

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA-BOUMERDES**



**Faculté des Sciences de l'Ingénieur**

**Mémoire de Magister**

Présenté par :

**Mr. MOKRANI Nadir**

En vue de l'obtention du diplôme de **MAGISTER** en :

**Filière : Génie des Polymères**

**Option : Chimie physique des polymères**

**TITRE DU MEMOIRE**

**PREPARATION ET ETUDE DU COMPORTEMENT  
DE MEMBRANES BIOPOLYMERES  
ALGINATE DE SODIUM/CHITOSANE**

**Devant le jury composé de :**

<b>Mr. LAMOURI Saad</b>	<b>Professeur</b>	<b>EMP B/EL Bahri</b>	<b>Président</b>
<b>Mr. BOUMCHEDDA Khaled</b>	<b>Professeur</b>	<b>UMB Boumerdès</b>	<b>Examineur</b>
<b>Mr. DJELALI Nacer-Eddine</b>	<b>Professeur</b>	<b>UMB Boumerdès</b>	<b>Examineur</b>
<b>Mr. ALIOUCHE Djamel</b>	<b>Professeur</b>	<b>UMB Boumerdès</b>	<b>Rapporteur</b>

Année Universitaire 2012/2013

## Remerciements

En premier lieu, je tiens à remercier ALLAH le tout puissant pour m'avoir donné la force et la volonté à finaliser ce travail.

Ce travail a été réalisé au laboratoire de recherche de Traitement et Mise en Forme des polymères fibreux L.T.M.F.P, à l'université de Boumerdès sous la direction scientifique de Monsieur **ALIOUCHE Djamel** professeur et Directeur du laboratoire, je tiens à le remercier très vivement de m'avoir encadré, aidé et apporté son soutien à accomplir cette étude tout en ayant bénéficié d'une partie de son savoir-faire, de son expérience et précieux conseils sans lesquels je n'aurais pas pu terminer ce travail. Ses connaissances prodiguées constamment ont été extrêmement constructives tout le long de ma recherche.

Je suis sensible à l'honneur que me fait Monsieur **LAMOURI Saad** professeur à l'EMP de Bordj EL Bahri, en acceptant de présider le jury proposé pour la soutenance de mon mémoire.

Je tiens également à remercier Monsieur **DJELALI Nacer-Eddine** et Monsieur **BOUMCHEDDA Khaled**, Professeurs à l'université de Boumerdès pour leurs remarques qu'ils ont porté à ce travail en acceptant de l'examiner et de le juger.

Mes vifs remerciements vont à mes chers parents, mes frères (Salah, Nadia, Hachemi, Nadjib, Abderrahmane), et mon épouse qui m'ont soutenu, dans tous les sens du terme, pour que je concrétise ce travail.

Je veux aussi remercier les différentes personnes que j'ai rencontré tout au long de graduation et qui ont pu m'aider par leurs soutiens, et leurs conseils entre autres mes collègues de Magister M<sup>r</sup> **Hamidouche** Fahim, M<sup>r</sup> **Abdouni** Mohamed, et M<sup>elle</sup> **Touati**, M<sup>r</sup> **Boudraa** Belkacem, sans oublier M<sup>r</sup> **Demad** Hammoud, doctorant chimiste à l'E.M.P

Je présente aussi, mes remerciements à toutes personnes qui m'ont aidé de près ou de loin pour la réussite de ce travail, surtout notre secrétaire du laboratoire LTMFP M<sup>elle</sup> **Bouguettaya** Nadia pour son aide, sa disponibilité, sa gentillesse, et son soutien morale.

Et enfin, je remercie tous les membres du laboratoire de recherche L.T.M.F.P

## **RÉSUMÉ**

### **« PREPARATION ET ETUDE DU COMPORTEMENT DE MEMBRANES BIOPOLYMERES ALGINATE DE SODIUM/ CHITOSANE »**

Dans cette étude, l'alginate est mélangé avec le chitosane afin de combiner les caractéristiques des deux biopolymères, et cette association aura normalement pour conséquences la formation spontanée d'un complexe polyélectrolyte (PEC) de charges opposées suite à la réticulation ionique qui réduit non seulement la tendance du gonflement mais améliore également les propriétés spécifiques telles que la l'élongation à la rupture et la stabilité thermique.

L'objectif de ce présent travail est d'étudier le comportement mécanique et thermique des membranes préparées par voie humide « solvant casting » à base du mélange Alg/Chi à différentes proportions massiques, qui permettra non seulement d'appréhender la miscibilité entre les deux biopolymères, mais d'observer l'influence de l'un sur l'autre.

Pour cela, les membranes synthétisées ont été caractérisées par plusieurs techniques : spectroscopie infrarouge (FTIR), essais mécaniques en traction uniaxiale, analyse thermogravimétrique différentielle (ATG-DTG), et calorimétrie différentielle à balayage (DSC). Et enfin le comportement du gonflement de ces membranes a été également étudié.

**Mots clés:** Biopolymères, alginate de sodium, chitosane, réticulation, miscibilité, gonflement.

## **ABSTRACT**

### **« PREPARATION AND STUDY OF THE BEHAVIOUR OF SODIUM ALGINATE/CHITOSAN BIOPOLYMERS MEMBRANES »**

In this study, alginate is mixed with chitosan to combine the features of both biopolymers, and this association will normally have consequences for the spontaneous formation of a polyelectrolyte complex (PEC) of opposite charges on the ionic crosslinking reduces not only the tendency of swelling but also enhances specific properties such as mechanical strength of the structure and thermal stability.

The objective of the present work is to study the mechanical and thermal behaviour of membranes prepared by " solvent cast " made of Alg/Chi mixture different mass proportions , which will not only understand the miscibility between the two biopolymers , but the influence on each other .

For this, the synthesized membranes were characterized by several techniques. Infrared spectroscopy (FTIR), mechanical tests in uniaxial tension, differential thermogravimetric analysis (TGA - DTG) and differential scanning calorimetry (DSC) and finally the behaviour of swelling these membranes was also studied.

**Keywords:** biopolymers, sodium alginate, chitosan, crosslinking, miscibility, swelling.

## ملخص

تحضير ودراسة سلوك أغشية بيوبوليمرات ألجينات الصوديوم / كيتوزان

في هذه الدراسة ، يتم خلط الألجينات مع الكيتوزان لغرض الجمع بين مميزات كل من البيو بوليمرات ، ويترتب على هذا الاشتراك عادة تشكيل تلقائي لمركب بولي الكتروليت (PEC) ذوالشحنات المتعاكسة على أن هذا التشابك الأيوني لا يقلل فقط من الانتفاخ والامتصاص ولكن أيضا يحسن خصائص محددة مثل القوة الميكانيكية للهيكلة و الاستقرار الحراري. والهدف من هذا العمل هو دراسة السلوك الميكانيكي و الحراري للأغشية التي تم تحضيرها بطريقة تبخير المذيب (الكاستينغ) والمصنوعة من الخليط ألجينات / كيتوزان بنسب كتلية مختلفة ، و الذي يسمح ليس فقط بفهم الامتزاج بين الألجينات والكيتوزان ، ولكن تأثير كل منهما على الآخر. ولهذا ، الأغشية التي تم تحضيرها أجريت عليها العديد من تقنيات التحليل منها : التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء ( FTIR ) ، الجذب الميكانيكي ذو التوتر أحادي المحور ، التحليل الحراري التفاضلي ( TGA- DTG ) و المسح الكالوري التفاضلي ( DSC ) ، وأخيرا تم أيضا دراسة سلوك انتفاخ الأغشية

**الكلمات المفتاحية :** البيو بوليمر ، الجينات ، كيتوزان ، التشابك ، الامتزاج ، الانتفاخ

## SOMMAIRE

Remerciements.....	i
Résumé.....	ii
Sommaire.....	iii
Liste des figures.....	iv
Liste des tableaux.....	v
Abréviations et symboles.....	vi
Introduction générale.....	01

## ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

### Chapitre I : Généralités sur les biopolymères

	Introduction.....	05
I.1.	Définitions.....	05
I.2.	Différentes familles de biopolymères.....	05
	I.2.1. Les polysaccharides.....	06
	I.2.1.1. La cellulose.....	07
	I.2.1.2. L'amidon.....	07
	I.2.2. Les protéines.....	09
	I.2.3. Les biopolymères d'origine bactérienne.....	10
	I.2.4. Les biopolymères synthétiques.....	11
I.3.	Propriétés des biopolymères.....	12
	I.3.1. La biodégradabilité.....	12
	I.3.2. Perméabilité à la vapeur d'eau.....	13
	I.3.3. Biocompatibilité et biorésorbabilité.....	14
	I.3.4. Propriétés chimiques.....	15
	I.3.5. Autres propriétés.....	15

### Chapitre II : Biopolymères étudiés

II.1.	L'alginate de sodium.....	17
	II.1.1. Composition chimique.....	17
	II.1.2. Propriétés physico-chimiques.....	19
	II.1.2.1. Solubilité.....	19
	II.1.2.2. Gélification.....	20
	II.1.2.3. Comportement rhéologique.....	22
	II.1.3. Procédé d'extraction.....	22
	a) Préparation de la matière première.....	23
	b) Formation de l'alginate de sodium.....	23
	c) Lixiviation (ou acidification).....	23
	d) Carbonatation.....	23

	e) Flottation et filtration.....	24
	f) Précipitation de l'acide alginique.....	24
	g) Déshydratation.....	24
II.1.4.	Application de l'alginate de sodium.....	26
II.2.	La Chitine et Le Chitosane.....	27
II.2.1.	La Chitine.....	27
II.2.2.	Procédé d'extraction de la chitine.....	28
	a) Déminéralisation.....	28
	b) Déprotéinisation.....	29
	c) Blanchiment.....	30
II.2.3.	Le Chitosane.....	30
II.2.4.	Production de chitosane à partir de la chitine.....	31
II.2.5.	Propriétés physico-chimiques.....	32
	a) Degré d'acétylation.....	32
	b) Solubilité.....	33
	c) Viscosité.....	33
II.2.6.	Applications générales de la chitine et du chitosane.....	34

### **Chapitre III : Mélange de biopolymères et critères de miscibilité**

III.1.	Mélange de polymères.....	37
	III.1.1. Mélanges de biopolymères binaires de charges opposées.....	37
	III.1.2. Réticulation Alginate-Chitosane et formation de complexes.....	38
III.2.	Les Critères de miscibilité des mélanges de polymères.....	39
	III.2.1. Comportement mécanique des mélanges.....	39
	III.2.2. Déplacement des transitions thermiques.....	40
	III.2.3. Observation microscopique des mélanges.....	41
III.3.	Mise en forme des membranes à base de biopolymères.....	41
	III.3.1. Voie sèche.....	41
	III.3.2. Voie humide.....	41

## **ETUDE EXPÉRIMENTALE**

### **Chapitre IV : Matériels et méthodes expérimentales**

IV.1.	Matières premières.....	45
	IV.1.1. Matériaux.....	45
	IV.1.2. Produits chimiques.....	45
IV.2.	Méthodes expérimentales.....	46
	IV.2.1. Préparation des membranes d'alginate de sodium pur.....	46
	IV.2.2. Préparation des membranes de chitosane pur.....	46
	IV.2.3. Préparation des membranes du mélange Alg/Chi.....	46
IV.3.	Caractérisations et méthodes d'évaluation.....	46
	IV.3.1. Epaisseur des membranes obtenues.....	48
	IV.3.2. Caractérisation des membranes par spectroscopie FTIR.....	48
	IV.3.3. Caractérisation mécanique des membranes.....	48
	IV.3.4. Caractérisation thermique des membranes.....	49
	a) Analyse thermogravimétrique (ATG).....	49
	b) Analyse calorimétrique différentielle à balayage (DSC).....	49

<b>IV.3.5. Etude du gonflement.....</b>	<b>50</b>
---	-----------

## **Chapitre V : Résultats et discussion**

<b>V.1. Aspect et épaisseur des membranes.....</b>	<b>53</b>
<b>V.2. Analyse par spectroscopie FTIR.....</b>	<b>54</b>
<b>V.3. Propriétés mécaniques.....</b>	<b>57</b>
<b>V.4. Propriétés thermiques.....</b>	<b>60</b>
<b>V.4.1. Stabilité thermique.....</b>	<b>60</b>
<b>V.4.2. Transitions thermiques.....</b>	<b>63</b>
<b>V.5. Gonflement des membranes.....</b>	<b>64</b>
<b>Conclusion générale et perspectives.....</b>	<b>67</b>
<b>Références bibliographique.....</b>	<b>70</b>

## LISTE DES FIGURES

### Chapitre I : Généralités sur les biopolymères

<b>Figure I.01 :</b>	Représentation schématique d'une chaîne de cellulose.....	<b>07</b>
<b>Figure I.02 :</b>	Structure chimique de l'amylose.....	<b>08</b>
<b>Figure I.03 :</b>	Structure chimique de l'amylopectine.....	<b>08</b>
<b>Figure I.04 :</b>	Représentation des enchaînements des fonctions amides des protéines.....	<b>09</b>
<b>Figure I.05 :</b>	Structure chimique du PHA, PHB et PHV.....	<b>10</b>
<b>Figure I.06 :</b>	Synthèse d'acide lactique à partir d'amidon.....	<b>11</b>
<b>Figure I.07 :</b>	Synthèse du polyacide lactique (PLA).....	<b>12</b>
<b>Figure I.08 :</b>	Libération contrôlée des principes actifs.....	<b>14</b>

### Chapitre II : Biopolymères étudiés

<b>Figure II.01 :</b>	Macrocystis pyrifera (a) ; Laminaria hyperborea (b) ; et Laminaria digitata (c).....	<b>17</b>
<b>Figure II.02 :</b>	Monomères de la chaîne alginat.....	<b>17</b>
<b>Figure II.03 :</b>	Structure chimique de la chaîne d'alginate de sodium.....	<b>18</b>
<b>Figure II.04 :</b>	Interactions entre les unités M.....	<b>18</b>
<b>Figure II.05 :</b>	Interactions entre les unités G.....	<b>19</b>
<b>Figure II.06 :</b>	Gélicification ionotropique de l'alginate. Modèle "egg-box".....	<b>20</b>
<b>Figure II.07 :</b>	Liaisons covalentes des ions calcium avec les résidus poly-G des polymères d'alginate.....	<b>21</b>
<b>Figure II.08 :</b>	Rétention du calcium par un réseau tridimensionnel de segments poly-M ou poly-G définissant une structure de type "egg-box".....	<b>21</b>
<b>Figure II.09 :</b>	Rheogramme contrainte de cisaillement-vitesse de cisaillement pour des solutions d'alginate de sodium de différentes concentrations.....	<b>22</b>
<b>Figure II.10 :</b>	Procédé industriel d'extraction de l'acide alginique.....	<b>25</b>
<b>Figure II.11 :</b>	Procédé d'extraction de la chitine et du chitosane.....	<b>29</b>
<b>Figure II.12 :</b>	Structures chimiques de la chitine (a) et du chitosane (b).....	<b>31</b>

### Chapitre III : Mélange de polymères et critères de miscibilité

<b>Figure III.01 :</b>	Schématisme de l'interaction entre polymères de charges opposées et formation de complexes polyélectrolytes (PEC).....	<b>37</b>
<b>Figure III.02 :</b>	Représentation schématique du complexe chitosane/xanthane.....	<b>38</b>

<b>Figure III.03</b> : Représentation de la réticulation ionique entre l'alginate de sodium et le chitosane.....	<b>38</b>
<b>Figure III.04</b> : Mise en forme du Gel à une épaisseur suffisante.....	<b>42</b>
<b>Figure III.05</b> : Mise en forme des gélules par moulage par trempage.....	<b>42</b>

#### **Chapitre IV : Matériels et méthodes expérimentales**

<b>Figure IV.01</b> : Préparation de membranes ; (A) alginate de sodium ;(B) chitosane ; et (C) leur mélange Alg/Chi.....	<b>47</b>
<b>Figure IV.02</b> : Spectromètre FTIR 8400 SHIMADZU.....	<b>48</b>
<b>Figure IV.03</b> : L'éprouvette des tests de traction de type H3 avec les dimensions: A: 50 mm ; B: 6 mm; C: 10 mm; E: épaisseur 0.06 mm ; D: 30 mm.....	<b>49</b>
<b>Figure IV.04</b> : Appareil ATG-DSC NETZSCH STA 409 PC.....	<b>50</b>

#### **Chapitre V : Résultats et discussion**

<b>Figure V.01</b> : Photos des membranes obtenues.....	<b>53</b>
<b>Figure V.02</b> : Spectre IR d'alginate de sodium commercial.....	<b>54</b>
<b>Figure V.03</b> : Spectre IR du chitosane commercial.....	<b>54</b>
<b>Figure V.04</b> : Spectre IR de la membrane d'alginate de sodium.....	<b>55</b>
<b>Figure V.05</b> : Spectre IR de la membrane du chitosane.....	<b>55</b>
<b>Figure V.06</b> : Spectre IR de la membrane du mélange Alg/Chi.....	<b>56</b>
<b>Figure V.07</b> : Spectres IR des membranes obtenues :(a)100% Chi ; (b) 20Alg/80Chi ; (c) 50Alg/50Chi ; (d) 20Alg/80Chi ; (e)100% Alg.....	<b>57</b>
<b>Figure V.08</b> : Courbes de contrainte-déformation des membranes : (a) 100% Alg ; (b) 80Alg/20Chi ; (c) 50Alg/50Chi ; (d) 20Alg/80Chi ; et (e) 100% Chi.....	<b>58</b>
<b>Figure V.09</b> : Propriétés mécaniques des membranes en fonction du % d'alginate : (a) ; Contrainte à la rupture ; (b) Allongement à la rupture ; et (c) Module d'Young.....	<b>59</b>
<b>Figure V.10</b> : Thermogramme ATG-DTG de la membrane 100% Alg.....	<b>60</b>
<b>Figure V.11</b> : Thermogramme ATG-DTG de la membrane 80Alg/20Chi.....	<b>61</b>
<b>Figure V.12</b> : Thermogramme ATG-DTG de la membrane 50Alg/50Chi.....	<b>61</b>
<b>Figure V.13</b> : Thermogramme ATG-DTG de la membrane 20Alg/80Chi.....	<b>62</b>
<b>Figure V.14</b> : Thermogramme ATG-DTG de membrane 100% Chi.....	<b>62</b>
<b>Figure V.15</b> : Thermogrammes DSC obtenus lors du premier balayage pour les membranes de : (a) 100% Alg, (b) 50Alg/50Chi, (c) 100% Chi.....	<b>63</b>
<b>Figure V.16</b> : courbes cinétiques de gonflement des membranes.....	<b>65</b>

# LISTE DES TABLEAUX

## Chapitre I : Généralités sur les biopolymères

Tableau I.01 : Grandes classes de biopolymères.....	06
Tableau I.02 : Propriétés spécifiques de quelques biopolymères et les applications attendues.....	15

## Chapitre II : Biopolymères étudiés

Tableau II.01 : Répartition de la production mondiale des alginates (en tonnage) entre les différents secteurs industriels et exemples d'applications.....	26
Tableau II.02 : Sources potentielles de chitine.....	28
Tableau II.03 : Propriétés du chitosane et ses principales applications.....	35

## Chapitre IV : Matériels et méthodes expérimentales

Tableau IV.01 : Composition des membranes du mélange Alginate / Chitosane.....	47
--	----

## Chapitre V : Résultats et discussion

Tableau V.01 : Epaisseur moyenne des membranes préparées.....	53
Tableau V.02 : Principales bandes d'absorption de la membrane du chitosane.....	56
Tableau V.03 : Valeurs des propriétés mécaniques des membranes.....	58

## LISTE DES ABRÉVIATIONS ET SYMBOLES

<b>Alg</b>	Alginate de sodium
<b>ATDM</b>	Analyse thermomécanique dynamique
<b>ATG</b>	Analyse thermique gravimétrique
<b>Chi</b>	Chitosane
<b>CMC</b>	Carboxyméthyl Cellulose
<b>D</b>	Dextrogyre
<b>DA</b>	degré d'acétylation
<b>DD</b>	degré de désacétylation
<b>DSC</b>	Calorimétrie à balayage différentielle
<b>DTG</b>	Gravimétrie différentielle
<b>FTIR</b>	Infra Rouge à Transformée de Fourier
<b>G</b>	Guluronique
<b>HPC</b>	HydroxyPropyl Cellulose
<b>HPMC</b>	HydroxyPropyl Méthyl Cellulose
<b>L</b>	Lévogyre
<b>M</b>	Mannuronique
<b>MEB</b>	Microscopie électronique à balayage
<b>PEC</b>	Complexe polyélectrolyte
<b>PHA</b>	Poly (Hydroxy Alcanoate)
<b>PHB</b>	Poly (Hydroxy Butyrate)
<b>PHV</b>	Poly (Hydroxy Valérate)
<b>PP</b>	Polypropylène
<b>PLA</b>	Poly (acide lactique)
<b>RMN</b>	Résonance magnétique nucléaire
<b>UIPAC</b>	Union international de chimie pure et appliquée
<b>UV</b>	Ultraviolet

### Unités et symboles:

$\eta$	Viscosité intrinsèque
$\phi$	Fraction volumique
$\varepsilon_r$	Allongement à la rupture
$\sigma_r$	Contrainte à la rupture
$\mu\text{m}$	Micromètre
<b>E</b>	Module d'Young ou d'élasticité
<b>rpm</b>	Tours par minute
<b>T<sub>f</sub></b>	Température de fusion
<b>T<sub>g</sub></b>	Température de transition vitreuse
<b>w</b>	Fraction massique

# **INTRODUCTION GÉNÉRALE**



## INTRODUCTION GÉNÉRALE

En l'espace d'un siècle, les polymères sont devenus incontournables dans notre vie quotidienne. Ils sont utilisés dans une multitude d'applications et il serait désormais difficile de s'en passer. La plupart des matériaux polymères sont élaborés à partir du pétrole. Cependant, cette ressource est en diminution progressive et l'on atteindra dans les prochaines décennies un pic pour lequel la demande, tirée à la hausse par le développement des pays émergents, sera supérieure à l'offre, faisant grimper toujours plus haut les cours de l'or noir. En outre, en ce début de siècle, les enjeux sociétaux et environnementaux liés au changement climatique sont très importants. Dans ce contexte, le concept de développement durable est apparu à la fin du XXème siècle.

C'est pourquoi les polymères naturels reçoivent un intérêt grandissant auprès du monde académique et industriel. Ils sont en abondance, de nature très variée, et présentent souvent des caractéristiques intéressantes. Cependant, pour pouvoir remplacer à l'avenir une part non négligeable des polymères d'origine fossile par des biopolymères, de nombreux défis sont à relever. De très nombreuses études ont été conduites lors de la dernière décennie afin de développer des biopolymères plus performants, mais il reste encore du chemin à parcourir afin qu'ils puissent trouver leur place sur le marché concurrentiel des polymères.

Il existe une très grande diversité de biopolymères, parmi lesquels on trouve la famille des polysaccharides tels que l'alginate de sodium et le chitosane, issus des produits marins.

Ces biopolymères constituent une alternative intéressante dans le cadre du remplacement des polymères issus de la pétrochimie, car ils possèdent des propriétés physicochimiques et biologiques importantes. Ces propriétés trouvent des applications ciblées dans des domaines très variés notamment dans les secteurs de l'emballage, textile, l'agriculture, pharmaceutique, l'électronique, et biomédical.

Toutefois, il existe des limitations pour l'utilisation d'alginate de sodium et du chitosane. En effet, Le film d'alginate a un comportement mécanique fragile et une stabilité thermique médiocre, et le film du chitosane est sensible à l'humidité, il est également dur et cassant, et du point de vue économique, son prix est relativement élevé malgré sa fabrication à partir de déchets industriels.

Une solution peut consister en la réalisation de mélanges de ces deux biopolymères. En effet, la stratégie du mélange de polymères permet de développer de nouveaux matériaux aux **propriétés améliorées** et est la plupart du temps plus simple à mettre en œuvre et moins coûteuse que le développement de nouveaux monomères. La grande majorité des études ont

été conduites sur des mélanges réalisés par voie humide « solvant casting » pour la synthèse des membranes. En outre, certains auteurs ont montré que le mélange d'alginate et de chitosane permet d'obtenir des matériaux aux propriétés mécaniques améliorées (en particulier en ce qui concerne l'allongement à la rupture). Ainsi, afin de progresser dans la connaissance du comportement thermique et mécanique des membranes du mélange Alg/Chi, à différentes compositions, il est nécessaire de conduire une étude systématique et détaillée.

Ce mémoire est structuré en deux parties :

1. Une étude bibliographique, organisée en trois chapitres :

- ✓ Le premier chapitre présente des généralités sur les biopolymères : définitions, comment sont-ils classés, les plus utilisés, ainsi que leurs propriétés.
- ✓ Le deuxième chapitre traite quelques détails sur l'alginate de sodium et le chitosane (procédés d'extraction, structures chimiques, propriétés physicochimiques, et applications)
- ✓ Le troisième chapitre décrit l'avantage du mélange des polymères, ainsi que leurs critères de miscibilité.

2. Une étude expérimentale, organisée en deux chapitres :

- ✓ Le quatrième chapitre est consacré aux produits utilisés, méthodes expérimentales de synthèse, et les différentes techniques de caractérisations employées.
- ✓ Le cinquième chapitre illustre les résultats obtenus, suivi des interprétations et discussions.

Enfin, une conclusion générale sera présentée. Elle résumera les principaux résultats obtenus lors de ce travail de mémoire et donnera différentes perspectives pour les études futures.

# **ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

**Chapitre I**  
**Généralités sur les biopolymères**

## Introduction

Afin de répondre aux multiples défis auxquels nous sommes confrontés en ce début de millénaire, tels que la disparition progressive des ressources fossiles, la limitation des rejets des gaz à effet de serre, la valorisation des déchets ou la pollution causée par les plastiques, le développement des biopolymères a subi une forte accélération au cours des dernières années.

