboxylique hydroxylé de formule $C_3H_6O_3$. L'atome de carbone 2 portant le groupe hydroxyle est asymétrique rendant la molécule d'acide lactique chirale. Il se présente donc sous forme de deux énantiomères (molécules isomères images l'une de l'autre dans un miroir, mais non-superposables) :

- e) D-(–)-acide lactique ou (R)-acide lactique (R pour « Rectus », droit)
- f) L-(+)-acide lactique ou (S)-acide lactique (S pour « Sinister », gauche)

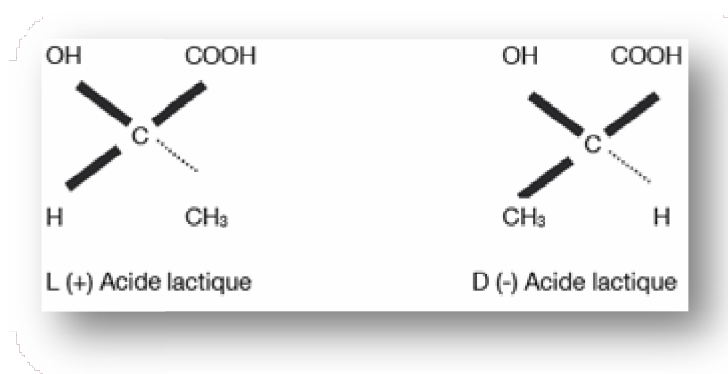


Figure 6 : Structure de l'acide D-lactique ; structure de l'acide L-lactique.

Les monomères nécessaires à la synthèse du PLA peuvent être obtenus selon deux voies. D'une part, on a l'acide lactique racémique optiquement inactif (un mélange 50/50 des formes optiquement actives, les énantiomères L- et D-) qui est obtenu par voie pétrochimique à partir de ressources non renouvelables. D'autre part, on a la voie fermentaire à partir de ressources renouvelables, telles que l'amidon et les sucres simples.

II.5.1 Obtention du PLA

Le monomère de PLA peut être synthétisé par deux méthodes ; soit par voie biologique ou chimique. Cette dernière est la plus utilisée jusqu'à 1990 [71].

Le PLA peut-être obtenu à partir d'amidon de maïs, ce qui en fait la première alternative naturelle au polyéthylène (le terme de bioplastique est utilisé). L'acide polylactique est un produit résultant de la fermentation des sucres ou de l'amidon sous l'effet de bactéries synthétisant l'acide lactique. Dans un second temps, l'acide lactique est polymérisé par un nouveau procédé de fermentation, pour devenir de l'acide polylactique.

Deux procédés permettent la polymérisation du PLA. Le premier développé par Mitsui Toatsu [72] nécessite l'utilisation d'un solvant pour passer directement du monomère à un PLA de hautes masses molaires par polycondensation et extraction en continu de l'eau produite. L'autre méthode a été brevetée par la société Cargill [73]. Elle consiste à former des PLA de faibles masses molaires, puis de les dépolymériser pour obtenir des dimères cycliques nommés lactides. Ces lactides sont ensuite maintenus à l'état liquide et purifiés par distillation.

II.5.2. Synthèse du poly lactique acide

➤ Synthèse du poly (acide lactique) par polycondensation directe

La synthèse de polyacide lactique nécessite une réaction d'estérification entre la fonction alcool d'une unité monomère avec l'acide carboxylique d'une autre unité.

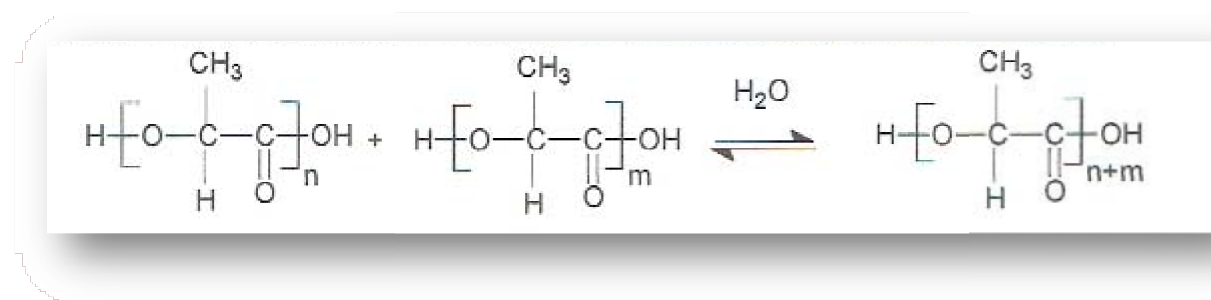


Figure 7: Réaction de polycondensation de l'acide lactique.

La polycondensation directe conduit à des polymères de faibles masses molaires (oligomères), car c'est difficile d'éliminer l'eau complètement du mélange réactionnel visqueux. Cette eau susceptible d'hydrolyser les chaînes du PLA en cours de croissance ne

permet d'obtenir que des polymères de poids moléculaire inférieur à dix milles : c'est le principal inconvénient de cette méthode.

Un polymère de poids moléculaire élève peut être obtenu en utilisant des agents de couplages qui permettent de joindre les chaines des polymères de bas poids moléculaire entre elles [74].

➤ **Polycondensation azéotropique**

Le milieu devenant de plus en plus visqueux avec l'augmentation de la masse molaire du PLA. Cependant, la société Mitsui, toatsu chemicals a breveté un procédé de distillation azéotropique permettant d'enlever l'eau directement lors de l'étape d'estérification [75].

Dans cette méthode, l'élimination de l'eau est réalisée en maintenant l'équilibre entre le monomère et le polymère dans un solvant organique (par exemple le xylène). C'est une technique de polymérisation en solution utilisant une grande activité catalytique et une faible ébullition du solvant organique. L'eau est éliminée, tandis que le solvant est recyclé durant la réaction. Cette technique de polymérisation permet de maintenir la température de la réaction au dessous du point de fusion de polymère. Par cette méthode, un PLA de masse moléculaire supérieure à 300 000 peut être synthétisé [76].

➤ **Synthèse du poly (acide lactique) par ouverture de cycle de l'actide**

Lors d'une polycondensation directe, la réaction secondaire de dépolymérisation se déroule et il se forme d'alcide [75].

La polymérisation par ouverture de cycle du alcide (dimère cyclique de l'acide lactique) est la plus utilisée et étudiée, permettant de synthétiser le PLA. Cette voie permet d'atteinte des masses molaires élevées. Pour former ce dimère, l'acide lactique dans un premier temps pré polymérisé en un acide poly lactique de faible masse molaire, de sorte que le milieu réactionnel ne soit pas trop visqueux afin de pouvoir évacuer l'eau formée lors de la réaction. Ce pré polymère subit un craquage thermique à une température élevée (200°C) et une faible pression (inférieure a 1 mbar) en présence d'un catalyseur pour former le l'actide [77].

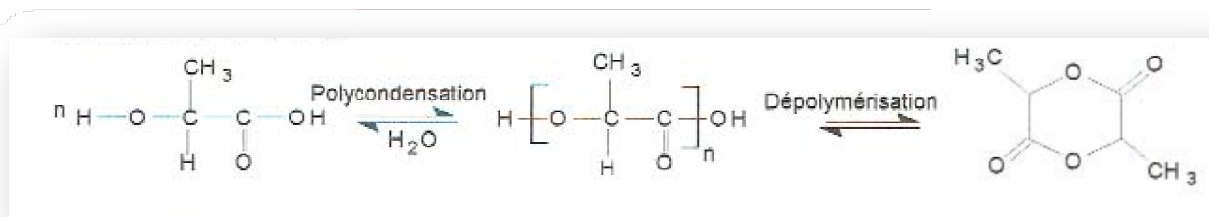


Figure 8 : Synthèse du lactide le dimère cyclique de l'acide lactique.

Le cycle présent, la différence de monomère acide lactique, trois stéréo-isomères optiques : L, D, D-lactide et le D, D-lactide comme le montre la figure.....

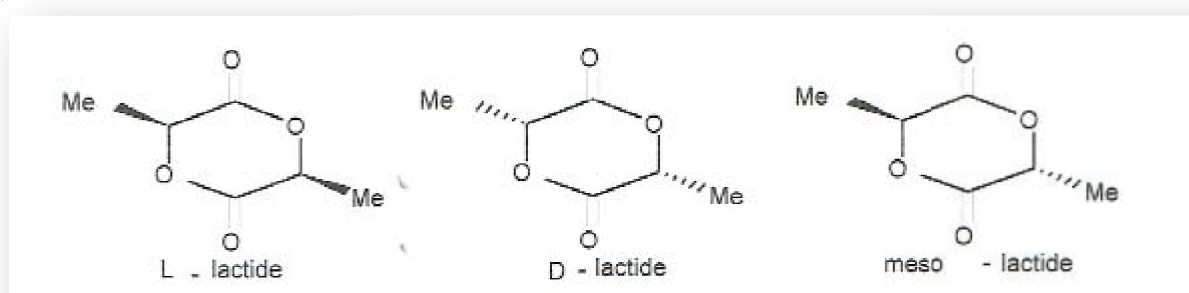


Figure 9: Les différents isomères du lactide.

II.5.3 Propriétés du PLA

❖ Propriétés thermiques

Les PLA énantiomériquement purs sont semi cristallins avec une température de transition vitreuse T_g d'environ 60°C , une température de cristallisation T_C de 110°C et température de fusion T_f d'environ 180°C . Les polymères préparés à partir du méso-lactide sont en général amorphes et transparents. La T_f et le taux de cristallinité dépendent de la masse molaire et de la pureté du polymère.

La mobilité des chaînes varie en fonction de la température de transition vitreuse T_g pour la phase amorphe, et de la température de fusion pour la phase cristalline dans le cas du PLA semi cristallins.

Selon WITSKE, et comme il est montré sur la figure 11 de la température de relaxation T_B Le PLA amorphe est complètement cassant entre T_B et T_g la forme cassante de PLA peut être très ductile (malléable). Entre 110 et 150°C, le PLA se transforme d'une phase caoutchouteuse à une phase très visqueuse, (à savoir que la vitesse de transition dépend du poids moléculaire du PLA). La température de dégradation est enregistrée à partir de 215°C [60]. La figure montre les états amorphes selon WITZKE.

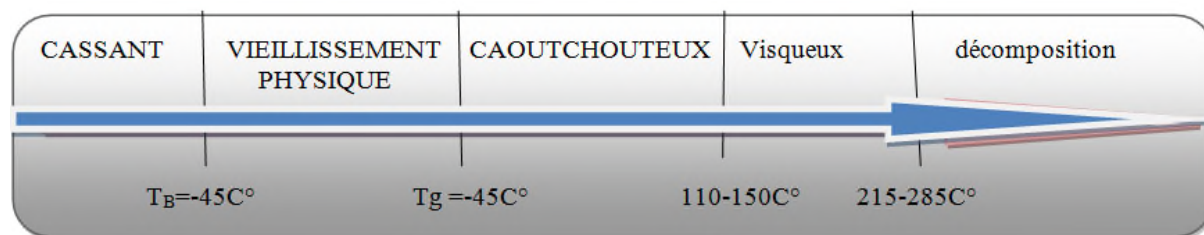


Figure 10: Etats métastables du PLA amorphes selon WITZKE [78].

❖ Propriétés mécaniques

Les propriétés mécaniques de base du PLA sont similaires à celles du polystyrène (PS) et du polyéthylène téréphthalate (PET). Les propriétés mécaniques les plus remarquables des PLA sont la résistance à l'élongation, la résistance aux produits gras et produits de consommation courante, d'excellentes propriétés barrières aux arômes et goût.

En plus, des technologies ont été développées pour rendre le PLA plus flexible en utilisant des plastifiants d'origine renouvelable (par exemple le triacétyl n-butylcitrate).

Grâce à ce type de propriétés et le fait d'être fabriqués à partir de métabolites et en conséquence compostable, biodégradable et biorésorbable, ce type de polymère est très indiqué pour la fabrication de produits à usage unique [79].

Le poly (acide lactique) peut exhiber une large variété de propriétés mécaniques qui dépendent de plusieurs facteurs tels que la masse molaire, la stéréorégularité des chaînes macromoléculaires et la cristallinité. Généralement, le poly (acide lactique) est un matériau rigide et cassant qui, pour une large utilisation, nécessite d'être renforcé.

Dance le PLA présente les propriétés suivantes :

- Une rigidité importante.

- Une très bonne propriété optique en termes de transparence et de brillance.
- Une faible tension superficielle permettant une impression facile.
- Des bonnes propriétés barrières aux graisses, aux huiles et aux arômes.
- Soluble dans la majorité des solvants organique comme le THF, l'acétone, chloroforme.
- Le PLA est sensible à la conjugaison de l'humidité, et de température. Il est recommandé de sécher le polymère avant utilisation [80].

❖ Propriétés rhéologiques

Les propriétés rhéologiques du PLA, ont un profond effet sur la façon dont le polymère s'écoule lors de sa transformation, elle dépend de la température, la masse moléculaire et le taux de cisaillement. Le PLA semi cristallins à une viscosité de cisaillement supérieure a celle du PLA amorphe [81]. La température du travail du PLA dépend de sa viscosité de fusion, qui dépend de son tour de la masse moléculaire moyenne, du rapport L/D du taux de cisaillement, du type de traitement et de la quantité de plastifiant [82].

II.5.4. Application du PLA

Le PLA trouve des applications dans divers domaines, on assiste au développement de matériaux bio-composites à base de PLA mélangé avec des fibres de Kénafe, développé par la firme Toyota pour remplacer les panneaux des portières des voiture et des tableaux de bord en Acrylonitrile Butadiène Styrene (ABS). Le matériau présente un avantage par rapport aux polymères conventionnels par le fait qu'il est plus léger, résistant et plus insonorisant [83].

Dans le domaine de l'électronique, la firme NEC projette d'utiliser le même composite de PLA et FUJITSU a lancé le premier prototype de boîtier de PC portable en PLA ; ceci dans le but d'éviter des couts de traitements des déchets électroniques et les impacts environnementaux [84].

Dans l'emballage alimentaire (eau minérale, fruits et légumes, ...), pour remplacer les sacs et cabas en plastiques jusqu'ici distribués dans les commerces, ou dans la fabrication de très nombreux objets injectés, extrudés ou thermoformés.

Le PLA favorise l'utilisation dans d'autres domaines dont voici quelques exemples [71] :

- Fibres.
- Fenêtres transparentes d'emballage.

- Emballages films divers.
- Goblets jetables.
- Emballages alimentaires.
- Applications médicales.



Figure 11: Différentes applications de PLA.

Introduction

La chitine et le chitosane sont des biopolymères de source principalement marine. En général, les biopolymères sont une classe de polymères produits par les organismes vivants : végétaux, animaux et microorganismes.

Dans ce travail nous avons procédé d'abord à l'extraction de la chitine à partir des carapaces des crevettes en suivant deux étapes principales : élimination des protéines et élimination des sels minéraux. par la suite nous sommes passés à la déacétylation de la chitine par un traitement alcalin pour obtenir le chitosane. Les produits, ainsi obtenus, est caractérisés par la spectroscopie infra rouge (IR), diffraction ray-X (DRX) et thermogravimétrie (ATG).

Dans une deuxième étape nous avons procédé à la préparation des films à base de chitosane pur, ainsi que des films de PLA pur, puis finalement des films de mélange de chitosane avec le poly acide lactique (PLA) à différents pourcentages massiques. Ces films ont été caractérisés par les mêmes techniques précédentes.

Partie I. Extraction et caractérisation de la chitine et du chitosane.

I.1. Matériaux et méthodes utilisées

❖ Matériaux

- Carapaces de crevettes de type parapanous longirostris largement consommées en Algérie.
- Acide chlorhydrique (HCl) d'une pureté de 36%, masse molaire 36,46 g/mol et une densité de 1,18 produit par la compagnie ORGANICS.
- Hydroxyde de sodium (NaOH) de masse molaire 40g/mol, produit par la compagnie BIOCHEM Chemopharma.
- Hypochlorate de sodium (NaClO)
- Chitosane commercial
- Acide acétique ($C_2H_4O_2$) 100% pure, masse moléculaire 60,04 g/mol et de densité 1,05, produit par la compagnie VWR BDH PROLABO.
- Chlorure de Sodium (NaCl) 99%, de masse moyenne 58,44g/mol, produit par la compagnie VWR BDH PROLABO.
- Viscosimètre capillaire de type Ubbelohde de constante $k = 0.0034445 \text{ mm}^2/\text{s}^2$.
- Boîtes à pétries en verre de 9 cm de diamètre.

❖ Méthodes :

➤ Protocole expérimental

La chitine est le biopolymère naturel le plus abondant dans la nature après la cellulose, est un polysaccharide de couleur blanche [1], elle représente le constituant principal des crustacés tels que les crevettes, les crabes... [2].

La séparation ou l'extraction de la chitine à partir des sources variées de crustacés suit généralement les mêmes procédés avec quelques variations : élimination des protéines comme première étape et élimination des sels minéraux (le carbonate de calcium est le sel dominant dans la plupart des cas) comme deuxième étape et en dernier une étape de blanchiment.

La chitine peut être convertie en chitosane par différents procédés : la désacétylation alcaline homogène ou hétérogène et la désacétylation enzymatique [3], ou par d'autres nouvelles méthodes telles que la méthode TMC (thermo- Mechano-chemical) [4].

1.2. Prétraitement des carapaces de crevettes

La matière première est constituée de carapaces de crevettes du même type : « *parapenaeus longirostris* » récupérés après décortication d'environ 4.5 kg de ces crevettes fraîches.

