

République Algérienne Démocratique Populaire  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة ابن خلدون - تيارت  
Université Ibn Khaldoun – Tiaret



Faculté des Sciences de la Matière  
كلية علوم المادة  
Département de Chimie  
قسم الكيمياء

## Mémoire

Présenté par :

M<sup>elle</sup> LAIDI ZINEB

M<sup>elle</sup> KIAIDA KHEIRA

Pour obtenir le diplôme de

**Master II**

Filière : Chimie

Spécialité: Chimie organique

Sujet :

Synthèse d'un film à base de biopolymère  
renforcé par une charge minérale

Soutenu le : 30/06/2019

Devant le jury:

M <sup>elle</sup> SEHIL	HAFIDA	MCB	Présidente	UNIV .Tiaret
M <sup>elle</sup> BENNABI	LAMIA	MCB	Examinatrice	UNIV .Tiaret
M <sup>elle</sup> HENNI	MERIEM	MCB	Encadreur	UNIV .Tiaret

Année Universitaire : 2018/2019

# Remerciements

*Nous tenons à remercier Dieu qui m'a donné le courage pour réaliser ce travail et le mener jusqu'au bout. Nous n'oublions pas non plus de remercier nos familles pour leur aide, leur soutien moral et leurs encouragements.*

*Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au sein du laboratoire de Ecologie végétale, microbiologie, chimie, et génie physique de l'Université Ibn Khaldoun Tiaret*

*Nous tenons tout d'abord à exprimer nos profonde gratitude et nos plus vifs remerciements à **Melle Henni Meriem** maitre de conférences B à l'université de Tiaret, pour son encadrement efficace, sa présence continuelle, son soutien ses encouragements et ses conseils qui ont contribués à mener à terme ce travail.*

*Nous exprimons nos remerciements à **Melle Sehil Hafida** maitre de conférences B à l'université de Tiaret, pour avoir accepté de présider ce jury.*

*Nous 'exprimons nos profonds remerciements à **Melle Bennabi Lamia**, maitre de conférences B à l'université de Tiaret, pour ses encouragements chaleureux et d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

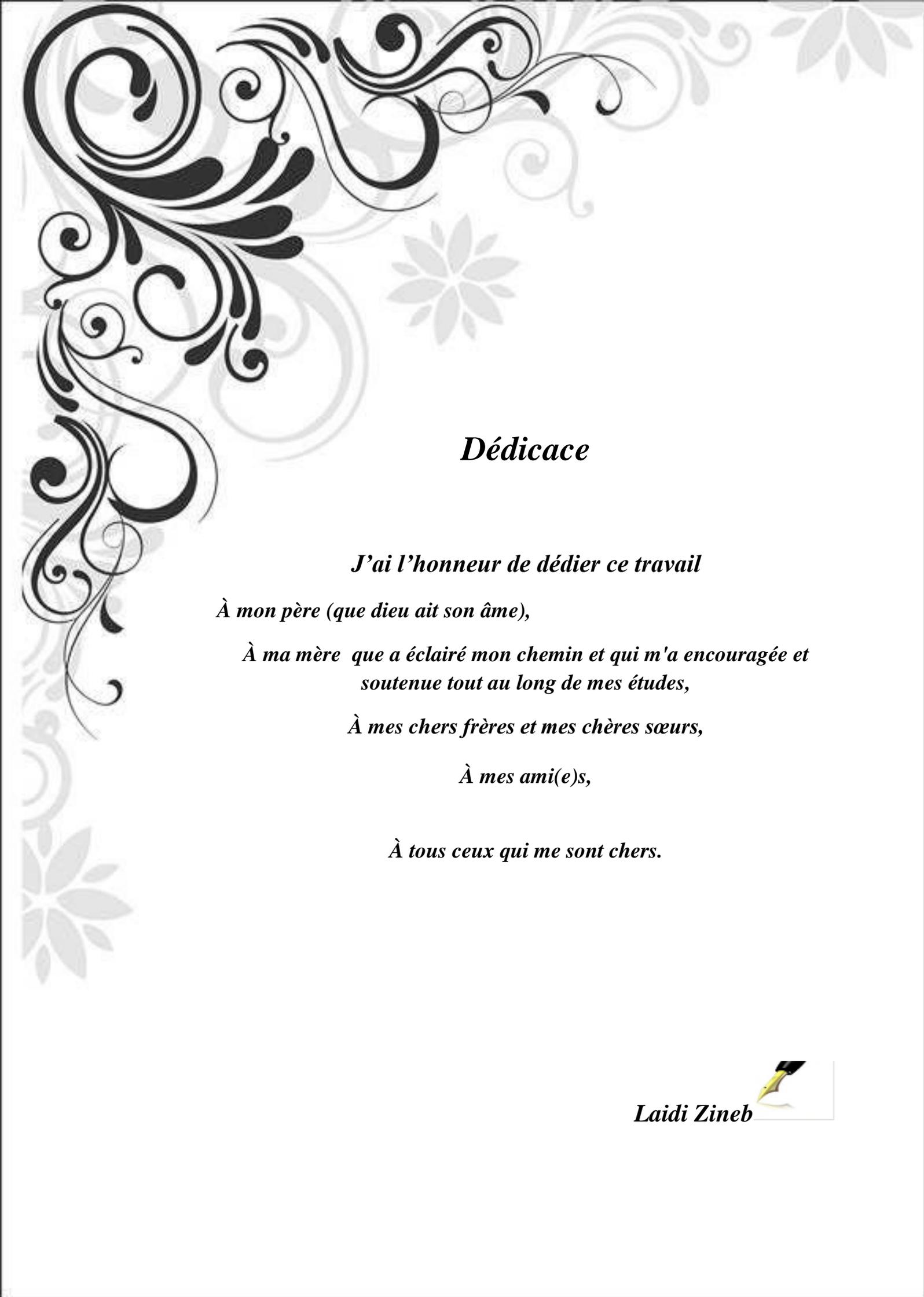
*Nous exprimons nos remerciements à Monsieur **Yesref Djamel**, chef du département de chimie pour son aide précieuse.*

*Nous tenons également à remercier l'ingénieur de laboratoire de microbiologie de l'Institut des sciences vétérinaires, notamment : **Mr Amine** pour leurs aides à réaliser ce travail.*

*Nous tenons à remercier toute l'équipe de laboratoire de graduation de chimie et plus notamment: **Mr A.Larbi** et **Mr Hadidi** ainsi que **Melle Somia**, **Melle Nadia** et **Melle Fatiha** de nous avoir aidé pendant la réalisation de la partie expérimentale.*

*Nous adressons nos remerciements à tous les ingénieurs des laboratoires de Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie notamment **Melle Mebarqa**, **Melle Samira**, **Melle Fatima**, **Melle Mabrouka** et **Melle Kheira** pour leurs aide à réaliser ce travail.*

*Enfinement, nous tenons à exprimer nos remerciements vont à tout ce qui ont contribué de Près ou de loin à la réalisation de ce travail. Ainsi que l'ensemble des enseignants qui ont contribué à notre formation.*



## *Dédicace*

*J'ai l'honneur de dédier ce travail*

*À mon père (que dieu ait son âme),*

*À ma mère que a éclairé mon chemin et qui m'a encouragée et  
soutenue tout au long de mes études,*

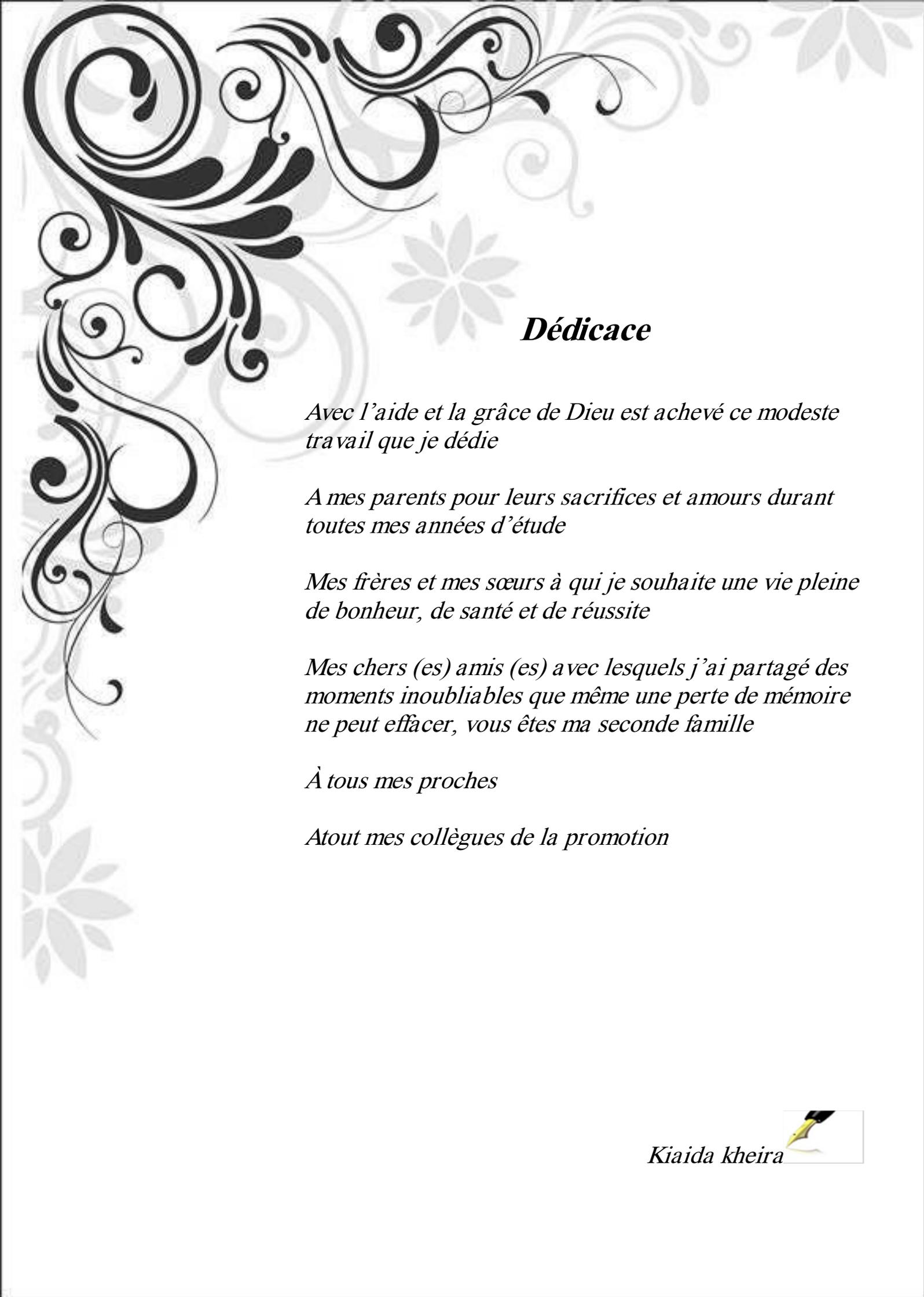
*À mes chers frères et mes chères sœurs,*

*À mes ami(e)s,*

*À tous ceux qui me sont chers.*

*Laidi Zineb*





## *Dédicace*

*Avec l'aide et la grâce de Dieu est achevé ce modeste travail que je dédie*

*A mes parents pour leurs sacrifices et amours durant toutes mes années d'étude*

*Mes frères et mes sœurs à qui je souhaite une vie pleine de bonheur, de santé et de réussite*

*Mes chers (es) amis (es) avec lesquels j'ai partagé des moments inoubliables que même une perte de mémoire ne peut effacer, vous êtes ma seconde famille*

*À tous mes proches*

*Atout mes collègues de la promotion*

*Kiaida kheira*



## Liste des abréviations

<b>ADEME</b>	<i>Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie)</i>
<b>B.Cereus</b>	<i>Bacillus cereus</i>
<b>CFU</b>	<i>Unités formant colonies</i>
<b>DO</b>	<i>La densité optique</i>
<b>DRX</b>	<i>La diffraction des rayons X</i>
<b>Eg</b>	<i>La bande interdite</i>
<b>E coli</b>	<i>Escherichia coli</i>
<b>FM1</b>	<i>Film chargé avec 0,05g MgO</i>
<b>FM2</b>	<i>Film chargé avec 0,1g MgO</i>
<b>FM3</b>	<i>Film chargé avec 0,2g MgO</i>
<b>FZ1</b>	<i>Film chargé avec 0,02g ZnO</i>
<b>FZ2</b>	<i>Film chargé avec 0,05g ZnO</i>
<b>FZ3</b>	<i>Film chargé avec 0,1g ZnO</i>
<b>MMN</b>	<i>Milieu Minéral Nutritif</i>
<b>IR</b>	<i>Spectroscopie infrarouge</i>
<b>PBAT</b>	<i>Poly (butylène adipate)</i>
<b>PBSA</b>	<i>Poly (butylène succinate-co-adipate)</i>
<b>PCL</b>	<i>Poly (caprolactone)</i>
<b>PEA</b>	<i>Poly (ester amide)</i>
<b>PHA</b>	<i>Polyhydroxylalcanoate</i>
<b>PHB</b>	<i>Polyhydroxybutyrate</i>
<b>PHBV</b>	<i>Polyhydroxybutyrate-co-hydroxyvalérate</i>
<b>PHV</b>	<i>Polyhydroxyvalérate</i>
<b>PLA</b>	<i>Poly acide lactique</i>
<b>S. aureus</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<b>Td</b>	<i>La température de décomposition thermique</i>
<b>T<sub>f</sub></b>	<i>La température de fusion</i>
<b>T<sub>g</sub></b>	<i>La température de transition vitreuse</i>
<b>UV</b>	<i>Ultra-violet</i>

---

# Liste des figures

## Partie bibliographie

### Chapitre I Synthèse bibliographique

<i>Figure I.1 : Comportement des protéines-polysaccharides.....</i>	8
<i>Figure I.2 : Structure de l'amylose .....</i>	10
<i>Figure I.3 : Structure de l'amylopectine.....</i>	10
<i>Figure I.4 : Classification des chaines et organisation en grappes de l'amylopectine.</i>	11
<i>Figure I.5 : Schéma du mécanisme de plastification a l'échelle moléculaire.....</i>	13
<i>Figure I.6 : Influence d'un traitement hygrothermique en excès d'eau sur l'amidon...</i>	14
<i>Figure I.7 : Voies possibles de la conversion du collagène en gélatine.....</i>	19
<i>Figure I.8: Structure cristallographique d'oxyde de magnésium .....</i>	27
<i>Figure I.9 : Oxyde de Zinc massif sous forme naturelle.....</i>	29
<i>Figure I.10: Structure cristalline (wurtzite) de l'oxyde de zinc .....</i>	30
<i>Figure I.11: Les différents mécanismes responsables de l'activité antibactérienne des nanoparticules de ZnO .....</i>	32

## Partie expérimentale

### Chapitre I : Synthèse des films non chargé

<i>Figure I.1 : Elaboration des films Gélatine/Amidon.....</i>	33
<i>Figure I.2 : Spectre infrarouge de film F1.....</i>	34
<i>Figure I.3 : Spectre infrarouge de film F<sub>2</sub>.....</i>	35
<i>Figure I.4 : Spectre infrarouge de film F3.....</i>	35
<i>Figure I.5 : Repiquages des souches bactériennes.....</i>	37
<i>Figure I.6 : Préparation des cultures bactériennes.....</i>	38
<i>Figure I.7 : L'ensemencement de l'inoculum sur le milieu de culture.....</i>	39
<i>Figure I.8 : Croissance d'Escherichia coli sur tous les films.....</i>	39
<i>Figure I.9 : Croissance de staphylococcus sur tous les films.....</i>	40
<i>Figure I.10 : Croissance de Bacillus cereus sur tous les films.....</i>	40
<i>Figure I.11 : Croissance de streptococcus sur tous les films.....</i>	41
<i>Figure I.12 : Croissance des suspensions des boues activées sur tous les films.....</i>	41
<i>Figure I.13 : L'enfouissement des films d'amidon dans le sable et dans le sol.....</i>	42
<i>Figure I.14: Le pourcentage de biodégradation des films enfouis dans le sol.....</i>	43

<b>Figure I.15:</b> Préparation de milieu liquide.....	44
<b>Figure I.16:</b> Cinétique de la biodégradation à des conditions statiques.....	45
<b>Figure I.17 :</b> Cinétique de la biodégradation des films par <i>Ecoli</i> .....	46
<b>Figure I.18 :</b> Cinétique de la biodégradation des films par <i>S. aureus</i> .....	46
<b>Figure I.19 :</b> Dispositif expérimentale de la biodégradation en milieu liquide.....	47
<b>Figure I.20 :</b> Cinétique de la biodégradation des films par la suspension de la boue activée .....	48
<b>Figure I.21 :</b> Préparation de l'inoculum.....	49
<b>Figure I.22 :</b> Manipulation sur la biodégradation <i>in vitro</i> .....	50
<b>Figure I.23 :</b> Taux de dégradation des films avec la suspension de boue activée.....	50
<b>Figure I.24 :</b> Taux de dégradation des films avec la suspension de sol.....	51

### Chapitre II : Synthèse des films chargés

<b>Figure II.1 :</b> Synthèse de l'oxyde de magnésium.....	52
<b>Figure II.2 :</b> Synthèse de l'oxyde de zinc .....	54
<b>Figure II.3 :</b> Spectre infrarouge d'oxyde de magnésium.....	55
<b>Figure II.4 :</b> Spectre infrarouge d'oxyde de zinc.....	56
<b>Figure II.5 :</b> Représentation schématique de la diffraction des rayons X.....	56
<b>Figure II.6 :</b> Diagramme de diffraction des rayons X d'oxyde de MgO.....	57
<b>Figure II.7 :</b> Diagramme de diffraction des rayons X d'oxyde de zinc.....	58
<b>Figure II.8 :</b> Elaboration des films gélatine amidon chargé en MgO.....	59
<b>Figure II.9 :</b> Synthèse des films gélatine/ZnO.....	60
<b>Figure II.10 :</b> Activité antibactérienne des films MgO vis-à-vis <i>S.aureus</i> .....	61
<b>Figure II.11 :</b> Activité antibactérienne des films MgO vis-à-vis <i>streptococcus</i> .....	61
<b>Figure II.12 :</b> Zones d'inhibition des films MgO vis-à-vis <i>Bacillus. Cereus</i> .....	62
<b>Figure II.14 :</b> Activité antibactérienne des films ZnO vis-à-vis <i>Bacillus. Cereus</i> .....	62
<b>Figure II.15 :</b> Activité antibactérienne des films ZnO vis-à-vis <i>staphylococcus</i> .....	63
<b>Figure II.16 :</b> Comparaison des zones d'inhibition des films chargés par MgO.....	64
<b>Figure II.18:</b> Cinétique antibactérienne des films chargés avec <i>S. aureus</i> .....	66

# Liste des tableaux

## Partie théorique

### Chapitre I Synthèse bibliographique

<i>Tableau I.1 : Propriétés spécifiques des biopolymères et leur application attendues.....</i>	7
<i>Tableau I.2 : Teneur en amylose et amylopectine des amidons de différentes sources.....</i>	9
<i>Tableau I.3: Différentes fractions en acides aminés entrant dans la composition de la gélatine .....</i>	18
<i>Tableau I.4: Propriétés générales de l'oxyde de magnésium.....</i>	28

## Partie expérimentale

### Chapitre I : Synthèse des films non chargés

<i>Tableau I.1 : La composition des différents films composites préparés.....</i>	34
<i>Tableau I.2 : Principales bandes d'absorption infrarouge des films.....</i>	36
<i>Tableau I.3 : Pourcentage de perte de masse des films F1 enfouis dans le sol.....</i>	43
<i>Tableau I.4 : Pourcentage de perte de masse des films F2 enfouis dans le sol.....</i>	43
<i>Tableau I.5: Pourcentage de perte de masse des films F3 enfouis dans le sol.....</i>	43
<i>Tableau I.6 : Résultat cinétique de la biodégradation des films par Ecoli .....</i>	45
<i>Tableau I.7 : Résultat cinétique de la biodégradation des films par S. aureus.....</i>	46
<i>Tableau I.8 : Résultat cinétique de la biodégradation en condition d'agitation .....</i>	47