La définition du terme **biopolymère** est souvent sujette à controverse et il n'y a pas de distinction claire entre les « biopolymères », les « bioplastiques » et les « polymères biosourcés ». Les biopolymères sont considérés par certains auteurs comme étant uniquement des polymères biodégradables. En pratique, ils rassemblent les polymères biosourcés, c'est-à-dire produits à partir de ressources renouvelables, les polymères biodégradables et même parfois également les polymères biocompatibles.

La chimie des biopolymères est née de la connaissance d'un biopolymère courant : la cellulose plus connue sous le nom de bois. En effet, la cellulose appartient à la famille des polysaccharides qui est une des familles de biopolymère. Les biopolymères sont donc des polymères issus exclusivement d'organismes vivants ou de polymères synthétisés à partir de ressources renouvelables. Ces polymères connaissent depuis quelques années un réel essor du fait de leurs origines biologiques et surtout de leurs caractères biocompatibles, biodégradables, biorésorbables et perméables à la vapeur d'eau. Leurs utilisations en substitution aux polymères synthétisés à partir d'hydrocarbures offrent donc des applications intéressantes. En effet, dans un monde où les matériaux recyclables ou biodégradables prennent peu à peu plus de place, les biopolymères sont de plus en plus valorisés.

### I.1. Définitions

Selon l'UIPAC, Les biopolymères se définissent comme étant des biomacromolécules synthétisées par des organismes vivants. Et selon l'ADEME (Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie), les biopolymères sont des polymères naturels issus de ressources renouvelables de plantes, d'algues ou d'animaux.

Les biopolymères peuvent aussi être obtenus par polymérisation de monomères naturels et par la fermentation des micro-organismes (Akiyama *et al.*, 2003).

### I.2. Différentes familles de biopolymères

Les biopolymères d'origine biologique peuvent être classés en trois familles :

- a) les polymères issus directement des ressources végétales et animales comme les polysaccharides, les protéines et les polynucléotides.

- b) les polymères issus d'origine bactérienne comme les Polyhydroxyalcanoates (PHA).
- c) les polymères obtenus indirectement par polymérisation de monomères eux-mêmes issus de ressources végétales comme l'acide lactique, résultant de la fermentation de sucres ou encore des composés monomères réactifs dérivés d'huiles végétales.

**Tableau I.01 : Grandes classes de biopolymères (Jarroux, 2012)**

<b>Classes</b>	<b>Descriptions</b>	<b>Exemples de biopolymères</b>
<p><b>Polysaccharides</b> (plantes/animaux)</p> <p><b>Polysaccharides</b> (issus des bactéries)</p>	Glucides ou sucres complexes constitués de plusieurs monosaccharides (glucides ou sucres simples) liés entre eux.	Amidon, Cellulose, Alginate, Chitosane, Agar, Pectine, Gommés, Carraghénane.  Xanthane, Dextrane, Gellane, Curdlan, Pullulane, Elsinane.
<p><b>Protéines</b> et <b>polypeptides</b></p>	Macromolécules biologiques composées d'une ou plusieurs chaînes d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques.	Polyacide aminé, Collagène Gluten, Caséine, Soja, Glycoprotéine, Zéine.
<p><b>Polyesters</b> (synthétisés par des bactéries)</p>	Polymères dont les motifs répétitifs de la chaîne principale contiennent la fonction ester.	Poly (acide lactique) (PLA) Polyhydroxyalcanoate (PHA)
<p><b>Polyphénols</b></p>	Molécules présentant plusieurs groupements phénoliques.	Lignines, Tanins, Acides humiques
<p><b>Polynucléotides</b> et <b>nucléotides</b></p>	molécules composées de plusieurs nucléotides. Certains nucléotides forment la base de l'ADN et l'ARN.	Adénosine-5'-triphosphate (ATP) Adénosine-5'-monophosphate (AMP)

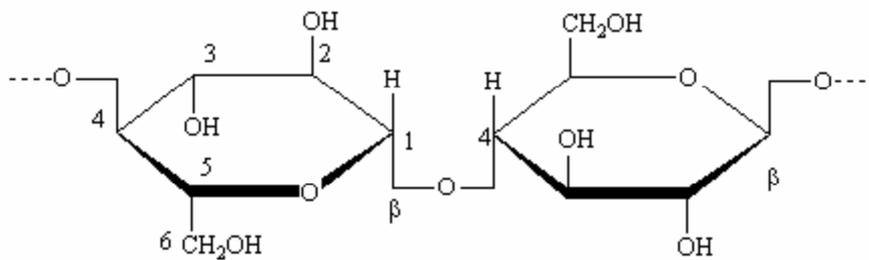
### I.2.1. Les polysaccharides

Les polysaccharides constituent la famille de biopolymères les plus répandus et les plus utilisés. Ils entrent dans la composition de la plupart des cellules (végétales, animales, et microbiennes). Parmi les plus connus, on peut citer la cellulose, l'amidon, l'alginate, la chitine, et le chitosane.

### I.2.1.1. La cellulose

La cellulose représente la molécule biologique la plus abondante sur notre planète. Cette macromolécule glucidique est un élément structural de premier ordre pour la grande majorité des parois végétales. Élément constitutif majeur du bois, la cellulose est également un constituant majoritaire du coton et des fibres textiles telles que le lin, le chanvre, le jute ou la ramie (Suyatma, 2006).

La cellulose est un homopolymère linéaire de résidus glucose de configuration D, connectés selon une liaison glycosidique  $\beta$ , (1 $\rightarrow$ 4) (Figure I.01). La masse molaire de la chaîne de cellulose varie de 50000 à  $2,5 \times 10^6$  g.mol<sup>-1</sup>, en fonction de son origine et du traitement d'extraction utilisé.



*Figure I.01 : Représentation schématique d'une chaîne de cellulose*

A cause des interactions très fortes entre les chaînes, la cellulose native est fortement cristalline et insoluble dans l'eau. Pour améliorer sa solubilité dans l'eau et lui conférer des propriétés filmogènes, la cellulose peut être estérifiée ou éthérifiée au niveau des fonctions hydroxyyles libres pour aboutir à certains dérivés cellulosiques comme carboxyméthyl cellulose (CMC), hydroxypropyl cellulose (HPC), hydroxypropylméthyl cellulose (HPMC),

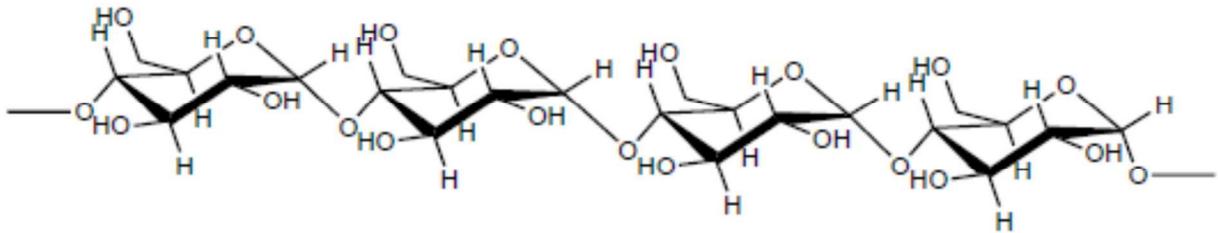
La cellulose est très utilisée pour la formation de **films** flexibles et transparents, présentant des propriétés barrières à l'humidité et à l'oxygène non négligeables. Citons par exemple la **cellophane** qui domine le marché des emballages transparents. La cellophane est constituée de cellulose régénérée, obtenue par extrusion d'une dispersion visqueuse alcaline de xanthate de cellulose dans un bain acide. Le film est obtenu après traitement avec un agent plastifiant (glycérol) et séchage.

### I.2.1.2. L'amidon

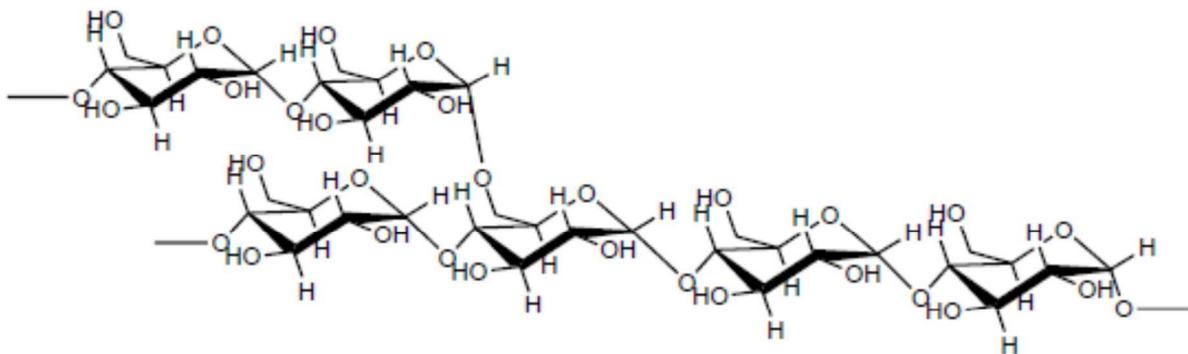
L'amidon est le composé glucidique bio-synthétisé et la principale source d'énergie pour l'homme et pour la vie animale. Il représente une fraction pondérale importante dans un grand nombre de matières premières agricoles telles que les céréales (30-80% de la matière

sèche), les légumineuses (25-50% de la matière sèche) et les tubercules (60-90% de la matière sèche). Son faible prix fait de l'amidon un matériau économiquement intéressant.

L'amidon est un mélange d'amylose, unités glucose unies par des liaisons  $\alpha$ , (1 $\rightarrow$ 4), linéaire et souvent en configuration hélicoïdale (Figure I.02) et d'amylopectine très ramifiée. L'amylopectine contient une partie linéaire formée d'unités glucose liées en  $\alpha$ , (1 $\rightarrow$ 4), mais également des ramifications faisant intervenir des liaisons  $\alpha$ , (1 $\rightarrow$ 6) toutes les 25 unités glucose en moyenne (Figure I.03).



**Figure I.02 :** Structure chimique de l'amylose



**Figure I.03 :** Structure chimique de l'amylopectine

L'amylose et l'amylopectine ne sont que deux des nombreux polysaccharides pouvant former des structures hélicoïdales.

L'amylose est hydrosoluble dans l'eau bouillante alors que l'amylopectine ne l'est pas. La principale propriété lorsque l'amidon est conditionné sous forme de film est sa faible perméabilité et sa dégradation aisée en présence de micro-organismes (Garcia *et al*, 2000).

Un traitement chimique permet de rendre l'amidon résistant au cisaillement thermomécanique, car la stabilité de ce polymère sous contrainte n'est pas très élevée.

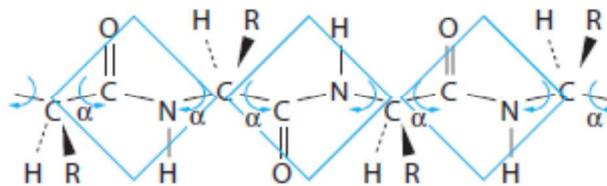
A partir de 150°C, les liaisons glucosyle commencent à se rompre et à environ 250°C, les grains d'amidon collapsent endothermiquement.

A faible température, un phénomène connu sous le nom de rétrogradation est observé pouvant conduire à la précipitation sous 10°C. C'est ces dernières caractéristiques qui sont utilisées pour la fabrication de **films**.

**Remarque :** en ce qui concerne les biopolymères l'**alginate de sodium** et le **chitosane**, ils seront étudiés plus amplement dans le chapitre II.

### I.2.2. Les protéines

Les protéines sont les constituants de la matière vivante animale, muscle, peau, cheveux, etc. Elles participent aussi aux différents processus de la vie : transport de l'oxygène respiratoire, déterminisme génétique, système de défense immunologique. Ce sont des polymères d'acides aminés reliés entre eux par une liaison peptidique qui résulte de la formation d'une fonction amide entre la fonction acide d'un premier acide aminé et la fonction amine d'un deuxième (figure I.04). Ici, le motif n'est pas répété selon une courte période, mais on observe des suites variées d'acides différents. Même limité à 20, le nombre de combinaisons est fantastique car le nombre d'acides qui constituent la protéine est lui-même considérable entraînant une grande variété de protéines existantes.



**Figure I.04 :** Représentation des enchaînements des fonctions amides des protéines

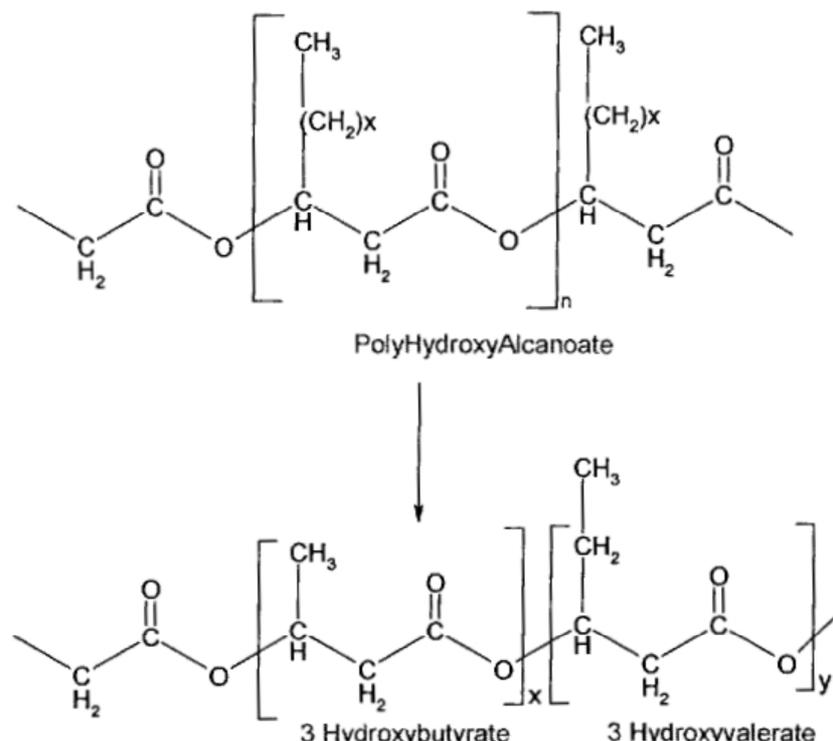
Les protéines telles que le **caséine** du lait ou encore le **gluten** de blé sont très utilisés en tant que biopolymères (Rutot et Dubois, 2004). Ces protéines interviennent ainsi dans la formulation d'adhésifs ou de peintures et sont à la base de matériaux (rigides ou souples) présentant des propriétés barrières à l'oxygène et au gaz carbonique non négligeables mais très perméables à l'humidité. Ainsi la caséine, qui se transforme aisément en film a été utilisée pour la fabrication de **films** transparents, flexibles, inodores et incolores. La **gélatine** est également à la base de nombreux **films** dont l'utilisation principale est la fabrication de tablettes et de capsules pour l'industrie pharmaceutique. L'inconvénient majeur de l'utilisation des protéines comme matériaux biopolymères réside dans le prix de revient élevé des matériaux résultants.

### I.2.3. Les biopolymères d'origine bactérienne

Les polyesters naturels, produits par une grande variété de bactéries en tant que réserve énergétique intracellulaire, ont reçu une attention toute particulière en tant que biopolymères. Ces biopolyesters, des polyhydroxyalcanoates (**PHA**) (figure I.05) sont issus de fermentation par des bactéries (biotechnologie). Il s'agit de la fabrication « in situ » de polymère qui s'accumule dans le cytoplasme de certaines bactéries placées en condition de fermentation (Clarival et Monfort-Windels, 2003). Les matières premières fermentescibles sont principalement les sucres et l'amidon. Parmi ces biopolymères, les plus connus sont le Polyhydroxybutyrate (**PHB**), et le Poly hydroxyvalérate (**PHV**).

La synthèse de ces biopolymères peut également être réalisée dans la plante grâce à une modification génétique. On les appelle alors les biosynthétiques.

Le **PHB** est hautement cristallin ( $T_f = 180\text{ °C}$  et  $T_g = 5\text{ °C}$ ). Il ressemble au polypropylène en ce qui concerne les températures de fusion mais l'inconvénient majeur de son utilisation est son allongement à la rupture de 8 % très inférieur à l'allongement à la rupture du PP qui est de 400 %. Ce biopolymère donne donc des **films** très cassants et c'est la raison pour laquelle on le trouve souvent en copolymère avec le motif de répétition du polyester tel que le poly (3-hydroxybutyrate-3-hydroxyvalérate) (**PHBV**).



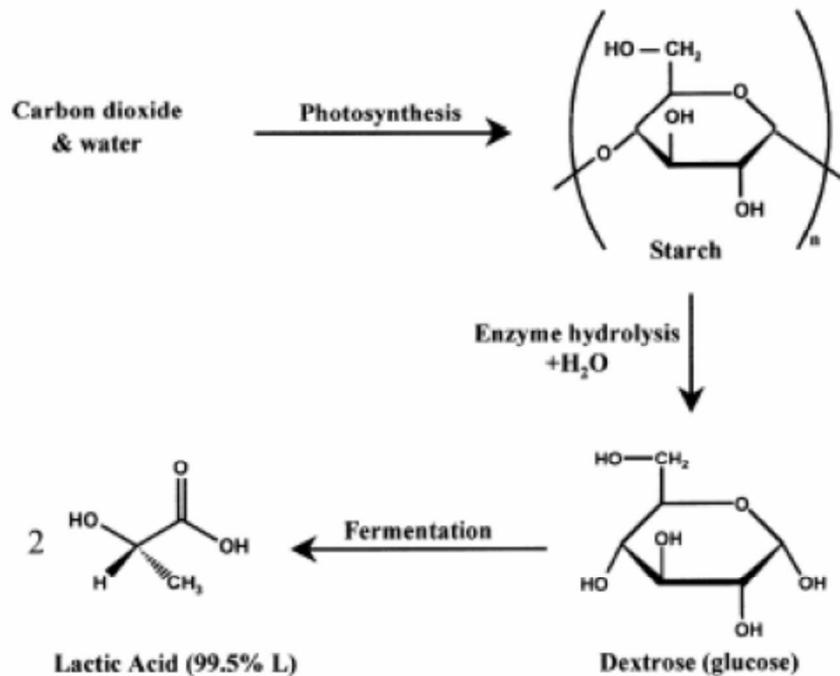
*Figure I.05 : Structure chimique du PHA ; PHB et PHV*

Ces biopolyesters comprenant des substituants alkyle plus ou moins longs sont le plus souvent produits sous forme de copolymères faiblement cristallins. Les polyesters naturels à longues chaînes alkyle sont utilisés comme élastomères thermoplastiques. Ces biopolymères ont une excellente résistance tout en étant intrinsèquement biodégradables.

#### I.2.4. Les biopolymères synthétiques

Ils sont Obtenus par voie fermentaire, on les appelle biopolymères synthétiques ou chimiosynthétiques en raison de leur mode de fabrication. En effet, celui-ci consiste en une polycondensation (chauffage) de monomères naturels ou identiques aux naturels. Le plus connu est le **PLA** (Poly Acide Lactique).

Le monomère (exclusivement l'acide lactique) nécessaire à la synthèse du **PLA** est obtenu par fermentation bactérienne à partir des ressources renouvelables (figure I.06).

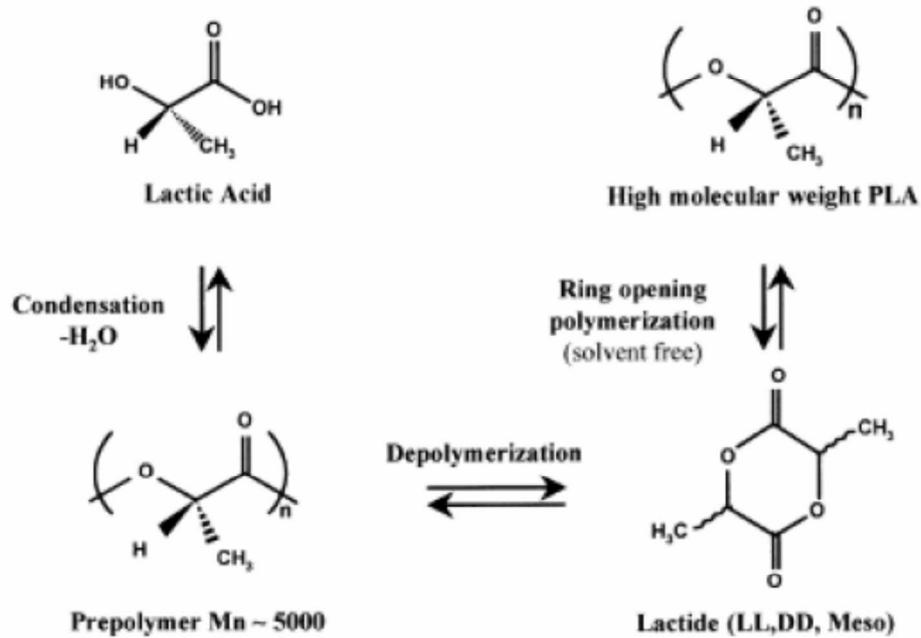


**Figure I.06** : Synthèse d'acide lactique à partir d'amidon

Deux voies d'obtention du **PLA** peuvent être répertoriées (Vink et *al.*, 2003) :

La polycondensation de l'acide lactique ou la polymérisation d'ouverture de cycle du lactide, dimère cyclique de l'acide lactique (figure I.07).

Les biopolymères peuvent être mélangés entre eux (copolymères) dans le but d'améliorer les propriétés physiques et mécaniques. C'est le cas, par exemple, du produit RESOMER, qui est un copolymère des dimères lactide (issu du PLA) et glycolide (issu de l'acide glycolique).



**Figure I.07** : Synthèse du polyacide lactique (PLA)

Grâce à sa biocompatibilité, le PLA trouve de multiples applications dans le biomédical (Freier *et al.* 2002) telles que les fils de sutures bioabsorbables et les implants.

Le PLA a une bonne résistance mécanique, une bonne plasticité thermique. Il peut être imprimé et scellé à chaud. De plus, le PLA est transparent et brillant mais il est fragile (manque de ténacité). La ténacité du PLA peut être améliorée par mélange avec un autre polymère, par copolymérisation ou par modification structurale. (Clarival et Monfort-Windels, 2003).

### I.3. Les propriétés des biopolymères

De par leur structure chimique, les biopolymères présentent des propriétés particulières et intéressantes utilisés dans des domaines très variés tels que l'emballage, l'agriculture, la construction, l'automobile, l'électronique et le textile. Ils sont également employés pour des applications à forte valeur ajoutée dans le domaine médical (implants vasculaires, fils de suture, vis et broches, ligaments artificiels...).

#### I.3.1. La biodégradabilité

Le terme biodégradable a d'abord été employé à tort, dans les années 1980, pour des matériaux plastiques issus de la pétrochimie rendus fragmentables par ajout d'un additif peroxydant (photodégradable) ou d'une charge biodégradable comme l'amidon (fragment

biodégradable), dans le but de résoudre le problème des déchets engendrés par les matières plastiques et de leur pollution.

A ce jour, le terme biodégradable est donné aux polymères d'origine naturelle c'est-à-dire réservé aux biopolymères qui ont la capacité de se dégrader sous l'action de microorganismes. Leurs décompositions moléculaire et chimique conduisent à la formation de  $\text{CO}_2$  et d' $\text{H}_2\text{O}$  en présence d'oxygène (ou à la formation de  $\text{CH}_4$ ,  $\text{CO}_2$  et d' $\text{H}_2\text{O}$  en milieu anaérobie, plus une nouvelle biomasse (Gu, 2003).

La biodégradation d'un biopolymère dépend de différents facteurs que l'on peut regrouper en trois grandes catégories :

- ✓ **Les paramètres physico-chimiques** du milieu de dégradation : La température favorise l'activité microbienne ; la teneur en eau du milieu doit être suffisante pour permettre aux fonctions des micro-organismes de s'exprimer. Le pH, la présence d'oxygène et l'action des UV vont également influencer sur le phénomène. On comprend aisément que la dégradation ne sera pas la même dans un désert, en haute montagne ou dans un marécage.
- ✓ **Les paramètres microbiologiques** du milieu de dégradation : selon le matériau considéré, la nature et l'abondance des micro-organismes présents sur le site vont avoir un impact sur la vitesse de dégradation.
- ✓ **La structure chimique et la morphologie du polymère** constituant le matériau : Un matériau hydrophile, poreux et possédant une faible masse molaire aura une vitesse de dégradation supérieure à celle d'un matériau massif et dense. Pour être conformes aux normes et respecter les temps de dégradation imposés, certains produits ne peuvent parfois pas dépasser quelques dizaines de microns d'épaisseur. La cristallinité du polymère, qui dépend de sa structure mais aussi des conditions de mise en œuvre, a également une influence sur sa biodégradabilité. Les plastifiants et autres additifs vont également modifier les caractéristiques du matériau et influencer sur son aptitude à la biodégradation.

### **I.3.2. Perméabilité à la vapeur d'eau**

La plupart des biopolymères comme l'amidon, la cellulose et les protéines sont hydrophiles, ce qui leur confère des propriétés de perméabilité à la vapeur d'eau. Ces propriétés sont dues notamment à la présence de fonctions polaires hydroxyle et/ou amine qui ont une forte réactivité avec l'eau par formation de ponts hydrogènes (Auras et al., 2004) ; ce qui leur confère aussi une propriété antistatique.

La perméabilité à la vapeur d'eau pourrait être un inconvénient dans certaines applications, notamment pour les emballages alimentaires. Par exemple, les viennoiseries ne peuvent pas se trouver dans un endroit trop humide pour conserver leur fraîcheur.