Dès leur récupération, les carapaces ont été lavées abondamment avec de l'eau de robinet et débarrassées de toute la chair, les pattes et les antennes puis introduites dans un bain marie à 80°C avec agitation magnétique pendant 1 heure afin d'éliminer les résidus organiques (tissus).

Après filtration les carapaces lavées ont été placées dans une étuve à 60°C pendant 24 heures jusqu'à l'obtention d'une masse constante, les carapaces séchées sont récupérées et broyées à des petits morceaux et conservées.

Le procédé d'extraction de la chitine et de désacétylation choisis est celui proposé par Michael Oduor-Odote P et ses collaborateurs [5]. Les carapaces de crevettes avant et après prétraitement sont représentées sur les photographies de la figure suivante :



(a)



(b)

Figure 12: Carapace de crevettes avant et après prétraitement.

Les conditions et les produits de synthèse utilisés sont regroupés dans le tableau ci- dessous :

Tableau 7: Produits chimiques utilisés dans l'extraction de la chitine.

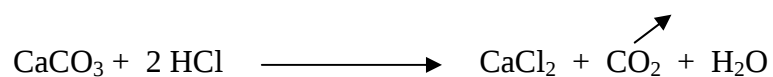
produits chimiques	Acide chlorhydrique	Hydroxyde de sodium
Formule chimique	HCl	NaOH
Masse moléculaire (g/mol)	36,5	40
Densité	1,18	–
Pureté %	35 - 37	100

I.3. Extraction et déacétylation de la chitine pour la préparation du chitosane

I.3.1. Extraction de la chitine

A. Déminéralisation

Consiste à éliminer les éléments minéraux principalement le CaCO_3 avec un traitement acide avec l'acide chlorhydrique HCl. Le dégagement des bulles de CO_2 est une signature de l'action de l'acide sur le CaCO_3 . Comme le montre la réaction ci-dessous.



Dans un cristallisateur, sont versés 259 ml d'une solution d'acide chlorhydrique HCl, 1M et 134,562 g de carapaces prétraitées avec un ratio de 1 :15 (M/V). Le mélange est agité pendant 1 heure à la température ambiante afin de solubiliser le carbonate de calcium et le chlorure de calcium.

À la fin du traitement le contenu du cristallisateur a été filtré et lavé abondamment avec de l'eau distillée.

B. Déprotéinisation

Consiste à éliminer des protéines avec un traitement alcalin avec du NaOH. Dans un cristallisateur, sont versés 2018,43 ml d'une solution Hydroxyde de sodium NaOH 2 M et 134,562 g de carapaces déminéralisées avec un ratio de 1 :15 (M/V). Le mélange ainsi obtenu est agité pendant 2 heures à 60°C. A la fin du traitement le contenu du cristallisateur a été filtré et lavé abondamment avec de l'eau distillée.

C. Blanchiment

Les deux traitements (Déprotéinisation et déminéralisation), sont suivis d'un blanchissement avec l'hypochlorate de sodium pour éliminer la coloration résiduelle. Le traitement consiste à immerger la chitine brute dans 50 ml de l'hypochlorate de sodium jusqu'à l'apparition de couleur blanche. Le produit obtenu est rincé avec de l'eau de robinet et de l'eau distillée, puis filtré et séché dans l'étuve à 60°C pendant 24 heures. Une masse de 26,2 g de chitine a été obtenue. Un prélèvement de 2g de la chitine a été effectué pour servir dans l'étude de la chitine et le reste sera traité pour la préparation du chitosane

Les étapes suivies pour obtenir la chitine sont résumées dans la figure suivante :

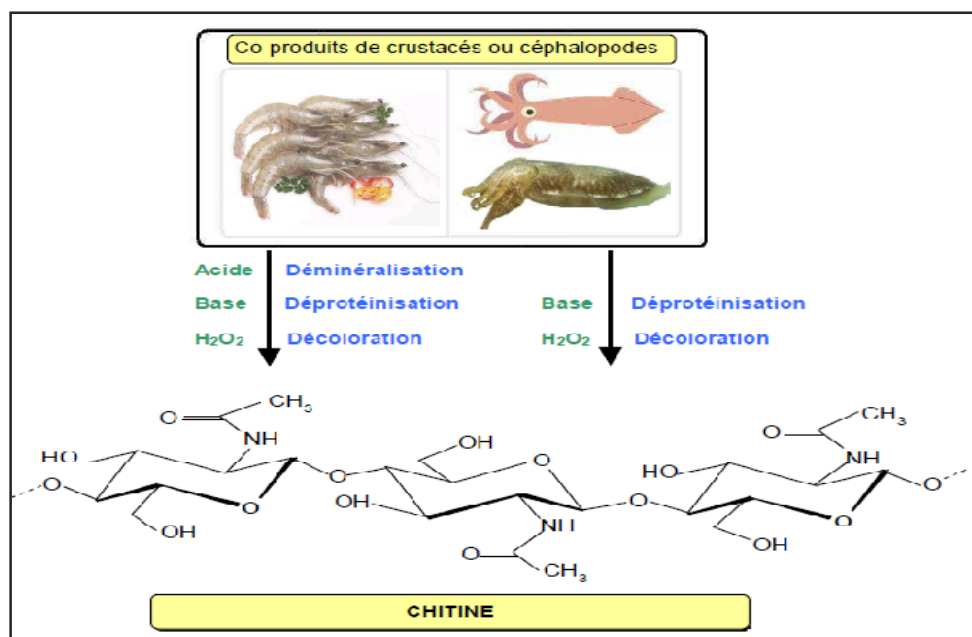


Figure 13 : Procédé d'extraction de la chitine.

I.3.2. Déacétylation de la chitine

C'est l'étape la plus délicate qui met en œuvre la substitution d'un nombre maximal et suffisant de groupements acétyle, pour obtenir du chitosane. La désacétylation est généralement effectuée par le traitement avec l'hydroxyde de sodium (NaOH) ou potassium (KOH) concentré 40-50% et à une température $\geq 100^{\circ}\text{C}$.

Dans cette présente étude, un traitement alcalin avec le NaOH concentré à 50% a été effectué. Dans un cristallisateur sont ajoutés une quantité de 24,2 g de la chitine à 363 ml de NaOH avec un ratio de 1 :15 (M/V). Le mélange est agité pendant 4 heures à la température de 100°C , puis filtré et lavé abondamment avec de l'eau distillée.

Le produit ainsi obtenu est étalé sur une plaque et séché dans une étuve pendant 24h à une température de 60°C , puis broyée pour obtenir le chitosane sous forme d'une poudre fine. La masse de chitosane obtenu est de 12,3g.

Le procédé de l'obtention du chitosane à partir de la chitine peut être schématisé comme suit :

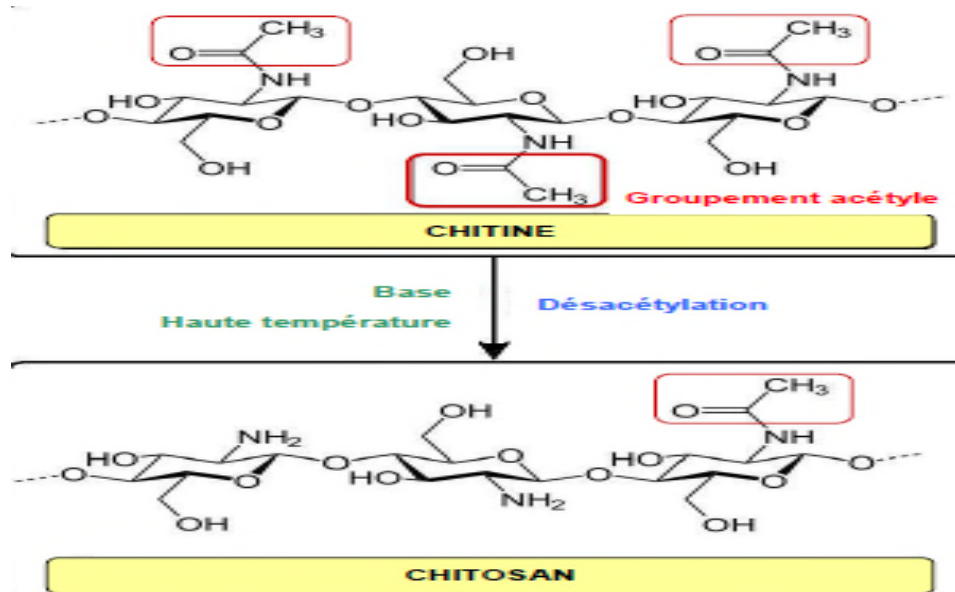


Figure 14: Conversion de la chitine en chitosane par désacétylation.

I.4. Techniques de caractérisation

I.4.1. la teneur en eau et en cendre

teneur en eau

La teneur en eau des échantillons est déterminée par pesée après dessiccation (séchage dans une étuve à 60°C pendant 24 heures).

La teneur en eau d'un matériau est le rapport entre la masse d'eau contenue dans un matériau et la masse du même matériau sec. Elle est calculée selon la formule ci-dessous [6].

$$W\% = \frac{m_0 - m}{m_0} \times 100 \quad (I)$$

Où :

m_0 : matériau humide.

m : matériau du matériau sec.

$W\%$: teneur en eau.

Teneur en cendres

Le principe de la détermination de la teneur en minéraux repose sur leur résistance à la chaleur. Environ 1 g d'échantillon est pesé dans un récipient en céramique, replié et placé pendant 1 heure à 500 °C. Après refroidissement, il est de nouveau pesé. Le poids des cendres résiduels est assimilé à la teneur en minéraux [6].

$$\text{Cendres\%} = \frac{\text{masse du résidu}}{\text{masse de l'échantillon sec}} \quad (\text{II})$$

I.4.2. Test de solubilité

Le chitosane est un produit non toxique et présente une solubilité dans les acides organiques à des pH < 6 tel que l'acide acétique, l'acide formique, lactique et maléique, grâce aux groupements ammoniums formés après protonation de la fonction amine qui facilitent la dissolution de la molécule. Cependant, il est insoluble dans l'eau, les milieux alcalins et les solvants organiques [7].

La chitine est fortement hydrophobe et insoluble dans les solvants organiques usuels à cause de sa structure cristalline [7]. Elle se dissout dans quelques solvants corrosifs et toxiques tels que: hexafluorure iso propanol, hexafluoro acétone, chloroalcools en présence d'acide minéraux.

Afin d'étudier l'effet de la concentration de l'acide acétique sur la dilution de la chitine et du chitosane, une solution de 1% d'acide acétique de 100ml est préparée, dans laquelle on dissout une masse de 0,35 g de la chitine et de 0,35g du chitosane, sous agitation magnétique à la température ambiante.

I.4.3. Mesure de la masse viscosimétrique moyenne

La première caractérisation du chitosane (extrait et commercial) est la détermination de son poids moléculaire moyen par mesure de sa masse moyenne viscosimétrique.

En effet, on a déterminé la viscosité intrinsèque du polymère après plusieurs mesures de la viscosité spécifique. Sachant que la viscosité d'un polymère en solution varie en fonction de sa concentration, et elle peut être déterminée, par la mesure du temps d'écoulement de la solution de polymère de concentration C dans un tube capillaire de type Ubbelohde.

La viscosité réelle (η_{rel}) est définie comme le rapport entre le temps d'écoulement de la solution du polymère de concentration C et celle du solvant (C_0).

$$\eta_{\text{rel}} = \frac{t}{t_0} \quad (\text{III.1})$$

La viscosité spécifique (η_{sp}) est reliée à la viscosité relative par l'équation ci-dessous :

$$\eta_{\text{sp}} = \frac{t}{t_0} - 1 \quad \text{ou} \quad \eta_{\text{sp}} = \eta_{\text{rel}} - 1 \quad (\text{III.2})$$

Le rapport viscosité spécifique / concentration d'une solution polymère définit la viscosité réduite :

$$\eta_{\text{rel}} = \eta_{\text{sp}} / C \quad (\text{III.3})$$

Dans la limite des dilutions infinies (concentration tend vers zéro), on qualifie la viscosité réduite par l'indice limite de viscosité ou bien viscosité intrinsèque, notée (η_{int}).

$$\eta_{\text{int}} = \lim \eta_{\text{sp}} / C \quad \text{quand} \quad C \rightarrow 0 \quad (\text{III.4})$$

La concentration étant exprimée en g/dl, la viscosité intrinsèque η_{int} est exprimée en dl/g. le tracé des valeurs η_{sp} / C en fonction de C permet de déterminer la viscosité intrinsèque η_{int} , qui coïncide avec l'ordonnée à l'origine.

Staudinger est le premier à avoir postulé, que la viscosité intrinsèque devait être proportionnelle à la masse molaire. L'expérience a établi que la viscosité η_{int} dépend étroitement de la masse moléculaire du polymère. La relation proposée par **Mark** et confirmée expérimentalement par **Houwink** est :

$$\eta_{\text{int}} = [\eta] = K M^a \quad (\text{III.5})$$

Où:

K : est la constante caractéristique d'un couple polymère-solvant à une température donnée.

a : est la constante caractéristique de la taille et de la forme de la macromolécule ($0,5 < a < 2$).

Les valeurs de la constante (a) donne des informations d'un polymère dans un solvant donné.

Tableau 8: Valeurs de 'a' correspondant aux différentes conformations du polymère.

Valeur de 'a'	0	0,5	0,8	0,8-2	2
Type de conformation	Sphère	Pelotes statistique	Chaine en solution	Vermiculaire	Bâtonnet rigide

**Figure 15 :** Viscosimètre capillaire d'Ubbelohde.

Pour déterminer sa masse viscosimétrique, les constantes reliées à l'équation de Mark-Houwink décrivant le système polymère-solvant-température, sont regroupées dans le tableau suivant :

Tableau 9: Les différents solvants et constantes reliées à l'équation de Mark-Houwink.

Solvant	K (ml/g)	a	Température	Type de viscosimètre	Références
Acide acétique à 5% / KCl à 0,1M	$1,38 \cdot 10^{-4}$	0,85	25± 0,1°C	Ostwald	[8]
Acide acétique à 0,1M /NaCl à 0, 2 M	$1,81 \cdot 10^{-3}$	0,93	25± 0,1°C	Ubbelohde	[9]
Acide acétique à 0,2M /acétate de sodium à 0,1M	$1,64 \cdot 10^{-30}$ *DD ¹⁴	$-1,64 \cdot 10^{-2}$ *DD+1,82	30± 0,5°C	Ubbelohde	[10]
Acide acétique à 0,5M /acétate de sodium à 0,2M	$3,5 \cdot 10^{-4}$	0,76	25± 0,1°C	Ostwald	[11]
Acide acétique à 5% / KCl à 0,1M	$8,93 \cdot 10^{-4}$	0,71	25± 0,1°C	Ostwald	[8]
Acide acétique à 0,5M /acétate de sodium à 0,2M	$3,2 \cdot 10^{-4}$	0,76	25°C	Ubbelohde	[12]

Nous avons choisi d'utiliser comme solvant l'acide acétique à 0,1M / NaCl à 0,2M. Les concentrations des solutions du chitosane préparées varient de 1 g/dl à 0,1 g/dl. La sensibilité de cette méthode requière une homogénéité parfaite de la solution (les chaînes du chitosane doivent occuper le maximum de volume pour permettre une bonne élution). Les mesures de viscosités relatives sont déterminées dans un tube capillaire Ubbelohde, avec des constantes caractéristiques du couple (polymère- solvant) : $K = 1,81 \cdot 10^{-5}$ dl/g et $a = 0,93$ [13]. A une température de 25± 0,1°C.

I.4.4. Analyses spectrales

I.4.4.1. Infrarouge à transformé de Fourier (IRTF)

La spectrométrie IR est une méthode d'analyse à la fois quantitative et qualitative spécifique et universelle. La spécificité réside dans le concept de « fréquences caractéristiques ». Les groupements fonctionnels absorbent à des fréquences relativement

constantes, donnant ainsi la possibilité d'obtenir des informations structurales détaillées sur les molécules étudiées à partir de leur spectre infrarouge comme l'empreinte d'un composé chimique.

A l'exception de quelques molécules mononucléaires telles que l'O₂, N₂ et Cl₂, toutes les espèces moléculaires absorbent dans l'infrarouge [17]. Le spectre infrarouge IR est étudié dans une gamme de fréquence allant de 4000 à 400 cm⁻¹, les bandes les plus caractéristiques se distinguent dans trois régions différentes :

- 4000 cm⁻¹ à 1500 cm⁻¹ : contient les bandes d'allongement correspondant aux principaux groupements OH, CO, NH₂.etc...
- 1500 cm⁻¹ à 600 cm⁻¹ : c'est une région complexe appelée « empreinte digitale » du composé dans laquelle se situe de nombreuses vibrations de déformations ainsi que des bandes d'allongement des liaisons CO tel que les esters, éthers et alcools.
- 1000 cm⁻¹ à 600 cm⁻¹ : c'est une zone très utilisée pour la détermination des structures éthyliques et aromatiques, grâce aux déformations hors du plan des liaisons CH et des déformations du cycle.

Dans cette présente étude, nous avons utilisé l'analyse FTIR (infrarouge à transformée de Fourier) pour caractériser la chitine et le chitosane (extrait et commerciale). Le principal but est de déceler d'éventuelles interactions entre les deux constituants. Un spectrophotomètre infrarouge de marque Shimadzu et de modèle IR Affinity-1 a été utilisé. Des pastilles de KBr ont été préparées par la compression de 0,015g des différents échantillons mélangés séparément à 0,08g de KBr étuvé à 60°C pendant 24 heures. Le spectre infrarouge de chaque échantillon est enregistré à la température ambiante, dans une plage de 4000 à 400 cm⁻¹ avec une résolution de 4 cm⁻¹ et une accumulation de 25 scans pour chaque spectre enregistré.