### Chapitre II : Synthèse des films chargés

<i>Tableau II.1: Diamètre de la zone d'inhibition des films chargés par MgO .....</i>	63
<i>Tableau II.2: Diamètre de la zone d'inhibition des films chargés par ZnO.....</i>	63
<i>Tableau II.3: Résultat cinétique de l'activité antibactérienne des films chargés parMgO</i>	65

---

# Sommaire

<i>Introduction générale</i> .....	1
<b>Partie théorique</b>	
<b>Chapitre I synthèse bibliographique</b>	
<i>1. Les biopolymères</i> .....	2
<i>1.1 Introduction</i> .....	2
<i>1.2 Définitions</i> .....	2
<i>1.3 Différent familles de biopolymère</i> .....	2
<i>1.3.1 Biopolymères issus de ressources renouvelables</i> .....	3
<i>1.3.1.1 Biopolymères d'origine bactérienne</i> .....	3
<i>1.3.1.2 Biopolymères synthétiques non issus de la pétrochimie</i> .....	3
<i>1.3.1.3 Biopolymères issus de la biomasse</i> .....	3
<i>1.3.2 Biopolymères issus de la pétrochimie</i> .....	4
<i>1.4. Les propriétés des biopolymères</i> .....	4
<i>1.4.1 La biodégradabilité</i> .....	4
<i>1.4.2 Perméabilité à la vapeur d'eau</i> .....	5
<i>1.4.3 La biocompatibilité et biorésorbabilité</i> .....	5
<i>1.4.4. Propriétés chimiques</i> .....	5
<i>1.5 Domaines d'application</i> .....	6
<i>1.5.1 Application médicales</i> .....	6
<i>1.5.2 Application agricoles</i> .....	6
<i>1.5.3 Emballage</i> .....	7
<i>1.5.4 Comportement des mélanges de biopolymères</i> .....	8
<i>2. Amidon</i> .....	8
<i>2.1 Amidon natif</i> .....	8
<i>2.2 Structure de l'amidon</i> .....	9
<i>2.2.1 Amylose</i> .....	10
<i>2.2.2 Amylopectine</i> .....	10
<i>2.3 Propriété physico-chimiques de l'amidon</i> .....	11
<i>2.3.1 Propriétés physiques</i> .....	11
<i>2.3.2 Propriétés chimique</i> .....	12
<i>2.3.3 Propriétés hydrothermiques</i> .....	12

---

2.4 Transformation de l'amidon.....	12
2.4.1 Plastification de l'amidon.....	13
2.4.2 Rôle et influence de plastifiant.....	13
2.4.3 Phénomène de sorption.....	14
2.4.4 Processus de gélatinisation.....	14
2.5 Procédés d'élaboration des matériaux à base d'amidon.....	15
2.5.1 Le casting.....	15
2.5.2 L'extrusion.....	15
3. Gélatine.....	15
3.1 Historique.....	15
3.2. Définition.....	15
3.3 Procédés de fabrication de la gélatine.....	16
3.3.1 Le procédé acide.....	16
3.3.2 Le procédé alcalin.....	16
3.4 Structure et composition de la gélatine.....	17
3.5 Propriétés de la gélatine.....	19
3.5.1 La gélatine en solution.....	20
3.6 Domaine d'application de la gélatine.....	21
3.6.1 Industries alimentaire.....	21
3.6.2 Industrie pharmaceutique.....	21
3.6.3 L'industrie photographique.....	21
4. Films à base de biopolymères naturels.....	22
4.1 Films à base de polysaccharides.....	22
4.2 Films à base de protéines.....	23
4.3 Films à base de lipides.....	23
4.4 Films composites.....	24
4.5 Additifs.....	24
4.6 Mise en forme des films.....	25
4.6.1 Procédés par voie sèche.....	25
4.6.2 Procédés par voie humide.....	26
5. Les agents antibactériens inorganiques.....	26
5.1 L'oxyde de magnésium.....	27
5.1.1 Structure cristallographique et électronique du MgO.....	27

---

5.1.2 Propriétés physico-chimiques.....	28
5.1.3 Propriétés optiques du MgO.....	28
5.1.4 Domaines d'applications.....	29
5.2 L'oxyde de Zinc (ZnO).....	29
5.2.1 Propriétés structurales.....	30
5.2.2 Propriétés chimiques et catalytiques.....	30
5.2.2 Domaines d'applications.....	30
5.2.2.1 Application du ZnO dans les emballages alimentaires.....	31
5.2.3 Propriétés antibactériennes de l'oxyde de zinc.....	31
5.2.3.1 Mécanisme d'action.....	32

**Partie expérimentale**

**Chapitre I : Synthèse des films non chargés**

I.1 Méthodologie expérimentale.....	33
I.2 Préparation des films non chargés.....	33
I.2.1 Caractérisation par spectroscopie d'absorption infrarouge.....	34
I.2.1.1 Interprétation des résultats.....	36
I.3 Etude de la Biodégradation en milieu solide.....	36
I.3.1 Matériel biologique.....	36
I.3.1.1 Les souches bactériennes.....	36
I.3.1.2 Milieux de culture.....	37
I.3.1.3 Repiquage des souches bactériennes.....	37
I.3.1.4 Préparation de la suspension bactérienne.....	38
I.3.2 Les essais de croissances microbiennes.....	38
I.3.2.1 Résultats et discussions.....	39
I.3.3 Test d'enfouissement dans le sol.....	42
I.3.3.1 Protocole.....	42
I.3.3.2 Résultats et discussions.....	44
I.4 Etude de la Biodégradation en milieu liquide.....	44
I.4.1 Préparation de milieu culture.....	44
I.4.3 Etude cinétique de la biodégradation à des conditions statiques.....	45
I.4.3.1 Interprétations des résultats.....	47
I.4.4 Etude cinétique de la biodégradation à des conditions d'agitation.....	47
I.4.4.1 Interprétation des résultats.....	48

---

<i>I.4.5 Evaluation de la biodégradation par mesure de la perte de poids</i> .....	48
<i>I.4.5.1 Culture bactérienne en milieu liquide</i> .....	48
<i>I.4.5.2 Préparation de l'inoculum à partir des boues activées</i> .....	49
<i>I.4.5.3 Préparation de l'inoculum à partir d'un sol agricole</i> .....	49
<i>I.4.5.4 Le protocole</i> .....	49
<i>I.4.5.5 Résultats et discussions</i> .....	51

## **Chapitre II : Synthèse des films chargés**

<i>II.1 Méthodologie expérimentale</i> .....	52
<i>II.2 Synthèse des oxydes</i> .....	52
<i>II.2.1 Synthèse d'oxyde de magnésium</i> .....	52
<i>II.2.2. Synthèse d'oxyde de zinc</i> .....	52
<i>II.2.3 Caractérisation des oxydes</i> .....	54
<i>II.2.3.1 Spectroscopie infrarouge</i> .....	54
<i>II.2.3.1.1 Spectre IR d'oxyde de magnésium</i> .....	54
<i>II.2.3.1.2 Spectre IR d'oxyde de zinc</i> .....	55
<i>II.2.3.2 Analyse par diffraction des rayons X (DRX)</i> .....	55
<i>II.2.3.2.1 Le diffractogramme d'oxyde de magnésium</i> .....	56
<i>II.2.3.2.2 Le diffractogramme d'oxyde de zinc</i> .....	57
<i>II.3 Synthèse des films gélatine/amidon chargés</i> .....	58
<i>II.3.1 Synthèse des films chargés par MgO</i> .....	58
<i>II.3.2 Synthèse des films chargés par ZnO</i> .....	58
<i>II.4 Activité antibactérienne des films chargés</i> .....	59
<i>II.4.1 Mode opératoire</i> .....	59
<i>II.4.2 Interprétations des résultats</i> .....	62
<i>II.4.3 Cinétique de l'activité antibactérienne des films chargés par MgO</i> .....	65
<i>II.4.3.1 Mode opératoire</i> .....	65
<i>II.4.3.2 Interprétations des résultats</i> .....	66
<i>Conclusion générale et perspectives</i> .....	67

---

# Introduction générale

## **Introduction Générale**

L'amidon est largement utilisé sous forme de films biodégradables dans des applications variées car il s'agit d'un matériau renouvelable, abondant et peu coûteux [1], les films produits à partir de polysaccharides ou de protéines possèdent d'excellentes propriétés mécaniques, optiques et sensorielles, mais sont sensibles à l'humidité et présentent un coefficient de perméabilité à la vapeur d'eau élevé. Néanmoins, ce problème peut être atténué en ajoutant des plastifiants (polyols, tels que le glycérol, le sorbitol et le polyéthylène glycol) ou des renforcements. Une autre matière première comestible et renouvelable utilisée dans la production de films biodégradables est la gélatine. La gélatine est une protéine d'origine animale obtenue à partir de collagène par des hydrolysats acides ou alcalins largement utilisés dans les industries alimentaire et pharmaceutique [2].

Actuellement, de nombreux chercheurs se sont concentrés sur emballage actif avec des matériaux inorganiques tels que ZnO, TiO<sub>2</sub>, MgO et CaO au lieu de matières organiques comme les huiles essentielles ou les bactériocines ont été largement étudié pour leurs antimicrobiennes propriétés et testé pour leur application potentielle dans des matrices polymères comme emballage antimicrobien. L'oxyde métallique peut être utilisé efficacement dans emballage en raison de la grande stabilité dans les processus en conditions difficiles et de son absence d'effet sur la santé animaux et humains [3,4].

Notre travail visant à développer un film antibactérien a base des biopolymères (gélatine/amidon) renforcé par divers taux massique des oxydes ZnO et MgO.

Le présent manuscrit comprend deux parties :

➤ Partie bibliographique de ce mémoire est consacrée à une synthèse bibliographique sur Les biopolymères, leur domaines d'application, généralité sur l'amidon, des notions sur la gélatine, les films à base de biopolymères naturels, les agents antibactériens inorganiques et les oxydes métalliques.

➤ La partie expérimentale dans la quelle nous abordons les méthodes utilisée pour préparer les films gélatine/amidon, suivi par une évaluation de la biodégradation des films, cette partie a été complétée par les testes d'activité antibactérienne des films chargés par les oxydes dans le milieu solide ainsi un suivi cinétique de l'activité de ces film dans le milieu liquide, a la fin une conclusion générale.

# Partie théorique

# chapitre I

## Synthèse bibliographique

## **1. Les biopolymères**

### **1.1 Introduction**

Ces dernières années, la fabrication de plastiques à partir de ressources renouvelables s'est avérée être un nouvel enjeu économique. Celui-ci est lié à la prise de conscience de l'impact des matériaux plastiques qui connaissent un réel essor mais dont le caractère polluant dû à un mauvais recyclage présente un risque pour notre planète. La chimie des polymères 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 leur caractère biodégradable. Leurs utilisations en substitution ou même en mélange à d'autres polymères synthétisés à partir d'hydrocarbures offrent donc des applications intéressantes. Les biopolymères ont de plus en plus d'applications industrielles dues à une tendance dans l'industrie à substituer les polymères dérivés du pétrole dont la réserve n'est pas inépuisable par des composés biodégradables [1].

### **1.2 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 [2].

### **1.3 Différentes familles de biopolymères**

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

#### **1.3.1 Biopolymères issus de ressources renouvelables**

Ces biopolymères sont une réponse élégante et innovante pour remplacer les produits dérivés du pétrole et s'adaptent à une démarche de développement durable réel. Trois grands groupes composent ce type de biopolymères : les biopolymères d'origine bactérienne, les

biopolymères synthétiques non issus de la pétrochimie et les biopolymères issus de la biomasse.

### **1.3.1.1 Biopolymères d'origine bactérienne**

Ils sont issus de la fermentation microbienne qui consiste en la fabrication « *in situ* » de polymères qui s'accumulent dans le cytoplasme de certaines bactéries placées dans des conditions de fermentation, les matières fermentescibles étant principalement des sucres et l'amidon. Parmi ces biopolymères, on a le polyhydroxylalcanoate (PHA) qui est le plus couramment étudié, le polyhydroxybutyrate (PHB), le polyhydroxyvalérate (PHV) ou encore le polyhydroxybutyrate-co-hydroxyvalérate (PHBV). Les polyhydroxyalkanoates (PHA) sont produits par *Alcaligenes eutrophus* ou *Pseudomonas oleovorans*. Ces bactéries produisent le monomère en état de stress. Dans la cellule, l'accumulation de PHA apparaît sous forme d'inclusions ou de granules dans le cytoplasme. Les polymères à base de PHA ont d'excellentes propriétés filmogènes. Ils sont non hydrosolubles et sont facilement industrialisables du fait d'un procédé de fabrication similaire au polyéthylène ou polypropylène. Actuellement, la seule limite à leur utilisation est leur coût de production à cause de l'étape de purification après réaction dans le fermenteur. Le caractère hydrophobe des films de PHA, comparés aux films polysidiques ou protéiques, donne de bonnes propriétés barrière à l'eau.

### **1.3.1.2 Biopolymères synthétiques non issus de la pétrochimie**

Encore appelés polymères synthétiques ou chimio-synthétiques, ils sont obtenus par voie fermentaire, par polymérisation de monomères issus de produits agricoles. Le plus connu est le poly acide lactique (PLA) qui est obtenu par polymérisation des molécules d'acide lactique, elles mêmes obtenues par la fermentation bactérienne des ressources renouvelables (l'amidon par exemple).

### **1.3.1.3 Biopolymères issus de la biomasse**

Ce sont des matériaux extraits de la biomasse (végétaux, animaux et microorganismes). Les polysaccharides tels que l'amidon (manioc, maïs, pomme de terre, ...), la cellulose, la lignine, le chitosan (chitine des crustacées) en constituent la famille la plus importante. Une autre famille est constituée de protéines et de lipides issus des animaux (caséine, collagène, gélatine), et de plantes (colza, tournesol, soja, gluten, zéine).

### **1.3.2 Biopolymères issus de la pétrochimie**

Ce sont des polymères dont les monomères sont issus de ressources fossiles. Dans cette catégorie, on a des matériaux biofragmentables, des matériaux fragmentables et des matériaux biodégradables. Les matériaux biofragmentables sont obtenus à partir de l'association de polymères traditionnels d'origine pétrochimique tels que le polyéthylène et d'un composé naturel biodégradable qui peut être l'amidon ou la cellulose. Des pro-dégradants (catalyseurs) peuvent être ajoutés pour provoquer la rupture chimique des chaînes, permettant aux microorganismes de consommer l'amidon en laissant un polymère biofragmenté. Les matériaux fragmentables sont une nouvelle catégorie de polymères dits oxodégradables. Il s'agit d'un polyéthylène contenant un agent oxydant, tel que le dithio isocyanate de fer, de nickel, de manganèse ou le stéarate de nickel qui favorise la dégradation. Les matériaux biodégradables sont obtenus à partir de polymères de synthèse biodégradables tels que la polycaprolactone (PCL), le poly (ester amide) (PEA), le poly (butylène succinate-co-adipate) (PBSA), le poly (butylène adipate-co-terephthalate) (PBAT). La plupart de ces matériaux répondent aux normes sur la biodégradabilité et certains ont obtenu le label « biodégradable » [3].

## **1.4 Les propriétés des biopolymères**

A cause 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...).

### **1.4.1 La biodégradabilité**

C'est la propriété la plus importante des biopolymères pour l'industrie plastique. Selon de nombreux auteurs, la biodégradabilité se traduit par une dégradation du matériau par des microorganismes comme des bactéries, les champignons et les algues [4-6]. En d'autres termes, c'est une dégradation biotique qui met en jeu l'action des microorganismes par exemple par voie enzymatique, conduisant à une décomposition au niveau moléculaire et chimique. Il en résulte alors la formation de  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  en présence d'oxygène (ou la formation de  $\text{CH}_4$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  en anaérobie) et une nouvelle biomasse (humus).

La biodégradabilité de la plupart des biopolymères est due à la présence de liaisons facilement clivables comme les liaisons esters ou amides, conduisant à la formation de molécules simples et de fragments de plus petites tailles, assimilables par les microorganismes pour leur biosynthèse [7].

#### ***1.4.2. 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 [8] ; 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 [9].

#### ***1.4.3 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 remplacées par des polymères d'origine naturelle [10,11].

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 [12-14]. En pharmaceutique, les médicaments à libération contrôlée sont des exemples d'application où la biorésorbabilité des polymères joue un rôle important.

#### **1.4.4 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 [15-17].

La présence de certaines instaurations et des groupements hydroxyles sur les chaînes alkyles des triglycérides permet leur fonctionnalisation et conduit à la formation de polyuréthanes, polyamides ou polyesters [18,16].

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 [19,20].

#### **1.5 Domaines d'application**

Les applications des biopolymères reposent sur leur principale propriété qui consiste en leur caractère biodégradable, en plus ne sont pas polluants, ils peuvent même être compostés et donc servir à favoriser la croissance d'autres végétaux. Le plus souvent, bon nombre de ces biopolymères sont utilisés en tant que biomatériaux dans le domaine médical, en agriculture, en sports et aussi dans l'emballage alimentaire. Ces biopolymères sont aussi utilisés comme mousses et chips d'emballage, vêtements textiles jetables ou dans le traitement des eaux polluées dans le cas de la chitine et du chitosan [1]. Mais les trois grands domaines d'application des biopolymères émergent sont :

- Le domaine médical;
- Le domaine agricole;
- L'emballage.

##### **1.5.1 Applications médicales**

Les applications médicales des biopolymères ont été développées comme:

Les biomatériaux résultants trouvent leurs applications:

- pour remplacer certains tissus malades ou non fonctionnels;
- pour assurer la réparation de tissus;

Pour remplacer tout ou une partie de la fonction d'un [1].

##### **1.5.2 Applications agricoles**

Depuis l'introduction de films plastiques en 1930-1940 comme films agricoles (les serres agricoles), l'utilisation de polymères en agriculture n'a cessé d'augmenter. Les différentes applications sont:

- ✓ la libération contrôlée de pesticides et de nutriments;

- ✓ le conditionnement de sols;
- ✓ la protection de graines;
- ✓ la protection de plants.

Cependant, les plastiques dégradables présentent un intérêt pour le compost.

- Films de paillage agricoles
- Libération contrôlée de produits chimiques pour l'agriculture

Godets pour plants [1].

### 1.5.3 Emballage

Les propriétés physiques requises d'un emballage dépendent aussi bien de ce qui est emballé que de ses conditions de stockage. Les matériaux d'origine biologique sont des matériaux dérivés de ressources renouvelables et sont utilisés pour des applications dans le domaine alimentaire,

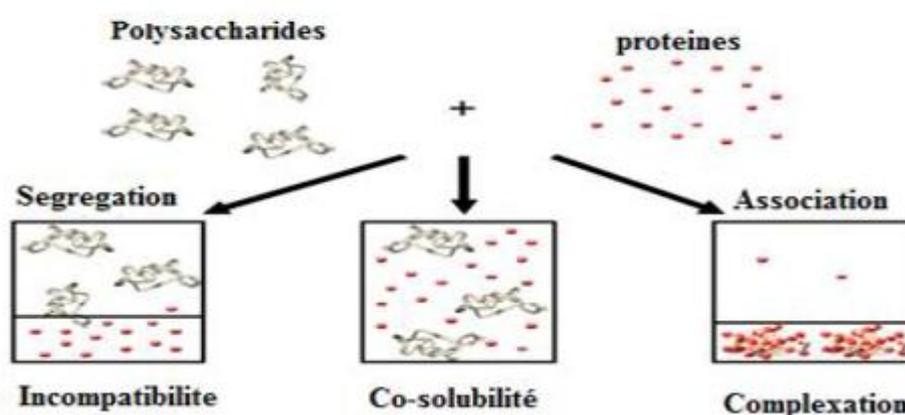
- Emballage alimentaire
- Emballages industriels [1].