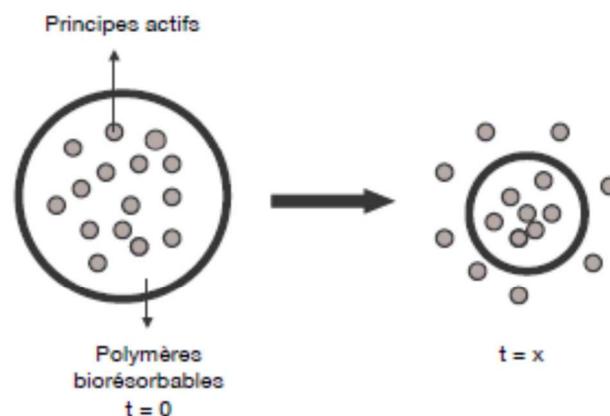
Par contre, pour certains types d'emballage, elle est avantageuse. En effet, en évitant les condensations, la durée de conservation des produits frais est allongée. Cette propriété trouve également une application dans les emballages des produits humides leur laissant la possibilité de continuer de sécher pendant les étapes de stockage et de transport.

### I.3.3. Biocompatibilité et biorésorbabilité

Un matériau biocompatible est un matériau qui est capable d'assurer une fonction avec une réponse appropriée et sans effets indésirables sur l'environnement biologique dans lequel il est appelé à fonctionner. La réponse biologique d'un matériau dépend de 3 facteurs : ses propriétés, la caractéristique de l'hôte et la demande fonctionnelle pour le matériau.

Les biopolymères par leur origine naturelle, remplissent logiquement cette fonction et les implants médicaux en matériau inerte comme les céramiques sont de plus en plus remplacés par des polymères d'origine naturelle (Chen et Lu, 2004).

En plus de la biocompatibilité, on recherche également pour des applications médicales spécifiques des matériaux biorésorbables pouvant se décomposer tout naturellement dans l'organisme humain pour être remplacés après par un tissu vivant. Les biopolymères sont dégradés naturellement dans l'organisme humain par hydrolyse (enzymatique) et libèrent des molécules assimilables et non toxiques. En pharmaceutique, les médicaments à libération contrôlée sont des exemples d'application où la biorésorbabilité des polymères joue un rôle important comme illustrée à la figure I.08.



*Figure I.08 : libération contrôlée des principes actifs*

### I.3.4. Propriétés chimiques

La présence de fonctions chimiques sur les molécules leur attribue des propriétés particulières et des facilités à réagir avec d'autres molécules. Leur réactivité est due à la présence des fonctions alcool, acide, amine ou aldéhyde qui réagissent facilement grâce à leur site nucléophile et électrophile (Okada, 2002).

La présence de certaines insaturations et des groupements hydroxyles sur les chaînes alkyles des triglycérides permet leur fonctionnalisation et conduit à la formation de polyuréthanes, polyamides ou polyesters.

Une autre particularité des biopolymères est l'existence de stéréo-isomères due à la présence de carbone asymétrique sur certains bio-monomères comme l'acide lactique. Cette propriété influence les propriétés physiques des polymères. Dès lors, on peut modifier les propriétés physiques et mécaniques des polymères ainsi que leurs applications. Dans l'exemple du PLA, suivant la proportion des formes L et D, la structure du polymère est différente. Un PLA à plus de 93 % de la forme L présente une structure semi-cristalline par exemple tandis qu'un PLA contenant moins de 93 % de forme L possède une structure amorphe (Vert, 2002).

### I.3.5. Autres propriétés

Certains biopolymères possèdent des fonctionnalités qui leur apportent des propriétés physico-chimiques ou mécaniques particulières. On peut relever dans le tableau I.02, quelques propriétés physico-chimiques intéressantes des biopolymères et les applications potentielles.

*Tableau I.02 : Propriétés spécifiques de quelques biopolymères et les applications attendues*

<b>Biopolymères</b>	<b>Propriétés particulières</b>	<b>Applications ciblées</b>
Polymères à base d'amidon	Antistatiques, anticondensations, toucher naturel	Emballages, sacs, films de paillage
Polymères à base de cellulose	Transparences, antistatiques	Fibres, épaississant
Polymères à base de protéine	Comestibles, perméabilité sélective aux gaz	Galénique, emballages alimentaires
Polymères à base d'huile	Siccativités	Peinture, vernis
Polymères de synthèse (PLA)	Anticondensations, brillances, antibactériens	Emballages, fibres textiles
Polyesters bactériens (PHA)	piézoélectriques, antioxydants, insolubilité dans l'eau	Médical, matériau ostéosynthétique

**Chapitre II**  
**Biopolymères étudiés**

## II.1. L'alginate de sodium

L'alginate de sodium est un polysaccharide de structure linéaire, biopolymère **anionique**, extrait des algues brunes, et il peut être produit par voie bactérienne (Mjahed, 2009). Au niveau industriel, il est essentiellement issu de certaines espèces d'algues brunes (Figure II.1) : *Macrocystis pyrifera* récoltée aux Etats-Unis, *Laminaria digitata*, *Laminaria hyperborea* ou encore *Ascophyllum nodosum* récoltée en Europe.

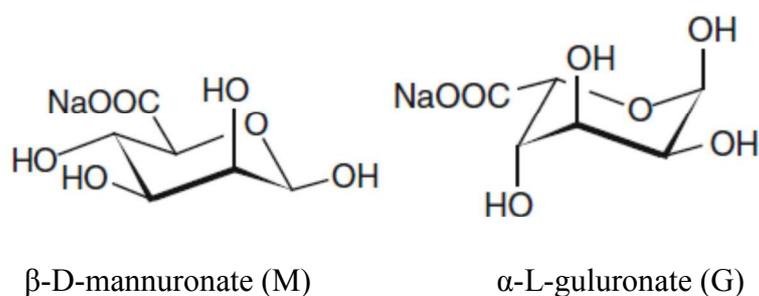
L'alginate est le polysaccharide le plus abondant de ces organismes, constituant plus de 40% de leur poids sec, couramment utilisé dans des applications biologiques notamment dans le domaine de l'encapsulation cellulaire et de la délivrance contrôlée de molécules à effet thérapeutique. Ce succès est dû notamment à son mode de gélification et à sa biocompatibilité largement démontrée dans la littérature. (Wang *et al.*, 2003)



**Figure II.01** : *Macrocystis pyrifera* (a) ; *Laminaria hyperborea* (b) et *Laminaria digitata* (c)

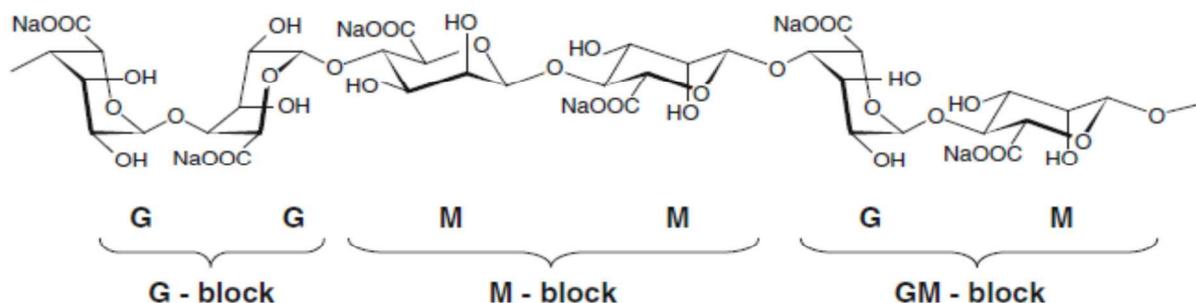
### II.1.1. Composition chimique

Les alginates sont des sels d'acide alginique, constitués de deux monomères saccharidiques de base : acide  $\alpha$  - L - guluronique (G) et acide  $\beta$  - D - mannuronique (M), dont la séquence varie (Figure II.02).



**Figure II.02** : Monomères de la chaîne alginate

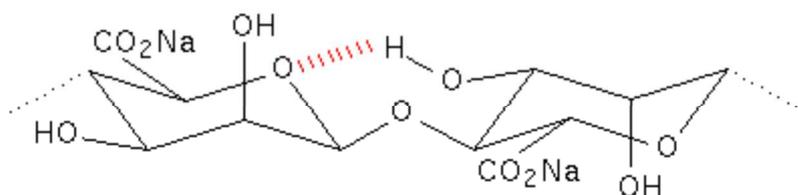
La séquence des différents blocs (M) et (G) dépend du type d'algue, de son âge ainsi que de la partie dont est isolé l'alginate. La saison de récolte affecte de même la composition en blocs et les séquences (Jorgensen *et al.*, 2007).



**Figure II.03 :** Structure chimique de la chaîne d'alginate de sodium

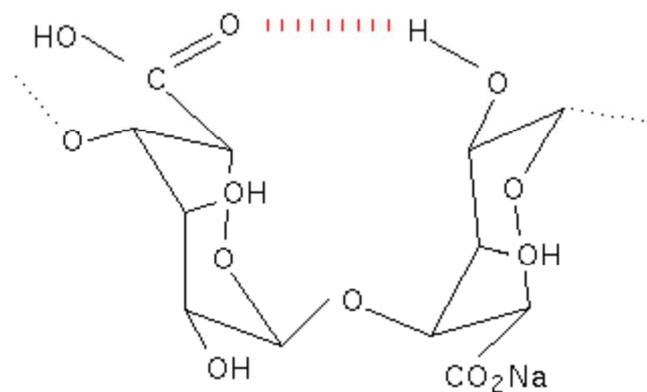
De plus, les alginates possèdent les quatre types de liaisons glycosidiques possibles (figure II.03) : diéquatorial (MM), diaxial (GG), équatorial-axial (MG) et axial-équatorial (GM).

La structure des segments polyacide mannuronique est très proche de celle de la cellulose. Les liaisons diéquatoriales entre unités M donnent à ces segments une structure aplatie, de type ruban. Cette structure est stabilisée grâce à des liaisons Hydrogène (Figure II.04). Par exemple, le groupement hydroxyle en C<sub>3</sub> du monomère M+1 interagit avec l'atome d'oxygène du cycle du monomère M.



**Figure II.04 :** Interactions entre les unités M

La liaison diaxiale (GG) est très différente de la liaison (MM) car sa structure n'est pas plate et adopte l'arrangement plus rigide d'une boucle. Cette structure est aussi stabilisée par différentes liaisons hydrogène (Figure II.05). Par exemple, le groupement hydroxyle en C<sub>2</sub> du monomère G et le groupement carboxyle du monomère G+1 interagissent par ce type de liaison.



**Figure II.05 :** Interactions entre les unités G

Les blocs MG sont caractérisés par une alternance entre des liaisons axiales-équatoriales et des liaisons équatoriales-axiales. De telles variations dans la tacticité de la chaîne sont responsables d'une plus grande **flexibilité** des blocs MG comparés aux autres blocs.

D'ailleurs, les données de viscosité indiquent que la **rigidité** des blocs augmente dans l'ordre : MG < MM < GG.

De plus, lorsque l'on considère l'alginate comme un polymère anionique, on constate que la répulsion électrostatique entre les groupes chargés sur la chaîne polymère va participer à l'augmentation de la viscosité intrinsèque (Smidsrod, 1973).

## II.1.2. Propriétés physico-chimiques

### II.1.2.1. Solubilité

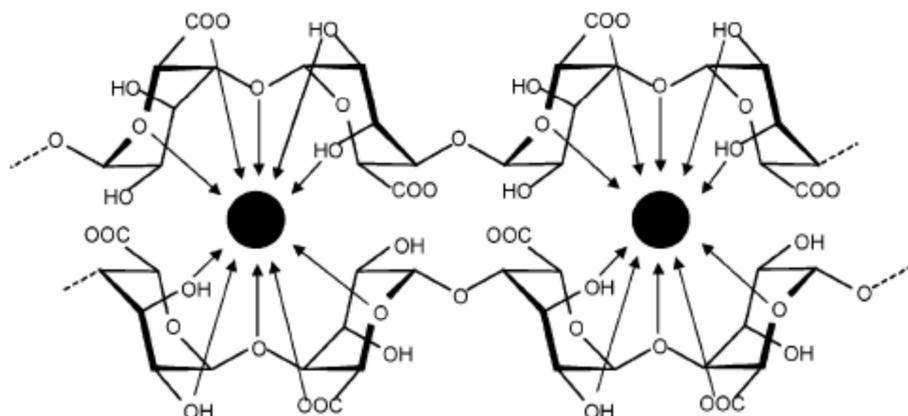
Il existe trois paramètres déterminants limitant la solubilité de l'alginate dans l'eau. Premièrement, Le pH de la solution joue un rôle dans la solubilisation des alginates. Si le pH de la solution contenant l'alginate est inférieure au pKa de l'acide mannuronique (pKa=3,38) ou de l'acide guluronique (pKa= 3,65), alors il peut y avoir séparation de phases voire formation d'un hydrogel (Haug, 1967). La sensibilité des alginates vis-à-vis du pH de la solution dépend non seulement de la masse molaire mais aussi de la composition chimique et de la séquence des blocs. Les alginates contenant plus de sections alternées (blocs MG) précipiteront à des valeurs de pH plus faibles que les alginates contenant plus de blocs homogènes (poly-M et poly-G). Deuxièmement, la force ionique du solvant joue un rôle important (effet « salting-out ») sur la solubilité de l'alginate en limitant son hydratation en milieu aqueux. Et pour finir, le taux de cations gélifiants présents dans le solvant influence bien évidemment la solubilité de l'alginate.

### II.1.2.2. Gélification

Les propriétés physiques de l'alginate sont décrites pour la première fois dans les années 1970. La principale caractéristique de l'alginate est sa capacité à gélifier en présence de cations multivalents. Cette transition sol/gel n'est pas influencée par la température (Vandamme *et al.*, 2002).

Les sels d'alginate sont solubles dans l'eau et sont capables de gélifier en présence de cations multivalents tels que les ions  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  ou encore  $\text{Al}^{3+}$  grâce à la formation d'une jonction impliquant plusieurs chaînes polysaccharidiques.

Cette interaction est décrite par le modèle « egg-box » dans lequel chaque ion divalent peut interagir avec deux résidus G adjacents ou appartenant à deux chaînes opposées (figure II.06) (Grant *et al.*, 1973).



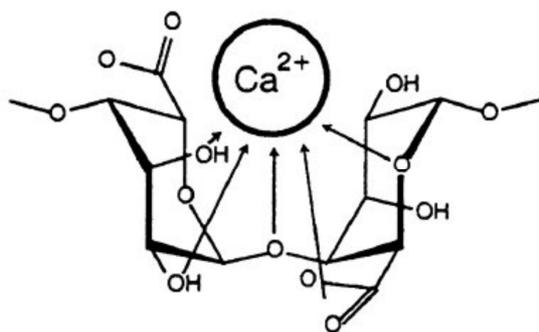
**Figure II.06 :** Gélification ionotropique de l'alginate. Modèle "egg-box".

L'ion chélateur divalent impliqué dans les liaisons intra et intermoléculaire de l'alginate possède une affinité variable avec les résidus G suivant le type de cation considéré, à savoir :  $\text{Pb} > \text{Cu} > \text{Cd} > \text{Ba} > \text{Sr} > \text{Ca} > \text{Co}, \text{Ni}, \text{Zn} > \text{Mn}$  (Haug et Larsen, 1970)

Le sel de cation divalent généralement utilisé pour la gélification de l'alginate est le chlorure de calcium en raison de sa bonne solubilité en milieu aqueux et de la forte disponibilité en ions calcium qu'il apporte. Il a été montré que 90% des ions sodium contenus dans une solution d'alginate de sodium peuvent être facilement déplacés par les ions calciques (Seely et Hart, 1974).

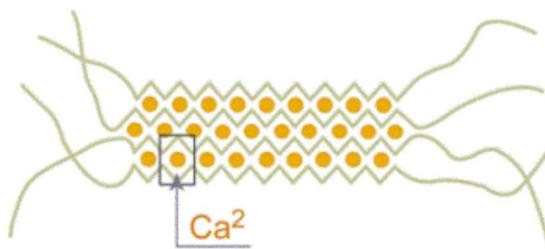
Les ions **calcium** s'associent préférentiellement aux fragments poly-gulonate plutôt

qu'aux fragments poly-mannuronate (figure II.07). En effet, les blocs poly-guluronate, en raison de leur conformation spatiale, permettent une chélation plus énergétique des ions. Ces derniers sont retenus dans une « cage » et interagissent avec les fonctions carboxylates et les atomes d'oxygène des fonctions hydroxyles. Les ions calcium sont beaucoup mieux retenus que par de simples liaisons ioniques.



**Figure II.07 :** Liaisons covalentes des ions calcium avec les résidus poly-G des polymères d'alginate (Stequert, 2009).

Cet enchaînement régulier de type « egg box » (figure II.08) se reproduit périodiquement : il se forme un réseau tridimensionnel à zones organisées reliées par les segments poly-M ou poly-(M-G).

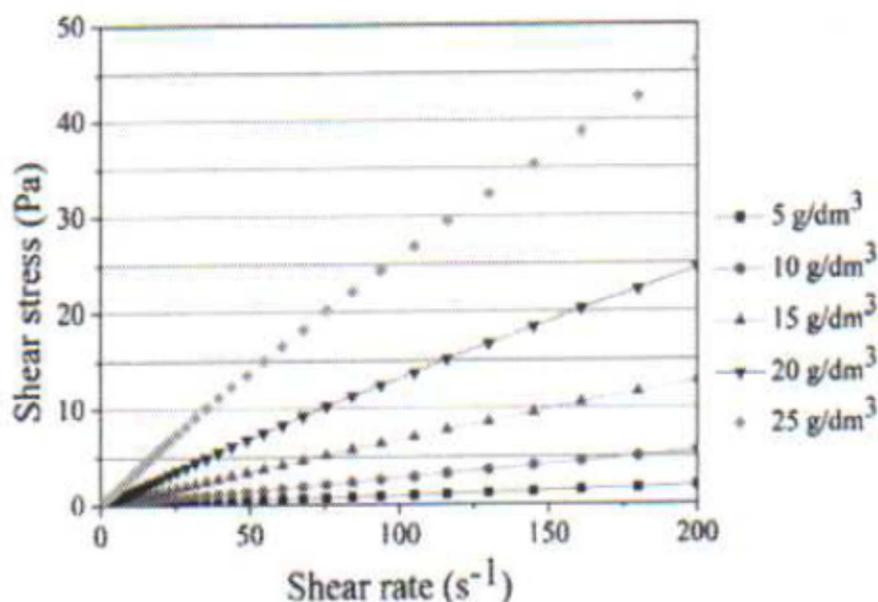


**Figure II.08. :** Rétention du calcium par un réseau tridimensionnel de segments poly-M ou poly-G définissant une structure de type "egg-box"

La structure du polymère est donc l'élément déterminant du comportement rhéologique des gels d'acide alginique : la proportion des blocs poly-G et leur longueur conditionnent la formation et la force des gels obtenus en présence de calcium.

### II.1.2.3. Comportement rhéologique

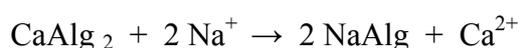
Les alginate ont en général un comportement quasi-Newtonien, même si des déviations peuvent être observées suivant plusieurs facteurs, notamment le type d'alginate, la concentration de la solution, la composition chimique de l'alginate, sa masse moléculaire moyenne, etc. La Figure II.09 présente un exemple de rheogramme obtenu par Carturan et al. (2006) pour des solutions d'alginate de sodium de différentes concentrations. On constate une dépendance linéaire dans tous les cas, traduisant un comportement Newtonien, excepte pour la concentration la plus élevée, pour laquelle on peut observer une légère déviation.



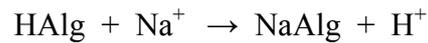
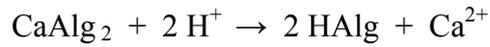
**Figure II.09 :** Rheogramme contrainte de cisaillement-vitesse de cisaillement pour des solutions d'alginate de sodium de différentes concentrations (Carturan et al., 2006).

### II.1.3. Procédé d'extraction de l'alginate

Dans les algues brunes, les alginates sont présents sous forme de sels insolubles (principalement de calcium). Le principe de l'extraction est de convertir ces sels insolubles en sels de sodium soluble. L'algue pourrait être traitée par une solution alcaline, le processus étant alors un échange d'ions (Bashford *et al.*, 1950) :

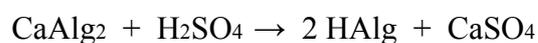


Cependant, de nombreux auteurs ont montré qu'un prétraitement avec un acide minéral permet d'améliorer l'extraction (Haug, 1964 ; Secconi, 1967 ; Myklestad, 1968 ; Hernandez- Carmona *et al.*, 1992).



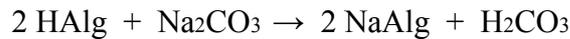
En industrie, il existe deux protocoles classiquement utilisés pour extraire les alginates, la méthode dite directe et la méthode dite indirecte, qui reprennent toutes les deux le principe du prétraitement acide suivi d'une extraction alcaline. C'est le mode de précipitation utilisé ensuite qui différencie la méthode directe de la méthode indirecte (Figure II.10). Le choix de l'une ou l'autre est lié à l'espèce d'algue traitée (Perez *et al.*, 1992).

- a) **Préparation de la matière première** : C'est généralement le formol qui est utilisé, car il présente plusieurs avantages : il est peu coûteux, il provoque une dépigmentation des algues (amélioration de la blancheur du produit final) et une libération des phénols. Les algues sont plongées dans un bain de formol à environ 1% puis stockées. Avant utilisation, les algues sont rincées, puis découpées en fragments de 20 à 30 cm de longueur pour faciliter le transport par pompage. Si les thalles ont été conservés sèches, il faut les réhydrater.
- b) **Formation de l'alginate** : L'alginate se trouve dans les cellules de l'algue sous forme de sels de sodium, calcium et magnésium. Les alginates de calcium et magnésium étant insolubles, les étapes de lixiviation et de carbonatation décrite ci-après permettent de les transformer en sel de sodium soluble dans l'eau.
- c) **Lixiviation (ou acidification)** : Les algues sont immergées dans une solution d'acide sulfurique à environ 0,5N pendant plusieurs heures. Les sels d'alginates insolubles situés dans les cellules de l'algue passent sous forme d'acide alginique insoluble et les ions calcium, sodium et magnésium sont libérés sous forme de sulfates avec les eaux de rinçage. Deux à trois rinçages à l'eau douce sont nécessaires.



- d) **Carbonatation** : Les algues sont immergées dans une solution de carbonate de sodium à environ 4 %. L'acide alginique insoluble présent dans les cellules de l'algue réagit avec le carbonate de sodium pour donner de l'alginate de sodium soluble, qui passe en phase aqueuse. Au terme de cette opération, on obtient un

« jus de carbonatation » : la matière algale est décomposée sous forme de particules en suspension dans la solution d'alginate de sodium.



Suivant l'espèce d'algue traitée et la gamme de viscosité que l'on désire obtenir pour le produit final, on peut faire varier la température et le temps de contact. Pour *Laminaria digitata*, on préfère opérer à froid ou à 25-30°C de façon à préserver une haute viscosité.

- e) Flottation et filtration :** Il s'agit de séparer la solution d'alginate de sodium des particules de matière algale en suspension. Théoriquement, la séparation pourrait se faire par simple filtration. En fait, les particules de cellulose et autres composés insolubles sont si fins et si mucilagineux qu'ils colmatent rapidement les filtres. Dans l'industrie, on utilise le plus couramment l'émulsification (injection d'air dans le jus de carbonatation dilué) puis la flottation. En laboratoire, on utilise le plus souvent la centrifugation.
- f) Précipitation de l'acide alginique :** L'acide alginique est précipité par ajout d'acide sulfurique à la solution d'alginate de sodium, de façon à ce que le pH soit inférieur à 2. Le carbonate de sodium reste en excès dans la solution se décompose en libérant du gaz carbonique qui se prend dans les fibres d'acide alginique en formation et les amène à la surface : il se forme une « mousse » d'acide alginique, qui s'épaissit et se tasse progressivement.
- g) Déshydratation :** Dans l'industrie, des systèmes de filtre-presses ou de presses à vis sont utilisés, parfois associés à de l'alcool, pour déshydrater la mousse d'acide alginique. À la sortie de la presse, on obtient un acide alginique à environ 30% d'humidité. Ce produit est ensuite traité avec les bases adéquates pour produire les différents sels d'alginate qui sont commercialisés :
- ✓ l'acide alginique (E400),
  - ✓ l'alginate de sodium (E401),
  - ✓ l'alginate de potassium (E402),
  - ✓ l'alginate de calcium (E403),
  - ✓ l'alginate d'ammonium (E404),
  - ✓ l'alginate propylène glycol (E405),
  - ✓ l'alginate de triéthanolamine.