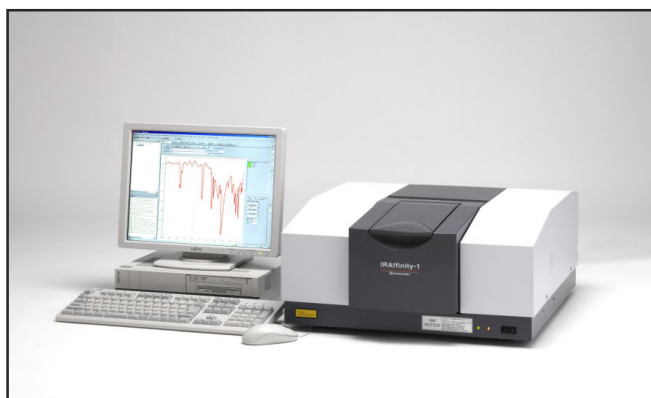


Figure 16: l'appareillage de FTIR.

➤ Détermination du degré désacétylation (DD) et d'acétylation(DA)

Afin de déterminer le degré désacétylation et de degré d'acétylation du chitosane et de la chitine nous avons choisi la méthode la spectrométrie IR en utilisant un spectrophotomètre Shimadzu IR Affinity-1.

✚ Détermination du degré désacétylation (DD)

La spectrométrie IR est la technique la plus répandue pour la détermination de DD. Cette analyse permet d'obtenir les empreintes spectrales vibrationnelles des groupements constituant une molécule.

Le degré de désacétylation est déterminé en utilisant la loi de Baxter [14].

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

Où :

A_{1658} = Absorbance de la bande 'amide I' de l'amide secondaire.

A_{3450} = Absorbance de l'hydroxyle du groupement CH_2OH .

100 = Coefficient de correction de la ligne de base.

Le facteur '1.33' représente la valeur du rapport A_{1655} / A_{3450} pour un chitosane complètement N-acétylé, d'autre part sa valeur est présumée être égale à 0 pour un chitosane complètement déacétylé.

✚ Détermination du degré d'acétylation

Le degré d'acétylation de la chitine correspond à la fraction molaire moyenne des unités de N-acétyl D-glucosamine par rapport au nombre total d'unités. De nombreuses méthodes ont été développées pour déterminer le DA. **Kasaai et al (2010)** compare les avantages et inconvénients de chacune et cible les gammes de DA auxquelles elles s'appliquent.

Cette technique simple à mettre en œuvre, est largement utilisée pour étudier la composition et la structure de la chitine, pour distinguer la forme α de la forme β [15]. Et parfois pour déterminer le degré d'acétylation [16]. Le principe de la spectroscopie infrarouge

se base sur les émissions de vibrations entre deux atomes. Elles sont spécifiques à chaque environnement atomique. Ces vibrations sont identifiées selon leurs fréquences.

Il est possible par cette méthode de déterminer le degré désacétylation par la formule suivante :

$$DA (\%) = 100 - DD. \quad (IV)$$

I.4.4.2. Diffraction des rayons X (DRX)

Cette technique permet de déterminer les distances inter-réticulation des différents plans de diffraction et l'arrangement des atomes dans les réseaux cristallins. Comme les rayons X sont diffractés de manière distincte, par les éléments du réseau caractérisé par un empilement bien défini de ce dernier, l'irradiation de la matière par rayons X permet de connaître sa nature cristallographique. L'angle (2θ) de diffraction dépend de l'énergie du rayonnement incident, de son orientation par rapport à la surface balayée par le faisceau, ainsi que de la distribution spatiale des atomes (structure cristalline). Le spectre de diffraction constitue une empreinte caractéristique de structures cristallines analysées.

Les mesures sont effectuées avec un appareil, constitué par un tube émetteur de rayon X qui irradie un échantillon, lequel diffracte une partie d'un rayonnement émis vers un système de détection. Les spectres de diffraction peuvent être obtenus par différentes méthodes à rayon RX, soit directement à partir d'un fragment solide ou un cristal de taille plus ou moins importante (**méthode Weissenberg, cristal tournant**), ou sur de quantités de poudre finement broyée par diffractomètre de poudre selon deux montages : **Bragg-Brentano** ou **Debye-Scherrer**.



Figure 17: la machine de DRX expert prof panalytical.

L'émission des rayons X est effectuée sur un appareil de type Panalytical **PW1050** en utilisant la raie $K\alpha$ du cuivre de longueur d'onde de $\lambda=1,54 \text{ \AA}$, à la température ambiante pour une gamme de 2θ comprise entre 0 et 70° . Le pas est de 0.02° avec un temps de mesure de 2s/pas.

➤ Mesure de l'indice de cristallinité

L'indice de cristallinité (I_{cr}) indique la proportion de zone cristalline dans l'échantillon. Il se détermine par diffraction aux rayons X. Cette technique distingue les zones cristallines des zones amorphes.

Deux méthodes sont répertoriées dans la littérature pour déterminer l'indice I_{cr} d'après les résultats de diffraction. Cette opération consiste à séparer distinctement chaque pic et déterminer chacune de leur aire. Les pics associés aux zones amorphes et cristallines ont bien été référencés [18].

-La méthode de **Focher et al.(1990)** consiste à identifier le pic d'intensité maximale, noté I_{20} et l'intensité du pic représentatif des hydrates amorphes, noté I_{16} :

$$I_{cr} (\%) = [(I_{20} - I_{16}) / I_{20}] * 100 \quad (VI)$$

-La seconde se base sur le rapport entre la somme totale des aires des zones cristallines sur la somme totale des aires. **Jaworska et al. (2003)** comparent les deux méthodes et mettent en évidence leur manque de corrélation. La fiabilité de la première méthode semble dépendre à la structure de l'échantillon tandis que la seconde semble plus cohérente [18].

I.4.5. Analyse thermique

I.4.5.1. Analyse thermogravimétrique (ATG)

L'analyse thermique permet de mesurer différents paramètres (masse, flux thermique) en fonction de la température sous atmosphère contrôlée (air, gaz inerte, hydrogène, vide).

Afin de distinguer la stabilité thermique et discerner les déplacements de températures caractéristiques qui seraient dus à des formations éventuelles de nouvelles liaisons, nous avons effectué des analyses thermiques du type ATG [19]. L'analyse thermogravimétrique (ATG) est une technique mesurant la variation de masse d'un échantillon lorsqu'il est soumis à une programmation d'élévation de température, sous atmosphère contrôlée.

Cette variation peut être une perte de masse (déshydratation, décomposition...) ou un gain de masse (fixation de gaz).

Dans notre étude, cette analyse est réalisée sur des échantillons de la chitine, chitosane (extrait et commercial), en utilisant un appareil ATG de marque LINSEIS et de type STA PT 1600, avec une vitesse de chauffe de $10^{\circ}\text{C}/\text{mn}$ et un flux de gaz d'azote à débit constant.

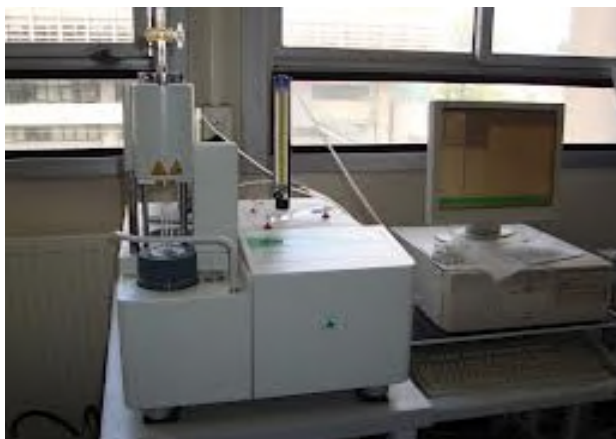


Figure 18: l'appareillage ATG.

PARTIE 2: Elaboration des films composites

Introduction

L'élaboration de matériaux à base de chitosane sous forme des films s'effectue par la méthode présentée par **Muzzareli** [20]. Nous l'avons appliqué dans notre travail en faisant évaporer une solution de chitosane et l'acide acétique étalée sur des boîtes de pétrie (casting).

Un film est une interphase séparant deux milieux, à travers laquelle se fait le déplacement de certains constituants et l'interdiction de passage à d'autre, d'une manière spécifique et sélective [21].

Polymères organiques, métaux, matières céramiques, couches de produits chimiques (liquide ou gaz) peuvent constituer des films homogènes ou hétérogènes.

II.1. Matériaux utilisés

- Le Chitosane extrait : masse moléculaire moyenne de 31,104 KDa et un degré de déacétylation de 83,88 %.
- L'acide polylactique est le PLA Ingeo 4032D de chez NatureWorks LLC. Sa densité est de 1.24 g/cm³.
- Acide acétique (C₂H₄O₂) 100% pure, masse moléculaire 60,04 g/mol et de densité 1,05, produit par la compagnie VWR BDH PROLABO.
- Chloroforme (CHCl₃), de Masse molaire 119,38 g/mol et de densité 1,49 g/cm³
- Boîtes à pétries en verre de 9 cm de diamètre.

II.2. Protocole expérimental

II.2.1. Elaboration des films de chitosane pur

Les films de chitosane pur sont fabriqués selon la procédure suivante : une solution de chitosane 1% est préparée en solubilisant 1g de chitosane en poudre dans 100 ml d'eau et 1ml d'acide acétique 0,15M sous l'agitation magnétique pendant 3 heures.

La solution obtenue est coulée dans des boîtes pétri de diamètre 9(cm) et séchée à la température ambiante pendant deux jours. Les films formés sont démoulés et représentés sur la figure ci-dessous :



Figure 19: Film de chitosane pur.

II.2.2. Elaboration des films PLA pur

Les Films de PLA pur sont fabriquées par l'utilisation la méthode suivante : pour préparer une solution de PLA, nous avons utilisé 2g de PLA dans 100ml de chloroforme à température ambiante sous l'agitation magnétique pendant 1 heure, puis étalée sur des boîtes de pétrie de diamètre 9 cm et séché à la température ambiante pendant 24 heures. Puis Les films formés sont démoulés et représenté sur cette figure ci- dessous:



Figure 20: Films de PLA pur.

II.2.3. Elaboration des films Chitosane / PLA

Le Chitosane a trois types de groupements fonctionnels réactifs : un groupement amine et deux groupements hydroxyles primaire et secondaire. Son avantage par rapport aux autres polysaccharides est que sa structure chimique autorise des modifications spécifiques sans difficultés. Ces groupements permettent des réactions de substitution et des modifications chimiques directes sur le produit, qui donnent de nombreuses matières utiles pour différentes applications [22].

Pour réaliser les mélanges de Chitosane/PLA, nous avons effectué une étude préliminaire en utilisant deux solvants différents pour solubiliser le PLA. Le processus de mélange est

présenté dans la Figure 23. Le mélange de deux solutions de chitosane et de PLA est effectué sous agitation magnétique (400 rpm).

Dans la deuxième étape, nous avons effectué les mélanges de chitosane/PLA en utilisant le chloroforme. Différentes formulations chitosane/PLA (w/w) ont été préparées.

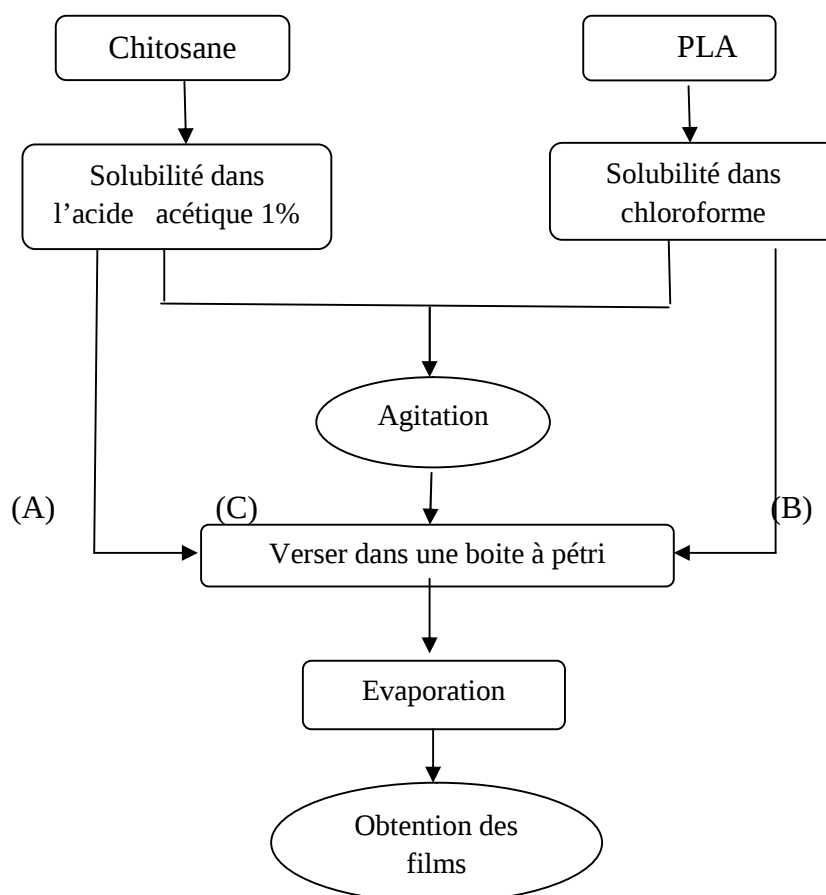


Figure 21: Préparation des films du Chitosane pur (A), de PLA pur (B) et leur mélange(C).

A. Films chitosane majoritaire

Pour réaliser les mélanges de Chitosane / PLA, la préparation d'une solution de Chitosane à 1% en poids, puis une solution de PLA 2 % en poids. Des mélanges à différents pourcentages massiques de Chitosane et de PLA ont été ensuite préparés. On maintient l'agitation jusqu'à obtenir une solution homogène pendant 20 minutes.

Le mélange des deux solutions de Chitosane et de PLA est versé dans des boîtes de pétri séchées à la température ambiante pendant deux jours.

Les abréviations de ces films obtenus sont énumérées dans le tableau suivant :

Tableau 10: La composition des films en (%) du Chitosane /PLA.

Abréviation	La composition des films en (%)	
	chitosane(%)	PLA (%)
Chitosane Pure	100	0
Chitosane PLA1	99	1
Chitosane PLA2	98	2
Chitosane PLA3	97	3
Chitosane PLA4	96	4
PLA pure	0	100

Avec :

- Chitosane PLA1= 99% de chitosane + 1% de PLA
- Chitosane PLA2= 98% de chitosane + 2% de PLA
- Chitosane PLA3= 97% de chitosane + 3% de PLA
- Chitosane PLA4= 96% de chitosane + 4% de PLA

La figure suivante montre les différents films de mélanges Chitosane / PLA à différents pourcentages



1% PLA

2% PLA

3% PLA

4% PLA

Figure 22: Films de mélanges Chitosane/ PLA à différents pourcentages.

B. Films du PLA majoritaire

Avec le même procédé utilisé pour préparer des films chitosane / PLA les films PLA / chitosane sont préparés.

Les abréviations de ces films sont énumérées dans le tableau suivant:

Tableau 11: La composition des films en (%) de PLA / chitosane.

Abréviation	La composition des films en (%)	
	Chitosane (%)	PLA (%)
Chitosane Pure	0	100
PLA CS1	1	99
PLA CS2	2	98
PLA CS3	3	97
PLA CS4	4	96
PLA pure	100	0

Avec :

-PLA CS1 = 99% de PLA + 1% de CS

- PLA CS2 = 98% de PLA + 2% de CS

- PLA CS3 = 97% de PLA + 3% de CS

- PLA CS4 = 96% de PLA + 4% de CS

La figure ci-dessous montre les films des mélanges PLA / Chitosane à différents pourcentages



1% CS

2% CS

3% CS

4% CS

Figure 23: Films de mélanges PLA / chitosane à différents pourcentages.

II-3 Étude de l'activité antibactérienne.

II.3.1 Matériel

- Les matériaux utilisés sont sous forme de films de PLA/chitosane préparés au laboratoire par casting.

Les films sont d'abord découpés en petits carrés de 1x1 cm² puis stérilisés avec de l'alcool éthylique à 70% pendant 2 heures puis essuyés avec du papier absorbant à côté de bec benzen.

Deux milieu de culture ont été utilisé est la gélose dont les caractéristiques sont :

- La gélose : Milieu Muller Hinton dont la composition est :

- | |
|--|
| <ul style="list-style-type: none">- Formule en g /l- Extrait de viande 0,3- Hydrolysate acide de caséine 17,5- Amidon 1,5- Agar 16- pH = 5- Fournisseur : Institut Pasteur D/Alger |
|--|

-Souches bactériennes

Le support bactérien est constitué par 4 souches : des souches de deux Gram négatif (*Escherichia coli* et *Salmonella thyphimurium*) et de deux Gram positif (*Staphylococcus aureus* et *Listeria innocua*).

II.3.2. Protocole expérimental

❖ Préparation des coupons

Les films analysés sont :

- Chitosane pur
- PLA pur
- PLA + 1% de chitosane
- 2% de chitosane
- 3% de chitosane
- 4% de chitosane

❖ Méthode de diffusion en milieu gélosé.

L'activité antibactérienne des différents coupons est évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé ou des boîtes pétries préparées sont stérilisées dans un four pasteur pendant 15 minutes, dans lesquelles on verse environ 20ml de la gélose Muller Hinton et qu'on laisse solidifier à côté du bec bunsen. Après la solidification, un ensemencement d'une suspension bactérienne à 10^6 UFC/ml est effectué en surface à l'aide d'un écouvillon stérilisé. Pour permettre l'absorption de la suspension bactérienne, les boîtes pétries sont laissées reposer pendant 20 minutes. Les coupons à tests sont ensuite délicatement déposés à la surface de chaque boîte, puis laissés à côté de bec bunsen pendant 20 minutes, puis incubés à 37°C à l'étuve pendant 24 heures [23].