Tableau I.1 : Propriétés spécifiques des biopolymères et leur application attendues [21]

Biopolymères	Propriétés particulières	Applications ciblées
Polymères à base d'amidon	Antistatiques, anti-condensations, toucher naturel	Emballages et sacs
Polymères à base de cellulose	Transparences, antistatiques	Emballages
Polymères à base de protéine	Comestibles, grandes diversités chimiques des acides aminés, perméabilité sélective aux gaz	Galénique, emballages alimentaire
Polymères à base d'huile	Siccativités	Peinture, vernis
Polymères de synthèse à base d'acide lactique	Anti-condensations, brillances, anti-bactériens	Emballages, textiles
Polyesters bactériens, (Poly hydroxyalcanoates)	Propriétés piézoélectriques, anti-oxydants, insolubilité dans l'eau	Médical, matériau ostéosynthétique, emballage rigide
Caoutchouc naturel	Élastomère	Vulcanisation

### 1.5.4 Comportement des mélanges de biopolymères

Les mélanges de biopolymères en solution aqueuse présentent soit une instabilité thermodynamique se traduisant macroscopiquement par une séparation de phase, soit, dans des cas plus rares, par une miscibilité des biopolymères dans des solutions diluées (interactions biopolymère-biopolymère égale à celles biopolymère-solvant et solvant-solvant) [22-24]. La compatibilité ou l'incompatibilité entre les biopolymères proviennent de la faible entropie de mélange des composés macromoléculaires, qui ne peut compenser des valeurs même très faiblement positives de l'enthalpie de mélange, défavorables à la stabilité de ce dernier [25].



**Figure I.1** : Comportement des protéines-polysaccharides

Lorsque la concentration des biopolymères augmente et dépasse une certaine valeur critique, la co-solubilité devient limitée entre les deux biopolymères et conduit à une séparation de phase [23,24]. La séparation de phase peut être soit de type ségrégatif soit de type associatif (Figure I.1). L'interaction protéines-polysaccharides peut changer de répulsive à attractive et vice versa, suivant les conditions du solvant (pH, force ionique...), de concentrations ou de température [26,27].

## 2. Amidon

### 2.1 Amidon natif

L'amidon est un polysaccharide d'origine végétale qui constitue la principale réserve glucidique des plantes supérieures. Il représente une fraction pondérale importante dans un grand nombre de matière première agricole telle que les céréales (30 à 70 %), les tubercules (60 à 90 %) et les légumineuses (25 à 50 %). L'amidon est la principale source d'énergie dans l'alimentation animale et humaine. La moitié de la production industrielle mondiale de l'amidon est destinée à l'alimentation humaine [28].

L'amidon natif se concentre préférentiellement :

Bien que l'amidon soit présent dans tous les organismes végétaux supérieurs, il n'y a que quelques plantes qui soient vraiment cultivées pour la production de ce composé à l'échelle industrielle. Le maïs, la pomme de terre et le blé sont les principales plantes utilisées pour la production des 35 millions de tonnes d'amidon natif consommés mondialement [29].

L'amidon trouve des applications dans divers secteurs industriels non alimentaires, notamment dans l'industrie du papier, l'industrie pharmaceutique, cosmétique et textile [30].

## 2.2 Structure de l'amidon

L'amidon est un homopolymère du D-glucose. Il est formé de deux polymères de structures primaires différentes : l'amylose et l'amylopectine. L'amylose est une molécule quasi linéaire tandis que l'amylopectine est ramifiée. Il faut noter que l'amidon contient également des composants mineurs (lipides, protéines et minéraux) dont les teneurs varient avec l'origine botanique et la technologie d'extraction. La teneur en amylose varie également avec l'origine botanique de l'amidon entre 13 % et 35 %. L'amidon se présente sous forme de granules de taille variant de 1 à 100  $\mu\text{m}$  qui ont une structure semicristalline qui résulte de l'organisation spatiale des macromolécules d'amylopectine et d'amylose [28]. La teneur en chacun des constituants est différente suivant l'origine de l'amidon (Tableau I.2).

**Tableau I.2 :** Teneur en amylose et amylopectine des amidons de différentes sources [31].

Source botanique	Amylose (%)	Amylopectine (%)
Mais	28	72
Pomme de terre	21	79
Blé	28	72
Mais cireux	0	100
Amylomais	50-80	50-20
Riz	17	83
Pois	35	65
Manioc	17	83

### 2.2.1 Amylose

L'amylose est un polymère linéaire constitué d'unités D-glucose liées par les liaisons de type  $\alpha(1,4)$  (figure I.2). Pour un amidon donne, l'amylose se compose de chaînes présentant des degrés de polymérisation compris entre 500 et 6000 unités de glucose. La masse molaire de l'amylose varie de  $10^5$  à  $10^6$  g/mol. Les molécules d'amylose peuvent être faiblement ramifiées et ces ramifications sont d'autant plus nombreuses que la masse molaire est grande.

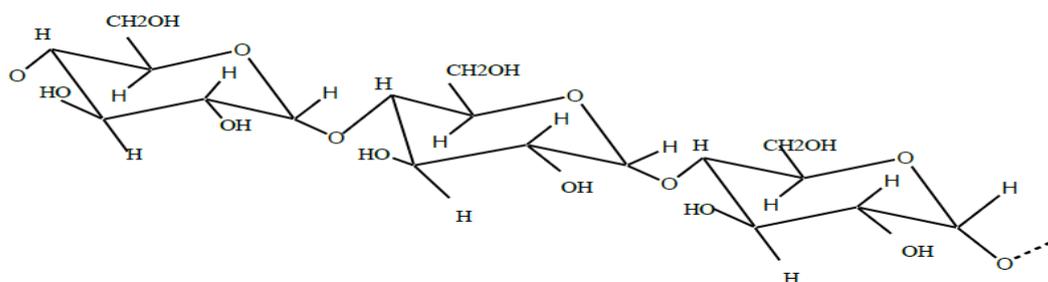


Figure I.2 : Structure de l'amylose [28].

### 2.2.2 Amylopectine

L'amylopectine est un polymère hautement ramifié constitué de centaines de chaînes d'unité de glucose, reliées principalement par des liaisons  $\alpha(1,4)$  et par 5 à 6 % de liaisons  $\alpha(1,6)$ , responsables des ramifications (figure I.3). Il est le constituant principal de la plupart des amidons (70 à 100 %).

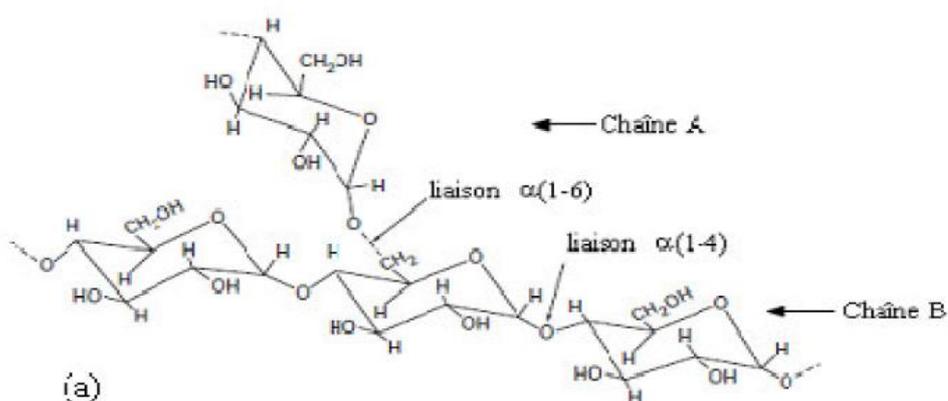
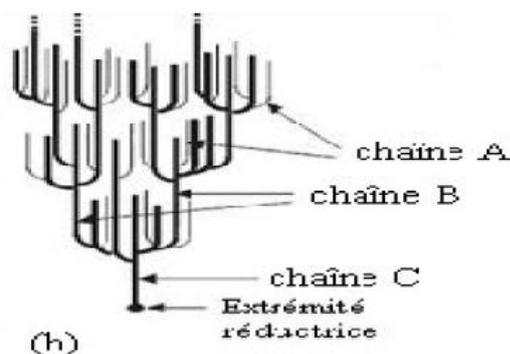


Figure I.3 : Structure de l'amylopectine

L'amylopectine est constituée d'un ensemble de grappes de chaînes généralement classifiées A, B ou C. Les chaînes A, portées par les chaînes B, sont liées à la structure par des liaisons  $\alpha(1,6)$  et sont les plus courtes avec un degré de polymérisation compris entre 12 et 20. Les chaînes B, sont reliées à l'unique chaîne C d'une macromolécule d'amylopectine qui porte l'unique extrémité réductrice, par des liaisons  $\alpha(1,6)$ . Les chaînes B portent une ou plusieurs chaînes A et/ou B (Figure I.4). Le degré de polymérisation moyen des chaînes B et C varie de 30 à 45.



**Figure I.4 :** Classification des chaînes et organisation en grappes de l'amylopectine [28].

Les différences structurales, liées à l'origine botanique, portent essentiellement sur le rapport chaînes longues/chaînes courtes qui serait de l'ordre de 5 pour les amylopectines de tubercules et de 8 à 10 pour les amylopectines de céréales et légumineuses [28].

## 2.3 Propriété physico-chimiques de l'amidon

### 2.3.1 Propriétés physiques

L'amidon a, comme tout produit, des propriétés physiques qui lui sont propres. Plusieurs facteurs entrent en jeu :

- Influence de la température : l'amidon est insoluble dans l'eau. Il forme, en revanche à chaud ( $70^{\circ}\text{C}$ ) une solution colloïdale qui épaisse en donnant un gel communément appelé empois.
- Température de gélification : la gélification commence graduellement à partir de  $50^{\circ}\text{C}$  mais est effective ensuite à une température dépendante de l'agitation moléculaire, de la grosseur des grains, de la nature de l'amidon, de l'eau employée et de la concentration en amidon.
- Effet stabilisant : l'épaississement ayant lieu à une température inférieure à celle de la coagulation du jaune d'œuf, les crèmes aux œufs contenant de l'amidon peuvent être portées à ébullition [32].

### 2.3.2 Propriétés chimiques

Les amidons sont influencés par trois types d'action : thermique, chimique, Enzymatique.

- Action thermique : elle change la couleur et le goût de l'amidon par dextrinisation.
- Action chimique et enzymatique : les acides entraînent une hydrolyse partielle de l'amidon qui conduit à la formation de dextrans. Le gel forme est moins épais. Cette hydrolyse est accélérée par une augmentation de température. L'amidon peut subir aussi l'action d'enzymes comme des enzymes végétales, ou animales (amylase) ou microbiennes. On constate que les amidons natifs ont déjà beaucoup d'influence sur la texture cependant leur fragilité face à certains paramètres comme la température ont conduit à l'utilisation d'amidons modifiés.

Les traitements précédemment décrits mènent à la formation de corps plus simples Comme des dextrans (D-glucose) et des maltoses. Les traitements de ces corps simples par ces mêmes traitements peuvent conduire à la formation d'amidons modifiés.

Il existe différentes technologies qui permettent d'obtenir des amidons modifiés en changeant la structure de base d'une molécule d'amidon [32].

### 2.3.3 Propriétés hydrothermiques

L'amidon natif ne trouverait que peu d'applications dans l'industrie si on n'utilisait pas des traitements hydrothermiques ou thermomécaniques permettant de détruire sa structure granulaire [33]. L'amidon est insoluble dans l'eau à température ambiante. A des températures plus élevées, le grain d'amidon passe aux différents états caractéristiques [34, 35], A température ambiante, l'humidité relative de l'air influence la cristallinité, indiquant par-là la perméabilité du grain vis-à-vis de l'eau (phénomène de sorption). A une température supérieure à 60 °C, le phénomène d'empesage intervient.

Pour terminer, en revenant à température ambiante, il y a gélification par rétrogradation de l'amidon.

## 2.4 Transformation de l'amidon

A l'exception des cas où l'amidon natif est utilisé comme charge, toutes les autres applications sont basées sur la disparition de la structure cristalline. Ceci est facilement réalisable par l'extrusion en milieu condensé (plastification) ou par la solubilisation en solution (gélatinisation). L'amidon natif a une température de transition vitreuse ( $T_g$ ) plus élevée que sa température de décomposition thermique ( $T_d \approx 200^\circ\text{C}$ ) en raison des interactions

fortes dues aux liaisons hydrogène entre les chaînes. Lorsque l'amidon subit une transformation et qu'il devient majoritairement amorphe, la température de transition vitreuse ( $T_g$ ) baisse et donc l'utilisation de l'amidon dans les procédés conventionnels des polymères synthétiques, comme l'extrusion et l'injection, devient possible. Les deux techniques de transformation de l'amidon, la gélatinisation et la plastification [36].

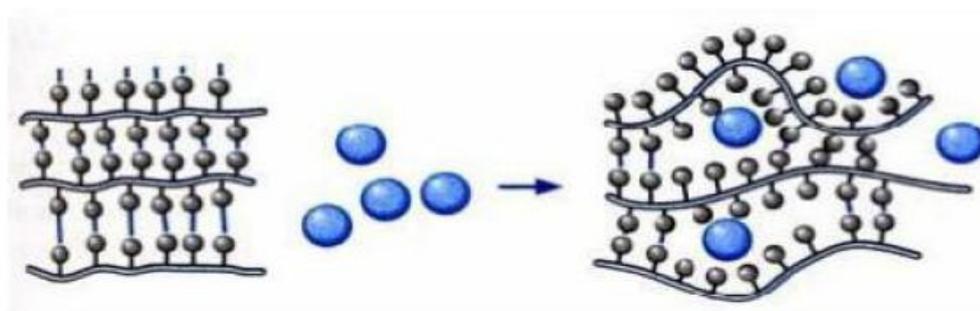
Le mélange de grains d'amidon natifs avec une quantité suffisante de plastifiant pour permettre leur fusion à une température inférieure à celle de leur dégradation, conduit à un matériau amylopectine forme d'un réseau continu de chaînes polysaccharides enchevêtrées. Ce matériau est appelé amidon thermoplastique [36].

#### 2.4.1 Plastification de l'amidon

L'amidon a des propriétés thermoplastiques qui sont obtenues en déstructurant le granule natif en présence d'eau et de plastifiants, sous contraintes thermomécaniques. Le résultat de la déstructuration est un mélange homogène d'amidon plastifié (Plasticized Starch), qui peut être mis en forme à l'aide des techniques traditionnelles de plasturgie (injection, extrusion). Les plastifiants sont, en général, les polyols (glycérol, sorbitol...) ou leurs mélanges. Ils ont un point d'ébullition élevé et ne sont pas évaporés pendant le processus [36].

#### 2.4.2 Rôle et influence de plastifiant

Le plastifiant (molécules bleues, Figure I.5) va venir s'insérer par diffusion entre les chaînes d'amidon pour rompre les liaisons hydrogènes inter-chaînes d'amidon et créer de nouvelles liaisons hydrogènes amidon/plastifiant. Cela va augmenter d'une façon importante la mobilité des chaînes macromoléculaires engendrant une diminution de la température de transition vitreuse ( $T_g$ ) et une diminution de la température de fusion ( $T_f$ ). Ainsi en présence d'un plastifiant et d'un chauffage optimal, un granule d'amidon gonfle (sorption), se gélatinise (fusion des lamelles cristallines) et enfin se solubilise.



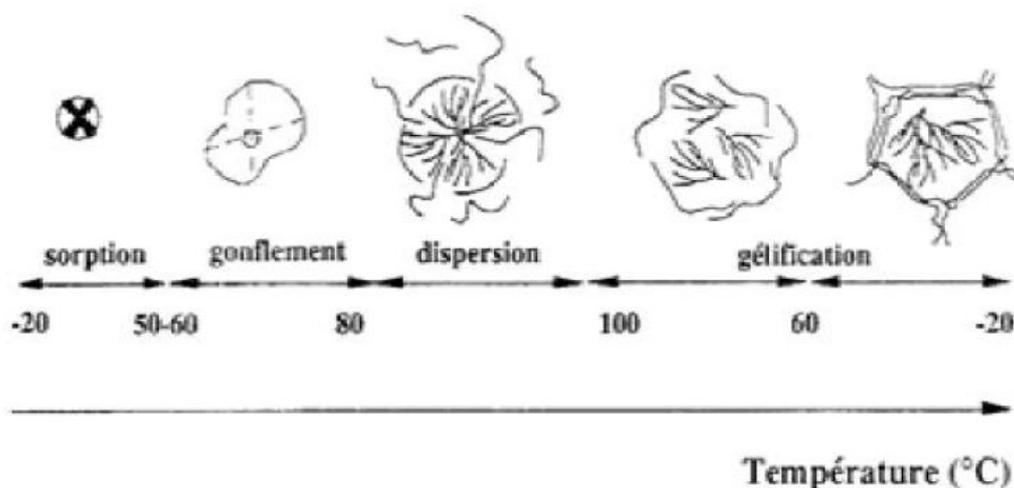
**Figure I.5** : Schéma du mécanisme de plastification à l'échelle moléculaire

### 2.4.3 Phénomène de sorption

Le phénomène de sorption est un comportement caractéristique de l'amidon sous forme granulaire. Dans la phase initiale d'adsorption, les molécules d'eau pénètrent préférentiellement les espaces interstitiels du grain et établissent un pontage double par double liaison hydrogène forte entre les groupements hydroxyles de l'amidon et le grain d'amidon gonfle. La cristallinité apparente des grains d'amidon étudiés au rayon X est maximale à saturation en eau. L'eau absorbée agit comme plastifiant permettant un alignement des cristallites par plastification de la phase amorphe inter-cristalline [36].

### 2.4.4 Processus de gélatinisation

Les amidons natifs sont connus pour être totalement insolubles dans l'eau froide en raison de l'organisation cristalline des grains d'amidon. En chauffant une dispersion aqueuse d'amidon aucun changement notable n'est constaté quand la température est inférieure à 60°C, mais au-delà, des phénomènes importants se manifestent. La température à partir de laquelle cette transition se produit est la température de gélatinisation. Le processus de gélatinisation entraîne un certain nombre de modifications, notamment la disparition de la cristallinité (perte de biréfringence), un gonflement important et une solubilisation partielle du contenu granulaire, une augmentation nette de la viscosité du milieu. Au niveau moléculaire ces manifestations sont à conséquence d'un processus endothermique entraînant une augmentation de la mobilité des macromolécules au niveau de granule d'amidon [36].



**Figure I.6 :** Influence d'un traitement hygrothermique en excès d'eau sur l'état de l'amidon.

## **2.5 Procédés d'élaboration des matériaux à base d'amidon**

L'élaboration de matériaux à base d'amidon nécessite une déstructuration de sa structure granulaire. Dans ce but, deux méthodes ont principalement été développées afin d'obtenir un matériau homogène et dense en recourant à l'ajout de plastifiants. Ces deux méthodes se basent principalement sur la fusion des zones cristallines de l'amidon. Le choix de la technique est fondé sur la teneur en eau utilisée dans la formulation:

### **2.5.1 Le casting**

Le casting est une technique qui nécessite l'utilisation d'un excès d'eau dans la formulation. Elle permet l'obtention des films par chauffage de l'amidon au-delà de sa température de gélatinisation [37]. A des teneurs faibles en eau, la fusion des zones cristallines est aussi possible mais en utilisant d'autres techniques plus puissantes comme l'extrusion.