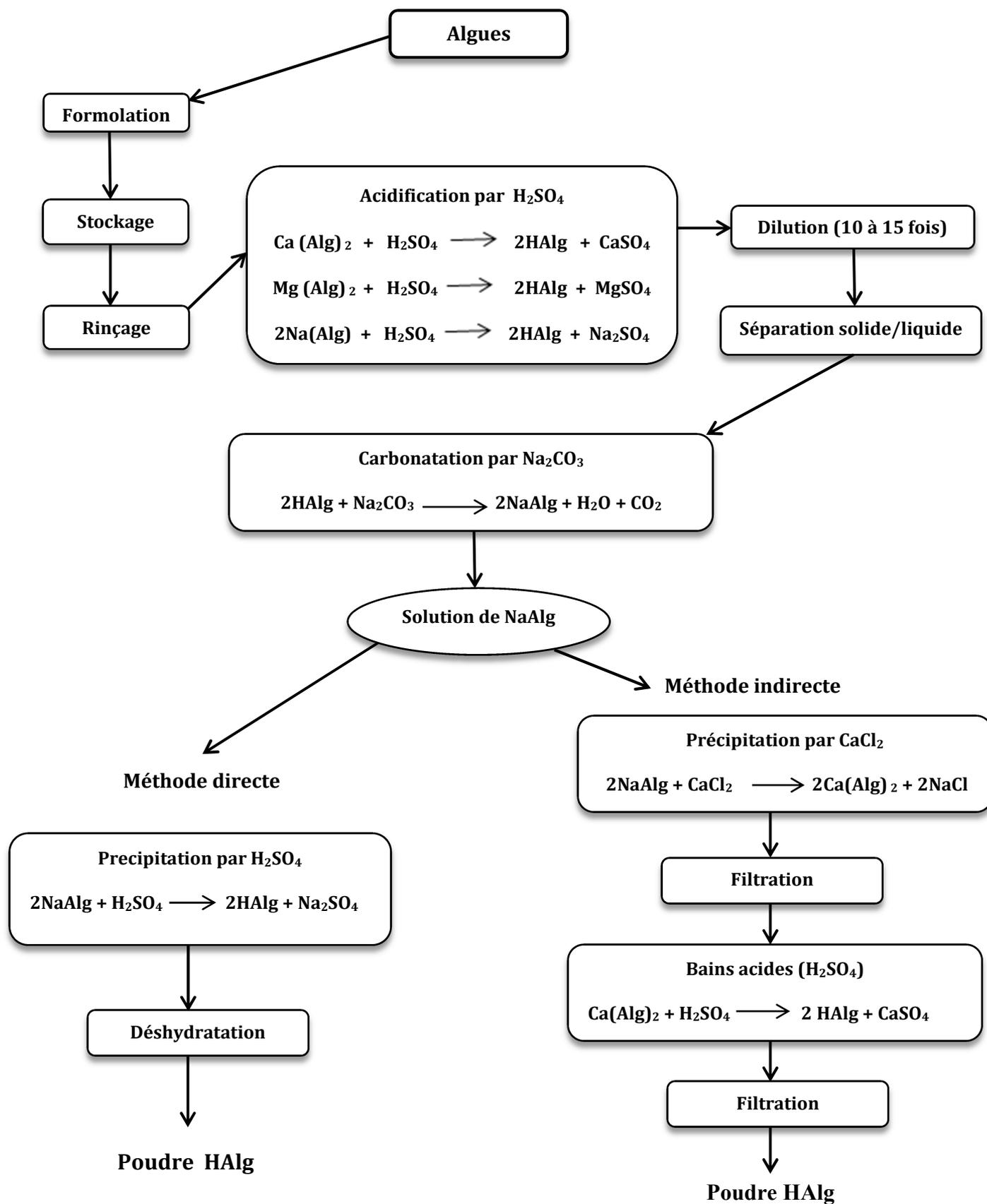


Figure II.10 : Procédé industriel d'extraction de l'acide alginique (Perez et al., 1992).

### II.1.4. Application de l'alginate de sodium

L'alginate produit à grande échelle trouve des applications principalement dans les domaines de l'agroalimentaire et textile, pour laquelle environ 80% de la production y est transformée. Ses propriétés colloïdales uniques font qu'il peut être utilisé en tant qu'épaississant, stabilisant, agent **filmogène**, gélifiant, etc (Tableau II.01).

*Tableau II.01 : Répartition de la production mondiale des alginates (en tonnage) entre les différents secteurs industriels et exemples d'applications (Vauchel, 2007)*

Application	Rôle de l'alginate
<b>Industrie textile (50%)</b>	Epaississant pour les pâtes d'impression, Epaississant et stabilisateur des teintures, Agent d'imperméabilisation, Agent plastifiant et filmogène.
<b>Industrie agroalimentaire (30%) codes E401 à E405</b>	Epaississant, texturant, conservateur, dans de nombreux produits : confitures, jus de fruits, sauces (moutarde, mayonnaise), potages, produits laitiers, stabilisateur dans les crèmes glacées (empêche la formation de cristaux).
<b>Industrie du papier (5%)</b>	Agglomérant pour les fibres, apprêt de surface, Epaississant et stabilisant dans les colles, Maintien des pigments en suspension.
<b>Industrie pharmaceutique (5%)</b>	Stabilisateur d'émulsions, agglomérant dans les comprimés, épaississant et hémostatique dans les pommades, pansements, mèches nasales, Gélifiant dans les pâtes à empreinte dentaire.
<b>Divers (10%)</b>	Epaississant dans les produits de beauté et pâtes à dentifrice, stabilisateur pour les peintures et vernis, Flocculant en traitement des eaux, Agglomérant pour les électrodes de soudure, Agent absorbant dans les couches pour bébé.

## II.2. La Chitine et Le Chitosane

En 1811, le Pr. Henri Braconnot, Directeur du jardin biologique à Nancy (France) a isolé une substance fibreuse d'un certain type de champignon. De plus, il a observé que cette substance n'est pas soluble dans les solutions aqueuses d'acides. Une décennie plus tard, en 1823, la même substance a été trouvée dans certains insectes (coléoptère) et a été ensuite nommée chitine (provient du mot grec "kitos" qui signifie l'enveloppe). En 1859, le Pr. C. Rouget a soumis la chitine à un traitement alcalin et a observé les différentes solubilités de la chitine. La substance, résultat du traitement alcalin, a pu être dissoute dans les acides. Cependant, seulement en 1894 cette substance a été nommée chitosane par Hoppe-Seyler (Jaouen, 1994). Entre 1930 et 1940, ces biopolymères ont suscité beaucoup d'intérêt dans le monde oriental, principalement pour l'application dans le domaine médical et la purification de l'eau. Aujourd'hui, nous savons que la chitine et le chitosane se trouvent abondamment dans la nature et sont des ressources renouvelables (Muzzarelli, 1977).

### II.2.1. La Chitine

La chitine est le polysaccharide naturel largement répandu dans la nature. Dans le règne animal, la chitine est un élément structurel important des téguments de certains invertébrés ; elle n'existe que sous la forme de complexes avec des protéines et des minéraux. Elle est présente principalement dans les coquilles de mollusques, dans les cuticules des insectes et dans la carapace des crustacés.

Dans le règne végétal, la chitine se trouve dans la paroi de la plupart des champignons et de certaines algues chlorophycées. En plus de son rôle dans le maintien de la rigidité de la cellule, elle contribue au contrôle de la pression osmotique. La chitine est présente aussi dans certaines levures et bactéries.

Bien que les sources potentielles de chitine soient très nombreuses (Tableau II.02), elle est essentiellement produite aujourd'hui à partir des carapaces de crevettes. Pendant longtemps, ces déchets n'étaient pas récupérés et étaient simplement rejetés à la mer après décorticage. La production de chitine permet de valoriser les déchets de l'industrie agroalimentaire en évitant qu'ils soient rejetés à la mer, ce qui engendre des problèmes de pollution car les carcasses des arthropodes (crustacés, céphalopodes...) sont très résistantes à la biodégradation (Shahidi et Abuzaytoun, 2005). Les carapaces de crustacés contiennent environ 30-40% de protéine, 30-50% de carbonate de calcium, et 20-30% de chitine par rapport au poids sec (Johnson et Peniston, 1982).

**Tableau II.02.** Sources potentielles de chitine (Tolaimate et al, 2003)

Sources de chitine	Teneur en chitine (%)
Bernacle ( <i>Lepas anatifera</i> )	7
Crabe marbré ( <i>Grapsus marmoratus</i> )	10
Crabe rouge ( <i>Portunus puber</i> )	10
Crabe araignée ( <i>Maia squinado</i> )	16
Homard ( <i>Homarus vulgaris</i> )	17
Homard sauterelle ( <i>Scyllarus arctus</i> )	25
Langouste ( <i>Palinurus vulgaris</i> )	32
Ecrevisse ( <i>Astacus fluviatilis</i> )	36
Crevette ( <i>Palaemon fabricius</i> )	22
Seiche ( <i>sepia officinalis</i> )	20
Calamar ( <i>Loligo vulgaris</i> )	40

### II.2.2. Procédé d'extraction de la chitine

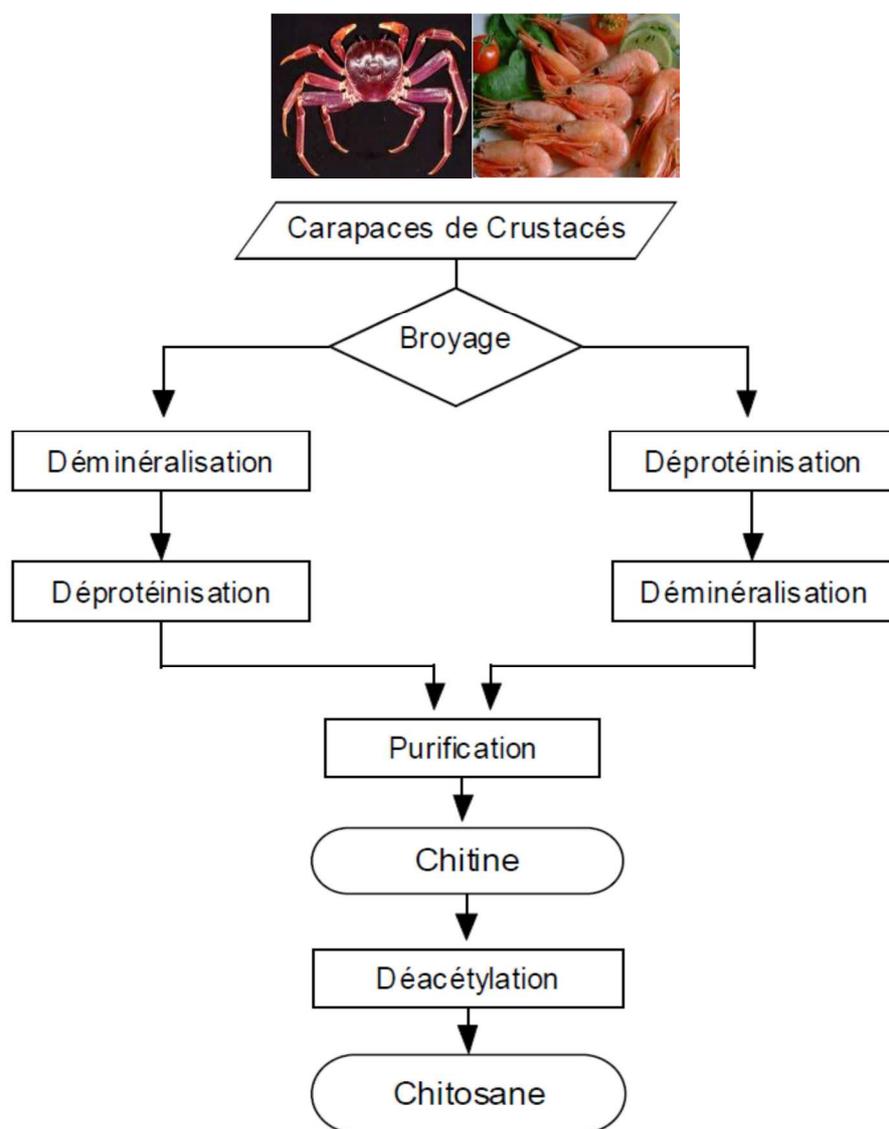
De nombreuses méthodes ont été développées afin de préparer la chitine à partir des carapaces de crustacés. De manière générale, elles consistent à éliminer les éléments minéraux (démminéralisation), les protéines (déprotéinisation) et la couleur (blanchiment) (Figure II.11).

#### a) Démminéralisation

La déminéralisation est généralement réalisée par un traitement acide sous agitation pour solubiliser le carbonate de calcium et le chlorure de calcium. Les acides les plus fréquemment utilisés sont l'acide chlorhydrique et l'acide formique à des concentrations de 1 à 10 mol.L<sup>-1</sup>. La durée du traitement acide est de l'ordre de 1 à 48 heures à la température ambiante. La condition optimale est obtenue par le traitement des carapaces sèches en poudre avec HCl 1 mol.L<sup>-1</sup> pendant 30 minutes à la température ambiante et le rapport du solide au solvant est 1:15 (w/v), c'est-à-dire 1 g de carapaces en poudres pour 15 ml de solvant (No et al., 1989). Pendant le processus de déminéralisation, des mousses indésirables peuvent se former dues à la production de dioxyde de carbone [ $\text{CaCO}_3 + 2\text{HCl} \rightarrow \text{CaCl}_2 + \text{CO}_2 (\uparrow) + \text{H}_2\text{O}$ ]. No et al. (1998) ont recommandé d'utiliser une antimousse commerciale contenant 10% de solution de silicone active.

**b) Déprotéinisation**

A l'état naturel, la chitine se présente en association avec les protéines (Chitinoprotéine). Les protéines sont éliminées par un traitement basique en utilisant, en général, des solutions à base de NaOH, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, KOH, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Ca(OH)<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, CaSO<sub>3</sub>, ou Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, de concentrations de 0,1 à 5 mol.L<sup>-1</sup>. La solution d'hydroxyde de sodium (~10 % massique) est la plus souvent utilisée pour dissoudre les protéines. La durée du traitement basique est de l'ordre de 0,5 à 72 heures à hautes températures (65-100°C). No et Meyers (1995) ont rapporté que la proportion du solide à la solution alcaline allant de 1:10 à 1:20 (w/v) est recommandée pour que l'élimination des protéines soit efficace.



*Figure II.11 : Procédé d'extraction de la chitine et du chitosane*

### c) Blanchiment

Pour les applications industrielles, la chitine obtenue à partir des ressources crustacées doit être décolorée après les traitements acide et alcalin (No *et al.*, 1989). Le pigment dans les carapaces de crustacées forme un complexe avec la chitine. Fox (1973) a détecté un dérivé de  $\beta$ -carotène solidement relié à la chitine de l'exosquelette des crabes rouges. Le blanchiment est souvent réalisé par un traitement avec des agents oxydants ( $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{NaOCl}$ ,  $\text{SO}_2$ ,  $\text{NaHSO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$  ou  $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Ce traitement peut éliminer des traces de pigments résiduels, comme les caroténoïdes.

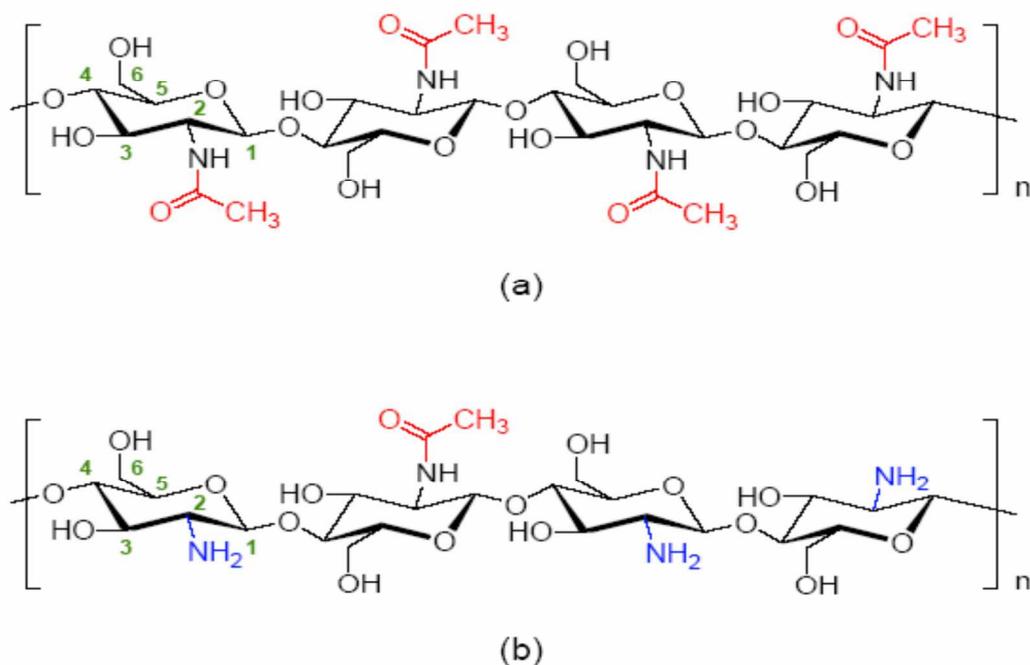
Durant le processus de blanchiment, le réactif utilisé ne doit pas avoir un effet sur les propriétés physico-chimiques de la chitine et du chitosane. No *et al.* (1989) ont pu fabriquer la chitine quasiment blanche par l'extraction avec l'acétone et le séchage pendant 2 heures à la température ambiante, suivi par le blanchiment en utilisant une solution 0,315% d'hypochlorite de sodium pendant 5 minutes avec un rapport du solide au solvant (1:10, w/v). Sans l'extraction préalable par l'acétone, le blanchiment doit être effectué plus de 1 heure pour aboutir à un produit blanc acceptable commercialement.

La chitine est biodégradable et non toxique, elle est hydrolysée progressivement par des glycosidases, comme des lysozymes et des chitinases. Du fait de sa forte cristallinité, la chitine n'est soluble que dans des solvants peu communs, ce qui limite son utilisation et sa valorisation. En effet, elle n'est soluble que dans le 2-hexafluoropropanol, et dans des mélanges tels que le diméthylacétamide /chlorure de lithium, ou l'acide trichloroacétique / dichloroéthane (Ravi Kumar, 2000). De nombreux dérivés de chitine ont été préparés dans le but d'améliorer la solubilité, le plus simple étant le **chitosane** obtenu par désacétylation.

### II.2.3. Le Chitosane

Le chitosane est obtenu par N-désacétylation partielle de la molécule de chitine. Leur structure chimique, représentée sur la Figure 10, résulte de l'enchaînement d'unités de répétition N-acétyl-D-glucosamine et D-glucosamine liées en  $\beta$ , (1 $\rightarrow$ 4).

La chitine et le chitosane se différencient par la proportion des unités acétylées présentes dans le copolymère, appelée aussi le degré d'acétylation (noté DA). Bien que le terme « chitosane » soit habituellement limité à toute chitine suffisamment N-déacétylée pour être soluble en milieu acide dilué, il n'existe pas de nomenclature officielle proposant la limite précise entre les deux termes. En conséquence, nous appellerons chitosane tout échantillon avec des degrés d'acétylation résiduels (DA)  $\leq 30\%$  (Seng, 1988).



**Figure II.12 :** Structures chimiques de la chitine (a) et du chitosane (b)

Le chitosane a trois types de groupes fonctionnels, un groupement amine et deux groupements hydroxyles en positions C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub> et C<sub>6</sub> respectivement (Figure II.12). Grâce à ses groupements amines libres, ce composé possède des propriétés très intéressantes. Le chitosane, soluble dans les acides faibles, possède une charge positive alors que la plupart des polysaccharides sont chargés négativement (Shahidi *et al.*, 1999).

Le degré de désacétylation (DD) représente la proportion d'unités amine-D-glucosamine par rapport au nombre total d'unités glycosidiques. Dans le cas du chitosane, le DD est supérieur à 60% pour les produits commerciaux. Cette valeur détermine également la limite de solubilité de ce polymère dans les solutions acides diluées ( $2 < \text{pH} < 6$ ). Le DD est un paramètre structural qui influence les propriétés physico-chimiques telles que la solubilité, la charge globale et la réactivité, les propriétés mécaniques comme l'élongation à la rupture, la résistance à la traction et les propriétés barrière. Il influence également les propriétés biologiques (Chatelet *et al.*, 2001) comme la biocompatibilité, la biodégradabilité et l'activité biostimulante et anticholestémiant.

#### II.2.4. Production de chitosane à partir de la chitine (Processus de désacétylation)

Les techniques actuelles permettent, à partir des déchets, d'aboutir à une déminéralisation et à une déprotéinisation convenables de la carapace et donc à une chitine partiellement purifiée (Figure II.11). On peut ensuite, en fonction des exigences, procéder à des purifications supplémentaires afin d'obtenir un produit ultra-pur débarrassé de toute

protéine. En partant de la chitine, on peut également moduler à souhait le degré d'acétylation et la masse molaire du polymère, pour obtenir des chitosanes variés grâce à des hydrolyses basiques contrôlées.

Si l'extraction de la chitine est aujourd'hui facilement réalisable, l'étape la plus délicate reste la désacétylation qui nécessite de substituer suffisamment les groupements acétyles pour aboutir au chitosane, ce qui peut entraîner une réduction excessive de longueur de chaîne du polymère. En jouant sur la durée du traitement alcalin et sur l'élévation de température, il est donc possible d'obtenir différents chitosanes à partir d'une même chitine. Un DA inférieur à 10 % est rarement atteint par un procédé simple, la désacétylation totale nécessite plusieurs étapes. L'échantillon étant soit lavé, soit dissous et reprécipité entre deux cycles.

La désacétylation est généralement effectuée par le traitement avec la soude ou la potasse concentrée (40-50 %) à une température  $\geq 100$  °C, pendant au moins 30 minutes pour enlever certains ou tous les groupements acétyle de la chitine (No et Meyers, 1995).

La désacétylation ne peut pas être réalisée avec un réactif acide (Muzzarelli, 1977). Il y a plusieurs facteurs essentiels qui affectent le rendement de désacétylation comme la température, la durée, la concentration d'alcalin, les traitements préalables pour l'obtention de la chitine, l'atmosphère (air ou azote), la quantité de chitine par rapport à la solution alcaline, densité de la chitine et la taille des particules. Compte tenu de ces paramètres, l'objectif idéal de désacétylation est de préparer un chitosane qui est non dégradé et parfaitement soluble dans l'acide dilué (acides acétique, lactique, citrique,...).

## II.2.5. Propriétés physico-chimiques de la chitine et du chitosane

### a) Degré d'acétylation (DA)

La chitine et le chitosane sont principalement caractérisés par leur degré d'acétylation (DA) et par leur masse molaire, dont la détermination nécessite la mise en solution du polymère. Le degré d'acétylation présente le taux de groupe acétylé par rapport au groupe non acétylé (Figure II.12). De nombreuses méthodes sont proposées afin de déterminer le DA sur des échantillons solides: la spectroscopie IR (Brugnerotto, 2001), l'analyse élémentaire (Kasaai *et al.*, 1999), la RMN solide (Heux *et al.*, 2000), ou sur des échantillons en solution : dosage UV (Maghami et Roberts, 1988), titrage colloïdal (Chen *et al.*, 1997), RMN liquide (Yang et Montgomery, 2000).

### b) Solubilité

La chitine est soluble dans très peu de solvants. Sa masse molaire initiale est de l'ordre de 800 000 à  $10^6$  g.mol<sup>-1</sup> et elle est généralement fortement acétylée. Les chitosanes obtenus industriellement ont une masse molaire de l'ordre de 200 000 g.mol<sup>-1</sup> et un DA allant de 2 à 25%. Pour le chitosane, la masse molaire et la répartition des motifs N-acétylés le long de la chaîne sont dépendantes de la méthode de désacétylation utilisée. De plus, un enchaînement successif de plusieurs motifs N-acétylés confère au polymère un caractère plus hydrophobe, et donc des propriétés autoassociatives (propriétés épaississantes et gélifiantes) et modifie sa solubilité. En raison de sa solubilisation en solution acide, le chitosane se comporte comme un polymère cationique de forte densité de charge. Ses propriétés dépendent du pH du milieu. Le chitosane est solubilisé et il devient cationique quand le pH est inférieur au pKa intrinsèque de la fonction amine du chitosane soit 6,3 (Peter, 1995).

A un pH supérieur ( $> 6,5$ ), les groupements ne sont plus ionisés et le chitosane se précipite. Autour de pH 6, le nombre de fonctions amine libres devient suffisamment élevé pour induire une association des chaînes et la précipitation du polymère. La viscosité du chitosane en solution est influencée par différents facteurs, comme le DA, la masse molaire, la concentration, la force ionique, le pH et la température.

### c) La viscosité

La viscosité du chitosane dépend du degré de désacétylation (DD) de ce polymère. Plus il est désacétylé, plus il y a de groupements amines libres, plus le chitosane est soluble et par voie de conséquence sa viscosité est plus importante. La viscosité dépend également : de la concentration du polymère (elle augmente avec la concentration), de la température (elle chute lorsque la température augmente), du poids moléculaire (la viscosité intrinsèque augmente en fonction de l'augmentation du poids moléculaire) et enfin du pH (plus il est bas plus la viscosité est élevée) (Berth et *Al.*, 1998).

Il existe différentes méthodes pour déterminer la viscosité. La plus employée est « la viscosimétrie ». Elle nécessite la connaissance des paramètres K et a de la relation de Mark-Houwink (Amiali, 1999) :

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

$[\eta]$  : la viscosité intrinsèque.

M : le poids moléculaire moyen du polymère.

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

### II.2.6. Applications générales de la chitine et du chitosane

Les propriétés particulières du chitosane sont liées essentiellement à la présence de la fonction amine portée par le carbone 2. Elles sont de deux types:

- ✓ à pH acide, où il est soluble, le chitosane porte de nombreuses charges positives. Il est donc un bon agent de floculation et un bon agent de coagulation. Il peut interagir avec des molécules chargées négativement (par exemple acides gras, protéines ...) (Fang *et al.*, 2001) et former ainsi des complexes polyanion-polycation. Cette propriété lui ouvre de multiples applications notamment en dermo-cosmétologie : elle permet d'interagir de façon très intime avec les kératines de la peau et ainsi former un film à la surface de celle-ci.
- ✓ à pH (> 6,5), le chitosane perd ses charges positives, le doublet électronique de l'azote est libre. Ces doublets libres et la présence de nombreux atomes d'oxygène dans le chitosane lui permettent de se comporter comme un excellent complexant, en particulier des métaux lourds. Il est donc utilisé pour la purification des eaux, par exemple pour la récupération de métaux dans les effluents industriels.

La chitine est hydrolysée par les lysozymes ce qui n'est pas le cas du chitosane, celui-ci peut alors transiter sans adsorption dans tout l'appareil digestif. Il est donc utilisé comme ballast pour le transit intestinal et pour son activité hypocholestérolémiante. Le chitosane peut donc piéger le cholestérol apporté par l'alimentation et éviter qu'il ne soit absorbé par la paroi intestinale. Par conséquent, il est de plus en plus introduit dans les produits amaigrissants (Muzzarelli, 1996).