L'activité antibactérienne est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque coupon après 24 heures d'incubations [24].

Résultats et discussions

PARTIE I. Extraction et caractérisation de la chitine et du chitosane

➤ Extraction de la chitine et du chitosane

Après le traitement des carapaces des crevettes par la déminéralisation, la déprotéinisation, et blanchissement, la chitine extraite sera désacétylée pour obtenir le chitosane. Le tableau suivant correspond aux masses de la chitine et du chitosane obtenus.

Tableau 12: Les résultats de la chitine extraite et du chitosane extrait.

Masse des carapaces de crevettes initiale (g)	134,562 g
Masse de la chitine extraite après les traitements : déminéralisation, la déprotéinisation et blanchissement des carapaces de crevettes (g)	26,2g
La masse du chitosane obtenue après la désacétylation 24,2g de la chitine(g)	12,3g

➤ Caractérisation de la chitine et du chitosane

I.1. Détermination de la teneur en eau et en cendre

Pour estimer la teneur d'eau dans un produit, 1g de la chitine et 1g du chitosane sont prélevés et pesés. Ces derniers sont séchés 24 h dans une étuve à 60 °C, puis pesés après le refroidissement.

Tableau 13: Résultats d'analyse de teneur en eau de la chitine et du chitosane.

Echantillon	Masse avant l'étuvage (g)	Masse après l'étuvage (g)	W(%)
Chitosane	1	0,908	9,2
Chitine	1	0,934	6,6

Pour estimer la teneur en cendre, environ 1 g d'échantillon est pesé dans un récipient en céramique de poids connu. Elle est repliée et placée pendant 1 heure à 500 °C. Après refroidissement, elle est de nouveau pesée. Les résultats obtenus sont illustrés sur le tableau ci-dessous :

Tableau 14: Résultats d'analyse de teneur en cendre de la chitine et du chitosane.

Echantillon	Masse initial (g)	Masse incinération l'étuvage (g)	La littérature (NO et al. (1995)).
Chitosane	1	0,18	0,19
Chitine	1	0,13	0,13

D'après ces valeurs, on remarque que le pourcentage du taux de cendre, qui désigne la teneur en matière minérale, est important dans le chitosane par rapport à la chitine. La chitine a un taux de cendre plus faible, ce qui pourrait signifier que le chitosane a subi d'autres traitements supplémentaires. Nos valeurs sont en accord avec ceux obtenus par **NO et al. (1995)**.

I.2. Etude de la solubilité de la chitine et du chitosane dans l'acide acétique

L'étude de l'effet de la concentration de l'acide acétique sur la solubilité des deux polymères (chitine et chitosane) extrait, a été réalisée sur la solution de l'acide, les figures ci-dessous représentent les photographies de la chitine et du chitosane dans une solution acide acétique de 1%.

Solubilité de la chitine



Avant l'agitation.

→
1heure



Après l'agitation

Figure 24: Les photographies de la chitine extraite dans une solution acide acétique 1%.

Nous pouvons observer que la chitine est insoluble dans l'acide acétique, par contre le chitosane est complètement soluble dans l'acide acétique.

La chitine est insoluble dans l'acide acétique 1% car il ne peut pas être protonisé à cause de l'absence de groupement amine et /ou un faible degré de déacétylation.

Les acides concentrés, de préférence à chaud, et certains solvants toxiques sont capables de solubiliser la chitine. Leur utilisation est dangereuse pour l'opérateur et dégradent la structure de la chitine et du chitosane [1].

Ceci constitue l'inconvénient majeur qui limite l'utilisation de la chitine et rend difficile sa caractérisation. Des recherches récentes portent sur le potentiel des liquides ioniques pour solubiliser la chitine d'une part, et former un film d'autre part [2].

Solubilité du chitosane

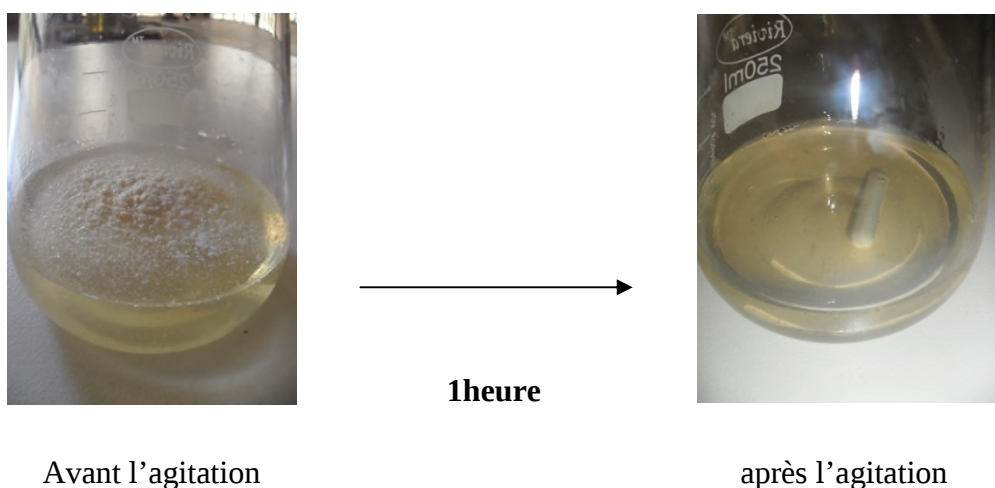


Figure 25: Les photographies du chitosane extrait dans une solution acide acétique 1%.

La figure 25 montre que le chitosane est complètement soluble dans l'acide acétique 1% et cela est due au groupement amine qui se protonise.

Le chitosane a trois types de groupes fonctionnels réactifs, un groupement amine et deux groupements hydroxyles en positions C₂, C₃ et C₆ respectivement.

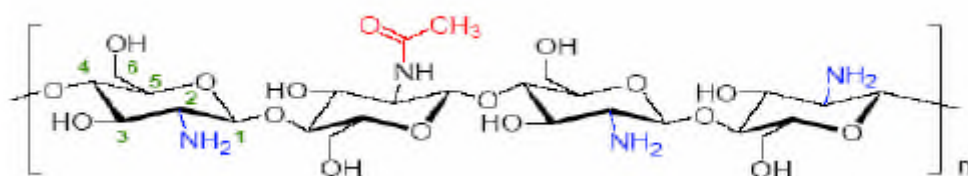
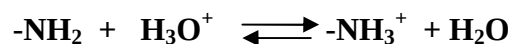
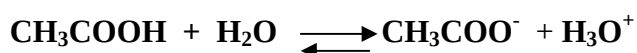


Figure 26: Structure chimique du chitosane.

Grâce à la protonation de ses groupe amine ($-\text{NH}_2$) libres. Le chitosane, soluble dans les acides faibles, possède une charge positive alors que la plupart des polysaccharides sont chargés négativement [3].



Et ses protons proviennent de la dissociation de l'acide acétique suivant l'équilibre :



Beaucoup de facteurs peuvent influencer sur la solubilité du chitosane :

- L'arrangement des chaînes (structure α ou β).
- L'enchaînement des groupes N-acétylés : L'enchaînement successif de plusieurs motifs N-acétylés confère au polymère un caractère plus hydrophobe et modifie sa solubilité.
- Le poids moléculaire : lorsque le poids moléculaire augmente, la solubilité diminue.

II.3. Détermination de la masse moléculaire du chitosane par viscosimètre

La masse moléculaire du chitosane extrait, a été déterminée par l'analyse viscosimétrique dans un tube capillaire de type Ubbelohde de constante $k=0.003$. Le chitosane est dissout dans une solution de 0.1M d'acide acétique / 0.2M NaCl, à la température ambiante 25°C avec plusieurs concentrations allant de 0.1g/dl jusqu'à 1 g/ dl. Les concentrations ainsi les viscosités et les temps d'écoulements sont résumés dans le tableau ci-dessous. Les constantes spécifiques du (solvant – polymère) utilisé sont $k= 1.81 \cdot 10^{-5}$ dl/g et de $a=0.93$ [4].

Tableau 15: Les concentrations ainsi les viscosités et les temps d'écoulements.

C (g/dl)	t_0 (s)	t (s)	η_{rel}	η_{sp}	η_{sp}/C	$\text{Ln}(\eta_{\text{sp}})/C$
0,1	75	79,2	1,056	0,056	0,56	0,190
0,2	75	87,6	1,168	0,168	0,84	0,128
0,5	75	118,4	1,578	0,578	1,15	-0,075
1	75	191,4	2,552	1,552	1,55	-0,251

Les courbes (η_{sp}/C) en fonction de C permettent de déterminer la viscosité intrinsèque $[\eta]$, qui coïncide avec leur intersection sur l'axe des ordonnées (ordonnée à l'origine), selon la représentation sur la figure suivante :

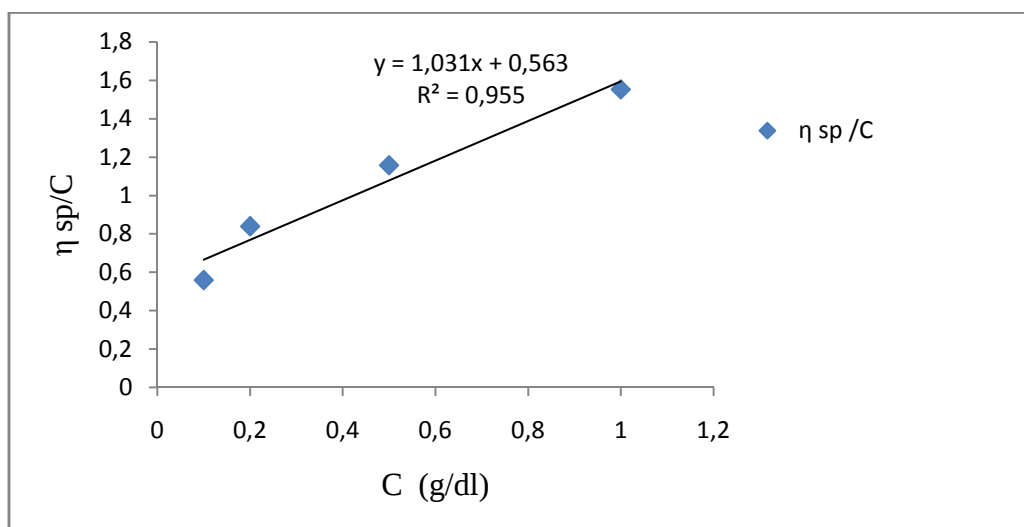


Figure 27: Variation de la viscosité spécifique (η_{sp}/C) en fonction de la concentration du chitosane extrait.

L'extrapolation à concentration nulle de la variation de (η_{sp}/C) en fonction de C nous a permis de déterminer la valeur de viscosité intrinsèque $[\eta]$ égale à 0,563 g/dl. À partir de cette valeur et de l'équation de Mark-Houwink, on peut calculer la masse molaire du chitosane. Les valeurs obtenues sont regroupées dans le tableau 16 :

Tableau 16: Valeurs de la viscosité intrinsèque $[\eta]$ et la masse moléculaire moyenne du chitosane extrait.

	η (g/dl)	Mw (KDa)
Chitosane extrait	0,563	31,104
Chitosane selon la littérature [5].	/	10-1000

On remarque que la valeur du poids moléculaire du chitosane extrait est élevée, et appartient à l'intervalle donné par la littérature.

II.4.Caractérisations Spectrales

II.4.1 Analyse par spectromètre infra rouge (FTIR)

Les analyses ont été effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre FTIR dans la plage de $4000-400\text{ cm}^{-1}$ sur des pastilles de KBr contenant la chitine et chitosane extraites et commerciales.

Les spectres d'IR de la chitine et du chitosane représentés dans les figures ci-dessous relèvent l'existence de plusieurs bandes dont l'intensité d'absorption correspondantes, et leur nature varient d'un échantillon à un autre.

➤ Comparaison entre la chitine extraite et la chitine commerciale

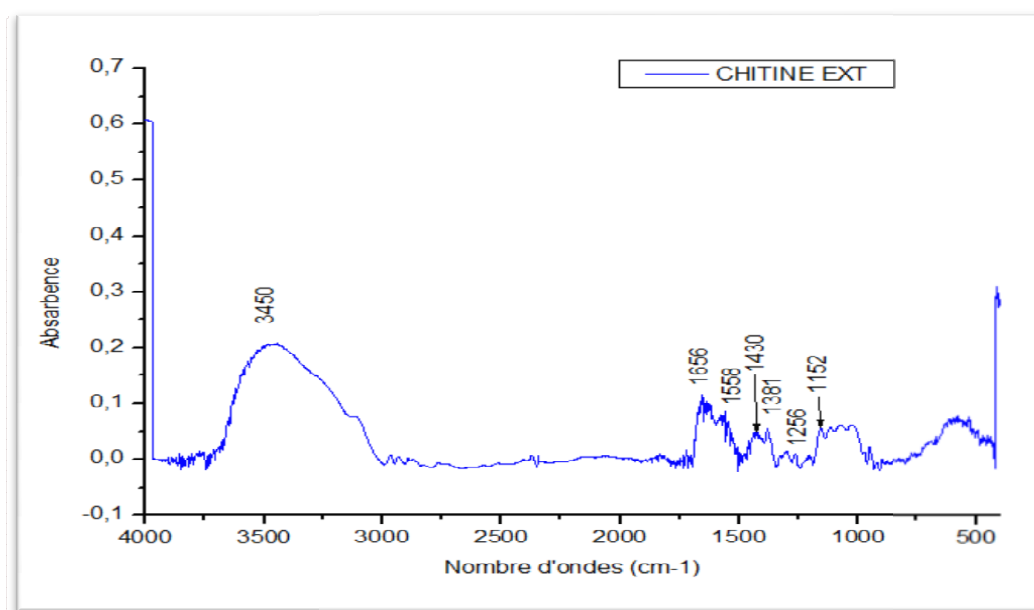


Figure 28: Spectre FTIR de la chitine extraite.

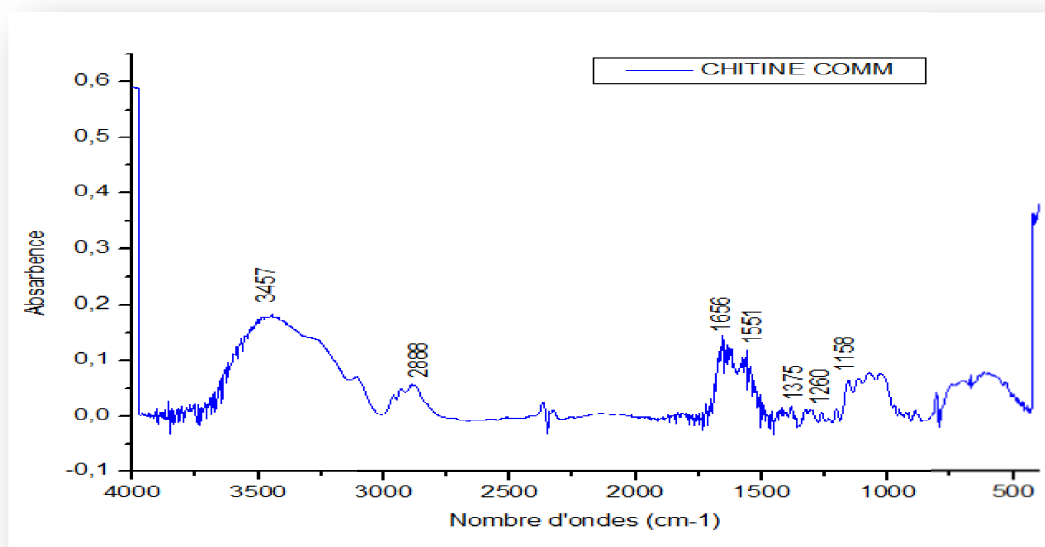


Figure 29: Spectre FTIR de la chitine Commerciale.

Nous pouvons remarquer que les deux spectres sont presque identiques et enregistrent les presque les mêmes bandes d'absorption caractéristiques. Les principales bandes qui apparaissent sont résumées dans ces spectres sont regroupés dans le tableau 17:

Tableau 17: Principales bandes d'absorption FTIR de la chitine et leurs groupements attribuées.

Fréquences (cm ⁻¹) données par littérature [6]	Fréquences (cm ⁻¹) de la chitine extrait	Fréquences (cm ⁻¹) de la chitine commerciale	Attribution aux liaisons
3450	3450	3457	OH, groupe hydroxyle
1660	1656	1656	C=O du groupe amide I
1560	1558	1551	NH de groupe amine
1420	1430	2868	CH ₂ (symétrique ou asymétrique)

1380	1381	1375	CH ₃ du groupe amide
1255	1256	1260	Groupe C-O
1150-1040	1152	1158	-C-O-C- de la liaison glycosidique

- La bande à 3450 cm^{-1} indique les vibrations d'élongations de groupes hydroxyles.
- De larges bandes entre 3200 et 3600 cm^{-1} indiquent que ces groupes sont soit libres, soit impliqués dans des liaisons hydrogènes faibles.
- L'apparition d'un pic à 1656 cm^{-1} correspond à un état amorphe, où les vibrations détectées correspondent aux liaisons entre l'amide I et le groupe C=O.
- Des bandes à 1558 cm^{-1} indiquent la vibration entre N-H d'un amide II déformé.
- Des bandes à 1381 cm^{-1} peuvent correspondre aux vibrations de CH₃ du groupe amide.