### **2.5.2 L'extrusion**

L'extrusion est un procédé de fabrication mettant en jeu un traitement thermomécanique lors du passage forcé de la matière le long d'une vis sans fin. Cette technique est utilisée pour obtenir des matériaux thermoplastiques mais aussi dans l'industrie alimentaire pour obtenir des pâtes. En fonction de l'intensité et du type de contraintes thermomécaniques appliquées lors de l'extrusion, la matière subit des changements de structure et par conséquent de ses propriétés physiques. Dans le cas des matériaux à base d'amidon, la contrainte thermomécanique appliquée lors de l'extrusion conduit à la gélatinisation de l'amidon et à la fragmentation des polymères [38].

## **3. Gélatine**

### **3.1 Historique**

La gélatine alimentaire a une longue histoire. Dans les temps anciens, elle était utilisée comme une « colle biologique », et au cours du temps, son industrialisation, a amené à l'utiliser dans de nombreuses applications. A l'époque de la Haute Antiquité, en Egypte, les artisans étaient en mesure de produire de la colle à partir d'os et de peaux d'animaux, pour assembler les pièces de bois entre-elle. En Europe, l'industrialisation de la fabrication de colle à partir du collagène a démarré dès la fin du 17<sup>ème</sup> siècle aux Pays-Bas et dès le début du 18<sup>ème</sup> en Angleterre [39]. Les peaux de porc est la matière première la plus utilisée pour la production de gélatine ; environ 46% de la production mondiale de gélatine est obtenue à partir de peaux de porc, suivie de peaux de bovin qui représente 29.4% et 23.1% de gélatine est extraite à partir d'os de bovin et de porc. Les autres sources de gélatine les volailles et les

poissons ne représentent que 1.65% de la production mondiale [40]. Plusieurs études ont été faites sur l'extraction de gélatine des poissons [41-45] ; mais leurs applications restent étroites suite aux faibles propriétés fonctionnelles notamment le pouvoir gélifiant par rapport aux gélatines des mammifères [46]. Mariod et al. (2011) ont extrait et caractérisé par ailleurs une gélatine halal comestible de deux insectes comestibles Soudanais (*Aspongopus viduatus* et *Agonoscelis pubescens*) [47].

### **3.2. Définition**

La gélatine est une protéine d'origine animale, obtenue par la dénaturation thermique du collagène continu dans les os et les peaux des animaux. Plus de 95% de gélatine commerciale est obtenue à partir des porcs et des bovins. Les sous-produits des volailles et poissons sont également utilisés comme source de gélatine [48]. La gélatine est une substance protéique soluble dans l'eau préparée par des processus qui impliquent l'hydrolyse de la structure tertiaire, secondaire et dans certaines mesures la structure primaire des collagènes natifs [49,50]. La plupart des hydrocolloïdes sont des polysaccharides, tandis que la gélatine est une protéine digestible [51], contenant toutes les acides aminés essentiels, à l'exception du tryptophane. Sa composition en proline et en hydroxyproline peut varier d'une espèce à l'autre [39].

### **3.3 Procédés de fabrication de la gélatine**

La transformation du collagène en gélatine se réalise en deux étapes : la solubilisation du collagène (soit en milieu acide, soit en milieu basique) et sa conversion en gélatine. Cette dernière est le résultat de la dénaturation de la structure tertiaire de la triple hélice de tropocollagène [52,53]. Le procédé de fabrication de la gélatine fait intervenir une hydrolyse, ceci pouvant être alcalin ou acide.

**3.3.1 Le procédé acide** : est un traitement particulièrement approprié aux peaux de porc et les os de jeunes bovins. Le temps de préparation de la matière première est court (2 jours) ce qui permet une réduction des coûts d'extraction. Ce procédé est utilisé principalement pour l'industrie alimentaire.

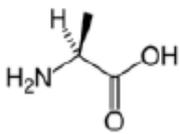
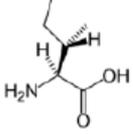
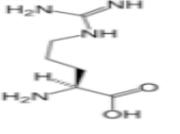
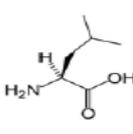
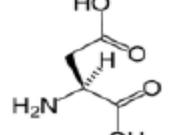
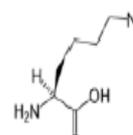
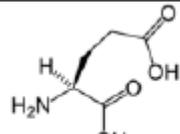
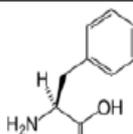
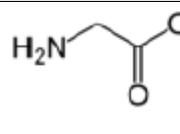
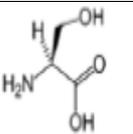
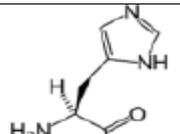
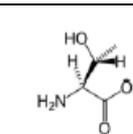
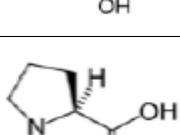
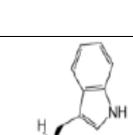
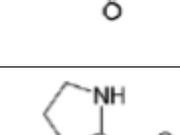
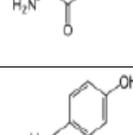
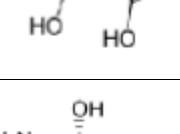
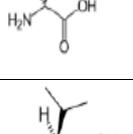
**3.3.2 Le procédé alcalin** : est une méthode très longue (45 à 90 jours) et plus coûteuse, principalement recommandée pour des collagènes plus complexes comme ceux provenant des os et peaux de bovin [40]. Ce procédé alcalin ou basique est principalement utilisé pour fabriquer la gélatine à usage pharmaceutique (capsule), photographique (films) et alimentaire (confiserie, charcuterie, yaourterie...etc.).

La gélatine issue d'un traitement alcalin est couramment désignée sous l'appellation «gélatine type B» tandis que la gélatine issue d'un traitement acide est appelée «gélatine type A» [54]. Après hydrolyse acide ou basique du collagène vient l'étape d'extraction de la gélatine par cuisson. La gélatine est extraite avec l'eau chaude sous forme de bouillon de gélatine. Le gel une fois concentré sous vide est extrudé sous forme de filament ou de «nouilles» pour augmenter sa surface d'échange et favoriser ainsi son séchage. Les nouilles séchées (10-15% d'humidité) sont ensuite broyées avant de subir des contrôles au laboratoire [39].

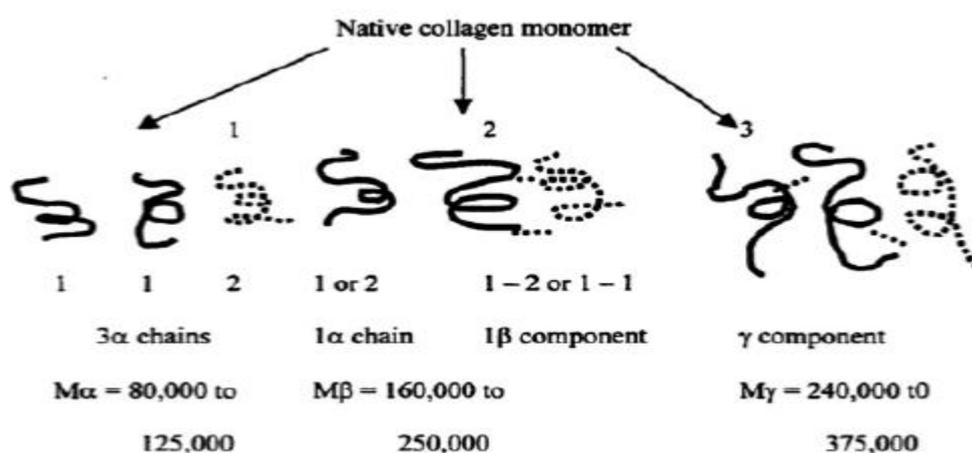
### ***3.4 Structure et composition de la gélatine***

La structure primaire de la gélatine ressemble à celle du collagène [55]. L'analyse de la variation de la composition en acides aminés des gélatines en fonction du prétraitement montre d'une manière générale, que le prétraitement acide modifie peu la composition en acide aminée de la gélatine par rapport au collagène dont elle dérive et que le prétraitement alcalin transforme les résidus asparagine et glutamine en acide aspartique et glutamique [39]. La gélatine contient un total de 18 acides aminés en différentes concentrations. La liaison de ces acides aminés forme des chaînes polypeptidiques. Chaque chaîne contient environ mille acides aminés. La structure globale de la gélatine est une molécule en forme de baguette se composant des structures hélicoïdales primaire, secondaire et tertiaire (Tableau I.3) [52]

**Tableau I.3:** Différentes fractions en acides aminés entrant dans la composition de la gélatine

Teneur en acides aminés exprimée en g/100g de gélatine pure.		Structure	Teneur en acides aminés exprimée en g/ 100g de gélatine pure.		structure
Alanine	11,3		Isoleucine	1,6	
Arginine	9,0		Leucine	3,5	
Acide aspartique	6,7		Lysine	4,4	
Acide glutamique	11,6		Phénylalanine	2,5	
Glycine	27,2		Serine	3,7	
Histidine	0,7		Thréonine	2,4	
Proline	15,2		Tryptophane	0,0	
hydroxyproline	13,3		Tyrosine	0,2	
hydroxyline	0,8		Valine	2,8	

La dénaturation du tropocollagène en gélatine peut fournir trois types de molécules (Figure I.7) ; les chaînes  $\alpha_1$  et  $\alpha_2$ , les chaînes  $\beta$  qui sont issues de l'association entre une chaîne  $\alpha_1$  et une chaîne  $\alpha_2$  ( $\beta_{11}$ ,  $\beta_{12}$ ), et les chaînes  $\gamma$ , oligomères de trois chaînes  $\alpha$  ( $\gamma_{112}$ ). Les chaînes  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$  se différencient par leur masse moléculaire moyenne respective de 100 000, 200 000 et 300 000 g mol<sup>-1</sup> [56].



**Figure I.7 :** Voies possibles de la conversion du collagène en gélatine [57].

### 3.5 Propriétés de la gélatine

Les propriétés techno fonctionnelles de la gélatine sont principalement liées à la structure. La force de gélification et la viscosité dépendent de leur poids moléculaire ainsi que de sa composition en acides aminés ; avec un poids moléculaire élevés et un nombre élevés d'acide aminés la force de gélification de la gélatine est supérieure [39]. La proline et l'hydroxyproline sont les acides aminés les plus importants dans la réarrangement des sous-unités de gélatine au cours de ce phénomène [50].

Les propriétés fonctionnelles de la gélatine peuvent être divisées en deux catégories.

Les propriétés de la première catégorie sont associées à la gélification, notamment la force de gélification, temps de gélification, la viscosité, texturation, pouvoir épaississant et la capacité de rétention d'eau. Le deuxième groupe concerne le comportement de gélation selon les propriétés de surface par exemple : le pouvoir émulsifiant, stabilisant, moussant et la capacité de formation de films [52,53].

La gélatine peut constituer des solutions colloïdales avec l'eau. Le soluté peut être dispersé de manière homogène dans le milieu sous forme de très fines particules, pour former soit un sol, soit un gel. Ces derniers sont souvent utilisés dans l'industrie alimentaire [52]. La propriété la

plus intéressante des gels formé avec la gélatine est sa thermo réversibilité ainsi que la température de fusion de gel ( $<35^{\circ}\text{C}$ ) qui est inférieure à la température du corps humain, ce qui donne au produits alimentaire des propriétés organoleptiques particulières (la libération d'arôme) [51]. La gélatine se gonfle en contact avec l'eau froide. Pour que la gélatine soit solubilisée, il est nécessaire de la chauffer à des températures supérieures à  $40^{\circ}\text{C}$ . Après refroidissement, un phénomène de gélification se met en place. Il s'agit là d'une des principales raisons de l'utilisation de la gélatine par les industries [50]. La gélatine est utilisée comme agent moussant et émulsifiant dans les aliments, les produits pharmaceutiques et médicaux en raison de ses propriétés de surface [58]. Des études ont montré que la gélatine est capable d'agir comme agent stabilisant dans les émulsions huile-eau [59].

### 3.5.1 La gélatine en solution

La gélatine se présente sous forme de grains, qui une fois mis dans l'eau se mettent à gonfler. Pour que la gélatine soit solubilisée, il est nécessaire de la chauffer à des températures supérieures à  $40^{\circ}\text{C}$ . Pour des températures supérieures à  $40^{\circ}\text{C}$ , la gélatine présente une structure dite désordonnée, dans laquelle on retrouve en solution, un mélange de différentes fractions  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  en conformation de pelotes statiques. Le système ainsi obtenu est une solution de gélatine, on dira également que la gélatine est à l'état sol [60]. Si l'on refroidit une solution de gélatine, un phénomène de gélification se met alors en place. Il s'agit là d'une des principales raison de l'utilisation de la gélatine par les industriels. La gélification traduit une transition conformationnelle, c'est-à-dire le passage de l'état désordonné (pelote statistique) à l'état ordonné (hélice gauche). Il peut être suivi par la mesure du pouvoir rotatoire qui détecte l'apparition ou la disparition des hélices gauches.

Le phénomène de gélification se traduit par une renaturation partielle des triples hélices de collagène, dépendant de la concentration initiale en gélatine et de la vitesse de refroidissement. Pour de très faibles concentrations ( $C \sim 0,01\%$  en poids), la transition pelote-hélice se fait par repliement de la chaîne sur elle-même due à une prédominance de liaisons intramoléculaires. A des concentrations supérieur à  $0,1\%$ , la transition implique une agrégation des chaînes par formation de triples hélices interchaînes. [61] Concernant la température, plus les solutions sont refroidies brutalement, plus le pourcentage de boucles et de repliement des chaînes serait important [62].

### ***3.6 Domaine d'application de la gélatine***

La gélatine possède des qualités particulières recherchées par l'industrie pour obtenir des textures spécifiques. Le marché de la gélatine se caractérise par l'existence de trois domaines essentiels : alimentaire, photographique et pharmaceutique.

#### ***3.6.1 Industries alimentaire***

Les applications de la gélatine sont essentielles dans différents secteurs alimentaires : les produits laitiers, les pâtes à tartiner allégées en matière grasse, la confiserie, l'industrie de viande et poissons, la confiserie...etc. L'utilisation de la gélatine dans les desserts lactés et les laits fermentés donne un «fondant tendre» et unique dans la bouche et laisse l'arôme se dégager d'une façon intense. Cette propriété permet aux industriels d'être innovants en créant des textures et des formes originales dans le secteur des produits laitiers. De plus, la gélatine immobilise l'eau, ce qui empêche la synérèse et augmente la durée de conservation des produits. L'industrie laitière, recherche la plus grande qualité sensorielle des produits au meilleur coût pour la consommation. Suivant cette stratégie, la gélatine est souvent choisie en priorité [46].

La gélatine est sans goût, liée de grande quantité d'eau, forme des gels et procure une agréable sensation en bouche. La gélatine alimentaire est indispensable dans de nombreux confiseries, tel que les bombons gélifiés (ours, gomme), les caramels mous, les marshmallows et les meringues. Elles leur confèrent une grande élasticité, une consistance optimale pour la mastication et améliore leur durée de conservation. Dans les crèmes desserts et les mousses, la gélatine est indispensable pour son rôle stabilisateur.

#### ***3.6.2 Industrie pharmaceutique***

La gélatine remplit la condition très avantageuse d'être digestible et totalement assimilable par l'organisme humain. Elle entre dans la production des capsules et gélules, permet de lier les principes actifs du médicament et de prolonger leur durée de conservation (protection contre l'O<sub>2</sub> et la lumière). La capsule de gélatine permet aussi de masquer les odeurs et les goûts désagréables de certains principes actifs [52].

#### ***3.6.3 L'industrie photographique***

La gélatine est très utilisée, les produits photographiques à base de sel d'argent sont constitués de plusieurs couches contenant de la gélatine ; ces couches sont coulées sur film ou papier [39].

#### **4. Films à base de biopolymères naturels**

Ces dernières années, on rencontre fréquemment dans la littérature liée aux emballages des mots tels que « biodégradable », « biocompatible », « compostable », « durable », « vert » et « biopolymères ». Cela reflète les préoccupations de la société sur les problèmes environnementaux causés par les déchets solides non-biodégradables et l'épuisement des ressources naturelles. Bien que les produits à base de polymères synthétiques issus de la pétrochimie aient été largement utilisés dans une variété de matériaux d'emballage, ils deviennent une source importante de déchets après leur utilisation en raison de leur faible biodégradabilité. Avec la demande croissante des consommateurs pour des aliments de haute qualité et des préoccupations sur des ressources naturelles limitées et l'environnement, l'utilisation des ressources renouvelables pour produire des matériaux d'emballage biodégradables / comestibles qui peuvent maintenir la qualité des produits et réduire le problème d'élimination des déchets est largement explorée. Par conséquent, une variété de biopolymères renouvelables tels que les polysaccharides, les protéines, les lipides et leurs composites, issus de ressources végétales et animales ont été étudiés pour le développement des matériaux d'emballage comestibles / biodégradables pour remplacer leurs homologues non biodégradables issus de la pétrochimie [63,64]. Les avantages des films à base de biopolymères naturels sur les matériaux plastiques conventionnels sont nombreux. On peut citer entre autres leur comestibilité et leur biodégradabilité ; leur amélioration des propriétés organoleptiques des aliments telles que l'apparence, l'odeur, la saveur ; leur faible coût et leur abondance et leur renouvelabilité annuelle [65].

##### **4.1 Films à base de polysaccharides**

Les films à base de polysaccharides, aussi appelés films à base d'hydrates de carbone, sont des polymères hydrophiles et présentent donc de très faibles propriétés barrières à l'humidité [65]. Une variété de polysaccharides et leurs dérivés ont été utilisés comme matrices filmogènes biodégradables. Ils comprennent l'amidon et ses dérivés, la cellulose et ses dérivés, les alginates, les pectines, le carraghénane, le chitosane et divers gommes [63,64]. La plupart des efforts pour améliorer les propriétés de ces films ont été, à l'origine, consacrée à la cellulose et à l'amidon. En tant que biopolymères, ces polysaccharides sont d'un intérêt primordial en raison de leur disponibilité et de leur coût relativement faible, mais la faible élasticité de ces matériaux est un inconvénient important qui limite leur application.

Le mécanisme majeur de formation de films à base de polysaccharides est la rupture des segments polymères et la reformation des chaînes polymères dans la matrice filmogène ou dans le gel par évaporation d'un solvant et création de liaisons hydrogène [65].

#### ***4.2 Films à base de protéines***

Les protéines présentent des propriétés avantageuses dans la préparation d'emballages bio telles que leur capacité à former des réseaux, leur plasticité et leur élasticité. La capacité filmogène de plusieurs substances protéiniques est utilisée dans des applications industrielles depuis de longues dates [66]. Les anciens Égyptiens, les Chinois, les Grecs, les Romains ont utilisé la caséine dans la colle en raison de sa résistance à l'eau. La caséine a également été utilisée dans les peintures, les finitions en cuir et les revêtements de papier. La zéine de maïs a été utilisée comme revêtement dans la fabrication d'encre d'imprimerie, le revêtement interne des papiers sulfurisés. La gélatine a été l'un des premiers matériaux utilisés dans la formation des parois polymères des capsules dans la micro-encapsulation [67].

#### ***4.3 Films à base de lipides***

Les substances lipidiques telles que la cire d'abeille, la cire de cadellila, la cire de carnauba, les triglycérides, les monoglycérides acétylés, les acides gras, les alcools gras, les esters de saccharose et d'acides gras, ainsi que des résines telles que la gomme-laque et des résines terpéniques sont utilisés comme matières filmogènes comestibles [68]. Le principal avantage des films comestibles à base de lipides est leurs caractéristiques barrières élevées en raison de leur polarité relativement faible. Cependant, ils ont des propriétés barrières à l'oxygène limitées et l'utilisation de graisses comme revêtements protecteurs pour des aliments peut avoir des inconvénients, tels que le rancissement des matières grasses des aliments [69]. Comme les matériaux lipidiques ne sont pas des polymères, ils ne forment généralement pas des films cohésifs et autonomes. Cependant, ils peuvent être utilisés pour recouvrir des surfaces alimentaires ou des médicaments pour fournir une barrière contre l'humidité ou pour fournir une composante anti-humidité d'un film composite.