Le chitosane et la chitine, en faible quantité (quelques mg par m<sup>3</sup> d'eau) sont capables de déclencher chez les plantes les mécanismes de défense contre les infections et les agressions parasitaires. Par ailleurs, le chitosane stimulerait la plante pour la synthèse d'agents protecteurs, et se comporterait comme un engrais en accélérant la germination et la croissance des plantes (Sandford, 1989; Hadwiger *et al.*, 1989). Le chitosane et la chitine ont montré une résistance à certains parasites, bactéries, virus ou mycoses. Ils entraînent une activation des polynucléaires et des macrophages, qui jouent un rôle important dans le mécanisme de défense de l'organisme.

Dans le domaine des cosmétiques, les propriétés filmogènes et cationiques du chitosane sont exploitées dans de nombreuses crèmes ou lotions de soin pour les cheveux ou la peau (Lang et Clausen, 1989). On le trouve par exemple dans des crèmes antifongiques, amincissantes, hydratantes...

**Tableau II.03 : Propriétés du chitosane et ses principales applications (Suyatma, 2006)**

<b>PROPRIETES</b>	<b>DOMAINES D'APPLICATION</b>	<b>APPLICATIONS</b>
<p><b>Propriétés chimiques</b></p> <p>Polyamine linéaire Réactivité des groupements amino Réactivité des groupements hydroxyle</p> <p><b>Propriétés polyélectrolytes</b> (en milieu acide)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Polymère cationique</li> <li>- Forte densité de charge</li> <li>- Excellent flocculant</li> <li>- Adhésion à des charges chargées négativement</li> </ul> <p><b>Propriétés biologiques</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Biocompatible</li> <li>- Biodégradable</li> <li>- Non toxique</li> <li>- Bioactif vis-à-vis les plaies</li> <li>- Réduit le niveau de cholestérol</li> <li>- Stimule le système immunitaire</li> </ul> <p><b>Propriétés chélatantes</b></p> <p><b>Propriétés filmogènes</b></p> <p><b>Propriétés de rétention d'eau</b></p> <p><b>Propriétés antifongiques</b></p>	<b>AGRICULTURE</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Enrobage des semences</li> <li>- Alimentation des volailles</li> <li>- Fertilisant</li> </ul>
	<b>ALIMENTAIRE</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Additifs alimentaires (liant, émulsifiant, stabilisant)</li> <li>- Clarification des boissons</li> <li>- Anticoagulant</li> </ul>
	<b>BIOMEDICAL</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Agent hémostatique</li> <li>- Bactériostatique</li> <li>- Spermicide</li> <li>- Lentille cristalline (ophtalmologie)</li> <li>- Membranes pour dialyse</li> <li>- Capsules pour le relargage des médicaments</li> <li>- Réduction du taux de cholestérol</li> <li>- Peaux artificielles</li> <li>- Pansements</li> <li>- Accélération de la cicatrisation des blessures</li> <li>- Fils de suture chirurgicaux biorésorbables</li> </ul>
	<b>AUTRES</b>	<p>Acoustique</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Membranes des hauts parleurs</li> </ul> <p>Biotechnologie</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Immobilisation des cellules et des enzymes</li> </ul> <p>Alimentaire</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Enrobage et films d'emballage</li> </ul> <p>Industrie papetière</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Additifs</li> </ul> <p>Textile</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Imperméabilisant</li> </ul> <p>Alimentaire</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Films antimicrobiens</li> </ul>

## **Chapitre III**

### **Mélange de biopolymères et critères de miscibilité**



### III.1. Mélange de polymères

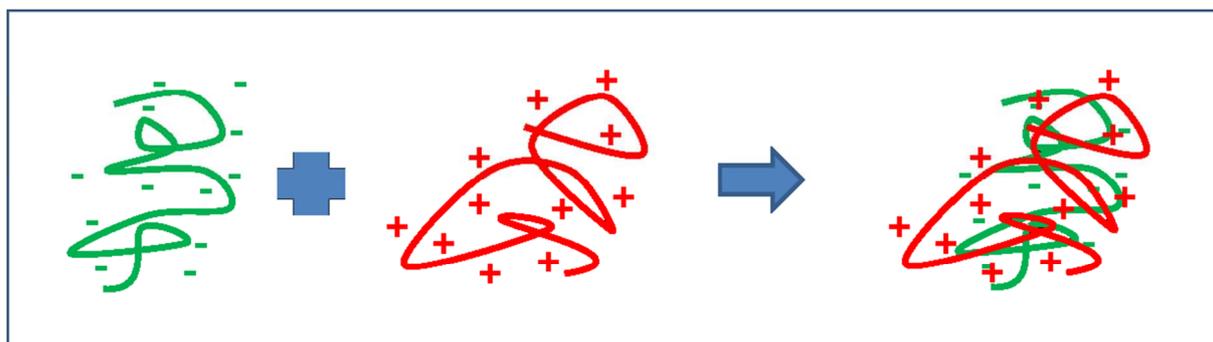
La synthèse des mélanges de polymères a beaucoup d'avantages par rapport aux polymères primaires, puisque des caractéristiques spécifiques et des propriétés améliorées peuvent être obtenues systématiquement en variant la composition de ces mélanges.

De plus, élaborer un nouveau matériau à partir d'un mélange de polymères est moins coûteux et moins aléatoire que synthétiser un polymère dont les propriétés sont inconnues, à partir d'un nouveau monomère (Khan *et al.*, 2000). Quoique la réalisation des mélanges n'est possible que si la chimie des polymères mélangés est relativement proche.

Les mélanges de polymères possèdent les propriétés intrinsèques: chimiques, physiques, mécaniques, et morphologiques de chacun d'eux. Les **avantages** de chaque polymère peuvent être **combinés** en les mélangeant.

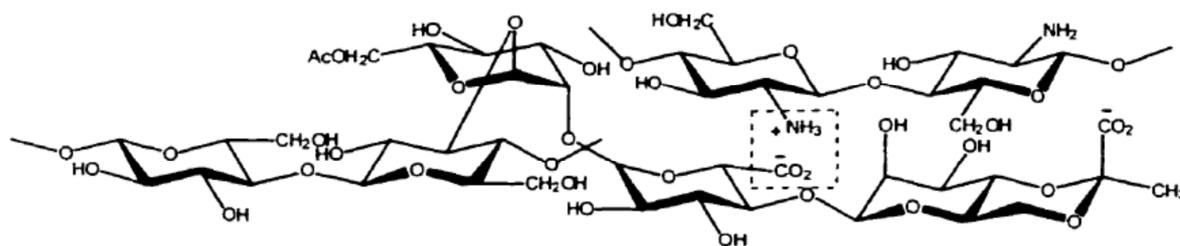
#### III.1.1. Mélanges de biopolymères binaires de charges opposées

Les mélanges de biopolymères sont généralement liés par des liaisons physiques, contrairement aux copolymères où les liaisons sont chimiques. L'association de deux biopolymères de charges opposées (l'un polyanionique et l'autre polycationique) crée des complexes polyélectrolytes (**PEC**) largement étudiés et forment des membranes à haute densité et peuvent avoir comme conséquence une sélectivité plus élevée (Chiou, 2003), telles que les membranes à base du complexe alginate/chitosane.



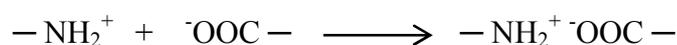
*Figure III.01 : Schématisation de l'interaction entre polymères de charges opposées et formation de complexes polyélectrolytes (PEC).*

Un autre exemple de mélange est le complexe chitosane /xanthane qui obéit aux mêmes conditions que les autres complexes à base de biopolymères de charges opposées lors de leur formation. Lorsque le chitosane (polybasique) et le xanthane (polyacide) interagissent. Il se forme alors un complexe insoluble (figure III.02) (Chellat, 1999).



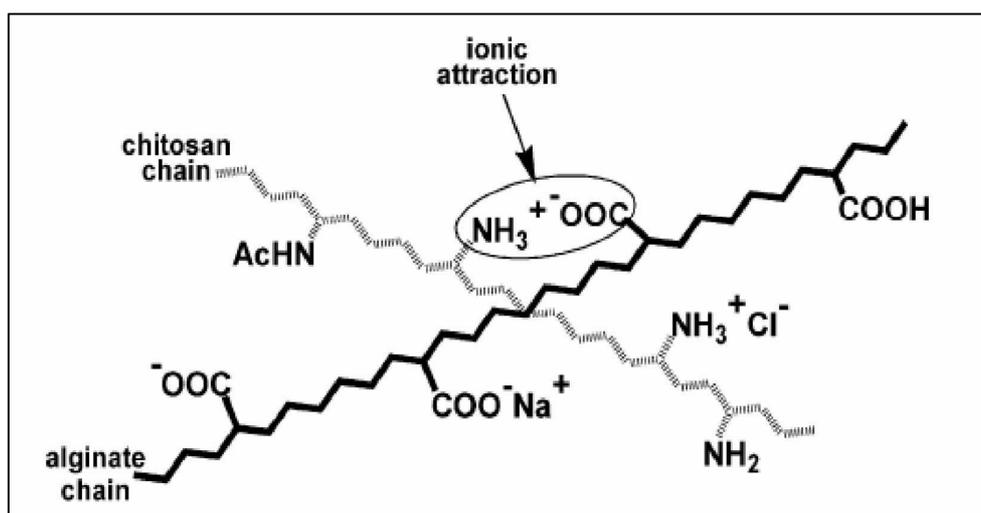
*Figure III.02 : Représentation du complexe chitosane/xanthane*

La complexation fait suite à la liaison des groupements amines du chitosane avec ceux Carboxyliques du xanthane selon la réaction ci-dessous :



### III.1.2. Réticulation Alginate-Chitosane et formation de complexes

La formation de complexes à base de biopolymères pour le développement de biomatériaux tridimensionnels est très décrite dans la littérature. Ce succès est particulièrement dû à la simplicité des interactions qui les composent. Effectivement, la formation du réseau de complexe Alginate/Chitosane (figure III.03) s'effectue au travers des **réticulations ioniques** entre les fonctions carboxylates déprotonées (chargées négativement) de l'alginate de sodium et les fonctions amines primaires protonées du chitosane (chargés positivement) aboutissant à la formation d'une structure tridimensionnelle dont la porosité est liée à la densité d'enchevêtrement des chaînes macromoléculaires des deux biopolymères.



*Figure III.03 : Représentation de la réticulation ionique entre l'alginate de sodium et le chitosane.*

### III.2. Les Critères de miscibilité des mélanges de polymères

Les bases thermodynamiques qui déterminent le comportement des mélanges de biopolymères en milieu aqueux sont les mêmes que celles des mélanges de polymères synthétiques en milieu solvant. Il n'y a pas de différence fondamentale entre les deux.

Les degrés de miscibilité d'un mélange de deux polymères se présentent sous trois différents niveaux (Hallary et Moinerie, 1986).

- ✓ les deux polymères sont non-miscibles en toute proportion, et forment deux phases distinctes dans le mélange quelle que soit la température utilisée,
- ✓ les polymères sont partiellement miscibles,
- ✓ les polymères sont totalement miscibles en toute proportion, et forment une phase unique dans le mélange.

Il existe quelques critères simples pour discuter de la miscibilité ou de l'immiscibilité des mélanges (Hallary et Monnerie, 1986). L'observation visuelle simple de l'opacité d'une membrane peut être révélatrice de la présence d'hétérogénéité. Toutefois, la transparence de la membrane ne peut pas être une preuve de miscibilité puisque le phénomène de diffusion du rayonnement visible n'est perceptible que si la taille des domaines est proche de 100 nm et les indices de réfraction des deux polymères sont très différents. Ainsi, pour caractériser un mélange de polymères, il convient d'utiliser d'autres techniques qui permettent de déterminer le degré de miscibilité. Les différentes techniques qui vont être détaillées ci-dessous comportent de véritables critères de miscibilité.

#### III.2.1. Comportement mécanique des mélanges

Le module d'Young (noté  $E$ ) d'un mélange de polymères est dépendant de sa composition et de sa morphologie. De nombreux modèles basés sur les propriétés mécaniques des mélanges, en particulier sur l'évolution du module d'Young et de la limite d'élasticité  $\sigma_y$  en fonction de la composition du mélange, ont été établis (Nielsen, 1974; Willemse *et al*, 1999). Ces modèles constituent la "loi des mélanges" et traduisent le fait que le module d'Young d'un mélange de polymères se situe entre deux limites  $E_p$  et  $E_s$ , dont les équations sont données par:

$$\checkmark \text{ le modèle en parallèle : } E_p = \varphi_1 E_1 + \varphi_2 E_2 \quad (1)$$

$$\checkmark \text{ le modèle en série : } 1/E_s = \varphi_1/E_1 + \varphi_2/E_2 \quad (2)$$

Où  $E_i$  représente le module d'Young du polymère  $i$ , et  $\varphi_i$  la fraction volumique de la phase  $i$ . Les modèles en série et en parallèle sont valides pour les mélanges miscibles. La loi des mélanges prévoit que, dans ce cas, le module d'un mélange varie quasi linéairement en fonction de sa composition, entre ceux des polymères parents. L'utilisation de ces modèles peut être généralisée à tous les mélanges de polymères, comme critère de miscibilité. Par ailleurs, la morphologie évolue avec la composition du mélange, passant d'un système dispersé à une morphologie semi-continue. Ceci explique que les modèles ci-dessus ont un domaine de validité limité.

### III.2.2. Déplacement des transitions thermiques

Chaque polymère est caractérisé par une température de transition vitreuse propre ( $T_g$ ). Lorsqu'un mélange de deux polymères est caractérisé par deux transitions vitreuses distinctes, identiques à celle des polymères parents, cela indique l'immiscibilité entre les deux polymères. A l'inverse, un mélange de polymères miscibles présenterait une transition vitreuse unique peu étalée en température. L'analyse thermique différentielle (DSC) et l'analyse thermomécanique dynamique (ATMD) sont les techniques couramment utilisées pour observer l'évolution de la  $T_g$  des mélanges en fonction de la composition.

Pour les polymères miscibles, il existe des modèles qui permettent de prédire l'évolution de la  $T_g$  du mélange en fonction de sa composition. Une approche très simple est l'équation de Gordon-Taylor (1952):

$$T_g = (w_1 T_{g1} + K w_2 T_{g2}) / (w_1 + w_2) \quad (3)$$

Où  $w_i$  et  $K$  sont respectivement la fraction massique du polymère  $i$  et une constante empirique. Cette équation, applicable à un mélange binaire, sert à modéliser l'effet d'un plastifiant sur les polymères.

L'équation de Fox, encore plus simple, introduite par Gordon *et al.* (1977) est fondée sur une approche empirique de l'évolution de la  $T_g$  du mélange, soit :

$$1/T_g = w_1/T_{g1} + w_2/T_{g2} \quad (4)$$

Ainsi la détermination expérimentale de la  $T_g$  d'un mélange de polymères et la comparaison avec un des modèles (Gordon-Taylor) permet d'évaluer leur miscibilité. L'abaissement de la température de fusion ( $T_f$ ) d'un des constituants peut également être le signe d'une certaine compatibilité entre les polymères du mélange et donc servir de critère de miscibilité.

### III.2.3. Observation microscopique des mélanges

La microscopie électronique à balayage (MEB) permet l'observation directe de la distribution des phases et éventuellement des domaines démixés. Cette technique nécessite un bon contraste entre les différentes phases du système. L'attaque chimique d'une phase du mélange permet d'améliorer l'observation et donc l'interprétation. Cette technique est très utilisée par de nombreux auteurs pour évaluer le degré de miscibilité des mélanges de polymères.

Dans notre travail la miscibilité du mélange des biopolymères alginate et chitosane est étudiée par la spectroscopie infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) et par l'étude des propriétés mécaniques et thermiques des mélanges en fonction de leur composition.

### III.3. Mise en forme des membranes à base des biopolymères

Il existe plusieurs procédés d'élaboration de membranes à base de biopolymères. Les deux principaux sont les procédés dits par voie humide et par voie sèche. La formation du matériau se déroule généralement en deux étapes : la première consiste à obtenir un état déstructuré et la seconde correspond à la mise en forme.

#### III.3.1. Voie sèche

Ce procédé de transformation est utilisé lorsque le matériau manifeste un comportement thermoplastique, c'est-à-dire qu'il pourra comme les polymères synthétiques thermoplastiques, être fondu de façon réversible. Certains biopolymères peuvent être considérés comme des matériaux thermoplastiques en présence d'eau. Les procédés de transformation utilisés sont les mêmes que ceux utilisés pour les polymères synthétiques : extrusion, injection, thermoformage, et calandrage (Chandra et Rustgi, 1998).

Les paramètres à prendre en compte sont ceux classiquement considérés dans les différentes techniques de transformation des matières plastiques, à savoir, la viscosité, la température de transition vitreuse, la température de fusion, et la température de dégradation.

#### III.3.2. Voie humide

La voie humide consiste à solubiliser les macromolécules, souvent en milieu aqueux, puis à évaporer le solvant pour obtenir une membrane solide. En fonction du domaine d'application, il existe différents procédés pour réaliser des membranes par voie humide.

- ✓ La méthode de « **solvent casting** » reste une des méthodes les plus utilisées pour former des membranes minces. Elle consiste à étaler sur un support une solution ou un gel de polymère. L'épaisseur de la membrane est déterminée par la concentration en

polymère et par l'épaisseur initiale de la solution ou du gel qui est généralement ajustée à l'aide d'une barre d'étalement (figure III.04). Elle permet de fabriquer de manière simple et peu coûteuse, à l'échelle laboratoire, des membranes dont la mise en œuvre et les propriétés sont assimilables à ceux produits par d'autres méthodes de voie humide, telle que le moulage par trempage par exemple.



*Figure III.04 : Mise en forme du Gel à une épaisseur suffisante.*

- ✓ La méthode de **moulage par trempage** (dipping ou dip-molding) est une méthode très ancienne utilisée pour appliquer un film protecteur sur certains produits alimentaires, et pour la fabrication des gélules pharmaceutiques (figure III.05). Elle l'est également pour la fabrication d'objets en latex et de nombreuses pièces plastiques. L'objet à mouler ou à revêtir va être trempé dans une solution de manière à former une couche gélifiée uniforme sur la surface de l'objet. Une fois l'épaisseur désirée atteinte, l'objet est retiré de la solution puis séché. Le film obtenu pourra alors être démoulé (Podczeck et Jones, 2004).



*Figure III.05 : Mise en forme des gélules par moulage par trempage*

- ✓ D'autres méthodes peuvent être employées comme le « **spraying** » qui consiste à pulvériser sur une surface une solution de biopolymère sous forme de fines gouttelettes afin d'obtenir une membrane d'une épaisseur très fine (Nisperos-Carrido, 1994). Pour des applications en tant que matériaux, les principaux polysaccharides sont la cellulose et l'amidon, mais une attention croissante a été portée à d'autres polysaccharides comme les alginates, les carraghénanes, la pectine, le chitosane, le pullulane et le xanthane.

# **ETUDE EXPÉRIMENTALE**

# **Chapitre IV**

## **Matériels et méthodes**

## IV.1. Matières premières

### IV.1.1. Matériaux

- ✓ L'alginate de Sodium : produit Labosi, de faible poids moléculaire (viscosité apparente de Brookfield est de : 100 – 200 mPa.s, mesurée à 1% (w/w) à 25°C).  
Utilisé pour synthétiser des membranes d'alginate et du mélange Alg/Chi.
- ✓ Le chitosane : produit Sigma – Aldrich, de faible poids moléculaire (viscosité apparente de Brookfield est < 200 mPa.s, mesurée à 1% (w/w) à 25°C). Utilisé afin de synthétiser des membranes de chitosane et du mélange Alg-Chi

### IV.1.2. Produits chimiques

- ✓ L'hydroxyde de sodium
  - Utilisé pour garantir l'insolubilité des membranes
  - Formule chimique : NaOH
  - Produit FLUKA de masse moléculaire M=40.00 g/mol.
  - Aspect : pastilles blanches
- ✓ L'acide acétique glacial 99,8 %
  - Utilisé pour dissoudre le chitosane.
  - Formule chimique CH<sub>3</sub>COOH
  - Produit REACHIM, 99,8%.

**Remarque :** Tous les produits chimiques ont été utilisés tels que reçus.

## IV.2. Méthodes expérimentales

L'élaboration de matériaux à base de biopolymères sous forme de membranes s'effectue par plusieurs méthodes, presque identiques, proposées par plusieurs chercheurs (Muzzarelli, 1977), mais la plus employée est celle de Muzzarelli (Khan et *al.*, 2000) qui se base sur la formation des films par voie humide (**solvent casting**), cette méthode repose sur la séparation du matériau filmogène de la phase solvant par précipitation ou par changement de phase sous l'effet du traitement thermique et de l'évaporation du solvant.

La formation de la membrane est le résultat de l'augmentation de la concentration en polymère, entraînant l'agrégation des molécules et la formation d'un réseau physique tridimensionnel.

Cette méthode, nous l'avons appliquée en laboratoire pour préparer les membranes d'alginate de sodium, de chitosane, et de leur mélange.

### **IV.2.1. Préparation des membranes d'alginate de sodium pur**

Les membranes d'alginate de sodium pur sont préparées selon la procédure suivante: une solution 1 % (w/w) d'alginate de sodium est préparée en solubilisant 2.5 g d'alginate de sodium en poudre dans 250 ml d'eau distillée sous agitation magnétique (500 rpm) pendant 2h. La solution obtenue est filtrée pour éliminer des impuretés à l'aide d'un système de filtrage équipé d'une pompe à vide. Ensuite, la solution est coulée dans des boîtes de Pétri et séchée à la température ambiante. Les membranes formées sont démoulées et stockées.

### **IV.2.2. Préparation des membranes de chitosane pur**

Avec la même procédure une solution 1 % (w/w) de chitosane est préparée en solubilisant 2.5 g de chitosane en poudre dans 250 ml d'acide acétique 1% (v/v) sous agitation magnétique (300 rpm) pendant 1h.

La solution obtenue est filtrée à l'aide d'une pompe à vide. Ensuite, la solution est coulée dans des boîtes de Pétri et séchée à la température ambiante. Les membranes formées sont démoulées puis immergées dans une solution de soude 0.1M pendant 1h de façon à garantir leur insolubilité et leur neutralité.

### **IV.2.3. Préparation des membranes du mélange Alg/Chi**

Pour préparer des membranes du mélange Alg/Chi :

- ✓ on prépare d'abord une solution d'alginate de sodium à 1% en poids.
- ✓ puis une solution de chitosane à 1% en poids à  $\text{pH} \approx 4$ .
- ✓ et enfin on mélange les deux solutions sous agitation magnétique en ajoutant la solution d'alginate goutte à goutte (1ml/s) à la solution de chitosane. Ensuite la solution du mélange est coulée dans des boites de Pétri et séchée à la température ambiante.

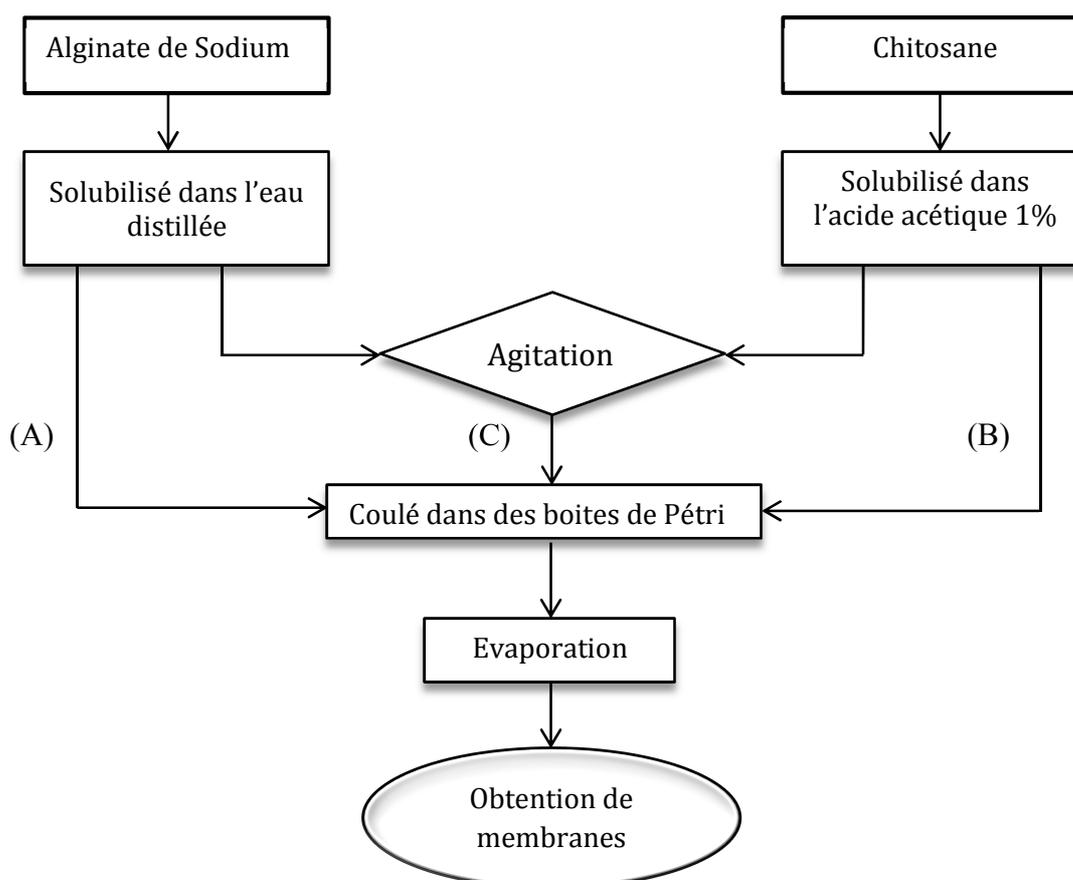
Différentes membranes sont synthétisées à partir de mélanges en proportions massiques variables de solutions dispersées d'alginate de sodium et de chitosane. Ainsi, différents ratios alginate/chitosane sont testés pour la synthèse des membranes et leurs caractérisations.