Les bandes d'adsorption de la chitine extraite sont presque les même bandes de la chitine commerciale ceci est confirmé par la présence des liaisons -C=O, -CH₃, N-H.

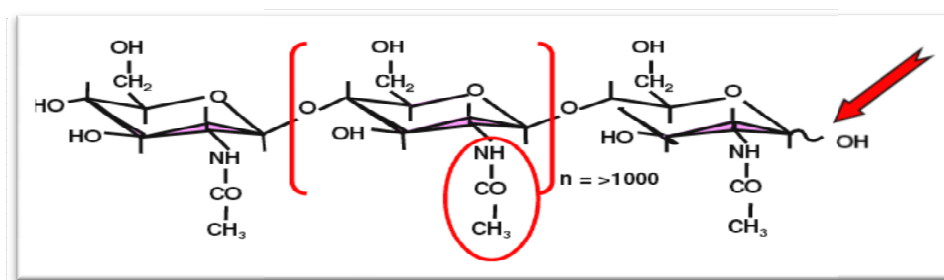


Figure 30: Structure linéaire de la chitine.

❖ Détermination de la structure de la chitine

L'analyse spectroscopique est une méthode de caractérisation. La chitine est trouvée dans la nature sous 3 formes différentes; alpha, bêta et gamma [7].

Dans le spectre IR de l'alpha chitine, 3 pics aux environs de 1650 , 1620 et 1550 cm^{-1} indiquent que la chitine est examinée dans la forme alpha [8]. Contrairement à la forme alpha, la

forme de bêta, un seul pic est observé à 1650 cm^{-1} [9]. Comme on le voit dans la figure 29, un seul pic représenté à 1656 cm^{-1} . Nos résultats confirment l'obtention de la forme bêta(β) chitine.

➤ **Comparaison entre le chitosane extrait et commercial**

Les spectres FTIR du chitosane extrait et commercial sont présentes sur les figures ci-dessous :

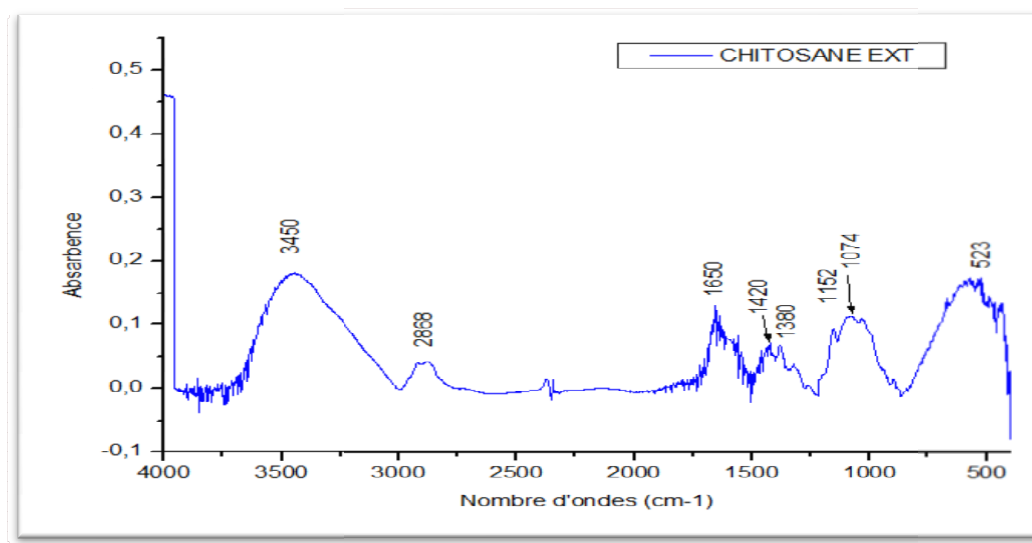


Figure 31: Spectre FTIR du chitosane extrait.

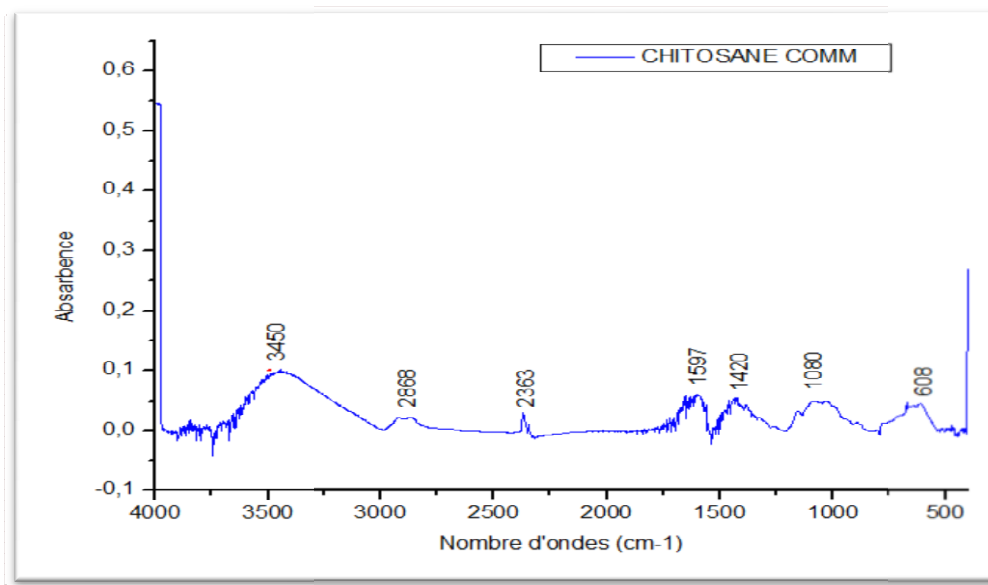


Figure 32: Spectre FTIR du chitosane commercial.

Nous pouvons remarquer que les deux spectres sont presque identiques et enregistrent presque les mêmes bandes d'absorption caractéristiques. L'ensemble des bandes d'absorption attribuées soit au chitosane extrait ou bien commercial ainsi que leurs modes de vibration, sont regroupées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 18: Principales bandes d'absorption IR du chitosane et leurs groupements attribuées.

Fréquences (cm ⁻¹) données par littérature [10]	Fréquences (cm ⁻¹) du chitosane extrait	Fréquences (cm ⁻¹) de chitosane commerciale	Attribution aux liaisons
3300-3650	3450	3450	ν OH
2850-2960	2868	2868	ν CH
1655	1650	-	ν CO (amide I)
1555	-	1597	δ NH (amide II)
1406	1420	1420	ν N-C
1379	1380	-	δ CH ₃ , δ OH
1070-1167	1074-1152	1080	ν C-O et δ OH
500-900	523	608	-C-O-C- de la liaison glycosidique

Les figures précédentes présentent les différences bandes d'IR suivantes:

- l'absorbance de pic à 3450 cm⁻¹ qui diminue avec augmentation du degré désacétylation. Cette diminution reflète une réduction des liaisons d'hydrogène intermoléculaire C(2) NH....O=C et C(6) H....HOC(6). Ces résultats indiquent que les arrangements antiparallèles des chaînes chitosane extrait se transforment en arrangements parallèles avec l'augmentation des degrés désacétylation [11].

- La bande principale qui se trouve à 3450 cm⁻¹ dans le spectre du chitosane extrait est la même dans le spectre du chitosane commercial.

- Les deux spectres montrent une large bande à $3380\text{-}3500\text{cm}^{-1}$ qui correspond aux vibrations d'élongation de -NH et -OH incluent les liaisons d'hydrogène mais aussi un accroissement important de intensités des bandes d'élongation du chitosane extrait par rapport au chitosane commercial.

- L'absorbance de pic due à la vibration d'élongation de -CH à 2868 cm^{-1} deviennent plus faibles dans le cas du chitosane commercial.

- Un pic caractéristique apparaisse à 1650 cm^{-1} . Il est dû à la vibration d'élongation du -CO . Ce pic amide I est facilement identifiable dans le cas du chitosane extrait car cette dernière est plus acétylé que le chitosane commercial.

- La région $500\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ s'appelle région sensible à la structure du chitosane commercial [12].

➤ **Comparaison entre la chitine extraite et le chitosane extrait**

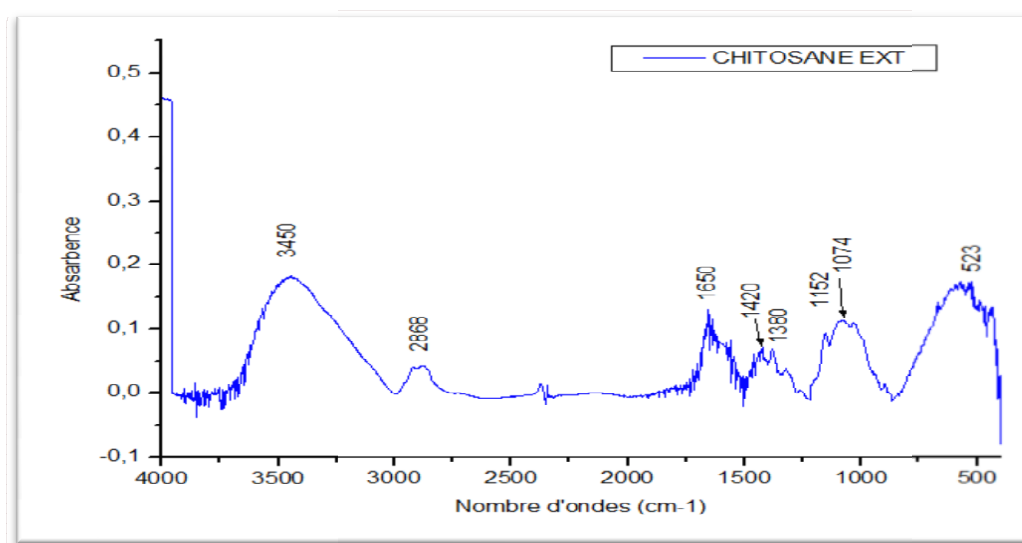


Figure 33: Spectre FTIR de chitosane extrait.

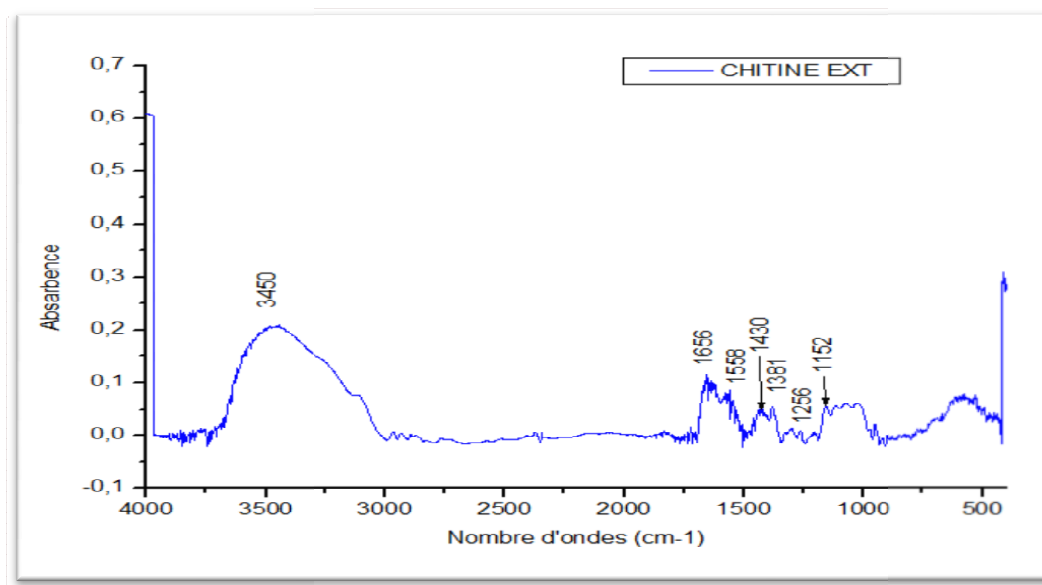


Figure 34: Spectre FTIR de la chitine extraite.

La spectroscopie IR constitue une méthode de choix pour le suivi de la conversion de la chitine en chitosane. Nous pouvons ainsi mettre en évidence l'apparition ou la disparition de certaines bandes de façon très significative au cours de ces étapes de synthèse.

Les figures précédentes représentent les spectres infra rouges (FTIR) de la chitine extraite et du chitosane extrait respectivement.

- Accroissement important de l'intensité de la bande d'élongation de N-H à 2868 cm^{-1} , observée en particulier sur le spectre IR du chitosane extrait et correspond aux groupements amino formés.

- Déplacement de la bande amide I dans la chitine à 1656 cm^{-1} vers les fréquences inférieures à 1650 cm^{-1} dans le chitosane, ceci est un signe de diminution des liaisons d'hydrogènes en liaison d'état amorphe du chitosane.

- Atténuation progressive de la bande d'amide I qui apparaît à 1656 cm^{-1} pour la chitine par rapport à la bande amide I qui apparaît à 1650 cm^{-1} dans le chitosane, due à l'augmentation du nombre de NH_2 formé sur les chaînes du chitosane. D'après les résultats de la littérature la désacétylation est toujours associée à un affaiblissement de la bande d'amide I qui apparaît généralement à 1655 cm^{-1} .

- Intensification de la bande associée à la phase cristalline à 1380 cm^{-1} dans le chitosane extrait par rapport à la chitine extraite.

II.4.1.1.Détermination du degré de désacétylation par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

Les valeurs des absorbants des bandes les plus caractéristique, celle de la fonction amide (bande amide I) par rapport à celle de la fonction -OH (alcool), sont utilisées pour la détermination du degré de désacétylation DD (%), puisqu'elles sont proportionnelles aux concentrations perspectives des espèces considérées (la loi de Beer-Lambert).

La détermination du DD (%) a été décrite par plusieurs auteurs. Elle est fondée sur la comparaison entre l'absorbance d'une bande proportionnelle à la désacétylation (bande amide I mesurée à 1658cm^{-1} , A_{1658}) et à l'absorbance de la seconde bande qui est indépendante de la désacétylation et qui reste constante, du fait que ce groupement fonctionnel (-OH) ne subit pas de modification chimique lors de la formation du chitosane (bande de référence de -OH à 3450cm^{-1} , A_{3450}).

Le degré désacétylation est déterminé en utilisant l'équation de (**Baxter**) les calculs sont résumés dans le tableau suivant :

$$\text{DD (\%)} = (\%) \text{NH}_2 = 100 - [(A_{1655}/A_{3450}) * 100 / 1,33]$$

Tableau 19: Le degré désacétylation DD (%) de la chitine et du chitosane (extrait et commercial).

Echantillon	$A_{1655} (\text{cm}^{-1})$	$A_{3450} (\text{cm}^{-1})$	DD(%)
Chitine extraite	0,16	0,17	29,23
Chitine commerciale	0,15	0,17	33,6
Chitosane extrait	0,12	0,56	83,88
Chitosane commercial	0,04	0,30	89,97

Les résultats de ce tableau indiquent que les valeurs du DD (%) de la chitine et du chitosane commerciaux sont très proches de celles de la chitine et le chitosane extraits.

Par ailleurs, le chitosane extrait a enregistré un taux de DD (%) plus important que celui de la chitine extraite. Le DD (%) passe de 29,23% à 83,88%.

II.4.2. Analyse par diffraction des rayons X

La diffraction des rayons X est une analyse non destructive et nécessite une faible masse d'échantillon. Elle permet l'accès à des informations structurales de la matière et donne un aperçu important sur le réseau cristallin.

L'analyse des diffractogrammes des rayons X des matériaux chitine (extraite, commerciale) et chitosane (extrait, commercial) présentés sur les figures ci-dessous relèvent l'existence de phases cristallines par la présence des pics caractéristiques.

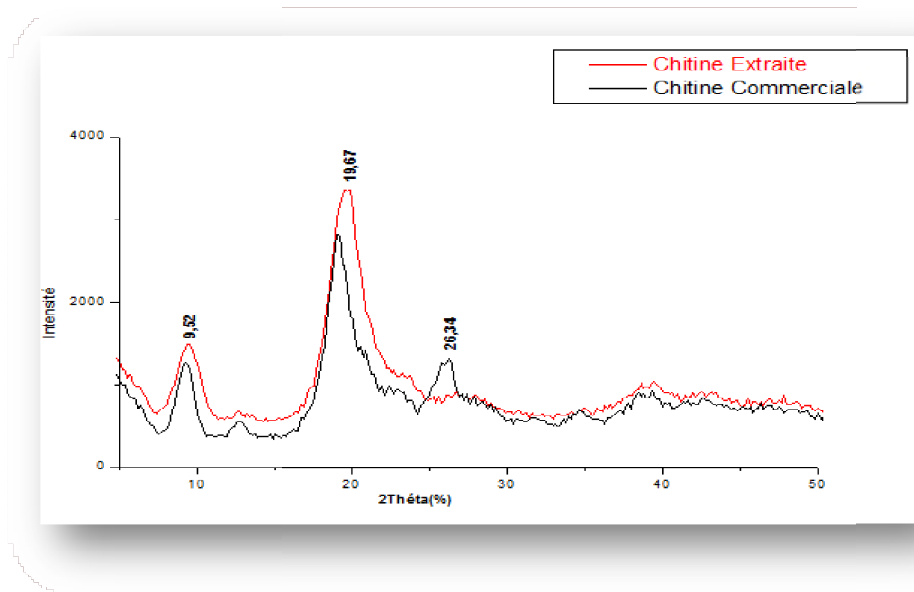


Figure 35: Diffractogrammes (DRX) de la chitine extraite et commerciale.