#### **4.4 Films composites**

Les films à base de protéines et de polysaccharides ont d'excellentes propriétés barrières à l'oxygène et au dioxyde de carbone, tandis que leur résistance à la transmission de la vapeur d'eau est limitée en raison de leur caractère hydrophile. La plupart de ces films ont également des propriétés mécaniques souhaitées, ce qui les rend utiles pour améliorer l'intégrité structurelle des produits fragiles. Au contraire, les films lipidiques sont résistants à l'humidité, mais leurs propriétés mécaniques sont inférieures à celles des films protéiniques et de polysaccharidiques. Des films composites contiennent à la fois des lipides et des composants hydrocolloïdes (protéines ou polysaccharides) afin d'exploiter les avantages des lipides et des composants hydrocolloïdes. Quand un obstacle à la vapeur d'eau est souhaité, le composant lipidique peut remplir cette fonction alors que le composant hydrocolloïde offre la résistance mécanique nécessaire.

#### **4.5 Additifs**

Des plastifiants et d'autres ingrédients sont combinés avec les biopolymères filmogènes pour modifier les propriétés physiques ou pour ajouter des fonctionnalités aux films. Les plastifiants sont des agents de faible poids moléculaire incorporé dans les matériaux polymères filmogènes pour augmenter la flexibilité et la traitabilité du film [64,70]. Ils provoquent une augmentation du volume libre de la structure du polymère ou la mobilité moléculaire d'une matrice polymère et une diminution de la proportion régions cristallines / régions amorphes et un abaissement de la température de transition vitreuse [70,71]. Parfois, d'autres ingrédients tels que des antioxydants, des antimicrobiens, des nutraceutiques, des arômes et des colorants sont ajoutés dans des solutions filmogènes pour réaliser des emballages actifs [72].

Ces matières premières naturelles sont abondantes, renouvelables, et biodégradables, ce qui fait d'elles des matières premières attrayantes pour des plastiques écologiques. Toutefois, l'application des plastiques à base de biopolymères naturels est limitée en raison de leurs propriétés mécaniques et barrières à la vapeur d'eau qui sont inférieures à celles des plastiques synthétiques issus de la pétrochimie [63].

## **4.6 Mise en forme des films**

Deux technologies de base, à savoir les procédés par voie sèche et les procédés par voie humide, sont utilisées pour la préparation de films à base de biopolymères.

### **4.6.1 Procédés par voie sèche**

Ces procédés sont basés sur les propriétés thermoplastiques de certains biopolymères. En effet, certains biopolymères manifestent un comportement thermoplastique, c'est-à-dire qu'ils peuvent, comme les polymères synthétiques thermoplastiques, être fondus de manière réversible. Les biopolymères thermoplastiques dans des conditions de faible teneur en humidité sont chauffés au-dessus de leur température de transition vitreuse par des méthodes d'extrusion ou de thermo-compression [66].

Le chauffage des polymères amorphes au-dessus de leur température de transition vitreuse les fait passer dans un état mou et caoutchouteux, ce qui permet de former des films après refroidissement. Principalement des films à base d'amidon et de protéines ont été traités par voie sèche. Certaines protéines ayant un comportement thermoplastique peuvent être traitées par ce procédé sans traitement supplémentaire, mais d'autres protéines et l'amidon doivent être plastifié avant traitement.

Les procédés par voie sèche ont été principalement appliqués à la préparation de biomatériaux d'emballage avec de l'amidon et des protéines plastifiés en utilisant des techniques de traitement classiques tels que le moulage par extrusion, la compression et l'injection [73]. L'extrusion de biopolymères est la méthode préférée pour la production à haut débit destinée à des applications telles que l'emballage. La méthode de thermo-compression est également utile en tant que méthode de traitement en raison de sa simplicité et sa capacité de produire des films sans solubilisation. La thermo-compression est une technologie qui permet d'assembler des matériaux hétérogènes sous l'action simultanée de la température et de la pression sans qu'aucune phase liquide ne se forme au cours du processus d'assemblage, le tout dans une atmosphère variable selon les cas. Dans ces procédés, l'énergie mécanique spécifique, l'impact de cisaillement, la pression, le plastifiant, le temps et la température sont des paramètres importants pour déterminer les propriétés du film.

Bien que les procédés par voie sèche nécessitent plus de matériel, ils ont quelques avantages majeurs par rapport à la voie humide: ils sont plus proches de l'implémentation industrielle et ils diminuent considérablement la solubilité des films obtenus par la création d'un réseau hautement réticulé de film [65].

#### **4.6.2 Procédés par voie humide**

Différents procédés existent pour réaliser des films par voie humide. La méthode du « casting » ou méthode de coulée - évaporation du solvant, est basée sur le séchage de la solution filmogène. Elle comprend la solubilisation, la coulée et le séchage. La première étape consiste à préparer une solution filmogène par dissolution d'un biopolymère dans un solvant approprié tel que l'eau, l'alcool, ou un solvant organique. La solution est ensuite coulée dans un moule anti-adhérent et évaporée à température ambiante ou à des températures élevées. La formation effective d'un film cohésif dépend de la nature, du type et de l'ampleur des interactions des polymères impliqués ainsi que des conditions de formation de film telles que la température et la vitesse de séchage, la teneur en humidité, le type de solvant, la concentration du plastifiant et le pH. La méthode du casting a été couramment utilisée pour la préparation de films à base de biopolymères [75-89].

D'autres méthodes telles que le « dipping » et le « spraying » permettent d'élaborer des films à base de biopolymères par voie humide. Le dipping ou méthode par trempage est utilisé pour appliquer un film protecteur sur certains aliments [90], ou sur des produits techniques comme certaines céramiques [91]. Cette technique est également utilisée pour la fabrication des gélules pharmaceutiques dures [92]. L'objet à revêtir est 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 spraying consiste à pulvériser sur une surface une solution de polymère sous forme de gouttelettes afin d'obtenir un film d'une épaisseur très fine.

#### **5. Les agents antibactériens inorganiques**

L'émergence des agents pathogènes résistants aux antibiotiques est devenue un problème de santé publique et, par conséquent, de nombreuses études ont été rapportées pour améliorer les solutions antimicrobiennes actuelles. Il est connu que plus de 70 % des infections bactériennes sont résistantes à un ou plusieurs antibiotiques, généralement utilisés pour éradiquer l'infection. Le développement de nouveaux agents antimicrobiens efficaces semble donc être d'une importance primordiale. Ainsi, l'exploitation de nanoparticules de métaux et d'oxydes métalliques comme agents antibactériens pourrait être considérée comme un moyen pour résoudre ce problème. Les nanoparticules métalliques comme l'argent (Ag) ou l'or (Au) ou des oxydes métalliques comme l'oxyde d'argent ( $\text{Ag}_2\text{O}$ ), l'oxyde de cuivre (CuO), oxyde de magnésium (MgO)[93], l'oxyde de titane ( $\text{TiO}_2$ ), l'oxyde de calcium (CaO) ou l'oxyde de zinc (ZnO) ont été reconnues par leur activité antibactérienne considérable.

Plusieurs d'entre eux sont non seulement considérés comme des matériaux non toxiques pour les êtres humains mais contiennent aussi des minéraux essentiels pour la santé humaine [94]. En effet, les nanoparticules les plus petites sont dotées de l'effet bactéricide le plus puissant. La surface des nanoparticules est positivement chargée, ce qui facilite leur interaction avec la surface bactérienne qui est négativement chargée, ce qui peut induire une amélioration de l'effet bactéricide. La forme des nanoparticules a aussi une influence sur leur efficacité antibactérienne [95].

### 5.1 L'oxyde de magnésium

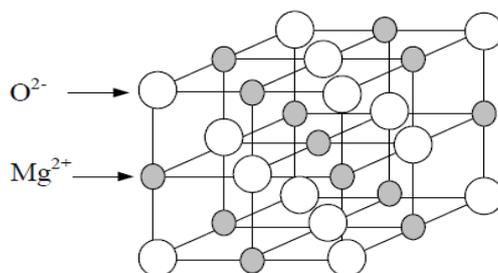
L'oxyde de Magnésium (MgO) est un oxyde largement répandu, caractérisé par des propriétés basiques fortes. Il est d'un grand intérêt catalytique, soit comme support, soit comme promoteur. L'oxyde de magnésium est un matériau modèle des cristaux ioniques : la faible électronégativité du magnésium, et la forte électronégativité de l'oxygène font que la structure de l'oxyde de magnésium peut s'expliquer uniquement grâce à des interactions entre des particules ponctuelles chargées [96].

#### 5.1.1 Structure cristallographique et électronique du MgO

L'oxyde de magnésium est un matériau ionique constitué par l'alternance de deux ions : le magnésium ( $\text{Mg}^{2+}$ ) et l'oxygène ( $\text{O}^{2-}$ ). Il se cristallise dans la structure cubique à faces centrées (de type NaCl), son paramètre de maille est de l'ordre de  $4.21 \text{ \AA}$  [97]. Chaque cation de magnésium ( $\text{Mg}^{2+}$ ) est entouré par six anions d'oxygène ( $\text{O}^{2-}$ ). Alors ces derniers forment un octaèdre. Les rayons ioniques des ions  $\text{Mg}^{2+}$  et des ions  $\text{O}^{2-}$  sont  $0.72 \text{ \AA}$  et  $1.40 \text{ \AA}$  respectivement [97]. Généralement le monocristal d'oxyde de magnésium est clivé sur des directions (001) et (111) [98].

Les configurations électroniques de magnésium (Mg) et de l'oxyde (O) sont données par:

$\text{O}_8 : 1s^2 2s^2 2p^4$  ; et  $\text{Mg}_{12} : 1s^2 2s^2 2p^6 3s^2$ .



**Figure I.8:** Structure cristallographique d'oxyde de magnésium tel que de type NaCl).

Les deux électrons 3s du magnésium sont transférés à l'oxygène pour remplir les deux cases 2p et le matériau devient isolant. En termes de bande d'énergie, le bas de la bande de conduction de l'oxyde de magnésium résulte essentiellement des états Mg (3s) alors que la bande de valence possède un caractère O (2p) prédominant [99].

### 5.1.2 Propriétés physico-chimiques

Avec une température de fusion d'environ 2852°C, l'oxyde de magnésium est considéré comme une céramique de bonne résistance aux attaques chimiques et thermiques. Par ailleurs, c'est un bon isolant électrique à des températures allant jusqu'à 200°C et 230°C. Dans le tableau I.4, nous regroupons les principales propriétés de l'oxyde de magnésium.

**Tableau I.4:** Propriétés générales de l'oxyde de magnésium. [CTTC] : document fournis par le Centre de Transfert de Technologie des Céramiques (France).

Grandeurs physiques	Valeurs
Paramètre de maille (Å)	4.216
Chaleur spécifique (J. K <sup>-1</sup> .Kg <sup>-1</sup> )	880
Conductivité thermique (W. m <sup>-1</sup> .K <sup>-1</sup> ) à 20°C	40-50
Point de fusion (°C)	2852
Constante diélectrique	9.65
Conductivité électrique (Ω.cm) <sup>-1</sup>	10 <sup>-18</sup>
Indice de réfraction	1.737
Gap théorique (eV)	7.9
Affinité électronique (eV)	1.630

### 5.1.3 Propriétés optiques du MgO

L'absorption permet de déterminer la largeur de la bande interdite  $E_g$  du matériau considéré. Pour être absorbés, les photons doivent avoir une énergie supérieure à  $E_g$ . Pendant la variation du coefficient d'absorption avec l'énergie des photons incidents un seuil d'absorption apparaît dès que le matériau commence à absorber, c'est-à-dire pour une énergie d'excitation égale à  $E_g$ . La présence des impuretés dans le cristal crée des états d'énergies très proche des bandes (bande de valence et bande de conduction), ce qui a tendance à minimiser l'énergie du gap mais, sa n'empêche pas de voir une bonne estimation de  $E_g$ . La valeur du gap optique obtenu dans la littérature est de l'ordre de 7.8 eV [100 ,101].

### 5.1.4 Domaines d'applications

Le MgO est utilisé dans de nombreuses applications telles que la catalyse, les supports de catalyseurs, la dépollution des déchets toxiques, les matériaux réfractaires et les adsorbants, additif dans les huiles lourdes, revêtements réfléchissants et anti-réfléchissants, supraconducteurs et films minces ferroélectriques comme substrat, batteries lithium-ion, etc. [102,103]. En médecine, Le MgO est utilisé pour soulager les brûlures d'estomac, les maux d'estomac et pour la régénération osseuse [104,105]. Récemment, les nanoparticules de MgO se sont révélées prometteuses pour une application dans le traitement de la tumeur [106]. Les nanoparticules de MgO ont également un potentiel considérable en tant qu'agent antibactérien.

### 5.2 L'oxyde de Zinc (ZnO)

L'oxyde de zinc est un matériau qui existe sous forme naturelle sous le nom de "Zincite", mais il peut aussi être synthétisé artificiellement sous forme massive (figure I.9). L'oxyde de zinc, se présente à l'état solide sous l'aspect d'une poudre inodore de couleur blanc cassé à jaune pâle. En tant que oxyde, il présente certains avantages comme le fait d'être ni combustible ni explosif en cas d'incendie, ou bien d'être relativement inerte vis-à-vis de l'organisme humain [107].

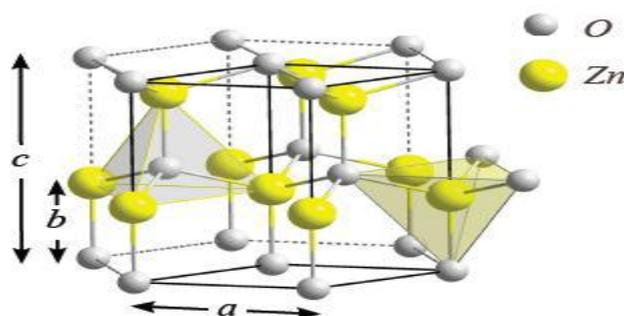


**Figure I.9 :** Oxyde de Zinc massif sous forme naturelle (a, b) et provenant de la synthèse hydrothermal (c).

L'oxyde de zinc présente un ensemble des différentes propriétés susceptibles de recevoir des applications dans le domaine de l'électronique et de l'optoélectronique.

### 5.2.1 Propriétés structurales

Il existe deux formes cristallographiques du ZnO: la forme hexagonale (wurtzite) et la forme cubique (rocksalt et zinc blende) [108]. La structure wurtzite est la plus stable thermodynamiquement [109], chaque atome de zinc est lié à 4 atomes d'oxygène pour former un tétraèdre [110], avec les paramètres de maille suivants:  $a = b = 3,252 \text{ \AA}$ ,  $c = 5,219 \text{ \AA}$  sa maille élémentaire est représentée sur la figure I.10.



**Figure I.10** : Structure cristalline (wurtzite) de l'oxyde de zinc [111].

### 5.2.2 Propriétés chimiques et catalytiques

Les semi-conducteurs comme le ZnO sont d'excellents catalyseurs de réactions d'oxydation, de déshydrogénation et de désulfurisation. L'efficacité de l'oxyde de zinc dépend de son mode de préparation. L'oxyde de zinc est utilisé en tant que piège et capteur chimique de gaz ( $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{CH}_4$ ) [112, 113]. En particulier, ses poudres en suspension dans l'eau sont un catalyseur pour les réactions: de l'oxydation de l'oxygène en ozone, de l'oxydation de l'ammoniaque en nitrate, de la réduction du bleu de méthylène, la synthèse du peroxyde d'hydrogène, et aussi de l'oxydation des phénols. Ces propriétés catalytiques dépendent essentiellement du degré de perfectionnement de son réseau cristallin qui agit sur son énergie de surface, et du dopage du semi-conducteur [114].

### 5.2.3 Domaines d'applications

En raison de ses diverses propriétés à la fois chimiques et physiques, le ZnO est largement utilisé dans de nombreux domaines. Dans l'industrie plastique, le ZnO est utilisé comme agent de réticulation [115], agent antibactérien [116] ou bien encore pour modifier les propriétés électriques des nanocomposites [117]. Le ZnO peut absorber en UVA (315-400 nm) et en UVB (280-315 nm), ce qui lui confère une utilité particulière en tant qu'agent protecteur contre les UV [118], d'où son intervention dans les formulations des crèmes solaires [119]. Dans le domaine pharmaceutique et médical, le ZnO peut être utilisé dans les formulations de pommades, de pâtes dentaires, de pansements [120], dans les nanocomposites

servant au développement des implants médicaux [121] qui sont fréquemment infectés. Le ZnO peut également être utilisé dans la fabrication des équipements électroniques, des capteurs, des lasers UV et des cellules solaires [122].

### **5.2.3.1 Application du ZnO dans les emballages alimentaires**

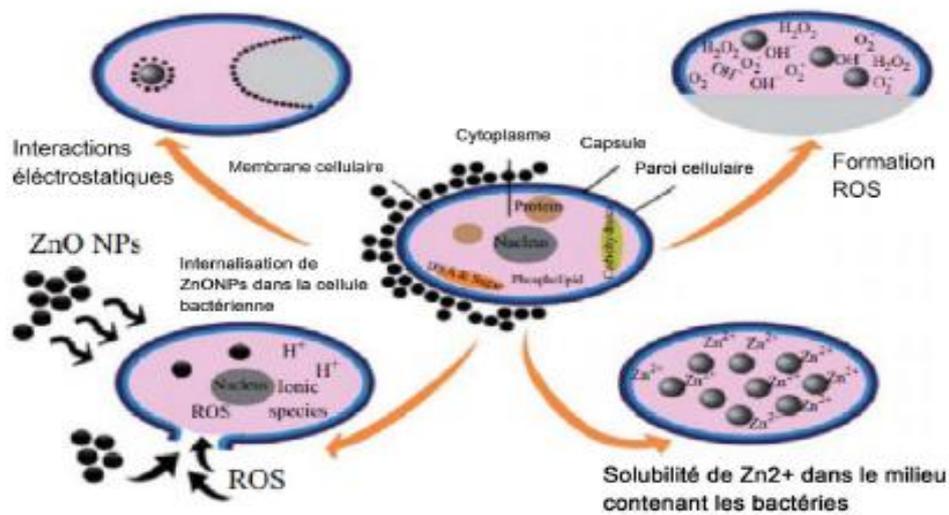
Les nanoparticules de ZnO ont démontré une toxicité sélective envers une large gamme de bactéries à Gram-positif et Gram-négatif incluant les pathogènes d'origine alimentaire, tels que *E. coli*, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes* et *S. aureus* [123]. Grâce à leur taille nanométrique et à leur réactivité de surface, ces nanoparticules peuvent doter les matériaux d'emballage alimentaire d'une activité antimicrobienne pour empêcher la prolifération d'une flore d'altération et pathogènes dans les aliments. Ainsi, l'activité antibactérienne du ZnO à l'échelle nanométrique pourrait fournir des stratégies novatrices, abordables et sécuritaires pour le domaine de l'emballage. Li et al. [124] ont remarqué que la détérioration des pommes "Fuji" a été réduite suite à l'utilisation des films de poly(chlorure de vinyle) (PVC) enduits avec des nanoparticules de ZnO.

### **5.2.3 Propriétés antibactériennes de l'oxyde de zinc**

Les propriétés antibactériennes des nanoparticules de ZnO ne sont plus à prouver. Plusieurs études ont montré leur potentiel antibactérien contre les bactéries à Gram-positif (*Bacillus subtilis* (*B. subtilis*), *S. aureus*) [125], les bactéries à Gram-négatif (*E. coli*, *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*), *Salmonella enterica*) [123] et les levures pathogènes (*Candida albicans* (*C. albicans*), *Aspergillus niger* (*A. niger*)) [126]. Zhang et al [127] ont rapporté que les suspensions de ZnO ont un effet bactériostatique contre *E. coli* (évalué par la mesure de densité optique). Après 8 heures de traitement avec des suspensions de 0.25 g/L de ZnO, *E. coli* avait encore enregistré une faible croissance [127].