Les abréviations de ces membranes sont énumérées dans le tableau IV.01, qui seront utilisées par la suite du travail.

**Tableau IV.01** : Composition des membranes du mélange Alginate / Chitosane

Abréviations de membranes	Proportions massiques de solutions	
	Alginate de Sodium (%)	Chitosane (%)
100 % Algi	100	0
80Algi / 20Chit	80	20
50Algi / 50Chit	50	50
20Algi / 80Chit	20	80
100 % Chit	0	100

La figure ci-dessous montre la méthode de fabrication des membranes d'alginate de sodium, chitosane, et du mélange Alg/Chi.



**Figure IV.01** : Préparation des membranes d'alginate de sodium (A) ; de chitosane (B) ; et leur mélange Alg/Chi (C)

### IV.3. Caractérisations et méthodes d'évaluation

#### IV.3.1. Epaisseur des membranes obtenues

L'épaisseur des membranes obtenues a été mesurée au niveau de l'entreprise de fabrication de l'emballage MaxWinpack sise à la zone industrielle de Rouïba, à l'aide d'un micromètre (Fowler Instrument, IP 54, China) en 4 points différents sur chaque membrane avec une précision de 0,1  $\mu\text{m}$ .

#### IV.3.2. Caractérisation des membranes par spectroscopie FTIR

La spectroscopie FTIR constitue une méthode de choix pour déterminer les groupements chimiques caractéristiques d'alginate de sodium et de chitosane. Nous pouvons ainsi mettre en évidence l'apparition ou la disparition de certaines bandes de façon très significative lors de la formation du complexe (Alg/Chi) au cours des étapes de synthèse des membranes.

Pour l'alginate de sodium et le chitosane commerciaux, les analyses ont été effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre FTIR Bruker model alpha 1 dans la plage de 400 – 4000  $\text{cm}^{-1}$  sur des pastilles de KBr.

En ce qui concerne les membranes d'alginate, chitosane et de leur mélange Alg/Chi nous avons utilisé un spectromètre FTIR SHIMADZU model 8400 dans la plage de 400 – 4000  $\text{cm}^{-1}$  sur des disques de bromure de potassium (KBr).

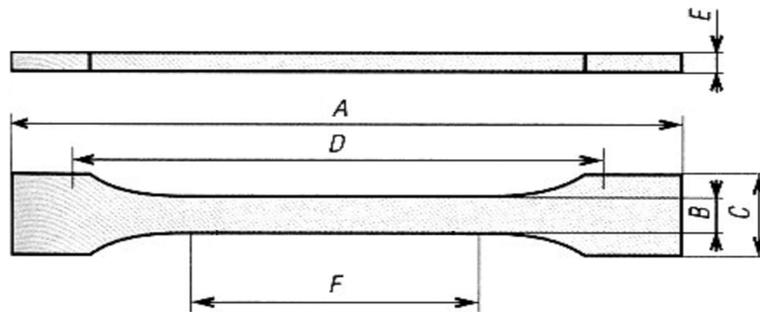


*Figure IV.02 : Spectromètre FTIR 8400 SHIMADZU*

#### IV.3.3. Caractérisation mécanique des membranes

La caractérisation mécanique des membranes est effectuée en traction uni-axiale sur des éprouvettes en forme d'haltère de type H3 (Figure IV.03). L'éprouvette a une géométrie utile de 20 x 6 x 0.06 mm (longueur x largeur x épaisseur). Les échantillons sont conditionnés

à humidité relative et température contrôlées avant les tests. Ils sont testés à l'aide d'une machine de traction Zwick Roell, 2,5kN au niveau de l'unité de recherche UR-MPE. La vitesse de traction est fixée à 10 mm/minute, et les mesures ont été réalisées jusqu'à la fracture de l'échantillon.



**Figure IV.03 :** L'éprouvette des tests de traction de type H3 avec les dimensions: A: 50 mm ; B: 6 mm ; C: 10 mm ; E: épaisseur 0.06 mm ; F: 20 mm ; D: 30 mm.

A partir de la courbe contrainte-déformation des tests de traction, on peut déterminer:

- ✓ la contrainte à la rupture ( $\sigma_r$ ): quotient de la force appliquée au moment de la rupture de l'éprouvette à la section initiale,
- ✓ le module d'élasticité ( $E_m$ ): la tangente à l'origine de la courbe contrainte-déformation
- ✓ l'élongation à la rupture ( $\epsilon \%$ ) =  $\frac{\Delta L}{L_0} \times 100$ .

#### IV.3.4. Caractérisation thermique des membranes

##### a) Analyse thermogravimétrique (ATG)

Afin de connaître le comportement en température de l'ensemble des membranes (température de dégradation, température de désorption d'eau, et stabilité thermique), Une analyse thermogravimétrique (ATG) a été conduite au niveau de l'unité de recherche UR-MPE sur un appareil NETZSCH STA 409 PC (figure IV.04), pour mesurer le courant ascendant de la perte de poids des membranes dans l'intervalle de température de 20° à 550°C. Les échantillons (4 à 5mg) contenus dans des creusets en aluminium ont été testés avec une cadence de chauffage de 10° C/min et sous un jet de nitrogène.

##### b) Analyse calorimétrique différentielle à balayage (DSC)

L'analyse calorimétrique différentielle (DSC pour Differential Scanning Calorimetry) permet de déterminer les températures de transition vitreuse ( $T_g$ ), de fusion ( $T_f$ ), et de

dégradation thermique des différentes catégories de matériaux. L'appareillage de DSC utilisé est de marque (NETZSCH STA 409 PC).



*Figure VI.04 : Appareil ATG-DSC NETZSCH STA 409 PC*

Des échantillons de membranes (4-5mg) ont été chauffés, la gamme de température était de 20°C à 250°C dans une atmosphère de nitrogène afin d'homogénéiser la température, chasser l'air et de minimiser ainsi les phénomènes de dégradation des polymères. Nous avons effectué un seul balayage pour chaque échantillon avec des vitesses de chauffage de 10 °C/min et de refroidissement de 30 °C/min.

Le sens de l'échange de chaleur entre l'équipement et l'échantillon dépend de la nature endothermique ou exothermique de la transformation physique. En mesurant cette différence de flux de chaleur entre la référence et l'échantillon, l'appareillage de DSC peut mesurer la quantité de chaleur absorbée ou libérée au cours d'une transition. Des changements de phase tels que les **transitions vitreuses** peuvent donc être détectés.

#### **IV.3.5. Etude du gonflement**

Etant donné que les membranes préparées seront destinées à des applications où elles seront en contact avec des solutions aqueuses ou à d'autres fluides absorbent l'eau, le **comportement en gonflement** de ces membranes présente une grande importance, notamment si on considère que dans certaines cas le gonflement a de majeur effet sur les propriétés, le rendement et les performances des membranes (l'ultrafiltration ; la déshydratation ; les emballages...etc.)

Pour mesurer la capacité de gonflement, les membranes d'alginate de sodium, du chitosane, et de leur mélange Alg/Chi sont coupées 20mmx20mm et pesées à l'état sec et immergées dans l'eau distillée à la température du laboratoire. Après chaque 10 minute, les membranes sont mises sur des filtres pour éliminer l'excès d'eau puis pesées.

La capacité de gonflement est calculée en utilisant l'équation de Gupta et Ravi kumar (Kumar, 2000) :

$$S \% = [(M_t - M_o) / M_o] \times 100$$

Où : S% : pourcentage de gonflement

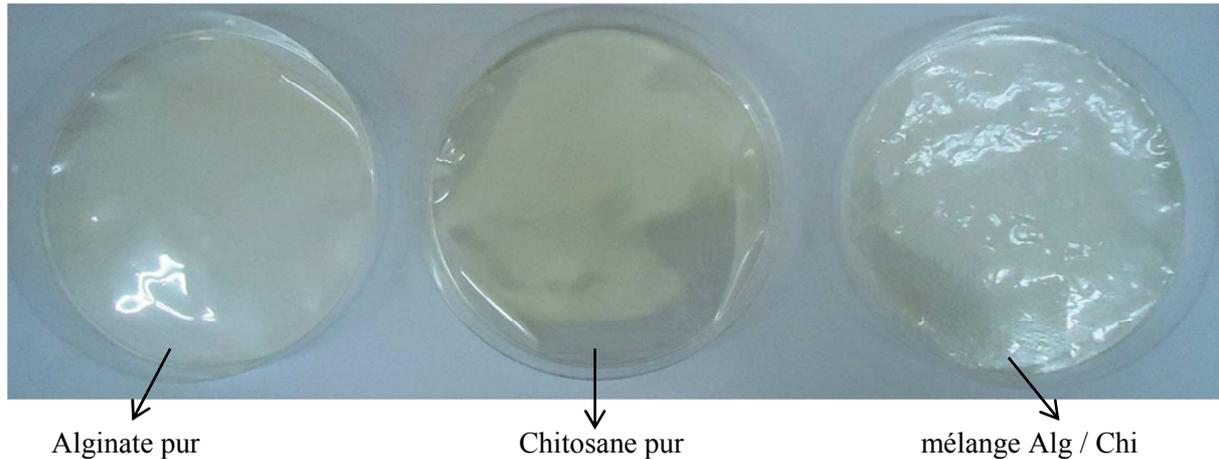
$M_t$  : masse de la membrane au temps t

$M_o$  : masse de la membrane sèche au temps t = 0

*Chapitre V*  
*Résultats et discussion*

### V.1 Aspect et épaisseur des membranes

Les membranes d'alginate de sodium sont fragiles, transparentes, lisses, souples et flexibles, et les membranes de chitosane sont dures, cassantes, transparentes, et lisses, avec une couleur légèrement jaunâtre (figure V.01).



**Figure V.01 :** Membranes obtenues par voie humide « solvent casting ».

Les membranes du mélange Alg/Chi sont flexibles et légèrement opaques, cette opacité est générée par la formation de fibres des complexes Alg/hi. Nous avons constaté que le maximum d'opacité est observé pour des proportions massiques Alg/Chi de 50/50 (w/w). Ceccaldi (2011) a trouvé en utilisant la turbidimétrie pour des solutions diluées, que le maximum de trouble du mélange Alg/Chi est observé pour une composition de 50/50 (w/w).

Ce ratio correspond donc à une proportion massique pour laquelle la réticulation est maximale et où le rapport de charge est équilibré entre les deux biopolymères. Avant ce maxima, le chitosane, en défaut, limite la formation de chaînes polyélectrolytes. A l'inverse, pour les proportions en chitosane supérieures à 50% la formation des chaînes polyélectrolytes est limitée par l'excès de chitosane.

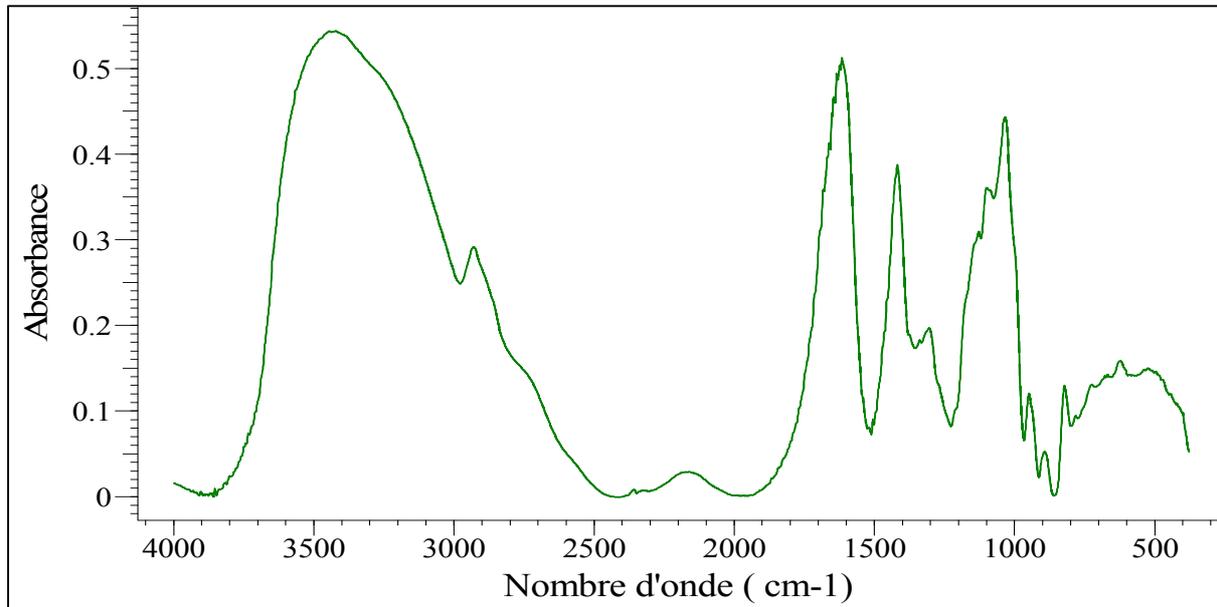
En ce qui concerne les mesures de l'épaisseur moyenne des membranes préparées, les résultats sont énumérés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau V.01 :** Epaisseur moyenne des membranes préparées.

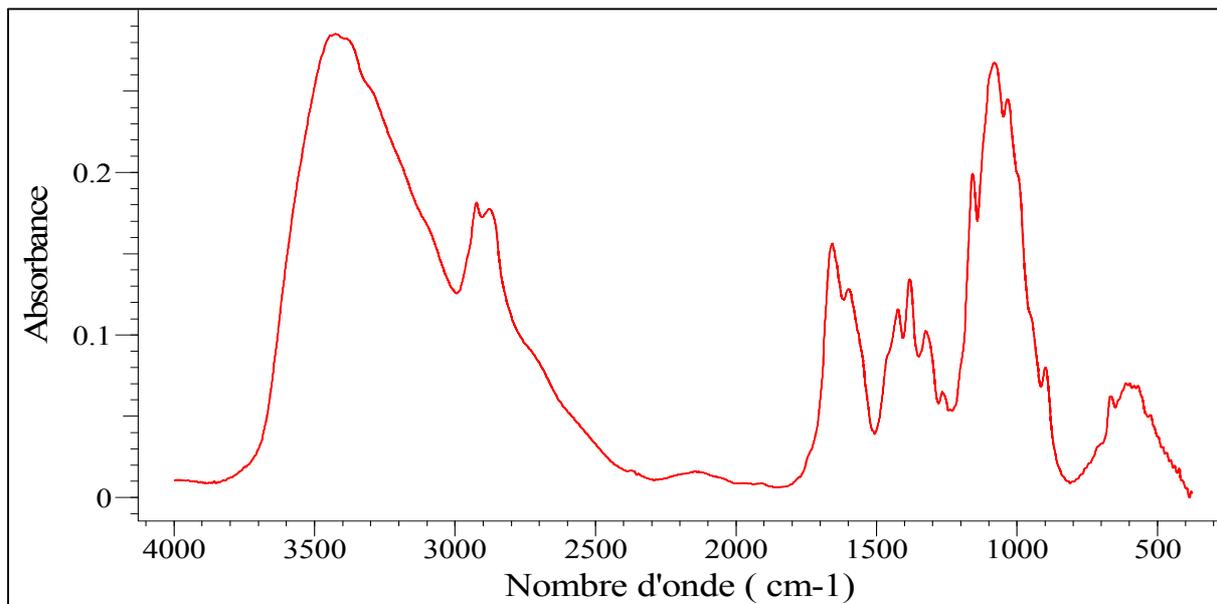
Membranes	100 % Alg	80 Alg/20 Chi	50 Alg/50 Chi	20 Alg/80 Chi	100 % Chi
Epaisseur ( $\mu\text{m}$ )	58,93	60,12	60,51	60,45	60,86

## V.2. Analyse par spectroscopie FTIR

Les spectres infrarouges des biopolymères d'alginate de sodium et de chitosane commerciaux sont présentés respectivement sur les figures V.02 et V.03 et ceux des membranes synthétisées sont illustrés sur les figures V.04 ; V.05 ; V.06 ; et V.07.



*Figure V.02 : Spectre IR d'alginate de sodium commercial*



*Figure V.03 : Spectre IR du chitosane commercial*

- Détermination du degré de désacétylation DD du chitosane commercial utilisé :

Une multitude de techniques de calculs plus ou moins fiables ont été développées en fonction des gammes de DD à déterminer. La méthode décrite par Shigemasa *et al* en 1996 utilise l'intensité de la bande spécifique de déformation des N-H à 1595 cm<sup>-1</sup> rapporté à l'intensité de la bande d'absorption des elongations des fonctions C-H non spécifiques à 2875 cm<sup>-1</sup>. Cette méthode est reportée comme étant relativement fiable et semble suivre les résultats obtenus par RMN-<sup>1</sup>H pour les DD compris entre 60 et 100% (Kasaai 2009).

$$A_{1595} / A_{2875} = 0,0125 * DD + 0.2$$

Le DD du chitosane commercial utilisé dans cette étude est estimé à **72,32 %**.

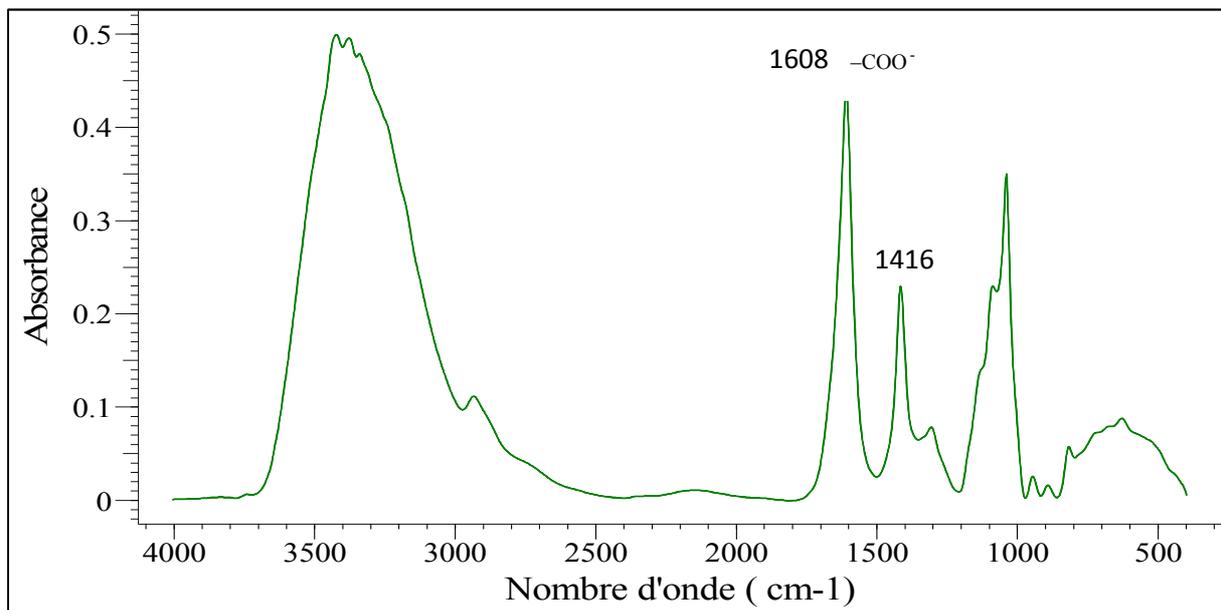


Figure V.04 : Spectre IR de la membrane d'alginate de sodium

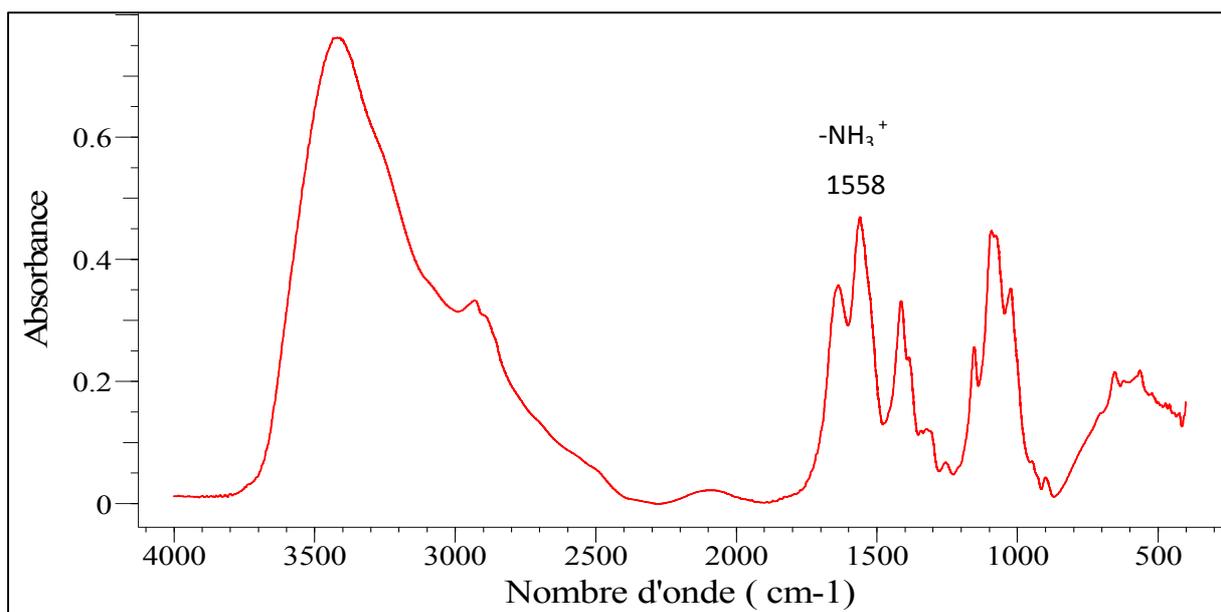


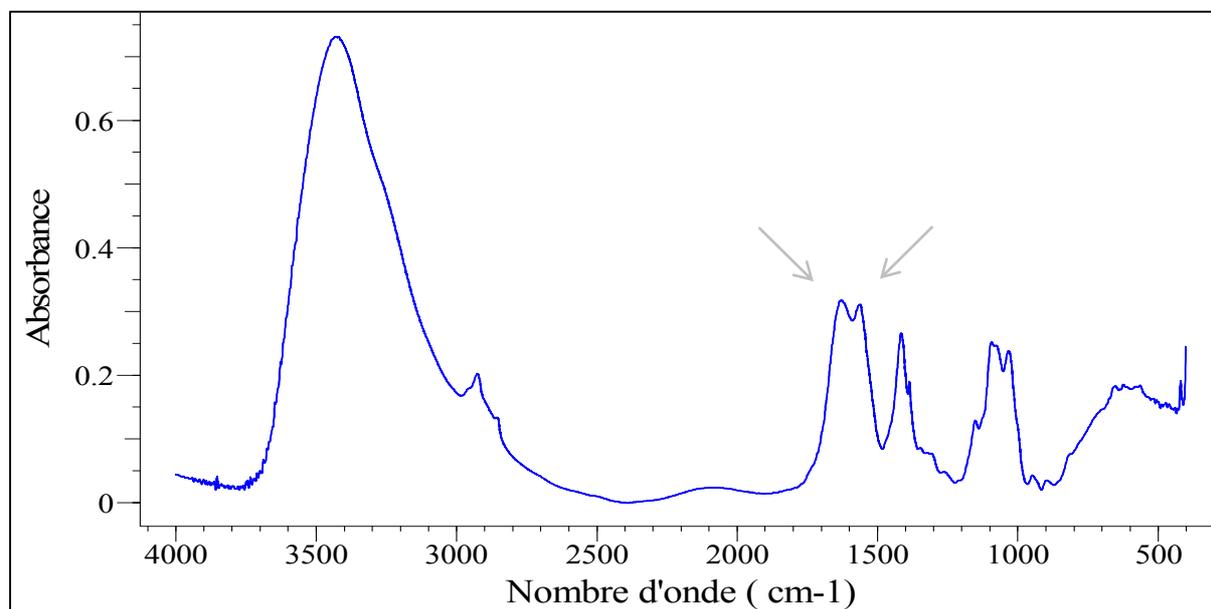
Figure V.05 : Spectre IR de la membrane du chitosane

L'analyse FTIR met en évidence pour alginate de sodium (Figure V.04) deux bandes d'absorption caractéristiques à  $1608\text{ cm}^{-1}$  et  $1416\text{ cm}^{-1}$ , dues à la vibration dissymétrique et symétrique respectivement du groupe  $-\text{COO}^-$ , et une bande d'absorption à  $3425\text{ cm}^{-1}$  qui est due à la vibration des groupes  $-\text{OH}$

L'attribution des principales bandes d'absorption pour la membrane de chitosane pur est présentée dans le tableau V.02.