Nous constatant d'après les diffractogrammes de la chitine extraite et de la chitine commerciale que sont presque identiques. Deux pics fortes 9,52° ; 19,67° et trois pics faible (12,8, 23,4 et 26.34°) ont été observés dans la figure précédente. Notre étude a révélé une structure cristalline Béta (β) de la chitine polymère.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Yen et al., 2009**. Deux pics forts à 9 et 19°, et des pics faibles à 12, 21, 23, et 26° ont été observées [13]. La figure ci-dessous représente les spectres DRX du chitosane extrait et commercial.

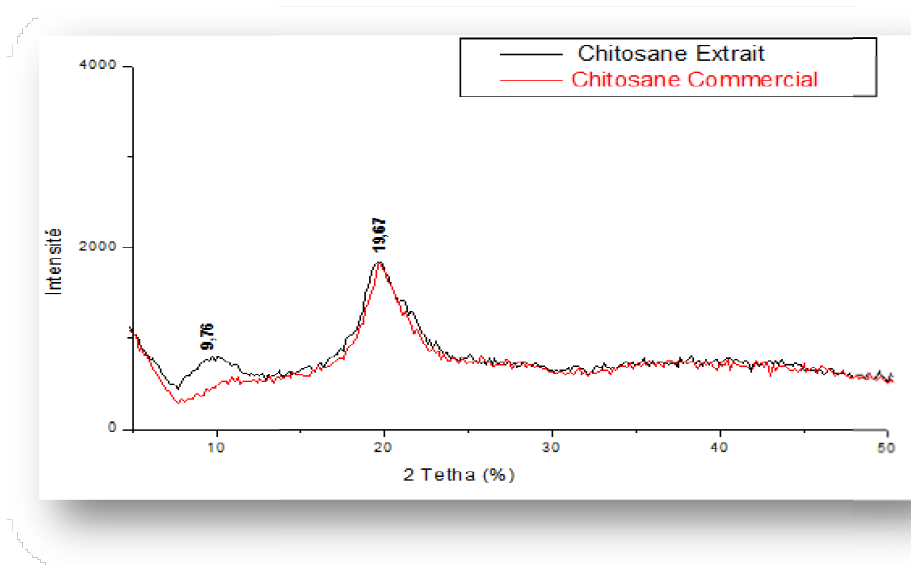


Figure 36: Diffractogrammes (DRX) du chitosane extrait et commercial.

Les spectres de chitosane extrait et commercial sont presque identiques ils présentent deux pics dans le spectre du chitosane extrait situés à 19,67° ; 9,76° et deux pics dans le spectre du chitosane commercial situés à 10,15° ; 19,67.

On remarque la superposition des spectres du chitosane extrait et celui du chitosane commercial ce qui confirme l'efficacité de désacétylation de la chitine en chitosane.

II.4.2.1. Détermination de l'indice de cristallinité

La méthode utilisée pour déterminer l'indice de cristallinité est celle de **Focher et al.(1990)** consiste à identifier le pic d'intensité maximale, noté I_{20} et l'intensité du pic représentatif des hydrates amorphes, noté I_{16} . Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

$$I_{cr} (\%) = [(I_{20} - I_{16}) / I_{20}] * 100$$

Tableau20: L'indice de cristallinité de la chitine et du chitosane (extrait et commercial).

Echantillon	Intensité à $2\theta = 16^\circ$	Intensité à $2\theta = 20^\circ$	Icr(%)
Chitine extraite	375,65	3248,68	88,43
Chitine commerciale	404,91	2730,25	85,16
Chitosane extrait	697,48	1860,73	62,51
Chitosane commercial	609,71	1758,92	65,33

II.5. Propriétés thermiques des polymères naturels préparés

II.5.1. Analyse par thermogravimétrie ATG

La thermogravimétrie (ATG) mesure l'évolution de la masse d'un échantillon en fonction de la température. Cette technique est couramment utilisée pour caractériser la décomposition et la stabilité des matériaux.

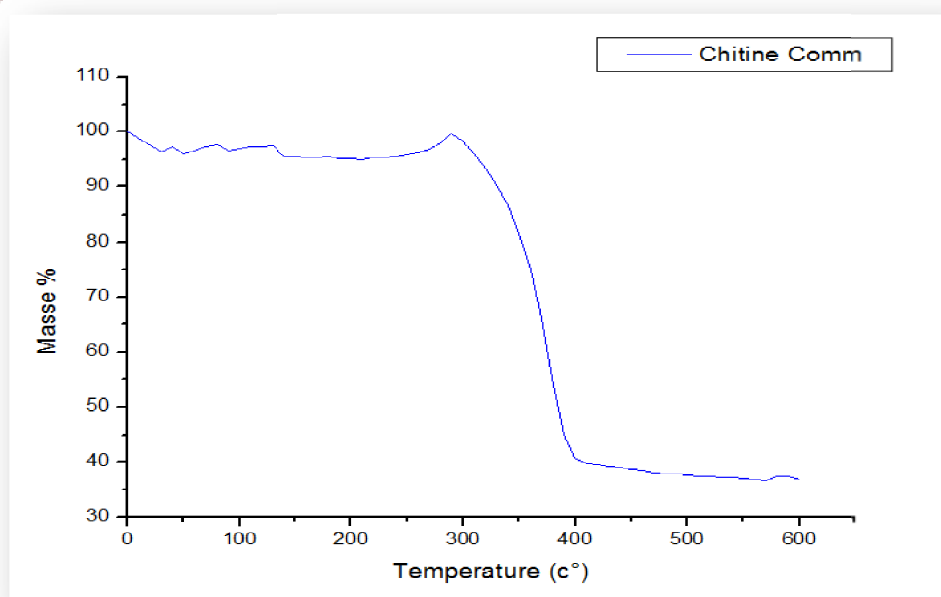


Figure 37: Thermogramme ATG de la chitine Commerciale.

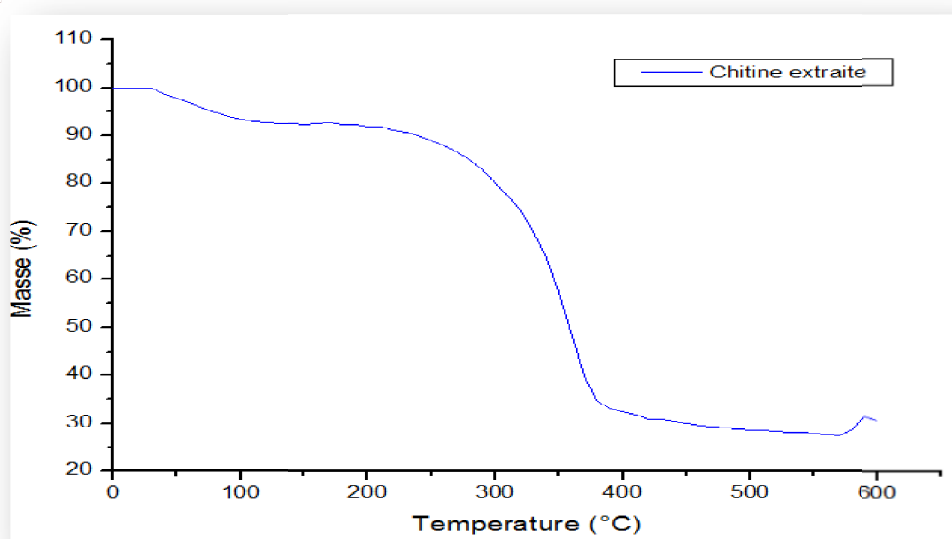


Figure 38: Thermogramme ATG de la chitine extraite.

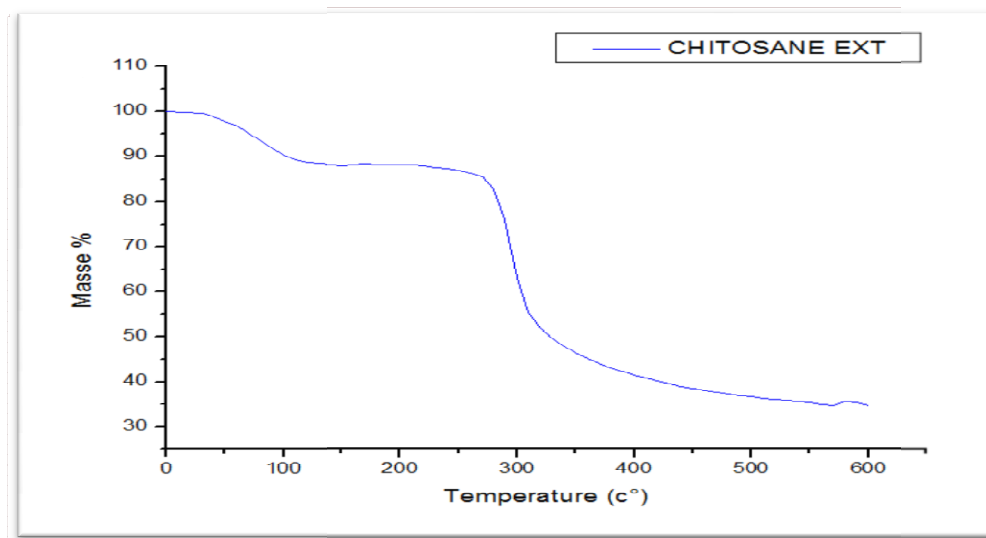


Figure 39: Thermogramme ATG du chitosane extrait.

Les trois thermogrammes des échantillons : chitine extraite, commerciale et chitosane extrait montrent une perte de masse initiale à partir de 50°C jusqu'à 110°C, ce qui est attribué à une perte d'eau (évaporation d'eau) et/ ou des solvants restés attachés dans leurs structures et qui ont servi pour leurs synthèses

Deux palies sont observés sur les thermogrammes des figures précédentes. Le premier indique la perte d'eau contenue dans l'échantillon et apparaît environ à 50°C et le second à partir de 250°C correspond à une perte de masse qui peut être attribuée à la dégradation de la chaîne du polymère.

- Les deux chitines extraites et commerciales se dégradent à partir de 250°C et 300°C respectivement. Le chitosane se dégrade à 280°C qui est supérieur devant celle de la chitine extraite.
- Cependant le début de formation du cendre dans le cas de la chitine est à 380°C cela est probablement attribué à l'existence des impuretés résiduelles des étapes de traitements précédentes, dans le cas du chitosane on remarque que la formation du cendre commence à une température plus basse à 300°C dans le chitosane extrait, nous pensons que cette diminution de la température de dégradation est le résultat d'une forme plus libre de ces impuretés provoquée par la réaction de désacétylation.

Les thermogrammes ATG obtenus représentent la perte en masse relative en fonction de la température et ces valeurs sont regroupées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 21: Perte d'eau et de masse de la chitine (extraite et commerciale) et du chitosane extrait.

Echantillon	Perte de masse entre (50 à 110 °C)	Perte de masse entre (260°C à 400°C)
Chitine commerciale	11%	54%
Chitine extraite	9%	63%
Chitosane extrait	6%	58%

Partie III: Caractérisation des films élaborés

III.1. Propriétés optiques

🚧 Elaboration des films du chitosane, du PLA et les films Chitosane / PLA.

Les figures suivantes montrent les photographies des films élaborés par évaporation de solvant du chitosane pur (solution du chitosane à 1%), de PLA pur et des films Chitosane / PLA.



Figure 40: Film du chitosane pur.



Figure 41: Films du PLA pur.

-Les films du chitosane pur obtenus ont une belle apparence, lisses, flexibles, et transparents avec une couleur légèrement jaunâtre.

-Les films du PLA pur obtenues ont une belle apparence, lisses, flexibles, et transparents.



1% PLA

2% PLA

3% PLA

4% PLA

Figure 42: Films des mélanges Chitosane/ PLA à différents pourcentages.

- Les films Chitosane/ PLA sont transparentes, dures, avec une couleur légèrement jaunâtre. Cette couleur diminue progressivement avec l'augmentation du pourcentage du PLA.



1% CS

2% CS

3% CS

4% CS

Figure 43: Films des mélanges PLA / Chitosane à différents pourcentages.

Les films de PLA sont durs, par contre les films de chitosane sont souples et flexibles. On remarque aussi l'absence de compatibilité (il y a une séparation de phase).

III.2 Etude de la compatibilité des mélanges chitosane/PLA

Dans cette étude, l'incorporation du PLA dans la matrice de chitosane est plus grande que lors de l'étude précédente. Le chloroforme est utilisé comme solvant. Nous avons employé des quantités de PLA jusqu'à 4%. Malheureusement les films obtenus sont médiocres: très opaques et très cassants, donc difficiles à obtenir pour les mélanges contenant plus de 4% de PLA. Pour ces raisons, nous présenterons seulement ici les résultats du mélange de chitosane/PLA pour les compositions : 100/0; 99/1; 980/2; 970/3; 96/4; 0/100. Par ailleurs, ces mélanges ont l'avantage de contenir le chitosane en phase majoritaire assurant les propriétés antibactériennes.

III.3. Techniques de caractérisation des films à base du chitosane

III.3.1 Caractérisations Spectrales

III.3.1. a Analyse par spectroscopie IR

La spectroscopie IR peut nous renseigner sur la miscibilité des polymères. Elle permet de caractériser les groupements fonctionnels dans les polymères purs en identifiant leurs bandes d'absorption et vérifier si leur nombre d'onde a changé une fois qu'ils ont été mélangés. Cette variation est due à des modifications chimiques ou physiques induites par les interactions entre les différents polymères du mélange.

Le spectre IR de PLA pur et du Chitosane pur est montré dans la figure ci-dessous :

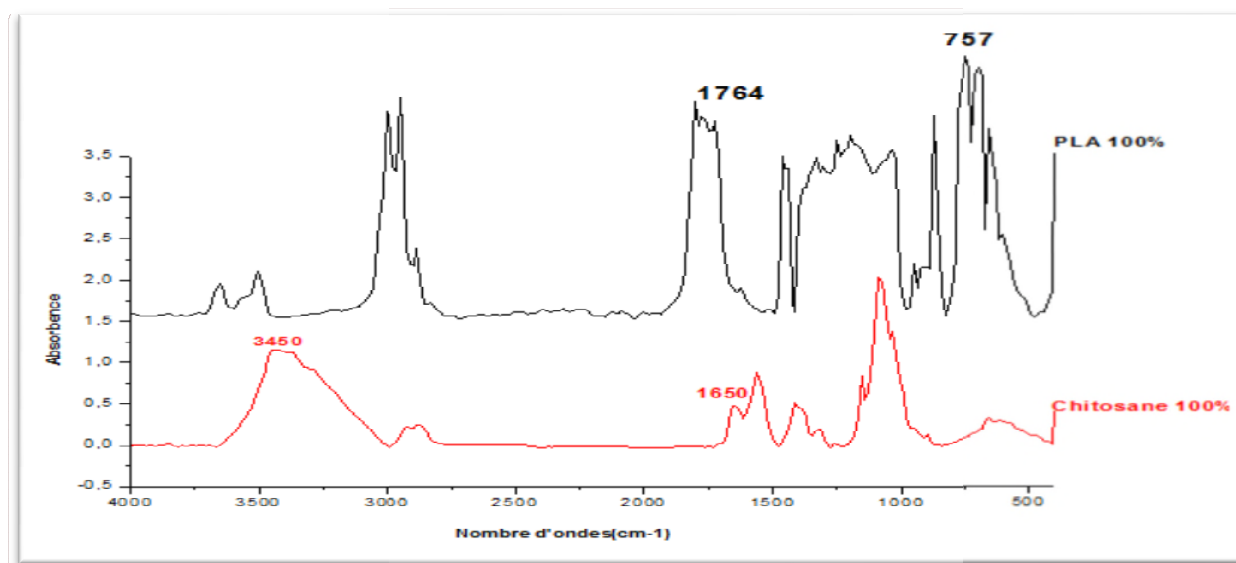


Figure 44: Le spectre IR de PLA pur et du Chitosane pur.

- Le spectre infrarouge présente la structure chimique de PLA pur et du Chitosane pur ou l'appariation des pics caractéristiques tel que dans le cas du chitosane il ya les groupements d'hydroxydes $-OH$ à 3450cm^{-1} , pour le groupe $-CO$ à 1650 cm^{-1} . Même choses pour la structure chimique de PLA ou il ya les groupements carbonyles à 1764 cm^{-1} .

- Le pic à 757 cm^{-1} correspondent à la phase cristalline du PLA n'apparait pas dans le mélange, probablement dû à sa faible quantité dans le mélange.

- Un pic caractéristique apparait à 1650 cm^{-1} . Il est dû à la vibration d'élongation du $-CO$.