### 5.2.3.1 Mécanisme d'action

Le mécanisme antibactérien des nanoparticules de ZnO soulève de vives discussions dans la littérature. Les principales hypothèses proposées sont récapitulées dans la figure ci-dessous. Le mécanisme d'action antibactérien des nanoparticules de ZnO fait intervenir trois différents modes à savoir (1) la génération d'espèces réactives de l'oxygène (EROs); (2) la libération des ions  $Zn^{2+}$ ; (3) l'interaction entre les bactéries et les nanoparticules de ZnO.



**Figure I.11:** Les différents mécanismes responsables de l'activité antibactérienne des nanoparticules de ZnO [128].

# Partie expérimentale

# chapitre I

## Synthèse des films non chargés

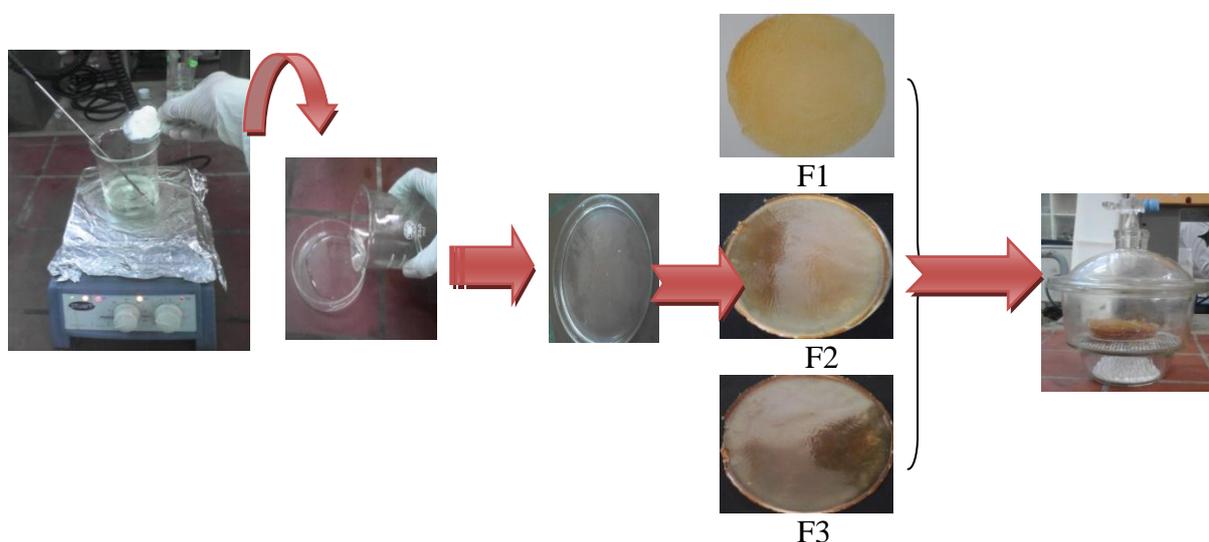
### ***I.1 Méthodologie expérimentale***

Dans ce chapitre, nous décrivons le protocole expérimental que nous avons suivi au cours de notre travail. Tout d'abord on va présenter les matériaux utilisés pour la préparation et la caractérisation des différentes formulations films (gélatine/ amidon) .Ensuite, on détaillera le procédé de mise en œuvre des films par voie solvant, les testes biodégradation des différentes formulations préparé.

### ***I.2 Préparation des films non chargés***

Les dispersions filmogènes ont été préparées à partir d'un mélange de gélatine et d'amidon, Trois formulations de proportions gélatine / amidon ont été préparé 50: 50, 60 :40, et 80:20 nommé F1; F2 et F3 respectivement .Chaque formulation contenait du glycérol en tant que plastifiant.

Les solutions filmogènes ont été préparées par dissolution de gélatine dans 50ml de l'eau distillée sous agitation, ensuite, l'amidon était ajouté. A la moitié du temps on ajoute 4ml de glycérol. Le mélange est laisser agité pendant 30min, à température 67°C. Les solutions filmogènes ont été versées dans des boites de pétri et séché à l'étuve à 50°C pendant 24 h. Les films obtenus ont été pelés manuellement, puis conditionnés dans le dessiccateur contenant de chlorure de calcium pendant 3 jours avant la caractérisation des films.



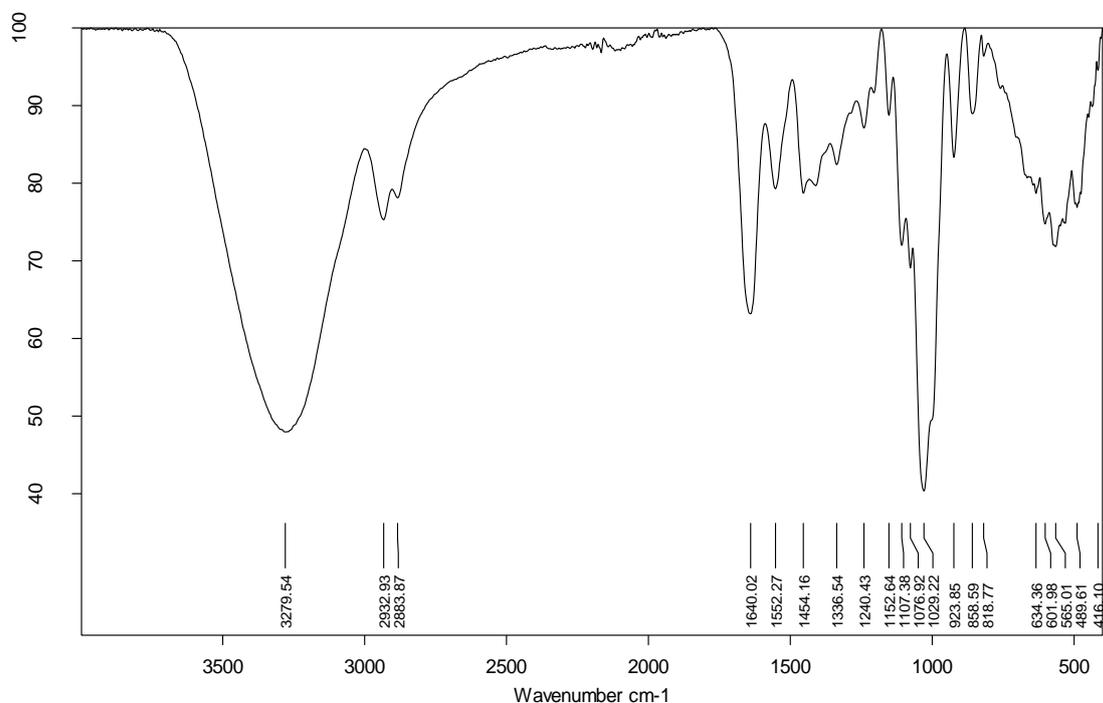
**Figure I.1 :** Elaboration des films Gélatine/Amidon

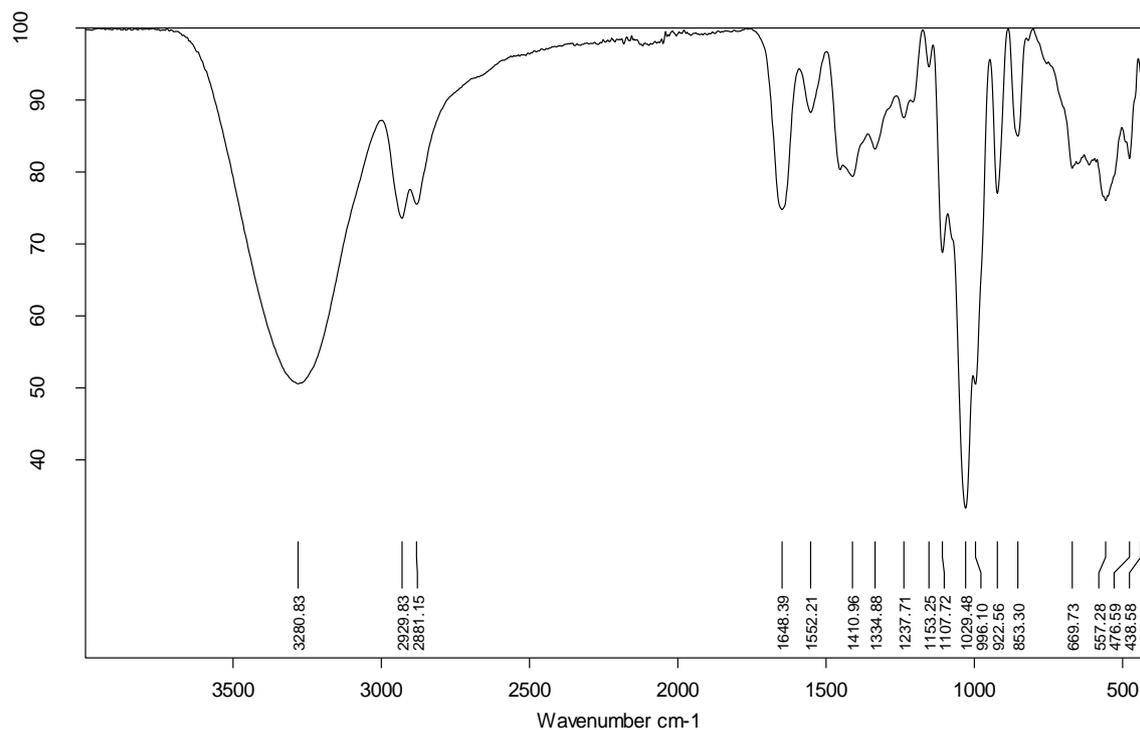
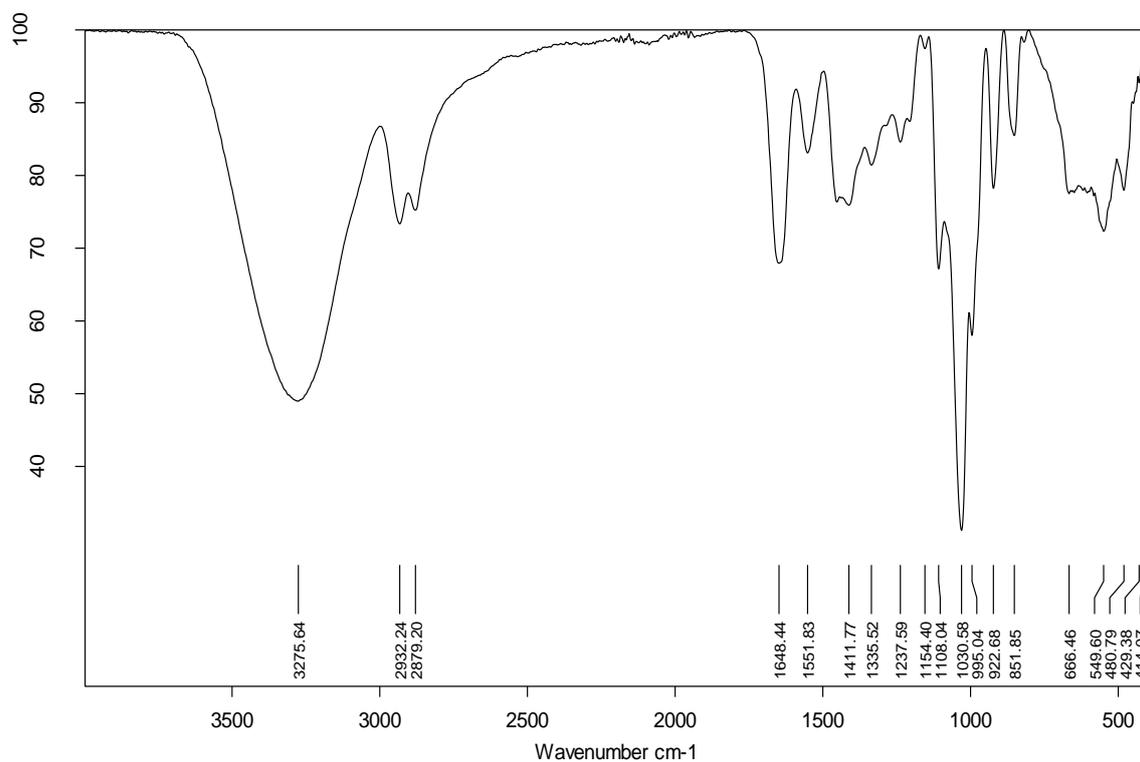
**Tableau I.1** : La composition des différents films composites préparés

Films	Composition de la solution de film (g / 50 ml d'eau)		
	Gélatine(g)	Amidon(g)	Glycérole (ml)
F1	2	2	4
F2	2.4	1.6	4
F3	3.2	0.8	4

### I.2.1 Caractérisation par spectroscopie d'absorption infrarouge

La spectroscopie est une technique importante utilisée pour l'identification des groupes fonctionnels caractéristiques de la surface de films de gélatine/amidon. Chaque liaison présente des vibrations caractéristiques de fréquences bien déterminées. La méthode consiste à irradier l'échantillon par un rayonnement infrarouge. Quand la fréquence du rayonnement correspond à une fréquence de vibration des molécules exposées, il se produit un phénomène d'absorption. Cela se traduit par un pic d'absorption sur le spectre en absorbance, l'analyse a été faite sur une plage de longueur d'ondes allant de 400-4000  $\text{cm}^{-1}$ . Les spectres Infrarouge obtenus sont présentés ci-dessous :

**Figure I.2** : Spectre infrarouge de film F1

**Figure I.3** : Spectre infrarouge de film F<sub>2</sub>**Figure I.4** : Spectre infrarouge de film F<sub>3</sub>

### ***1.2.1.1 Interprétation des résultats***

On remarque que les spectres IR obtenus sont presque identiques pour les trois échantillons étudiés. Les principales bandes d'absorption infrarouge des films préparés sont données dans le tableau ci-dessous :

**Tableau I.2** : Principales bandes d'absorption infrarouge des films

Nombre d'onde (cm <sup>-1</sup> )	Structure associée
3275 à 3285	Vibration d'élongation O-H présente dans l'amidon, glycérol et gélatine
2924 à 2932	Vibration élongation C-H aliphatiques asymétriques présent dans l'amidon et gélatine
2879 à 2883	Vibration élongation C-H aliphatiques symétriques présent dans l'amidon et gélatine
1640 à 1648	Vibration élongation (C=O) de l'amide primaire (l'amide I) présent dans la gélatine
1551 à 1552	Vibration élongation C-N et sa déformation dans le plan de l'amide II présent dans la gélatine
1411 à 1454	Vibration de déformation des liaisons C-H symétriques
1237 à 1240	Vibrations des groupements C-N et N-H de l'amide III liée ou bien aux vibrations des groupements CH <sub>2</sub> de la glycine
1029 à 1030	vibration d'élongation νC-O, présent dans la gélatine
923	Vibration d'élongation C-O-C présente dans l'amidon

## ***1.3 Etude de la Biodégradation en milieu solide***

### ***1.3.1 Matériel biologique***

#### ***1.3.1.1 Les souches bactériennes***

Les souches bactériennes choisies pour cette étude sont des bactéries pathogènes impliquées fréquemment dans la contamination et l'altération des denrées alimentaires.

Les souches sélectionnées sont : trois bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Streptococcus thermophilus*) et une bactérie à Gram négatif (*Escherichia coli*,) (annexe I.1).

### a) Origine des souches bactériennes utilisées

- Les souches *E. coli* et *Staphylococcus aureus* sont isolées au laboratoire de microbiologie de l'institut des sciences vétérinaires de l'université de Tiaret.
- Les souches *Streptococcus thermophilus* et *Bacillus. Cereus* sont isolées au laboratoire de microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Tiaret.

#### I.3.1.2 Milieux de culture

Les milieux de culture doivent contenir les nutriments nécessaires au développement et au métabolisme des micro-organismes choisis. Ils doivent ainsi contenir au moins une source azotée, une source carbonée, une source de phosphore, ainsi que des micros et macronutriments (sels minéraux), éventuellement des facteurs de croissance. Les milieux de culture peuvent être solides ou liquides, synthétiques ou complexes, riches ou pauvres.

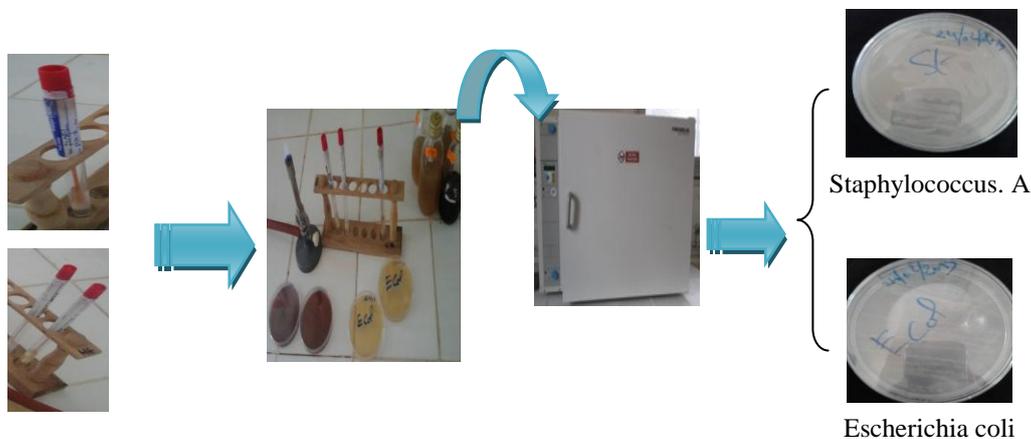
#### a) Les milieux solides

Le choix d'un milieu de culture dépend des espèces à cultiver et l'objectif de l'étude à réaliser, pour cela nous avons utilisé des milieux de cultures spécifiques :

- Milieu Chapman, pour la souche *Staphylococcus aureus*.
- Milieu Gélose nutritive pour la souche *E. coli*.

#### I.3.1.3 Repiquage des souches bactériennes

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées (des cellules bactériennes à leur phase exponentielle de croissance). Les colonies isolées ont servi à préparer l'inoculum.

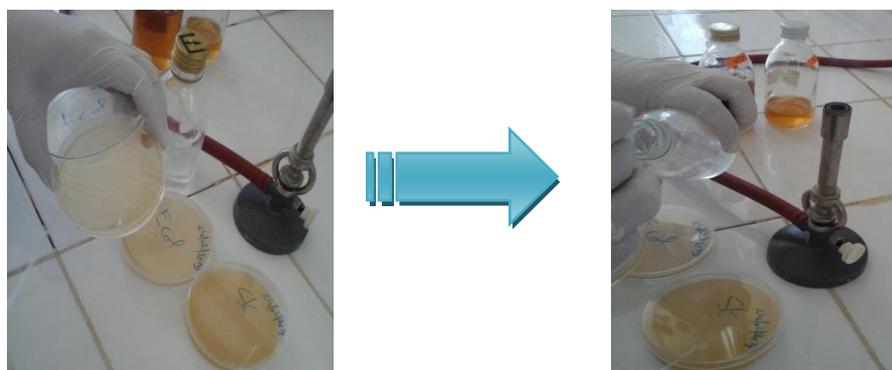


**Figure I.5 :** Repiquages des souches bactériennes

#### ***1.3.1.4 Préparation des suspensions bactériennes***

A l'aide d'une pipette pasteur quelques colonies âgées de 24 heures bien isolées sont prélevées et mises dans 150ml d'eau physiologique stérile à 9g/l. Ensuite la suspension bactérienne est bien homogénéisée, et la densité optique lue à 625 nm est justifiée à 0,08 à 0,10. On admet que cette densité mesurée à 625 nm est équivalente à  $10^8$  CFU/ml [133].