**Tableau V.02** : Principales bandes d'absorption de la membrane du chitosane

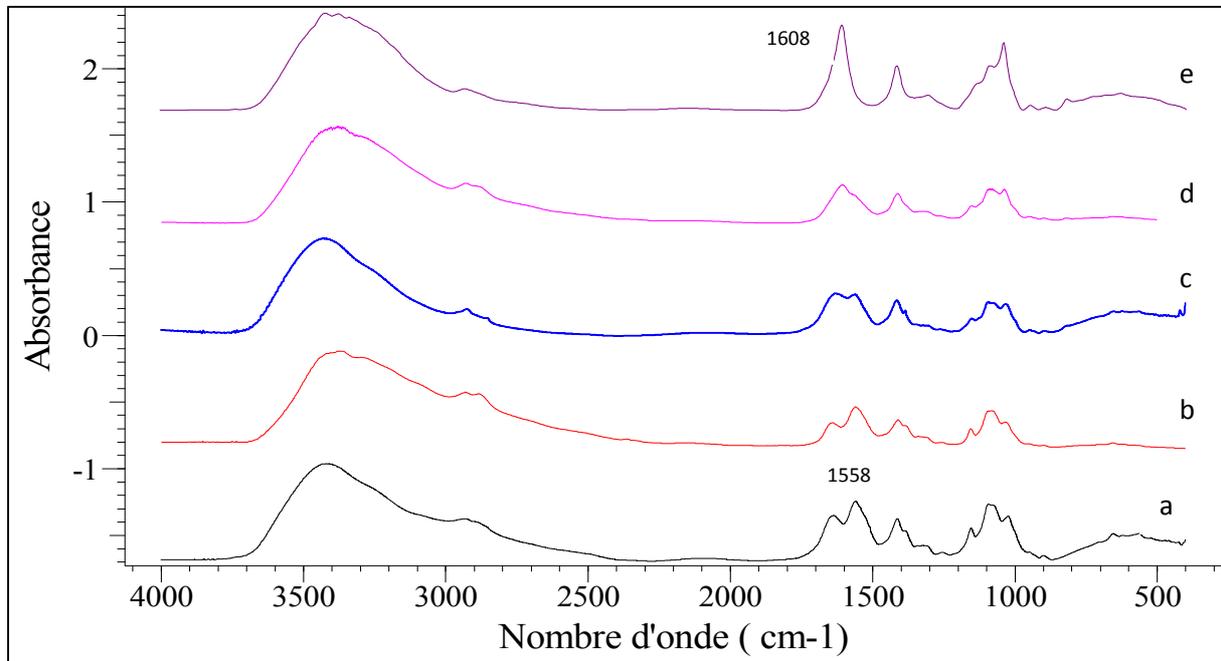
Nombre d'onde (cm-1)	Attribution
3433	Elongation $-\text{OH}$
2960-2860	Elongation C-H
1635	Déformation amide I
1558	Déformation amide II ( $\text{NH}_3^+$ )
1412	Déformation $\text{CH}_2$
1320	Déformation amide III
1152	Cycle pyranose
1086 et 902	Elongation asymétrique C-O-C



**Figure V.06** : Spectre IR de la membrane du mélange Alg/Chi

En comparant les spectres IR des membranes d'alginate de sodium, chitosane, et du mélange Alg/Chi (Figures : V.04, V.05, et V.06), nous constatons une diminution de l'intensité des bandes à  $1608\text{ cm}^{-1}$  (attribuée au groupement  $-\text{COO}^-$ ) et à  $1558\text{ cm}^{-1}$  (attribuée au groupement  $\text{NH}_3^+$ ). Cette régression des bandes d'absorption est certainement due aux

liaisons formées pendant la **réticulation ionique** qui a eu lieu entre les fonctions carboxylates déprotonées (chargées négativement) de l'alginate de sodium et les fonctions amines primaires protonées du chitosane aboutissant à la formation du complexe Alg/Chi.



*Figure V.07 : Spectres IR des membranes :(a)100% Chi ; (b) 20Alg/80Chi ; (c) 50Alg/50Chi ; (d) 20Alg/80Chi ; (e)100% Alg.*

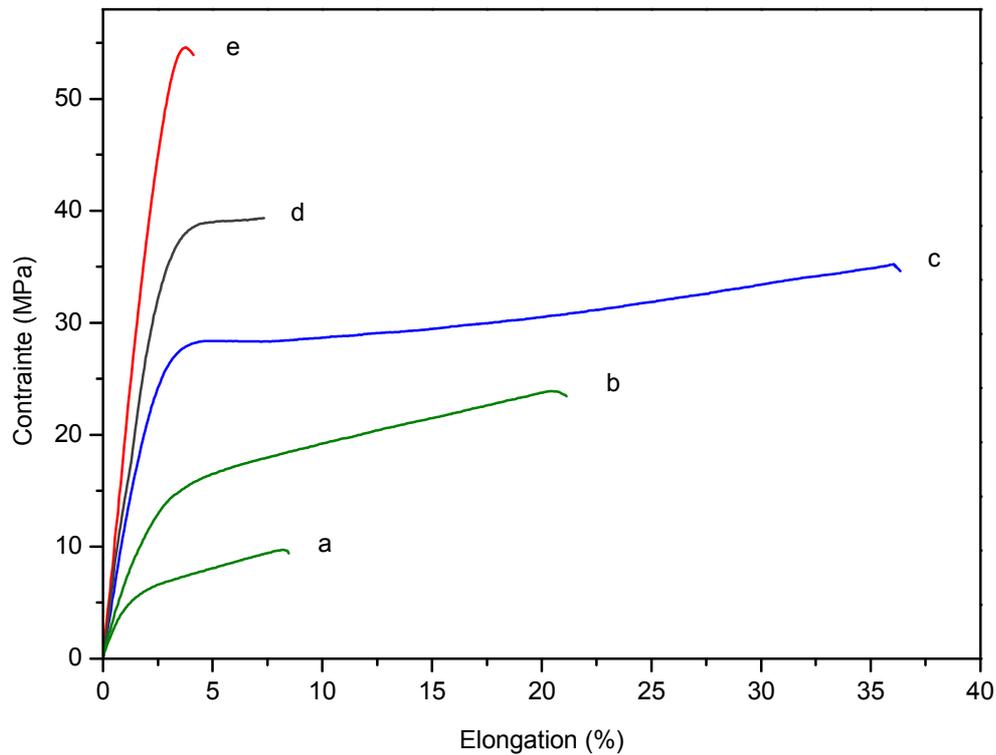
Les spectres infrarouges (b ; c ; et d) représentés sur la figure V.07, montrent que leurs bandes d'absorption sont affectées par la composition du blend Alg/Chi.

Le passage des spectres (a) et (e) au spectre (c), est associé à une régression progressive des bandes attribuées aux groupements  $\text{NH}_3^+$  et  $-\text{COO}^-$ .

Ce comportement signifie l'existence d'interactions ioniques, par conséquent, l'alginate et le chitosane sont deux biopolymères parfaitement miscibles.

### V.3. Comportement mécanique

Les courbes de contrainte-déformation en traction, représentatives des propriétés mécaniques des membranes d'alginate, de chitosane, et du mélange Alg/Chi sont présentées dans la Figure V.08. Les membranes de chitosane pur ont un comportement rigide, elles sont dures et cassantes, indiquées par un haut module d'élasticité (E), une forte contrainte à la rupture ( $\sigma_r$ ) et une très faible elongation à la rupture ( $\varepsilon_r$ ). En revanche les membranes d'alginate pur ont un comportement fragile indiquées par un faible module d'élasticité (E), une faible contrainte à la rupture ( $\sigma_r$ ). Les valeurs obtenues sont reportés dans le Tableau V.



**Figure V.08 :** Courbes de contrainte-déformation des membranes : (a) 100% Alg ; (b) 80Alg/20Chi ; (c) 50Alg/50Chi ; (d) 20Alg/80Chi, et (e) 100% Chi.

**Tableau V.03 :** Valeurs des propriétés mécaniques des membranes.

Membranes	$\sigma_r$ (Mpa)	$\epsilon_r$ (%)	E (Mpa)
100 % Alg	9.9	8.5	340
80Alg /20Chi	24	21.1	550
50Alg /50Chi	35	36.1	1180
20Alg /80Chi	38.5	7.3	1500
100 % Chi	54	4.15	1980

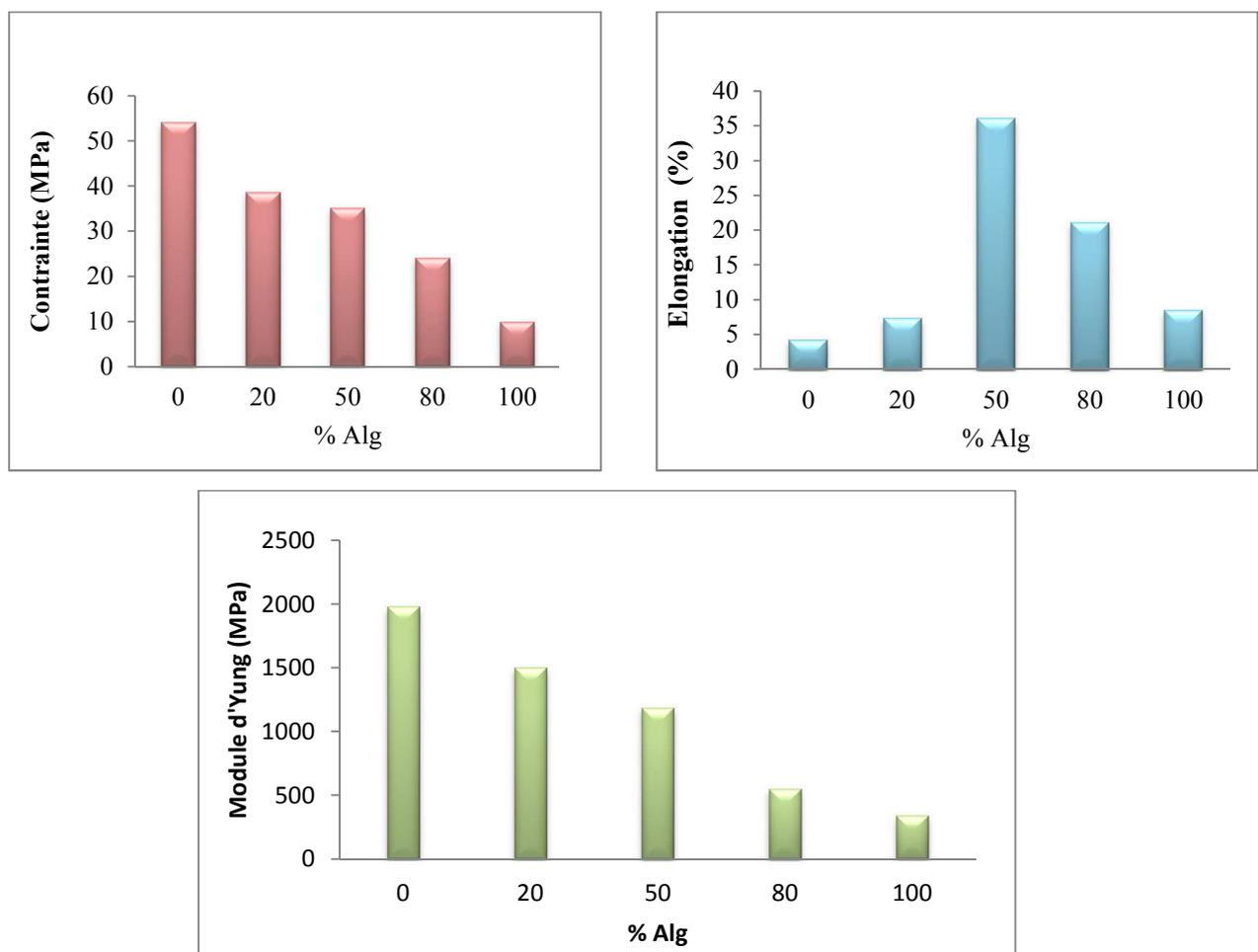
D'après la figure V.09, et le tableau V.03, nous pouvons constater que :

- ✓ L'alginate de sodium fait diminuer la contrainte à la rupture ( $\sigma_r$ ) et le module d'Young du chitosane, en revanche il fait augmenter son élévation à la rupture ( $\epsilon_r$ ). Ainsi l'alginate rend le chitosane élastique, en jouant le rôle d'un plastifiant et le chitosane augmente la rigidité d'alginate.

- ✓ l'élasticité du mélange 50Alg/50Chi est la plus importante (36%) là où le rapport de charge est équilibré entre les deux biopolymères.

les propriétés mécaniques des membranes du mélange Alg/Chi dépendent des forces intermoléculaires, de la raideur de la chaîne et de la symétrie moléculaire des biopolymères purs, l'introduction de l'alginate fait diminuer les ponts d'hydrogènes entre les chaînes macromoléculaires du chitosane, d'une part, et la réticulation favorise la création d'enchevêtrement des chaînes d'autre part qui donne lieu à des chaînes plus longues lors de l'essai en traction uni-axiale des membranes.

D'après le **comportement mécanique** des membranes du mélange Alg/Chi, nous pouvons constater que l'alginate de sodium améliore l'élasticité du chitosane, et ce dernier donne de la rigidité au mélange Alg/Chi, ce qui laisse supposer une certaine **compatibilité** et **synergie** entre les deux biopolymères.



**Figure V.09 :** Propriétés mécaniques des membranes en fonction du % d'Alginate.  
Contrainte à la rupture ; Allongement à la rupture ; et Module d'Young

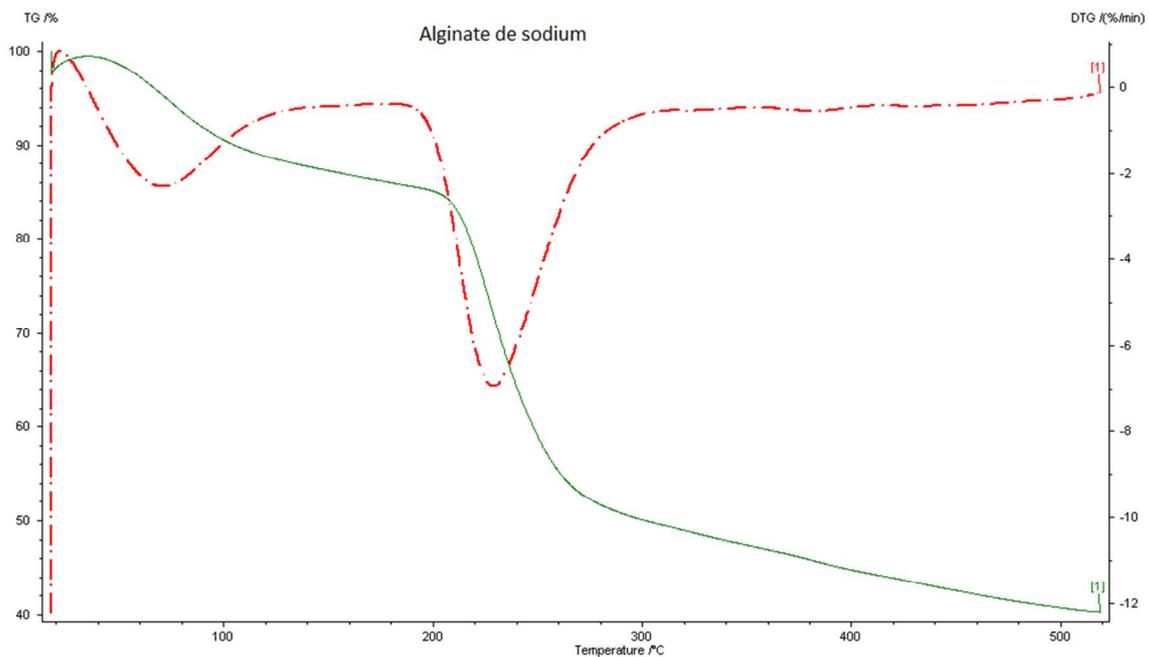
## V.4. Comportement thermique

### V.4.1. Stabilité thermique

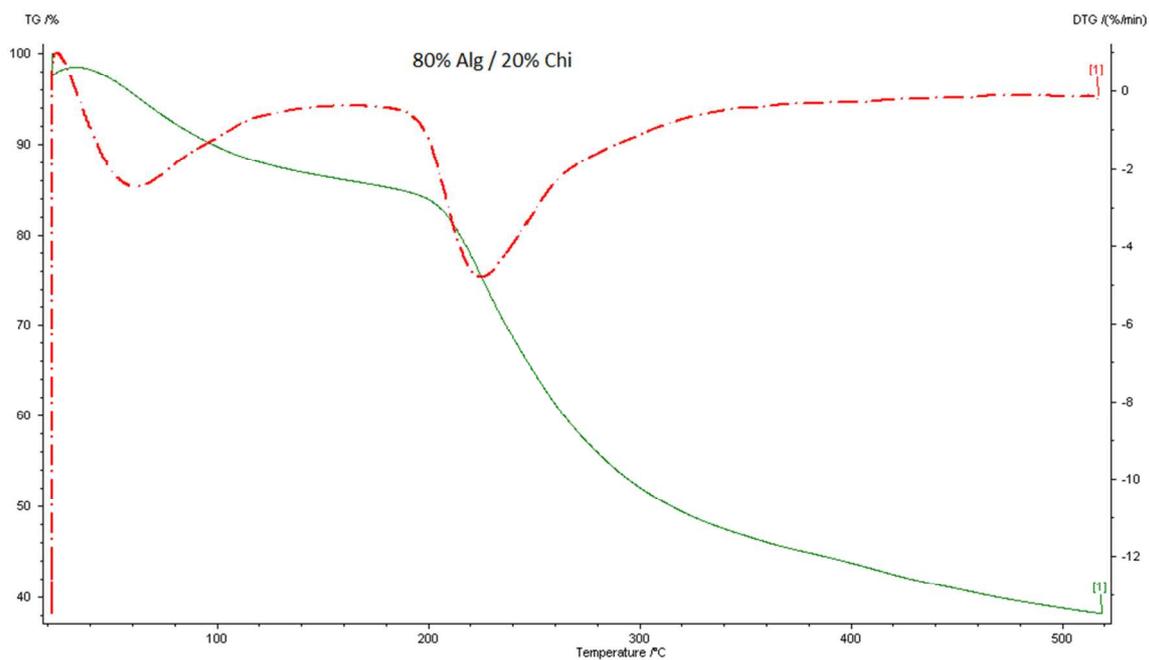
Les thermogrammes (ATG-DTG) obtenus lors de l'analyse Thermogravimétrique des membranes sont présentés sur les Figures V.10 ; V.11 ; V.12 ; V.13 ; et V.14.

D'après Les courbes vertes représentant la perte de masse relative en fonction de la température (ATG) et les courbes rouges représentant la dérivée de cette perte de masse (DTG), nous pouvons constater ce qui suit :

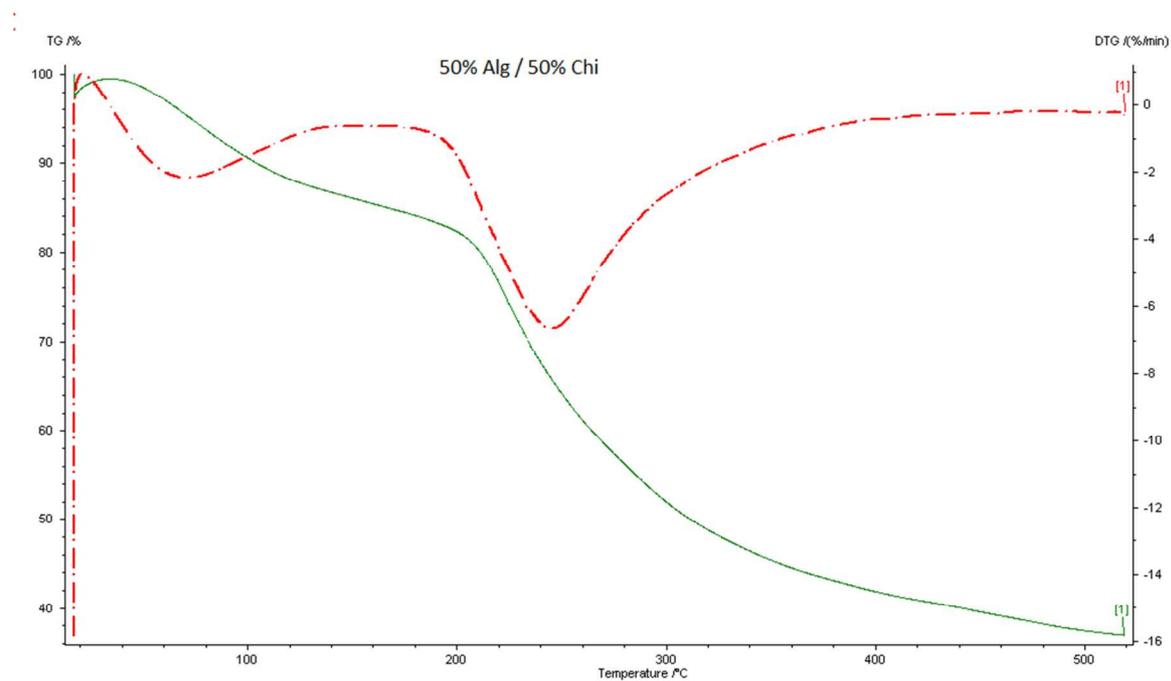
- ✓ On assiste à un processus de perte de poids similaire pour toutes les membranes. Vu l'allure des courbes, la dégradation se fait en deux étapes (présence de deux paliers, le premier se situe entre 50°C et 100°C relatif au départ de l'humidité et la désorption des gaz, le deuxième palier se situe entre 200°C et 300°C est dû à la dégradation des polymères, alginate de sodium, chitosane, et de leur mélange Alg/Chi).
- ✓ Nous pouvons bien observer aussi que la présence du chitosane augmente la **stabilité thermique** des membranes (Température maximum de dégradation d'alginate pur est 220°C, celle du mélange 50Alg/50Chi est 248°C, celle du mélange 20Alg/80Chi est 284°C, et enfin celle du chitosane pur est 296°C).



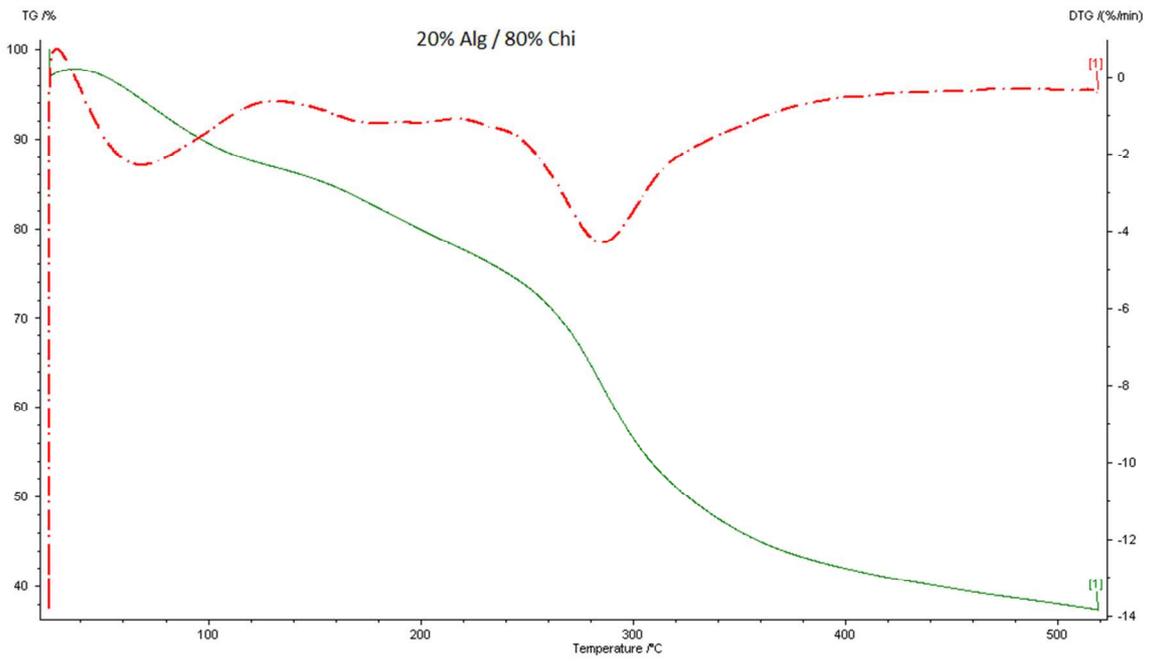
**Figure V.10 :** Thermogramme ATG-DTG de la membrane 100% Alg.