Les spectres IR des films chitosane / PLA avec différents pourcentages sont représentés sur la figure ci-dessous :

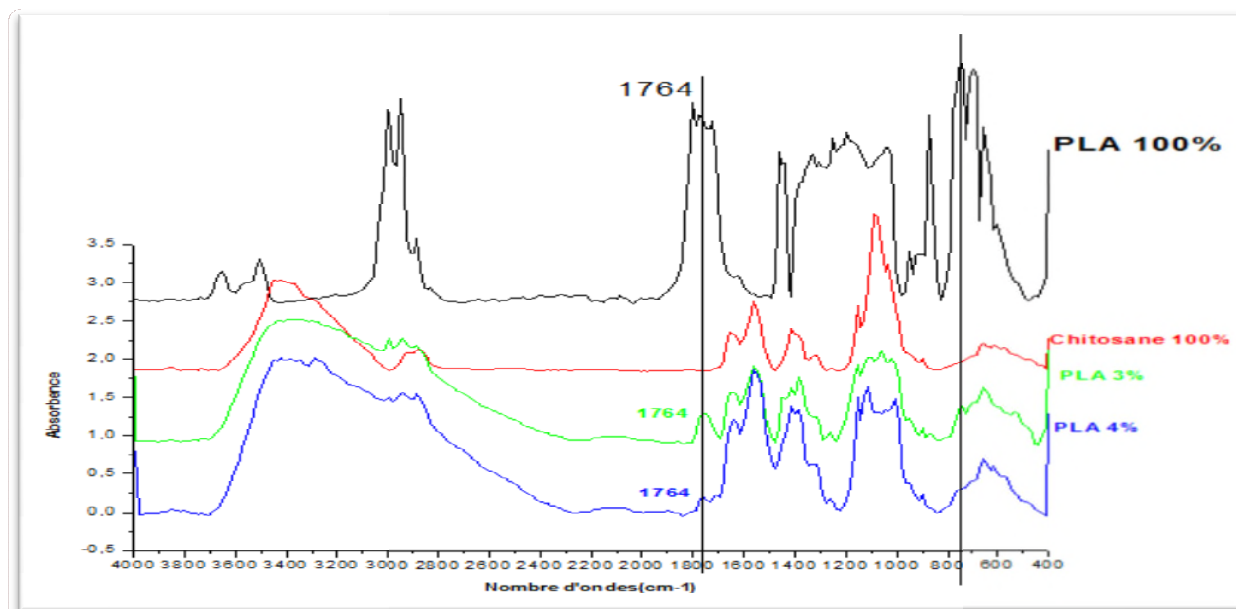


Figure 45: Spectres IR des films chitosane / PLA avec différents pourcentages.

Dans le cas des films composites Chitosane / PLA, on trouve les différents pics d'absorption cités ci-dessus, auxquels s'ajoute une bande caractéristique de la liaison $-C=O$ du groupement carbonyle à 1764 cm^{-1} due à la présence de PLA.

Le pic à 1764 cm^{-1} représente le groupement ester dans le spectre de PLA pur. En ce qui concerne les spectres des mélanges chitosane / PLA. En d'autres termes, les bandes spectrales du chitosane ne sont pas affectées par la composition du mélange. Ce comportement pourrait signifier qu'il n'y a pas d'interaction spécifique entre le chitosane et le PLA ou peut-être l'interaction des deux polymères est trop faible pour être détectée par spectroscopie IR. Par conséquent, les deux polymères ne sont pas complètement miscibles.

III.3.2.b Analyse par diffraction des rayons X

La diffraction des rayons X du chitosane à 100% et des matériaux composites élaborés PLA 1%, PLA 2%, PLA3%, PLA4% sont représenté sur la Figure ci-dessous :

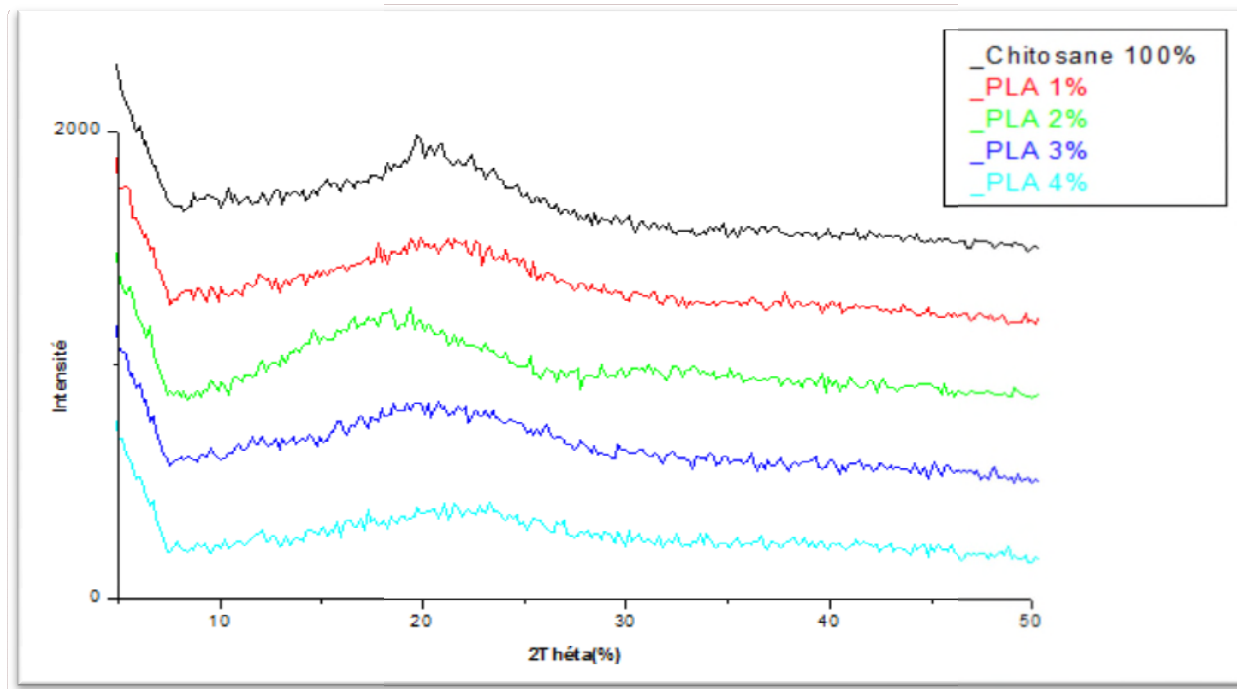


Figure 46: Diffraction des rayons X des films du chitosane pur et des différents pourcentages.

Il y a la diminution de l'intensité pour les quatre pourcentages par rapport au chitosane 100% cela du l'incorporation des déférentes pourcentages du PLA qui à un effet sur la cristallinité des filme ou il la diminué. Ceux-ci prouve l'existence des liaisons d'hydrogène entre deux composants, et les groupes aminés du Chitosane participent à la formation des liaisons hydrogène ce qui était semblable aux résultats rapportés par **Duan et al, (2012)**. Selon la réaction suivante :

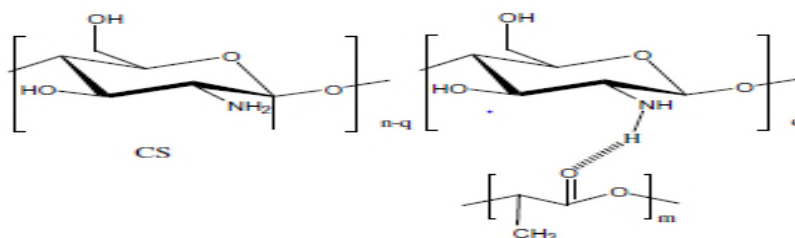


Figure 47: Formation des liaisons hydrogène intermoléculaires entre Composants de PLA et du Chitosane dans les mélanges.

III. Test d'activité antibactérienne

Les photographies ci-dessous représentent les boîtes pétries contenant les différents échantillons avec différentes souche à l'instant de départ (t_0).

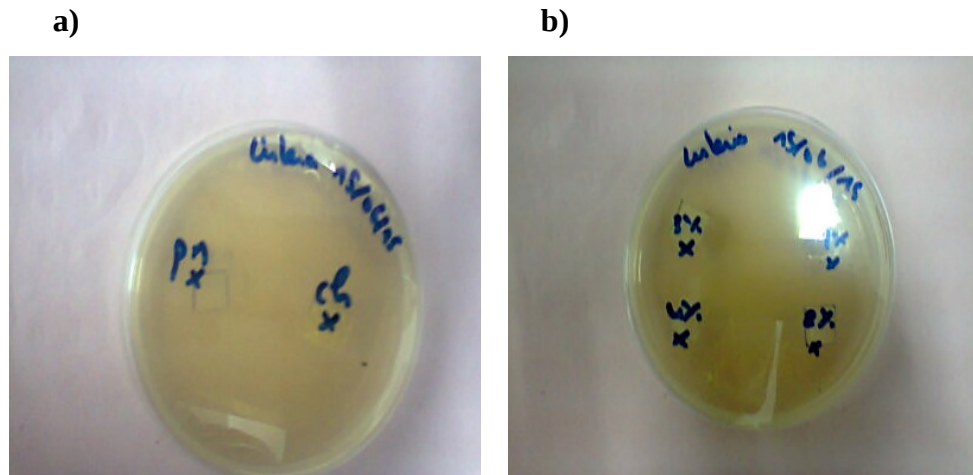


Figure 48:

- a) La photographie de boîte pétrie avec de la gélose à pH = 5 et un coupon de PLA pur et un coupon de chitosane pur à $t=0$
- b) La photographie de boîte pétrie avec de la gélose à pH = 5 et les coupons PLA / 1% cs, PLA / 2% cs, PLA / 3% cs et PLA / 4% cs à $t = 0$.
- Avec la souche de *Listeria innocua*.

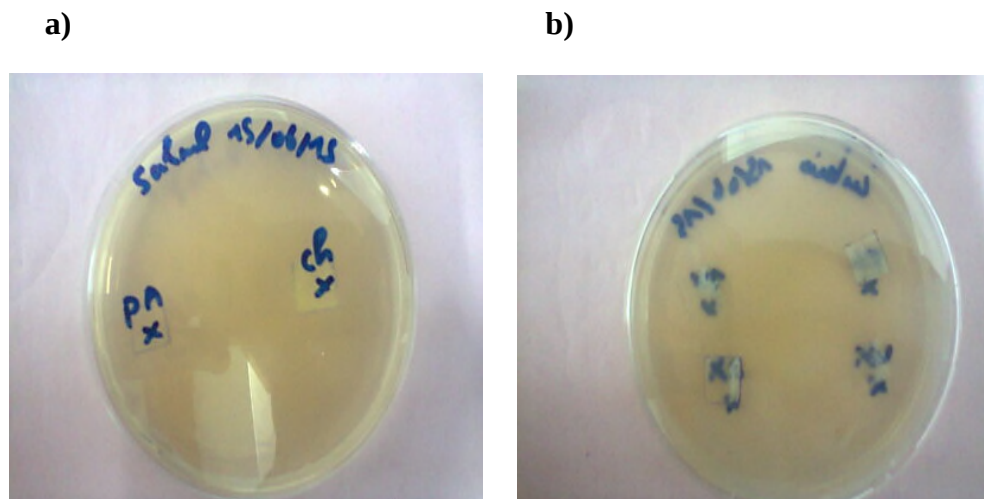


Figure 49:

- a) La photographie de boîte pétrie avec de la gélose à pH = 5 et un coupon de PLA pur et un coupon de chitosane pur à $t=0$

- b) La photographie de boîte pétrie avec de la gélose à pH = 5 et les coupons PLA / 1% cs, PLA / 2% cs, PLA / 3% cs et PLA / 4% cs à t = 0.
- Avec la souche de Salmonella.

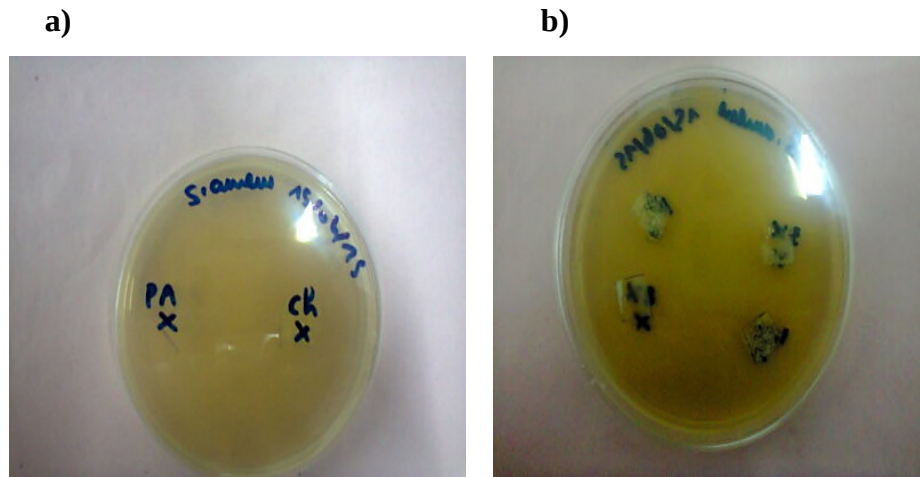


Figure 50

- a) La photographie de boîte pétrie avec de la gélose à pH = 5 et un coupon de PLA pur et un coupon de chitosane pur à t=0
- b) La photographie de boîte pétrie avec de la gélose à pH = 5 et les coupons PLA / 1% cs, PLA / 2% cs, PLA / 3% cs et PLA / 4% cs à t = 0.
- Avec la souche de S- aureus.



Figure 51:

- a) La photographie de boîte pétrie avec de la gélose à pH = 5 et un coupon de PLA pur et un coupon de chitosane pur à t=0.
- Avec la souche de de E coli.

➤ Effet du chitosane et du PLA sur les souches utilisées

- Pour la souche de *Staphylococcus aureus* :

Après 24 heures d'incubation, on remarque l'apparition d'une zone d'inhibition claire autour des coupons du chitosane et de PLA. Même remarque a été observée au-dessous des quatre pourcentages des coupons

La zone d'inhibition est très importante autour du chitosane par rapport à celui du PLA et les résultats sont illustrés dans les photographies suivantes :

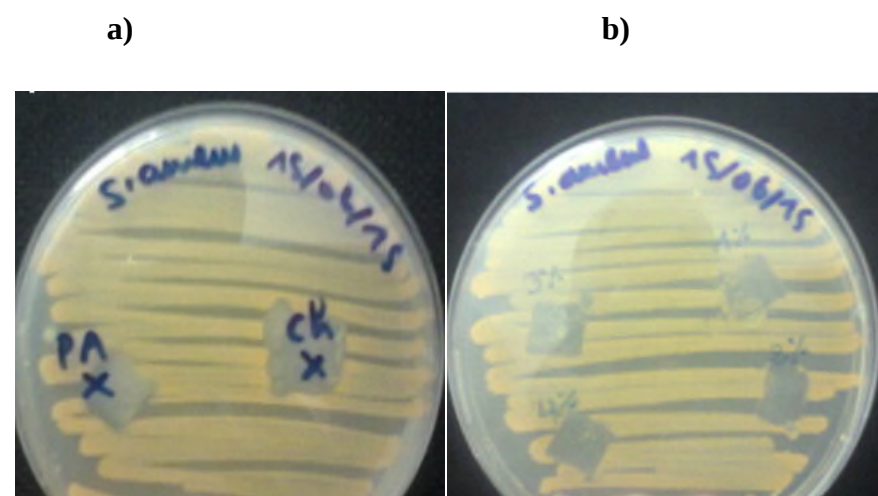


Figure 52:

- a) La photographie de boîte pétrie avec de la gélose à pH = 5 et un coupon de PLA pur et un coupon de chitosane pur après 24 heures d'incubation.
 - b) La photographie de boîte pétrie avec de la gélose à pH = 5 et les coupons PLA / 1% cs, PLA / 2% cs, PLA / 3% cs et PLA / 4% cs après 24 heures d'incubation.
- Avec la souche de *S. aureus*.

- Pour la souche de *E. coli*

On remarque l'apparition de la zone d'inhibition autour du coupon du chitosane, pas de zone pour le coupon de PLA.

Pour les quatre pourcentages pas de zone autour des coupons mais il y a au-dessous de ces coupons. Les résultats sont illustrés dans les photographies suivantes :

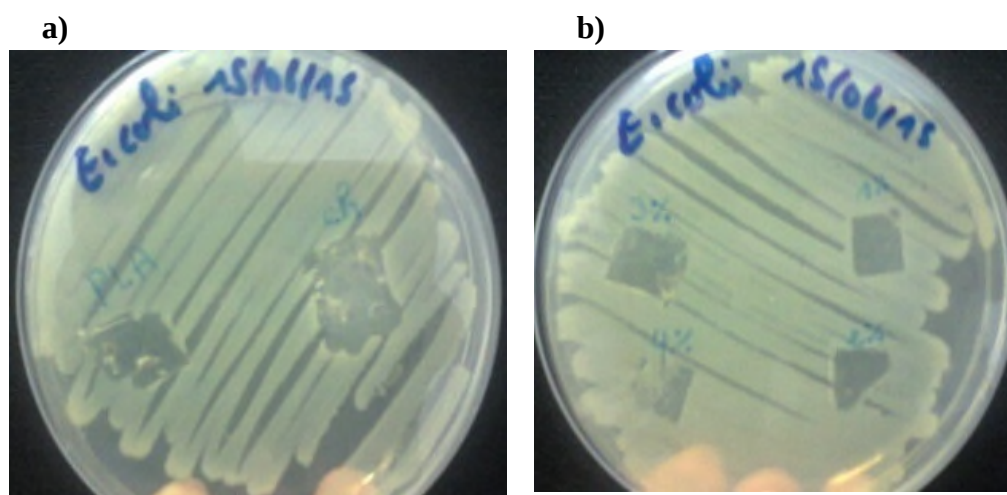


Figure 53:

- a) La photographie de boîte pétrie avec de la gélose à pH = 5 et un coupon de PLA pur et un coupon de chitosane pur après 24 heures d'incubation.
- b) La photographie de boîte pétrie avec de la gélose à pH = 5 et les coupons PLA / 1% cs, PLA / 2% cs, PLA / 3% cs et PLA / 4% cs après 24 heures d'incubation.

- Avec la souche de E coli.

- Pour la souche de Salmonella

Très léger zone d'inhibition a été observé pour le chitosane et ya pas de zone d'inhibition pour le PLA.

Pour les pourcentages il ya la zone d'inhibition autour des coupons mais pas au-dessous.