La suspension bactérienne préparée à une opacité de 0.5 Mc Farland, l'inoculum est ajusté soit en ajoutant de la culture s'il est trop faible ou de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort. L'ensemencement doit se faire en moins de 15 min après la préparation de l'inoculum. Les conditions de stérilisation doivent être respectées, à savoir : ne pas dépasser les 20 cm du bec bunsen et utiliser du matériel stérile [134]. Ces suspensions sont utilisées pour l'ensemencement des milieux de culture solides et liquides.



**Figure I.6 :** Préparation des cultures bactériennes

#### ***1.3.2 Les essais de croissances bactériennes***

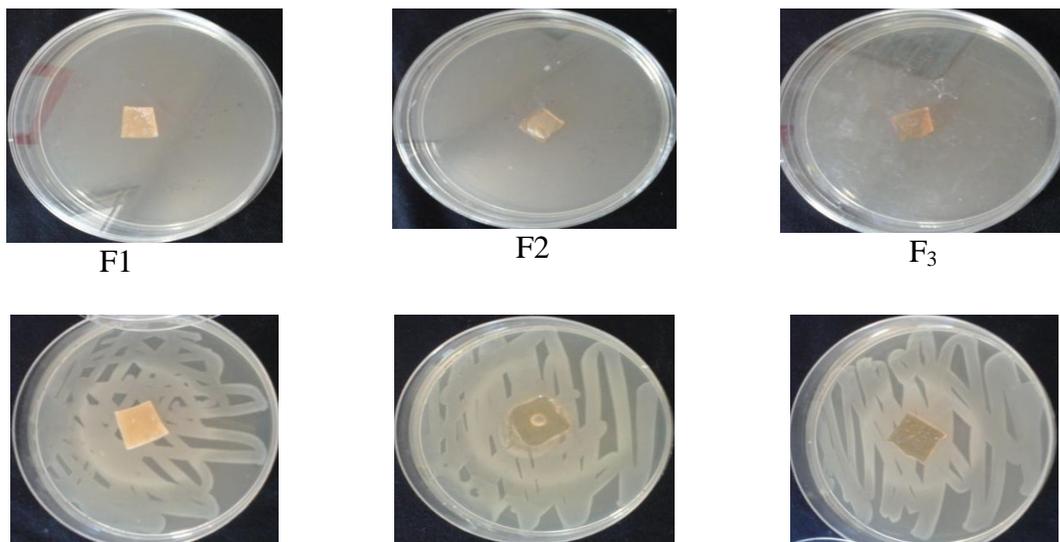
Le milieu d'incubation contient : le polymère sous forme film ( $10 \times 10$  mm), et des suspensions bactériennes. Les films ont été désinfectés avec de l'éthanol pendant 20min et rincer avec de l'eau distillée stérile puis séché dans l'étuve. Les milieux spécifiques sont mise dans des boîtes de Pétri stériles à raison de 15ml par boîte, ensuite refroidissement du milieu à température ambiante on laisse solidifier sur la paillasse. On ensemence les boîtes par la culture bactérienne à l'aide d'un écouvillon stérile (figure I.7). Les films sont ensuite déposés au centre de chaque boîte à l'aide d'une pince stérile (à raison d'un film par boîte). L'ensemble (milieu nutritif – polymères - suspension bactériennes) est maintenu à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant de 1 à 5 jours, les résultats des films exposés à l'attaque biologique sont représentés dans les figures ci-dessous



**Figure I.7 :** L'ensemencement de l'inoculum sur le milieu de culture

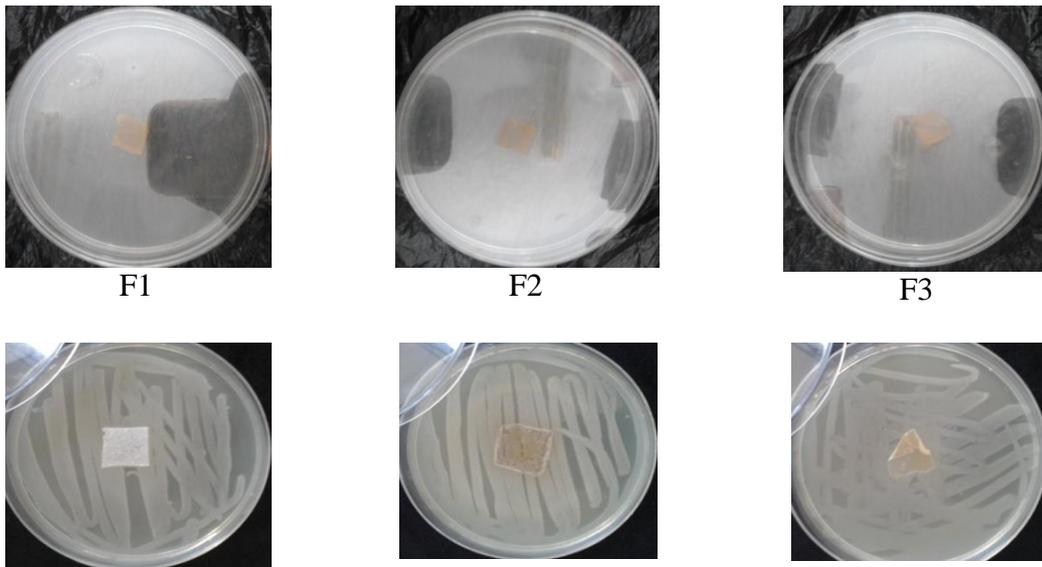
### ***I.3.2.1 Résultats et discussions***

L'examen des différentes boîtes de pétri après 24 heures d'incubation, a révélé une forte croissance bactérienne autour des films, avec les souches testées. Ce phénomène est encore plus marqué après 3 jours d'incubation.

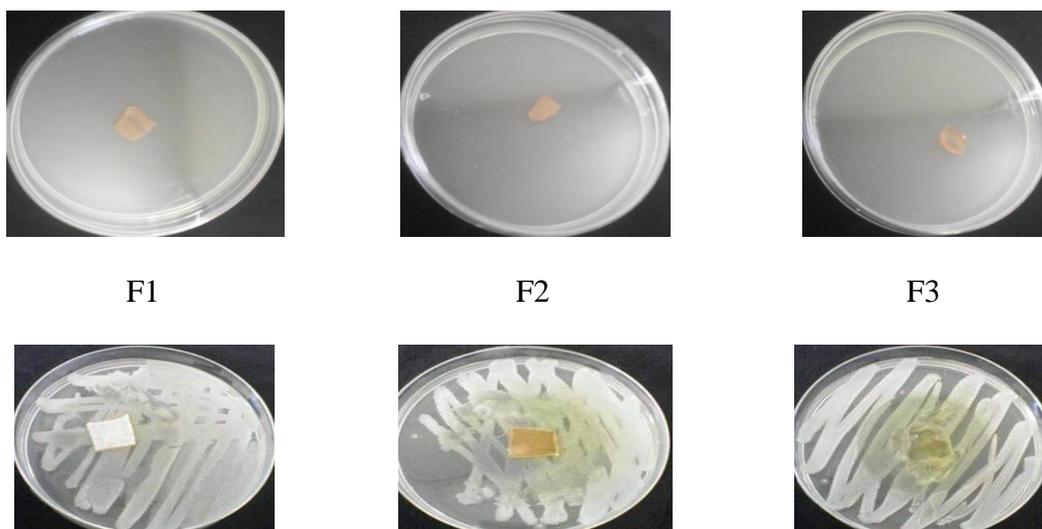


**Figure I.8 :** Croissance d'*Escherichia coli* sur tous les films

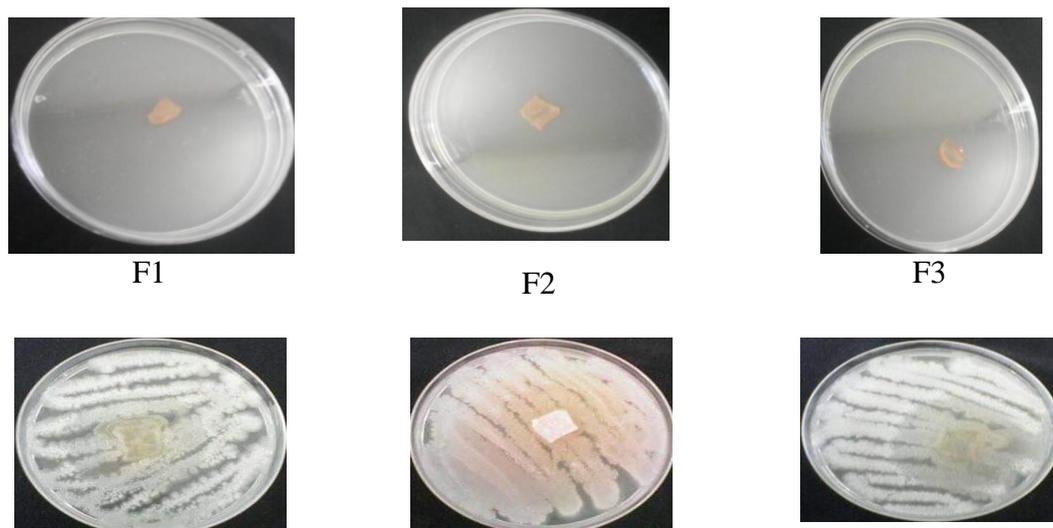
- Cependant, la souche *Staphylococcus* montre un développement énorme sur toute la surface des films, ce qui peut être expliqué, par la nature de sa membrane externe.



**Figure I.9:** Croissance de *Staphylococcus* sur tous les films

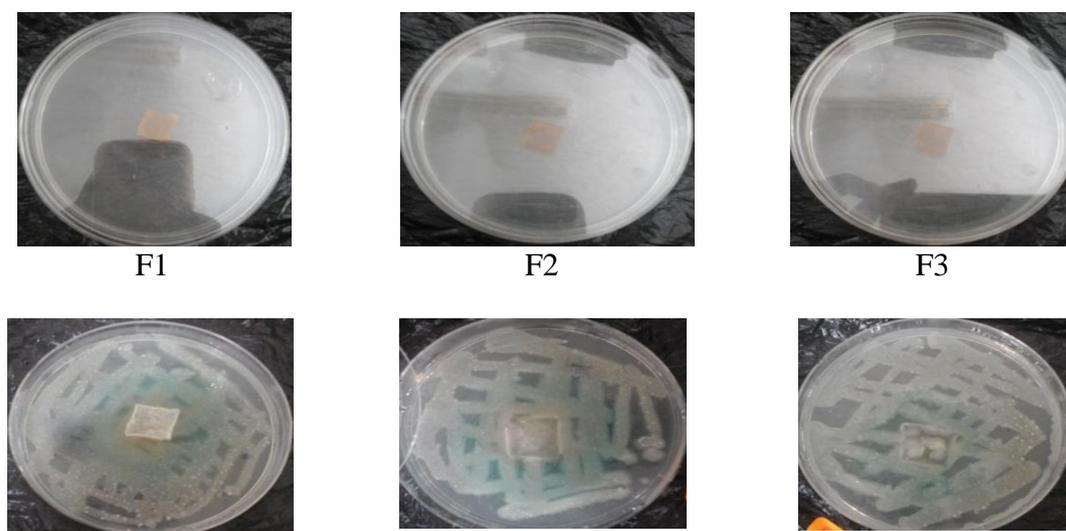


**Figure I.10 :** Croissance de *Bacillus cereus* sur tous les films



**Figure I.11 :** Croissance de Streptococcus sur tous les films

- Cependant, les souches Streptococcus et Bacillus montrent une croissance énorme et très rapide durant le premier jour, puis se poursuit graduellement jusqu'aux 3 jours



**Figure I.12 :** Croissance des suspensions des boues activées sur tous les films

- En fin l'envahissement microbien est total pour tous les films, ce phénomène est encore plus marqué après 4 jours d'incubation.

### 1.3.3 Test d'enfouissement dans le sol

Le but de ces tests est de déterminer les taux de biodégradation des films gélatine/ amidon après enfouissement dans le sol, cela est réalisé en calculant la perte de masse des résidus de dégradation au fil du temps.

#### 1.3.3.1 Protocole

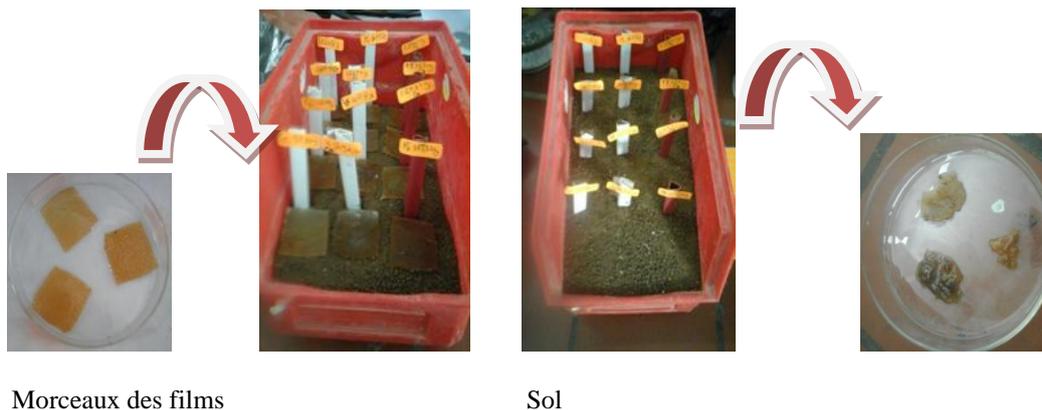
Le milieu a été tamisé avec un tamis à mailles de 2 mm. Les Films plastiques (de dimensions  $3 \times 3 \text{ cm}^2$ ), ont été enterrés dans le sol agricole à une profondeur de 7cm en dessous de la surface du sol à température ambiante  $T= 16^\circ\text{C}$ , dans des pots. L'addition de l'eau de robinet a été effectuée une fois chaque semaine pour maintenir l'humidité du sol constante pendant la phase expérimentale. Après cette période de temps, les films ont été retirés du sol rincés avec l'eau distillée en suite séchés, Le poids de tous les échantillons, F1, F2, F3, ont été prises à intervalles de temps réguliers (7 jours) pour vérifier perte de poids. Le pourcentage en perte du poids en fonction du nombre de jours était déterminé par la relation suivante [135] :

$$P\% = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100$$

$m_i$  : poids initial des films.

$m_f$  : poids finale des films

P% : perte du Poids



**Figure I.13** : L'enfouissement des films d'amidon dans le sable et dans le sol

Les résultats sont donnés dans les tableaux et sur les figures ci-dessous :

**Tableau I.3 :** Pourcentage de perte de masse des films F1 enfouis dans le sol

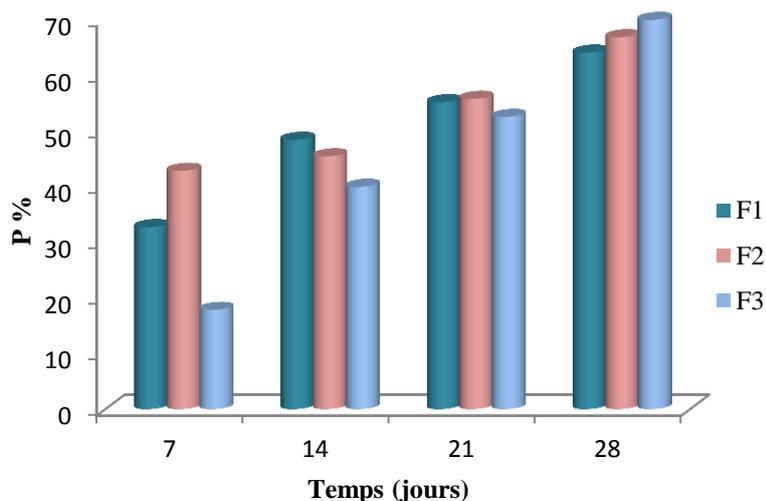
Temps (jour)	7	15	22	29
Masse initiale $m_i$ (g)	0,9720	1,2264	1,4110	1,6026
Masse finale $m_f$ (g)	0,6537	0,6321	0,6321	0,5750
P %	32,74	48,45	55,20	64,12

**Tableau I.4 :** Pourcentage de perte de masse des films F2 enfouis dans le sol

Temps (jour)	7	15	22	29
Masse initiale $m_i$ (g)	1,5822	1,6731	1,8386	1,8741
Masse finale $m_f$ (g)	0,9040	0,9123	0,8123	0,5422
P %	42,86	45,47	55,81	66,89

**Tableau I.5:** Pourcentage de perte de masse des films F3 enfouis dans le sol

Temps (jour)	7	15	22	29
Masse initiale $m_i$ (g)	0,9862	1,0920	1,5204	1,7866
Masse finale $m_f$ (g)	0,8100	0,6002	0,7210	0,6204
P %	17,86	40,00	52,57	70

**Figure I.14:** Le pourcentage de biodégradation des films enfouis dans le sol

### ***1.3.3.2 Résultats et discussions***

- Les différentes données obtenues indiquant clairement que le pourcentage de perte de masse des films augmente en fonction du temps pour tous les polymères enterrés dans le sol agricole.
- On constate que la biodégradation des films dans le sol se manifeste d'une manière considérable, cette efficacité des micro-organismes est due à la grande activité de ces bactéries dans ce milieu.
- Ces résultats montrent que la biodégradation des films F3 est plus importante, avec un taux de biodégradation de 70% au bout de 29 jours de test d'incubation dans le sol.

### ***1.4 Etude de la Biodégradation en milieu liquide***

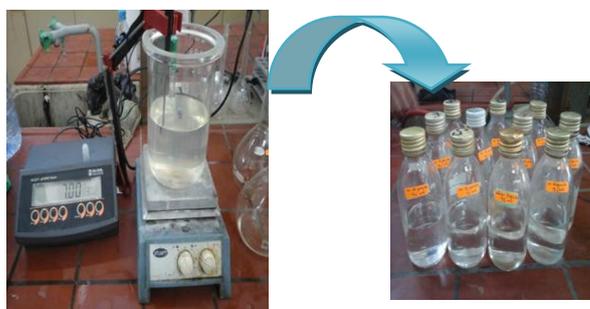
L'objectif de cette partie en premier lieu est la suivi cinétique de dégradation des films gélatine/amidon en fonction du temps d'incubation.

En deuxième lieu on examine l'influence de la concentration bactérienne des plusieurs inoculum (boue activée, sol) sur pourcentage la biodégradation des films.

#### ***1.4.1 Préparation de milieu culture***

Le milieu de culture est milieu Minéral Nutritif MMN ou les polymères sont les seule source de carbone et d'énergie sa composition est la suivante :  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ : 1,0g;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ : 0,2g;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ : 1,0 g;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ : 0,1 g;  $\text{KCl}$ : 0,15 g; extrait de levure: 0,1 g; et 1,0 mg de micro-éléments:  $\text{FeSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ : 1,0 mg,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ : 1,0 mg et  $\text{MnSO}_4$ : 1,0 mg; dans 1000 ml d'eau distillée [136].

Chaque masse est pesée soigneusement puis dissoute sous agitation magnétique dans environ de 1000 ml d'eau distillés, le pH du milieu est ajusté à 7. Le milieu liquide est ensuite stérilisé par autoclavage à 120°C pendant 20 minutes.



**Figure I.15:** Préparation de milieu liquide

### I.4.2 Etude cinétique de la biodégradation à des conditions statiques

Un volume de 5 ml des suspensions de *Staphylococcus.aureus* et *E Coli* ont été inoculé des flacons contenant 95 ml de milieu minéral nutritif avec un film gélatine comme seule source de carbone. Avant de transférer vers les milieux de culture liquides, les films ont été coupés en carré (2cm×2cm), désinfectés (30 min dans l'éthanol) et séché. Ces essais étaient réalisés pour les deux souches bactériennes durant différents période 1,2,3,4,5,et 6 jours. Ensuite 3 ml du milieu de culture ont été prélevés à différents intervalles de temps et analysée par un spectrophotomètre UV visible.