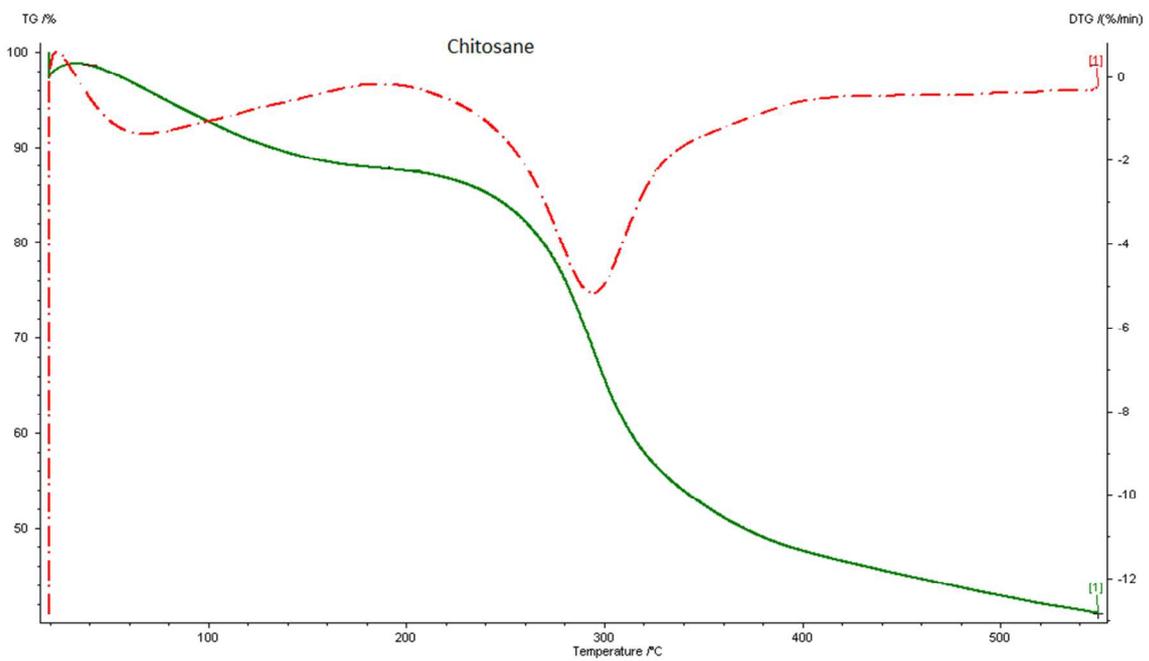
*Figure V.11 : Thermogramme ATG-DTG de la membrane 80Alg/20Chi.*



*Figure V.12 : Thermogramme ATG-DTG de la membrane 50Alg/50Chi.*



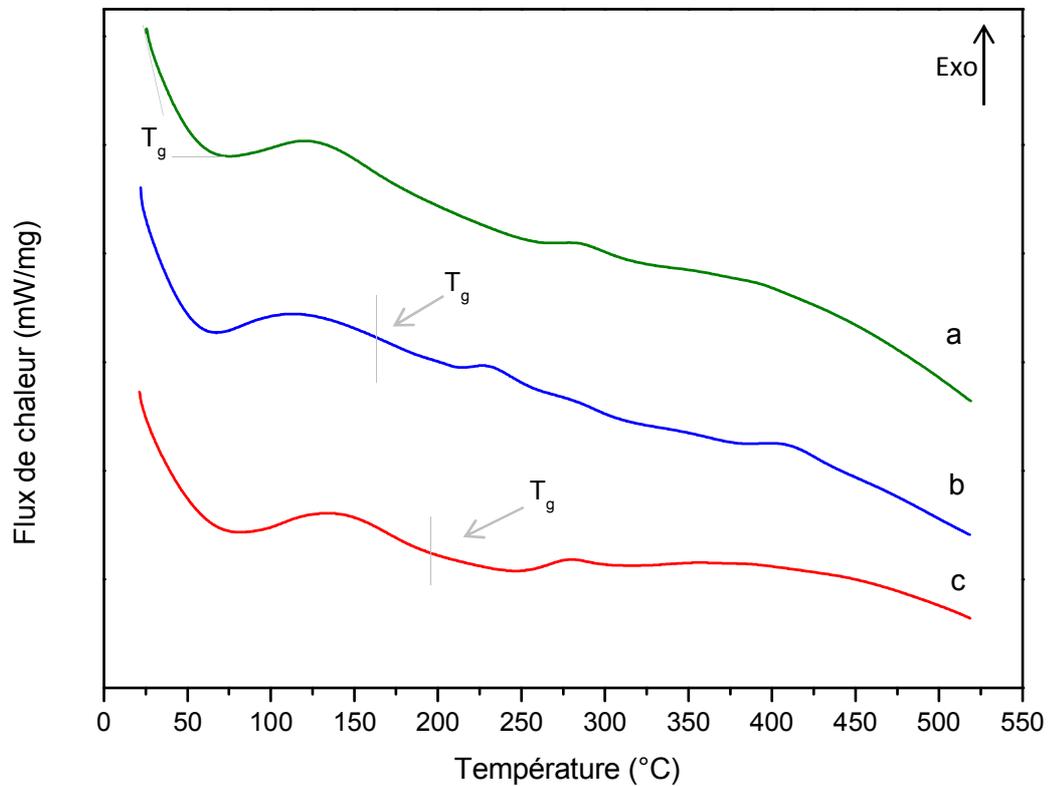
*Figure V.13 : Thermogramme ATG-DTG de la membrane 20Alg/80Chi.*



*Figure V.14 : Thermogramme ATG-DTG de la membrane 100% Chi.*

### V.4.2. Transitions thermiques

La Figure V.15 présente les thermogrammes DSC des membranes d'alginate de sodium, de chitosane et du mélange Alg/Chi.



**Figure V.15 :** Thermogrammes DSC obtenus lors du premier balayage pour les membranes de : (a) 100% Alg, (b) 50Alg/50Chi, (c) 100% Chi.

Les trois thermogrammes (a), (b), et (c) exhibent 3 pics endothermiques entre 50°C et 100°C qui sont dus à l'évaporation de l'eau liée aux chaînes macromoléculaires des deux biopolymères et de leur mélange.

Et en ce qui concerne les températures de transition vitreuse nous avons constaté que :

- ✓ Le pic endothermique caractéristique de la  $T_g$  de l'alginate n'apparaît plus sur le thermogramme (a). Celui-ci est en effet noyé dans le large pic endothermique caractéristique de l'évaporation de l'eau de la membrane (Palluault, 2010). Cette eau s'évapore aux alentours de 100°C, c'est-à-dire au-delà de sa température d'ébullition, car elle est fortement liée au film d'alginate.
- ✓ Et pour la  $T_g$  du chitosane, elle est observée à environ 190 °C, calculée à partir de son thermogramme (c) (figure V.15). Des auteurs ont rapporté différentes valeurs. Cheung

*et al.* (2002) ont observé la  $T_g$  du chitosane à environ 183 °C alors que Shanta et Harding (2002) ont trouvé une transition vitreuse de chitosane à 195°C, proche de celle trouvée par Sakurai *et al* (2000) à 203 °C.

- ✓ Et ce qui concerne le mélange Alg/Chi, sa  $T_g$  est observée 162°C

La diminution de la  $T_g$  du mélange Alg/Chi serait due à la suppression de certains ponts d'hydrogène entre les chaînes macromoléculaires du chitosane. Autrement dit, la réticulation d'alginate sur le chitosane augmente la flexibilité des chaînes de chitosane. Ce qui facilite un peu le glissement des chaînes.

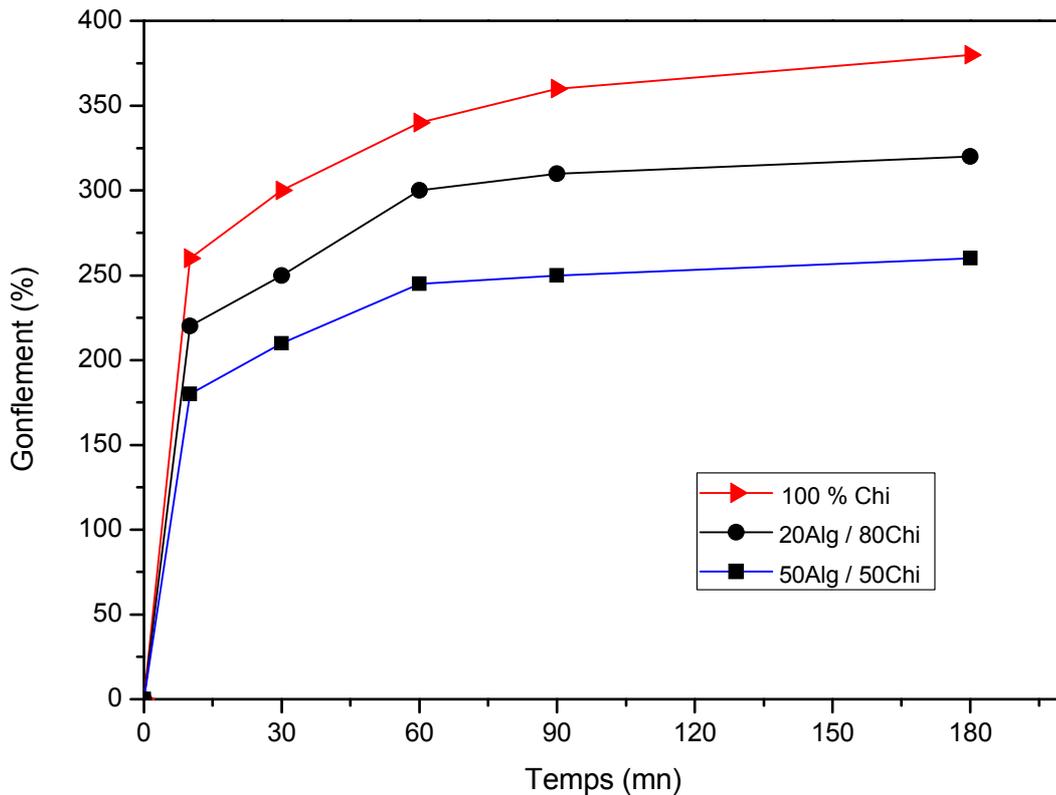
Comme les propriétés mécaniques, il est bien connu que la  $T_g$  des mélanges de polymères est un critère important pour caractériser leur miscibilité. Dans un mélange complètement miscible de deux polymères, une seule  $T_g$  apparaîtra dans le thermogramme DSC qui se situe entre les valeurs  $T_g$  des polymères purs. De plus, la  $T_g$  du mélange devrait obéir à l'équation de Fox (Gordon *et al.*, 1977) qui décrit la relation de la  $T_g$  du mélange en fonction de sa composition et des  $T_g$  des polymères purs.

Dans notre étude, l'alginate de sodium et le chitosane ont respectivement leur température de transition vitreuse à 60 et 190°C. Puisque le mélange Alg/chi montre une seule  $T_g$  (162°C) dont la valeur est intermédiaire entre celles d'alginate de sodium et du chitosane, on peut en déduire que l'alginate et le chitosane sont **miscibles**.

### V.5. Gonflement des membranes

Dans notre étude du gonflement, nous avons constaté que :

- ✓ les membranes d'alginate de sodium pur se décomposent complètement lorsqu' on les met en contact avec l'eau distillée, car l'alginate de sodium donne lieu à des membranes hydrophiles. Pour cela nous n'avons pas eu de résultats pour les membranes 100% Alg et 80Alg/20Chi.
- ✓ les membranes de chitosane se déforment rapidement en prenant de formes spirales et cylindriques au premier contact de l'eau, en revanche les membranes du mélange Alg/Chi gardent leur forme coplanaire.



*Figure V.16 : courbes cinétiques de gonflement des membranes*

D'après la figure V.16 qui représente les courbes cinétiques de gonflement des membranes, on constate que l'introduction d'alginate de sodium réduit le pouvoir de gonflement des membranes du mélange Alg/Chi, est cela est dû à cause de la densité de réticulation ionique entre l'alginate et le chitosane qui a réduit la porosité du mélange Alg/Chi, ainsi les molécules d'eau ne trouvent pas assez de sites pour y adsorber, ce qui mène à la réduction de la capacité d'absorption.

Le taux de gonflement le plus élevé est celui de la membrane du chitosane pur (380%), et le plus faible est celui de la membrane du mélange 50Alg/50Chi (260%).

On peut en déduire qu'effectivement, l'alginate réduit bien le pouvoir de gonflement du chitosane.

## **Conclusion générale et perspectives**

## CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

L'attachement principal de notre travail était, à l'origine, de valoriser deux biopolymères l'alginate de sodium et le chitosane. Ces matériaux sont bien connus pour leurs propriétés intéressantes. Mais le chitosane présente l'inconvénient d'être cassant, dur et sensible à l'humidité. Pour améliorer ces propriétés, nous nous sommes proposé d'introduire l'alginate de sodium qui doit jouer le rôle de plastifiant tant en étant compatible et miscible avec le chitosane.

Notre objectif a été d'élaborer des membranes du mélange de ces deux biopolymères par voie humide « solvant casting », puis d'étudier leurs structures et leurs comportements mécanique, thermique et en gonflement.

Plusieurs techniques ont été utilisées pour l'étude de ces membranes synthétisées, telles que : FTIR, essais en traction uni-axiale, analyse thermique ATG-DTG et DSC.

L'analyse par spectroscopie FTIR a confirmé la formation du complexe Alg/Chi par réticulation entre les groupements carboxylates  $-\text{COO}^-$  d'alginate de sodium et les groupements amines protonés  $-\text{NH}_3^+$  du chitosane.

L'étude du comportement mécanique des membranes Alg/Chi testées en traction uni-axiale a démontré que l'introduction de l'alginate de sodium a pu améliorer l'élasticité du chitosane et de le rendre ductile.

La caractérisation thermique ATG-DTG, nous a permis de constater que la présence du chitosane permet d'améliorer significativement la stabilité thermique des membranes du mélange Alg/Chi, et la DSC nous a révélé clairement l'existence d'une seule température de transition vitreuse ( $T_g$ ) du mélange Alg/Chi (162°C) et qui est bien sûr intermédiaire entre les températures de transition vitreuse d'alginate (60°) et du chitosane (190°C).

L'étude du gonflement a confirmé que l'alginate de sodium réduit effectivement la tendance d'absorption d'humidité du chitosane, le taux du gonflement du mélange Alg/Chi est 260% , et celui du chitosane est 380%, cependant un fort taux de réticulation réduit le gonflement des membranes du mélange Alg/Chi; le réseau du complexe est plus compact et s'oppose au gonflement. Et nous avons constaté que les membranes Alg/Chi gardent leur forme coplanaire, en revanche celles du chitosane se déforment en spirale au contact de l'eau.

A partir de ces résultats que nous avons obtenus, nous pouvons affirmer que, l'alginate de sodium et le chitosane sont effectivement deux biopolymères parfaitement compatibles et miscibles.

Dans les perspectives certains aspects de caractérisation n'ont pas pu être abordés dans ce travail et complèteraient idéalement les résultats présentés. Plus particulièrement, La microscopie électronique à balayage (MEB) qui permet l'observation directe de la morphologie des membranes, la distribution des phases et éventuellement des domaines remixés. Cette technique nécessite un bon contraste entre les différentes phases du système. L'attaque chimique d'une phase du mélange permet d'améliorer l'observation et donc l'interprétation. Cette technique est très utilisée par de nombreux auteurs pour évaluer le degré de miscibilité des mélanges de polymères.

En fin, il serait intéressant d'en faire des études sur nos membranes Alg/Chi telles que l'adsorption des colorants anioniques et cationiques, la dégradation et la durabilité notamment par l'irradiation UV, et comme biomatériaux dans le domaine médical.

## Références bibliographique

- Akiyama M., Tsuge T., Doi Y. (2003).** Environmental life cycle comparison of polyhydroxyalkanoates produced from renewable carbon resources by bacterial fermentation. *Polym. Degrad. Stab.* 80, p. 183–194.
- Amiali Malek. (1999)** : Caractérisation des films de chitosane par la perméabilité à la vapeur d'eau et aux gaz (CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>) thèse en sciences des aliments, université Laval(Canada)
- Auras R., Harte B., Selke S. (2004).** An overview of polylactides as Packaging Materials. *Macromol. Biosci.* 4, p. 835–864.
- Bashford L.A., R.S. Thomas & F.N. Woodman. (1950).** Manufacture from brown marine algae. *Journal of the Society of Chemical Industry*, 69, 337-343.
- Berth, G., H. Dautzenberg , et M. G. Peter. (1998).** Physico-chemical characterization of chitosans varying in degree of acetylation. *Carbohydrate Polymers*, 36 ,205-218.
- Brugnerotto, J., J. Lizardi, F.M. Goycoolea, and M. Rinaudo. (2001).** An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. *Polym.*, 42, 3569-3580.
- Carturan G., Campostrini R., Tognana L., Boninsegna S., Dal Toso R. & Dal Monte R. (2006).** Gas-phase silicon alkoxide reactivity vs. Na-alginate droplets for conjugation of alginate and sol-gel technologies. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 3,77.
- Chandra, R., et Rustgi, R. (1998).** Biodegradable polymers. *Progress in Polymer Science*, 23(7), 1273-1335.
- Chatelet, C., O.Damour, and A. Domard. (2001).** Influence of the degree of acetylation on some Biological properties of chitosan Films. *Biomater.*, 22, 261-268.
- Chellat, F. (1999).** Biocompatibilité, biodégradation et influence de la stérilisation sur le complexe chitosane-xanthane. Institut de génie biomédical, école polytechnique de Montréal.
- Chen, R.H., J. R. Chang, and J. S. Shyur. (1997).** Effects of ultrasonic conditions and storage in acidic solutions on changes in molecular weight and polydispersity of treated chitosan. *Carbohyd. Res.*, 299, 287-294
- Chen SC., Lu Y. (2004).** Micro and nano-fabrication of biodegradable polymers for drug delivery. *Adv. Drug Delivery Rev.* 56, p. 1621–1633.
- Chiou MS, Li HY. (2003).** Adsorption behaviour of reactive dye in aqueous solution on chemical cross-linked chitosan beads. *Thermosphere* ; 50-1095–105.
- Clarival, A.M. ,Monfort Windels, F. (2003).** Les polymères biodégradables. CRIF 79p.
- Cohn, D., and H. Younes. (1988).** Biodegradable PEO/PLA block copolymers. *J. Biomedical Mat. Res.*, 22, 993 - 1009.
- Desbrières, J. (2002).** Chitine et chitosane. *L'actualité Chimique. Société Française de Chimie*, Novembre-Décembre, pp. 39-44.

- Fang,N., Chan,V., Mao,H.Q. & Leong,K.W. (2001).** Interactions of phospholipid bilayer with chitosan: effect of molecular weight and pH. *Biomacromol.*, 2, 1161-1168.
- Garcia, M.A., Martino, M.N., and Zaritzky, N.E. (2000).** Microstructural characterization of plasticized starch-based films. *Starch/Staerke.*, 52, 118-124.
- Gordon J.M. and Taylor J.S. (1952).** Ideal copolymers and second-order transitions of synthetic rubbers. I. Non-crystalline copolymers. *J. Appl. Chem.*, 2, 493-500.
- Gu, JD. (2003).** Microbiological deterioration and degradation of synthetic polymeric materials: recent research advances. *Int. Biodeter. Biodegr.* 52, p. 69-91.
- Grant, G. T., E. Morris, D. A. Rees, P. J. C. Smith and D. Thom. (1973).** Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: The egg-box model. *FEBS Lett.* 32(1): 195-198.
- Hallary J.L., Monnerie, L. (1986).** Techniques physico-chimiques d'étude des mélanges de polymères. Editions GFP, Strasbourg (France).
- Heux, L., Brugnerotto, J., Desbrieres, J., Versali, M.F. & Rinaudo, M. (2000).** Solid state NMR for determination of degree of acetylation of chitin and chitosan. *Biomacromol.*, 1, 746-751.
- Haug, A. (1964).** Composition and properties of alginates, Reports of the Norwegian Institute of Seaweed Research, 30.
- Haug, A. Haug, B. Larsen, O. Smidsrod. (1967).** Alkaline degradation of alginates. *Acta Chem. Scand.* 21 : 2859-2870.
- Haug, A. and B. Larsen. (1970).** "An extracellular polysaccharide from *Beijerinckia indica*, containing L-galuronic acid residues." *Acta Chem Scand* 24(5): 1855-1856.
- Hernández-Carmona G., M. Aguirre-Vilchis & Y.E. Rodriguez-Montesinos. (1992).** Recirculation of residual acid from the pre-extraction stage in the process of obtaining sodium alginate. *Ciencias Marinas*, 18, 125-137.
- Jaouen, D. (1994).** Chitine, Chitosane et Dérivés. PhD Thèse en pharmacie, Université d'Angers, Angers (France).
- Jarroux, N. (2012).** Les biopolymères : différentes familles, propriétés et applications. *Techniques de l'ingénieur, Traité AM 3580.*
- Johnson, E.L. and Peniston, Q.P. (1982).** Utilization of shellfish waste for chitin and chitosan production. In *Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products*; Martin, R.E., Flick, G.J., Hebard, C.E., Ward, D.R., Eds.; AVI Publishing: Westport, CT. Chapter 19.
- Jorgensen,T. E., M. Sletmoen, K. I. Draget and B. T. Stokke. (2007).** Influence of oligoguluronates on alginate gelation, kinetics, and polymer organization. *Biomacromolecules* 8(8): 2388-2397.
- Kasaai, M. R., J. Arul, S. L. Chin et G. Charlet. (1999).** The use of intense femtosecond laser pulses for the fragmentation of chitosan. *J. Photochem. Photobiol., A: Chem.*, 120, 201-205.

- Khan, T. A., Peh, K. K., and C'ing, H. S. (2000).** Mechanical bioadhesive strength and biological evaluation of chitosan films for wound dressing. *Journal of Pharmaceutical and Pharmaceutical Science*, 3(3) 3003–3371.
- Lang, G., Clausen, T. (1989).** The use of chitosan in cosmetics. In: Skjak-Braek, G., Thorleif Anthosen, T., Standford, P. (Eds.), *Chitin and Chitosan. Sources, Chemistry, Biochemistry. Physical Properties and Applications*. Elsevier Applied Science, London and New York, pp. 139–147.
- Maghami, G. G., and G. A. F. Roberts. (1988).** Evaluation of the viscometric constants for chitosan. *Die Makromolekulare Chemie*, 189 (1), 195-200.
- Muzzarelli, R.A.A. (1977).** *Chitin; Pergamom: Oxford.*
- Muzzarelli, R.A.A. (1996).** Chitosan-based dietary foods. *Carbohydr. Polym.*, 29, 309-316.
- Mjahed, H. (2009).** Caractérisation physico-chimique des films multicouches de polyélectrolytes à base de polysaccharides en vue d'applications dans le domaine des biomatériaux, thèse de l'Université Louis Pasteur, Strasbourg, pp. 22-29.
- Myklestad S. (1968).** Ion-exchange properties of brown algae. I. Determination of rate mechanism for calcium-hydrogen ion exchange for particles from *Laminaria hyperborea* and *Laminaria digitata*. *Journal of Applied Chemistry*, 18, 30-36.
- Nielsen L.E. (1974).** *Mechanical properties of polymers and composites II*. Eds Marcel Dekker, New-York (USA).
- Nisperos Carriedo, M. (1994).** *Edible coatings and films based on polysaccharides* (pp. 305-335). Lancaster: Technomic Publishing Company, Inc.
- No, H.K., S.P. Meyers, and K.S. Lee. (1989).** Isolation and characterization of chitin from crawfish shell waste. *J. Agric. Food Chem.*, 37, 575-579.
- No, H.K. and Meyers, S.P. (1995).** Preparation and characterization of chitin and chitosan. A review. *J. Aquatic Food Prod. Tech.*, 4, 27-52.
- Okada M. (2002).** Chemical syntheses of biodegradable polymers. *Prog. Polym. Sci.* 27, p. 87–133.
- Palluault, V. (2010).** Nouveaux traitements de surface respectueux de l'environnement par des gels polymères réticulables. Thèse de Doctorat en polymères. Université de Bordeaux I.
- Pérez R., R. Kaas, F. Campello, S. Arbault & O. Barbaroux. (1992).** *La culture des algues marine dans le monde*. Editions IFREMER.
- Podczec, F., et Jones, B. (2004).** *Pharmaceutical Capsules*. Second Edition. London : Pharmaceutical Press.
- Ravi, K., and Gupta. (2000).** Chitin and chitosan applications. *M.N.V. React. Function. Polym.*, 46,1-27.
- Ravi Kumar, M.N.V. (2000).** A review of chitin and chitosan applications. *React. Function. Polym.*, 46, 1-27.

- Rutot D., Dubois P. (2004).** Les biopolymères biodégradables : l'enjeu de demain ? *Chim. Nouv.* 86, p. 66–75.
- Sandford, P. (1989).** Chitosan: commercial uses and potential applications. In: Skjak-Braek, G., Anthosen, T., Standford, P. (Eds.), *Chitin and Chitosan. Sources, Chemistry, Biochemistry. Physical Properties and Applications.* Elsevier Applied Science, New York, pp. 51–69.
- Secconi, M.G. (1967).** Procédé de fabrication d'alginate pariant des cystoseires ou algues similaires, et produit industriel obtenu. Brevet de la République Française 1.464.840.
- Seng, J.M. (1988).** Chitine, chitosane et dérivés: de nouvelles perspectives pour l'industrie. *Biofutur*, 9, 40-44.
- Seely, G. R. and R. L. Hart. (1974).** The binding of alkaline earth metal ions to alginate. *Macromolecules* 7(5): 706-710.
- Shahidi, F. and Synowiecki, J. (1991).** Isolation and characterization of nutrients and value-added products from snow crab (*Chionoecetes opilio*) and shrimp (*Pandalus borealis*) processing discards. *J. Agric. Food Chem.*, 39, 1527-1532.
- Shahidi, F., J.K.V. Arachi, and Y.J. Jeon. (1999).** Food applications of chitin and chitosan. *Trends Food Sci. Tech.*, 10, 37-51.
- Shahidi, F. and Abuzaytoun, R. (2005).** Chitin, chitosan, and co-products: chemistry, productions, applications, and health effects. *Adv. Food Nutr. Res.*, 49, 93-135.
- Smidsrod, O. Smidsrod, R.M. Glover, S.G. (1973).** Whittington, The relative extension of alginates having different chemical composition. *Carbohydr. Res.* 27 : 107-118.
- Stequert, A. (2009).** Transfert de matière dans les gels d'alginate, thèse de diplôme d'Etat de docteur en pharmacie, Nancy, pp. 21-30.
- Suyatma, N. E. (2006).** Développement des films biodégradables à base du chitosane : Etudes du Mélange Chitosane/PLA, de la Plastification et de la Compatibilisation, thèse de docteur en chimie des matériaux, université de Reims- Champagne Ardenne.
- Synowiecki, J. and Al-Khateeb, N.A. (2003).** Production, properties, and some new applications of chitin and its derivatives. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 43, 145-171.
- Tolaimate, A., J. Desbrieres, M. Rhazi and A. Alagui. (2003).** Contribution to the preparation of chitosans with controlled physico-chemical properties. *Polym.*, 44, 7939-7952.
- Vandamme, E. J., S. De Baets and A. Steinbüchel. (2002).** "Biopolymers, Volume 6, Polysaccharides II: Polysaccharides from Eukaryotes", Wiley-Vch.
- Vauchel, P. (2007).** Optimisation de procédés innovants pour l'obtention des Phycocolloides, thèse de doctorat de l'université de Nantes, centre IFREMER, Nantes, pp. 32.
- Vert M. (2002).** Polymères de fermentation. Les polyacides lactiques et leurs précurseurs, les acides lactiques. *Actual. Chim.* 11-12, p. 79–82.

**Vink E.T.H., Rabago K.R., Glassner D.A., Gruber P.R. (2003).** Applications of life cycle assessment to NatureWorks polylactide (PLA) production. *Polym. Deg. Stab.*, 80, 403-419.

**Wang, L., R. M. Shelton, P. R. Cooper, M. Lawson, J. T. Triffitt and J. E. Barralet. (2003).** Evaluation of sodium alginate for bone cell tissue engineering. *Biomaterials* 24(20): 3475-3481.

**Yang, B.Y. & Montgomery, R. (2000).** Degree of acetylation of heteropolysaccharides. *Carbohydr. Res.*, 323, 156-162.