Les résultats sont illustrés dans les photographies suivant :

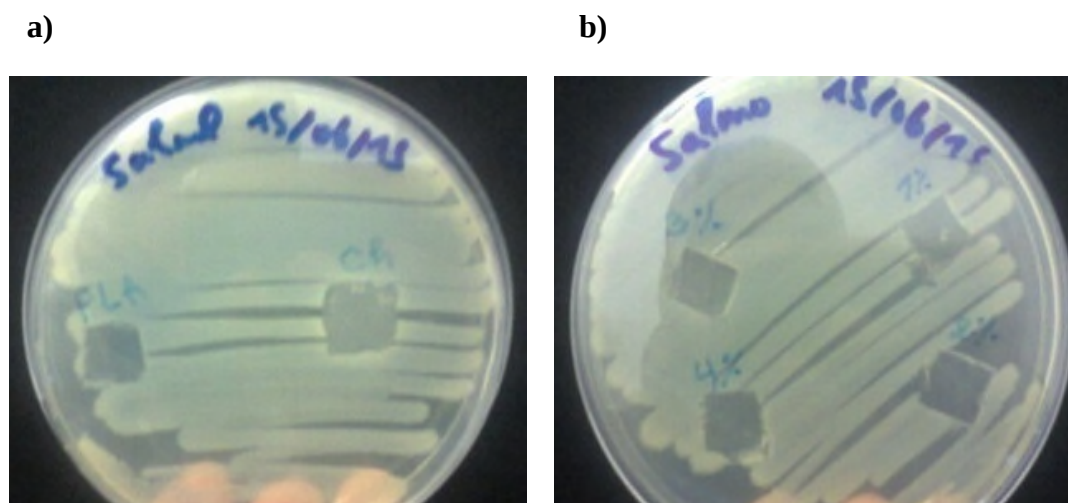


Figure 54 :

- a) La photographie de boîte pétrie avec de la gélose à pH = 5 et un coupon de PLA pur et un coupon de chitosane pur après 24 heures d'incubation.
- b) La photographie de boîte pétrie avec de la gélose à pH = 5 et les coupons PLA / 1% cs, PLA / 2% cs, PLA / 3% cs et PLA / 4% cs après 24 heures d'incubation.
- Avec la souche de Salmonella.

- Pour la souche de *Listeria innocua*

Pas de zone d'inhibition autour des coupons du chitosane et de PLA, même au-dessous de PLA mais pour le chitosane impossible d'interpréter cela due au changement de sa structure.

Pour les coupons des différents pourcentages ya pas la zone d'inhibition autour ou au-dessous. Les résultats sont illustrés dans les photographies suivant :

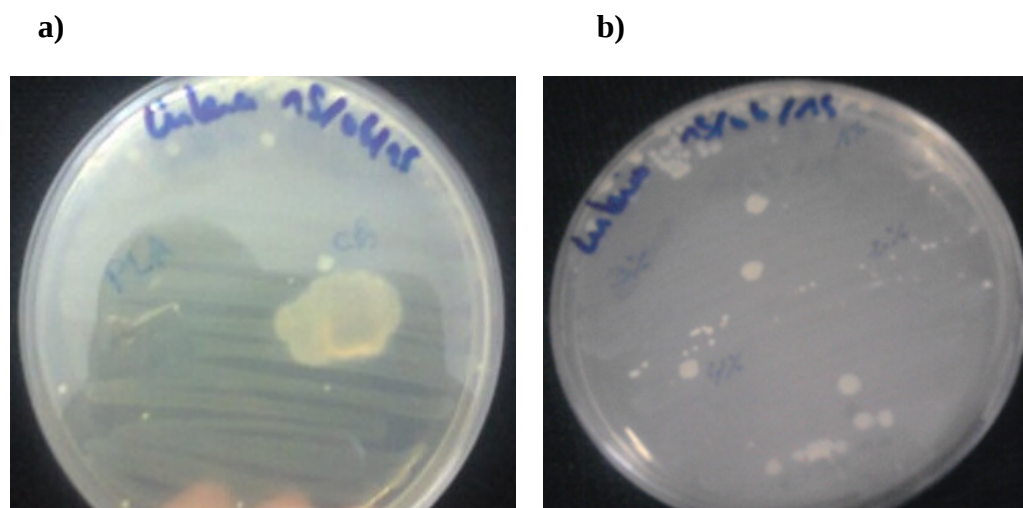


Figure 55:

- a) La photographie de boîte pétrie avec de la gélose à pH = 5 et un coupon de PLA pur et un coupon de chitosane pur après 24 heures d'incubation.
- b) La photographie de boîte pétrie avec de la gélose à pH = 5 et les coupons PLA / 1% cs, PLA / 2% cs, PLA / 3% cs et PLA / 4% cs après 24 heures d'incubation.
- Avec la souche de *Listeria innocua*.

➤ Les résultats du test antibactérien ont montré que le chitosane a un effet sur les bactéries (l'apparition d'une zone d'inhibition) pour les souches de Gram négatif (*Escherichia coli* et *Salmonella thyphimurium*) et deux Gram positif (*Staphylococcus aureus*) mais pas d'effet sur la souche de *Listeria innocua*), probablement du a la paroi de la bactérie.

Conclusion

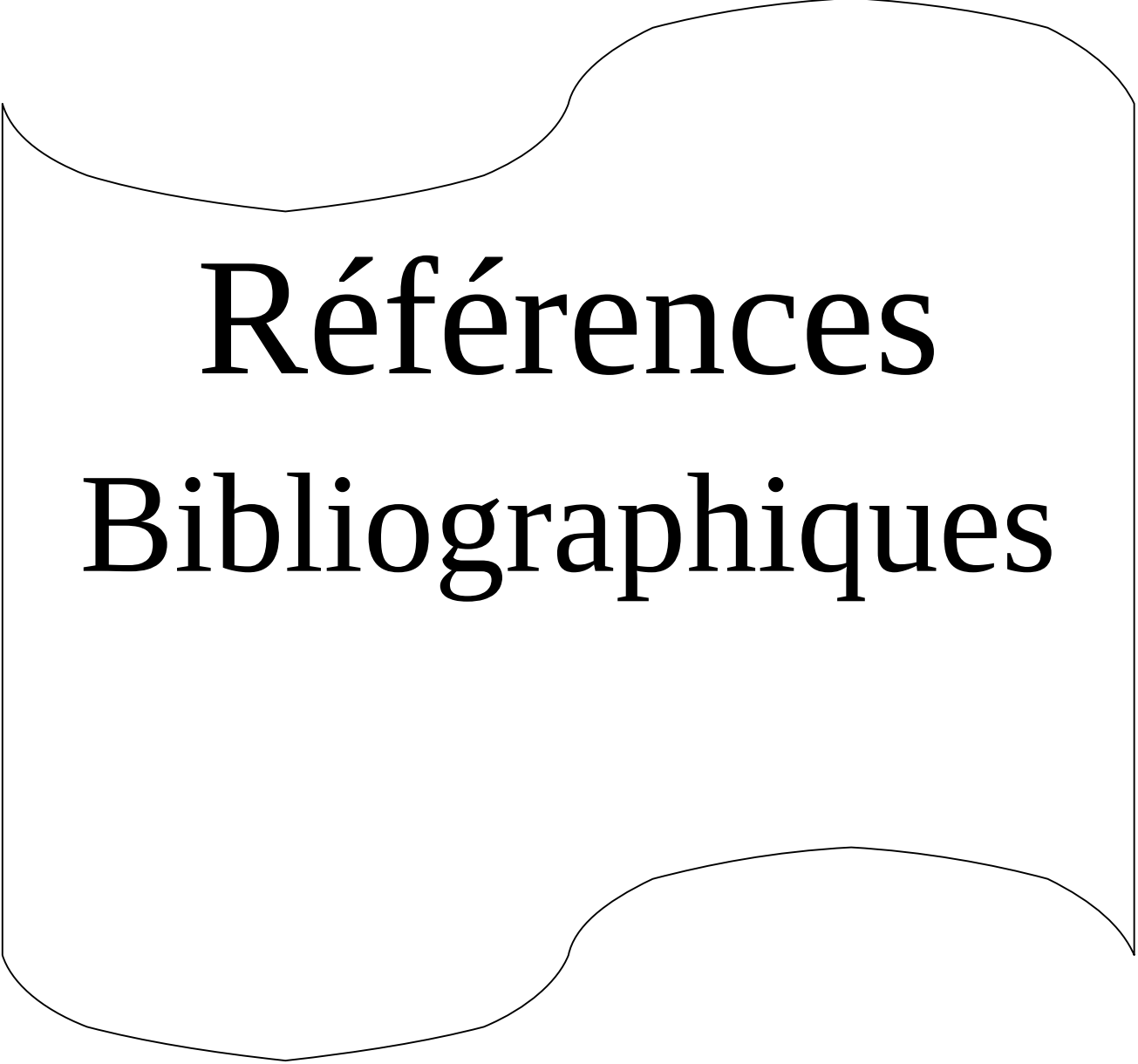
La présente étude a pour objectif de préparer du chitosane un polymère naturel à partir des carapaces de crevettes.

Le but recherché est d'introduire le chitosane comme charge dans le PLA, au polymère très utilisé dans l'emballage alimentaire et dans le domaine médical pour lui conférer le caractère antibactérien.

L'ajout de 1, 2, 3, 4 % de chitosane dans la matrice de PLA en solution dans l'acide acétique a permis d'élaborer des films par casting.

Plusieurs méthodes pertinentes (FTIR, DRX, ATG, Solubilité, teneurs en eau et en cendre et viscosimétrie) ont été utilisées pour mettre en évidence l'extraction de la chitine et la préparation du chitosane.

Les composites PLA/Chitosane ont été testés par la méthode de diffusion en gélose pour vérifier le caractère antibactérien dans un milieu de culture (gélose) avec plusieurs souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, souche de *E coli*, *Salmonella*, *Listeria innocua*).



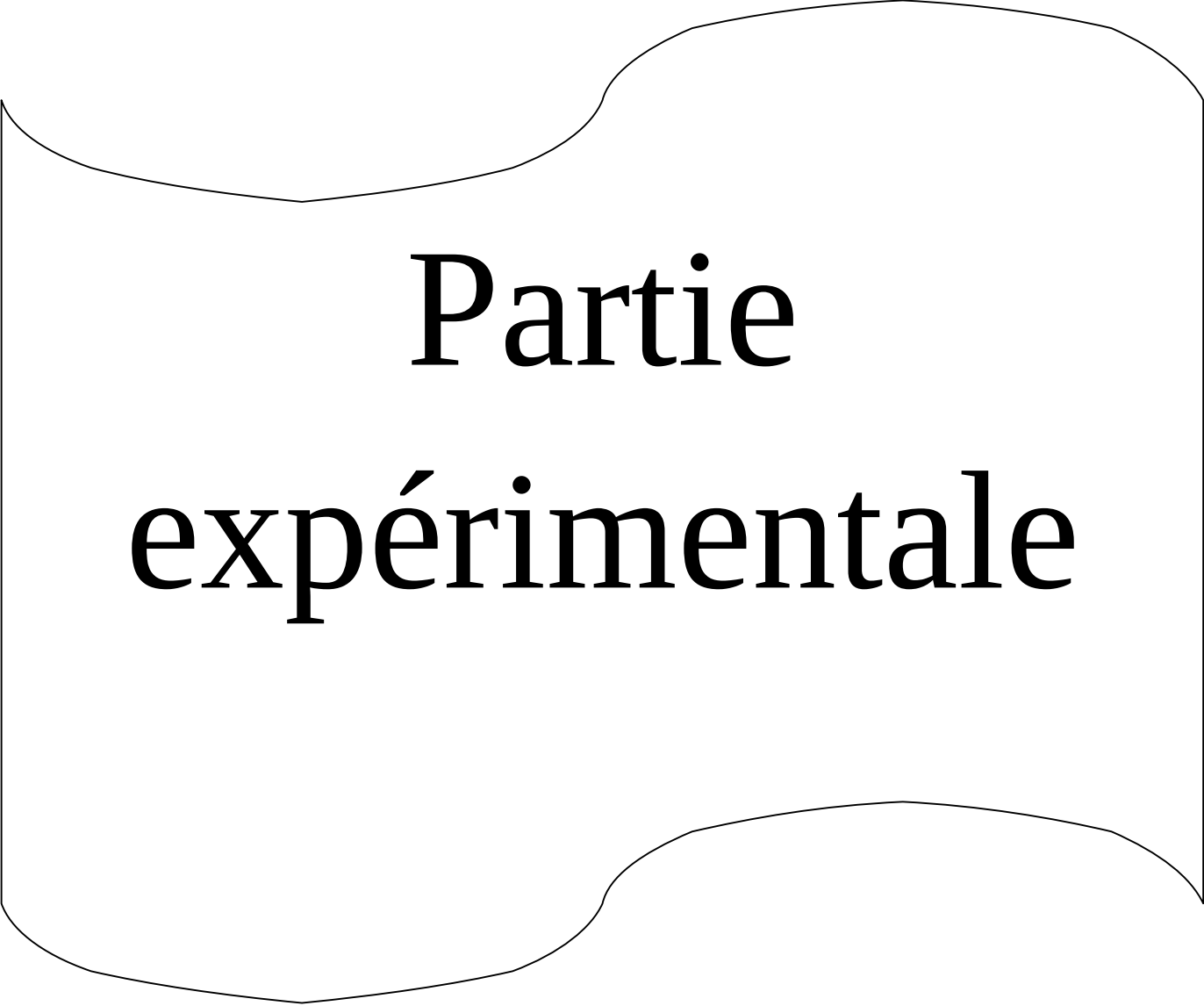
Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

- [1]: **U.Pagga, D .B.Beimborn, M .Yamamoto**, Journal of Environnemental Polymer degradation, 4, 173,1996.
- [2]: **J.Berger, M. Reist, JM Mayer,O ,Felt, NA. peppas,R. Guny** : structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosane hydrogels for biomédical application. European journal of pharmaceutics 57(2004) 19-34.
- [3]: **Iason Tsigos, Aggeliki Martinou, Dimitris Kafetzopoulos and Vassilis Bouriotis**, Chitin deacetylases: new, versatile tools in biotechnology, TIBTECH JULY, (2000).
- [4]: **Dang Vang Luyen and Dang Mai Houng** : chitin and Derivatives. Institue of chemistry, national centre for natural science and Technology).
- [5]: **Michael Oduor-Odote P, Marcin H.S and Martin G.P.** characterisation of chitosan from Blowfly Larvae and Some Crustacean Species from Kenyan Marine Walters Prepared Under Different Conditions.Western Indian Ocean J.Mar.Sci. vol. 4, No.1,pp.99-107,2005).
- [6]: **Hulleman, S.H.D., F.H.P. Janssen, and H. Feil. 1998**, The role of water during plasticization of native starches. *Polym.*, **39**, 2043-2048.
- [7] : **Qin CQ, HR Li, Q Xiao, Y Liu, JC Zhu, YM Du.** Carbohydr Polym 63 (2006) 367).
- [8]: **Entsar S.Abdou, Khaled S.A.Nagy and Maher Z.Elsabee.**Extraction and characterization of chitin and chitosane from local sources. Bioresource technology 99,pp.1359-1367,2008.
- [9] : **Galed G, Miralles B, panos I, Santiago A and Angeles Heras A.** N-Desacetylation and depolymerization reactions of chitin/chitosane: influence of the source of chitin. Carbohydrate polymers 62,pp.316-320,2005.
- [10]: **Avadi M.R Sadeghi A.M.M Tahzibi A, Bayati Kh, pouladzadeh M, Zohuriaan-Mehr M.J and rafiee-Tehrani M.** Diethylmethyl chitosan as an antimicrobial agent: synthesis, characterization and antibacterial effects. European polymer Journal 40,pp.1355-1361,2004.
- [11]: **Harish Prashanth K. V, Kittur F. S and Tharanathan R.N.**Solid state structure of chitosan prepared under different N-deacetylating conditions. Carbohydrate polymers 50, pp. 27-33, 2002.

Références Bibliographiques

- [12]: **burke A, Yilmaz E and Hasirci N.** Evaluation of chitosane as a potential medical Iron(III) ion absorbent. Turk J Med Sci 30,pp 341-348,2000.
- [13]: **M.R. Kassai** (2007) carboydrate polymères.
- [14]: **Baxter, A., Dillon, M., Taylor, K. D. A., & Roberts, G. A. F. (1992).** Improved method for IR determination of the degree of N-acetylation of chitosan. International Journal of Biological Macromolecules, 14, 166-169.
- [15]: **K.M. Varum, M.W. Anthonsen, H. Grasdaen, O. Snidsrmi,** Carbohydr. Res., 211 (1991) 17.
- [16]: **G.A.F. Roberts,** Chitin Chemistry, The MacMillan Press LTD, London (1 992).
- [17] : **E.Ziemons,** Etude en temps réel du processus d'extraction de la tagitine C en fonction du d'Ingénieur d'Etat, Université de Bejaia, 2007.
- [18]: **Kolhe P, Kannan RM.** Biomacromolecules 2003;4:173–80.
- [19]: **O. Senhadji,** Transport des métaux par membranes d'affinité, Etude et application, thèse de Doctorant, Université de Bejaia, 2008).
- [20]: **Muzzarelli RAA, Jeuniaux C, Gooday GW.** Chitin innature and technology. New York: Plenum; 1986.
- [21]: **Muzzareli, T. A. A.** chitin. Oxford: pergamon Press (1977) p. 142.
- [22]: **Khan, T. A., Peh, K. K& C'ing, H. S.** Mechanical bioadhesive strength and biological evaluation of chitosan films for wound dressing. Journal of Pharmrceutical and Pharmrceutical science, 3(3) (2000). 3003-3371.
- [23]: **M.B. McDonnell, P.M. Vadgama,** Membranaires : Separation principales And Sensing, Sel.Elec.Rev, 1989.
- [24]: **J.M. Berland,** les procédés membranaires pour le traitement de l'eau, document technique, décembre 2002.



Partie expérimentale



Résultats et discussions