**Figure I.16:** Cinétique de la biodégradation à des conditions statiques

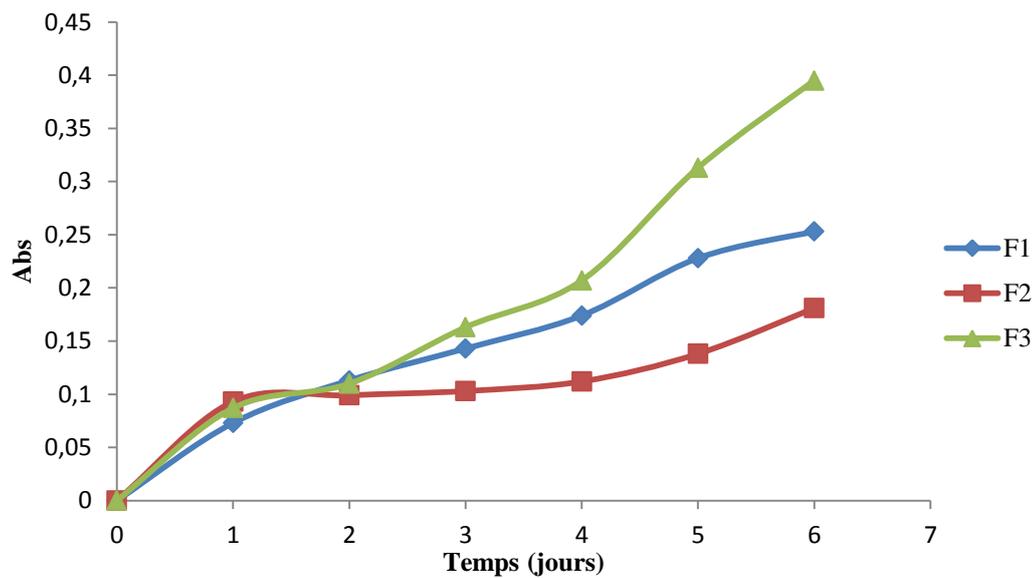
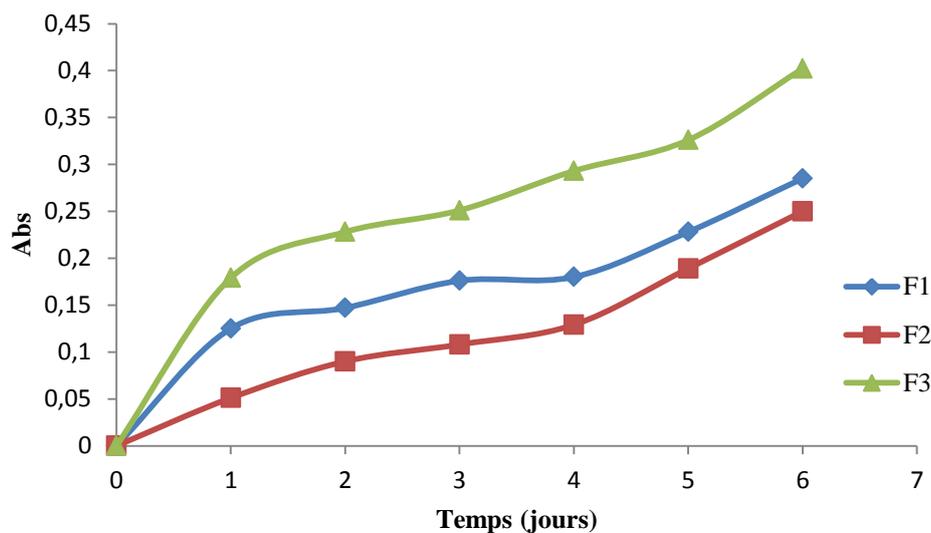
Les résultats obtenus sont représentés dans les tableaux et les figures ci-dessous :

**Tableau I.6 :** Résultat cinétique de la biodégradation des films par *E.coli*

Temps (jours)	1	2	3	4	5	6
Abs (F1)	0,073	0,119	0,143	0,174	0,228	0,253
Abs(F2)	0,093	0,109	0,122	0,197	0,213	0,299
Abs(F3)	0,083	0,110	0,163	0,207	0,313	0,395

**Tableau I.7 :** Résultat cinétique de la biodégradation des films par *S. aureus*.

Temps (jours)	1	2	3	4	5	6
Abs (F1)	0,125	0,147	0,176	0,115	0,228	0,285
Abs(F2)	0,051	0,090	0,108	0,129	0,189	0,398
Abs(F3)	0,179	0,228	0,251	0,293	0,326	0,402

**Figure I.17 :** Cinétique de la biodégradation des films par *E. coli***Figure I.18 :** Cinétique de la biodégradation des films par *S. aureus*.

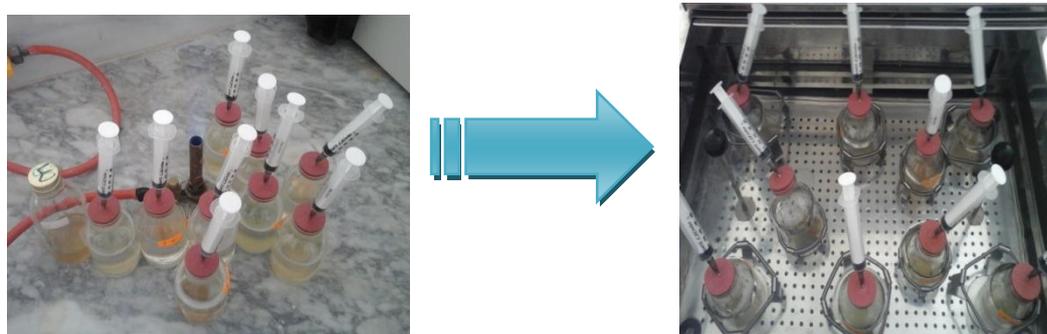
### I.4.2.1 Interprétations des résultats

- Les figures (I.17 et I.18) montre la cinétique de croissance des micro-organismes dans le milieu synthétique contenant des films gélatine / amidon ainsi que son potentiel de survie en milieu synthétique.
- L'augmentation de la densité optique confirme l'utilisation du polymère en tant que la seule source de carbone.
- On remarque une augmentation plus importante de la DO pour le film F3 par rapport au film F2 pour les deux souches Ecoli et S. aureus, ce qui montre que le film F2 est plus résistant à la biodégradation que le film F3.

### I.4.3 Etude cinétique de la biodégradation à des conditions d'agitation

Des flacons contenant 100 ml de milieu liquide stérile et un film gélatine/amidon (20mm×20mm) sont inoculés avec 5 ml de suspension de boue activée puis homogénéisée dans un bain-marie (MEMMERT de type GFL 1083) réglé à 37°C sous agitation moyenne. Chaque culture est réalisée en duplicat. Des prélèvements stériles sont effectués chaque heure afin de suivre la dégradation de polymère dans les milieux liquides par des mesures de la croissance des microbes en termes de DO à 625 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

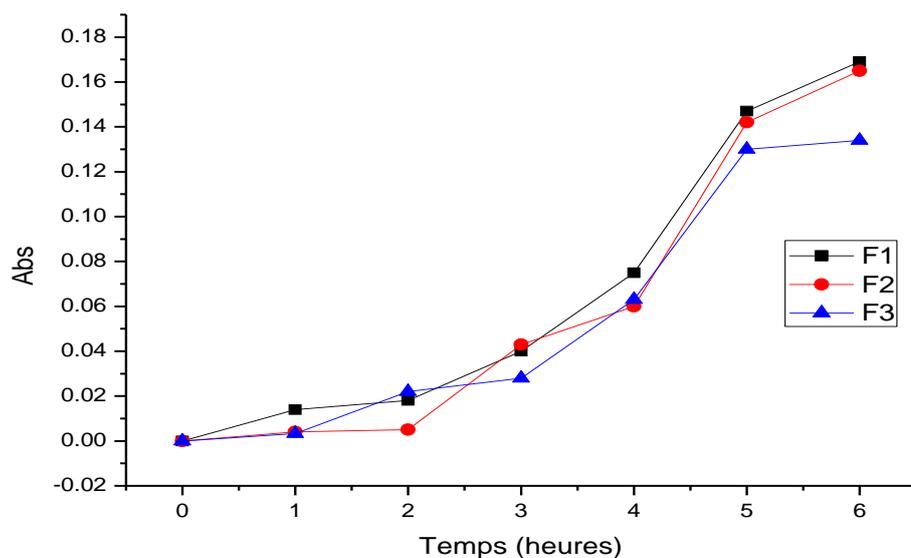
Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau et la figure suivante.



**Figure I.19 :** Dispositif expérimental de la biodégradation en milieu liquide

**Tableau I.8 :** Résultat cinétique de la biodégradation en condition d'agitation

Temps(h)	1	2	3	4	5	6
Abs (F1)	0,014	0,018	0,040	0,074	0,147	0,169
Abs(F2)	0,004	0,005	0,043	0,060	0,142	0,165
Abs(F3)	0,003	0,022	0,028	0,063	0,130	0,134



**Figure I.20 :** Cinétique de la biodégradation des films par la suspension de la boue activée

#### ***1.4.3.1 Interprétation des résultats***

- Le schéma de croissance présentée au figure. I.20 indique que le milieu est bien adapté à la croissance de ces micro-organismes.
- On constate que en présence des films gélatine/amidon la biomasse bactérienne connaît une augmentation importante qui débute de la phase d'accélération arrivant à la phase stationnaire qui atteint 0.134 ,0.165 et 0.169 au bout de 6h pour les films F3 , F2, F1 respectivement.
- L'examen de cette figure montre que le film F1 présente la DO la plus élevée veut dire que ces microorganismes peuvent le dégradé facilement.
- L'augmentation de la croissance dans le milieu synthétique, confirme que la boue activée contient un grand nombre de microbes capables de dégrader ces polymères.

#### ***1.4.4 Evaluation de la biodégradation par mesure de la perte de poids***

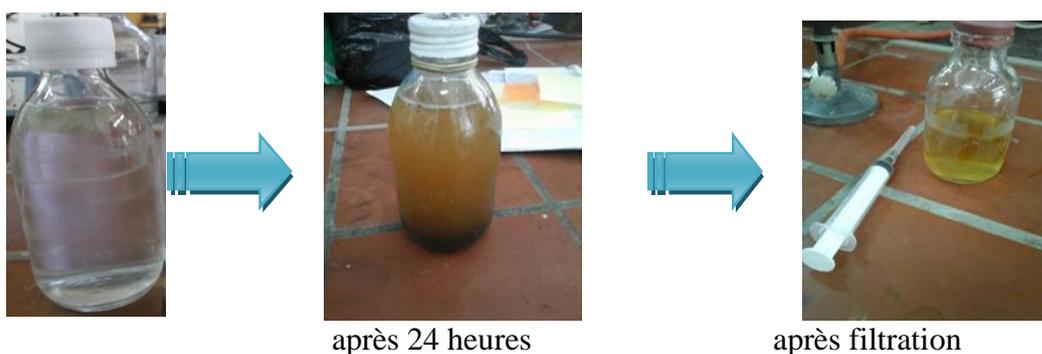
##### ***1.4.4.1 Culture bactérienne en milieu liquide***

Les communautés microbiennes choisies pour cette étude sont deux milieux

- un échantillon de boue activée est prélevé in situ à la station d'épuration des eaux usée de Tiaret
- un échantillon de sol qui a été prélevé d'une parcelle agricole.

#### I.4.4.2 Préparation de l'inoculum à partir des boues activées

Une masse de 5g de la boue activée a été mise dans 180ml de milieu liquide stérile, la solution a été incubée à 37°C pendant 48h, ensuite elle sera filtrée pour récupérer le filtrat. Ce dernier dépourvu de matières en suspension et d'aspect limpide, est utilisé comme inoculum pour réaliser les tests de biodégradation en milieu liquide avec la communauté bactérienne des boues activées.



**Figure I.21** : Préparation de l'inoculum

#### I.4.4.3 Préparation de l'inoculum à partir d'un sol agricole

Une masse de 5g du sol a été mise dans 180ml de milieu liquide stérile, la solution a été incubée à 37°C pendant 24h à 48h, ensuite elle est filtrée, le filtrat obtenu est utilisé comme inoculum pour réaliser les tests de biodégradation en milieu liquide avec la microflore du sol.

#### I.4.4.4 Le protocole

Un volume de 5ml de ces deux suspensions a été inoculé des flacons contenant 45 ml de milieu synthétique avec un film d'amidon/gélatine comme seule source de carbone. Avant de transférer vers les milieux de culture liquides, les films ont été coupés en morceaux (30mmx 30mm) pesés, désinfectés (30 min dans l'éthanol), rincés et séchés pendant 15 minutes. Ces essais étaient réalisés durant différentes périodes 7, 14, 21, et 28 jours. Le pourcentage de perte de poids est déterminé en utilisant la formule suivante:

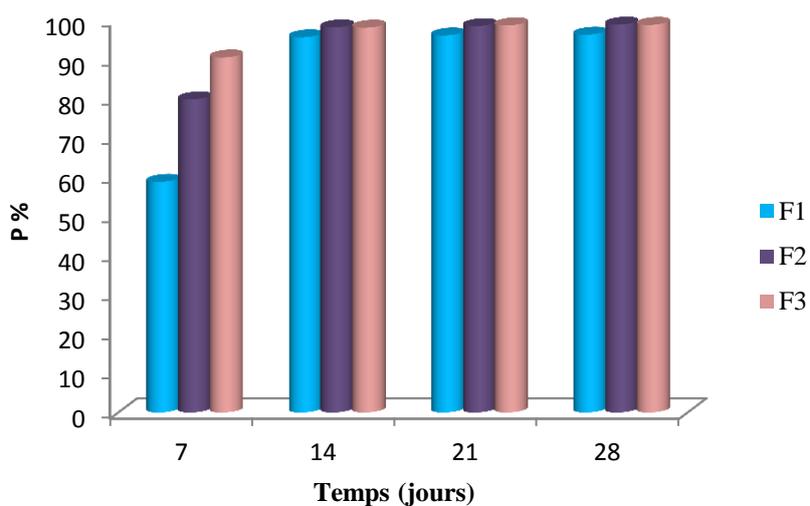
$$P\% = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100$$

Où  $m_i$  et  $m_f$  représentent la masse des films avant et après la dégradation, respectivement.

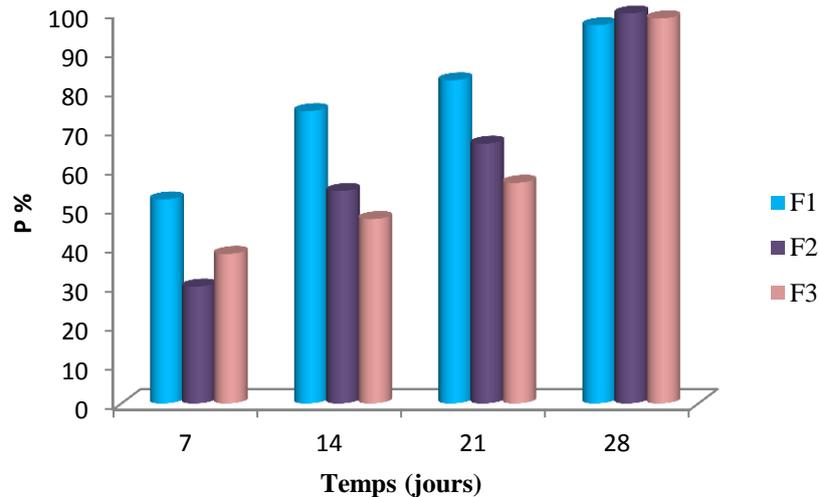


**Figure I.22 :** Manipulation sur la biodégradation in vitro

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau (annexe I.3) et sur les figures ci-dessous :



**Figure I.23 :** Taux de dégradation des films avec la suspension de boue activée



**Figure II.24 :** Taux de dégradation des films avec la suspension de sol

#### ***1.4.4.5 Résultats et discussions***

- On constate que les taux de biodégradation des films sont variables selon la nature de suspensions testées et la durée d'incubation.
- A travers ces résultats, on constate que la suspension de la boue activée à un grand pouvoir à dégradé les films plastique, ce la peut être expliqué par la grand intensité des micro-organismes qui existe dans ce milieu.
- A travers les valeurs de taux de biodégradation on note que le film F2, ce dégrade plus facilement dans les deux milieux liquide.
- Ces résultats mettant en évidence que la biodégradation en milieu liquide est plus rapide qu'en milieu solide.

# chapitre II

## Synthèse des films chargés

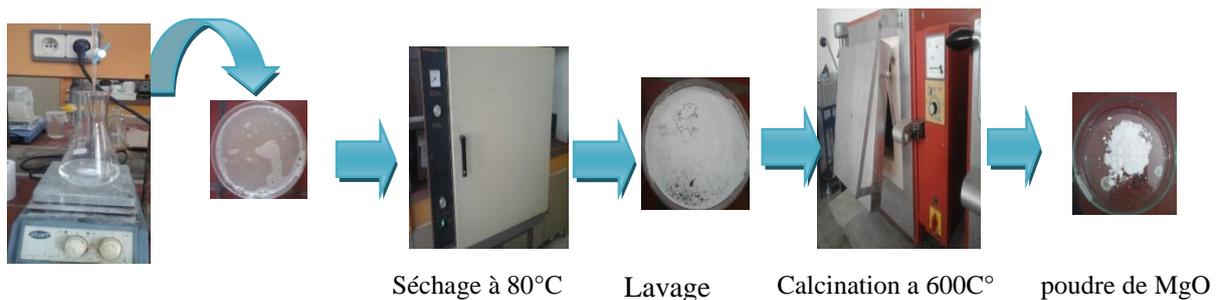
## II.1 Méthodologie expérimentale

Dans ce chapitre, nous décrivons le protocole expérimental de préparation et caractérisation des oxydes (ZnO et MgO) suivi d'une caractérisation des ces oxydes par spectroscopie infrarouge et diffraction des rayons x. Ensuite, on détaillera le procédé de la préparation de différentes formulations à base gélatine amidon chargé avec l'oxyde de zinc et l'oxyde de magnésium incorporé à différente taux massique. Enfin on fait un essai d'activité antibactérienne de différentes formulations préparé.

## II.2 Synthèse des oxydes

### II.2.1 Synthèse d'oxyde de magnésium

La synthèse d'oxyde MgO est divisée en différentes étapes, telles que le mélange, l'agitation, le séchage et la calcination de la poudre à 600°C. Initialement, 10g de  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  est dissous dans 50 ml d'eau distillée et 50 d'éthanol le mélange est mise sous agitation constante à température ambiante. Ensuite, on ajoute 20 ml de solution de urée (20%) à la solution de  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  goutte à goutte à l'aide d'une burette graduée. Après cela, la solution est maintenue sous agitation magnétique pendant 2 h .La solution finale a été séchée dans l'étuve à 100°C pendant 24 h. Ensuite, le précurseur précipité blanc a été soigneusement broyé, lavé puis séché dans l'étuve à 100°C pendant 24 h. Enfin, le précurseur préparé est calciné à 600°C pendant 4h (avec un pad de 50°C) pour obtenir des particules de MgO bien cristallisées [137].



**Figure II.1** : Synthèse de l'oxyde de magnésium

### II.2.2. Synthèse d'oxyde de zinc

Les poudres d'oxyde de zinc sont synthétisées par la méthode sol-gel. Une masse de l'acétate de zinc dihydraté (10,98 g) a été traité avec éthanol (300 ml) à 60 ° C. Le sel était complètement dissous dans environ 30 min. Acide oxalique déshydraté (12,6 g) a été dissous dans de l'éthanol (200 ml) à 50 ° C. la solution de l'acide oxalique a été ajouté lentement dans des conditions d'agitation à la solution éthanoïque chaude d'acétate de zinc. Un gel blanc épais

s'est formé ce dernier est séché à 80°C pendant 24h. Ensuite la poudre d'oxyde de zinc obtenu est calciné à 650°C pendant 4h [138].

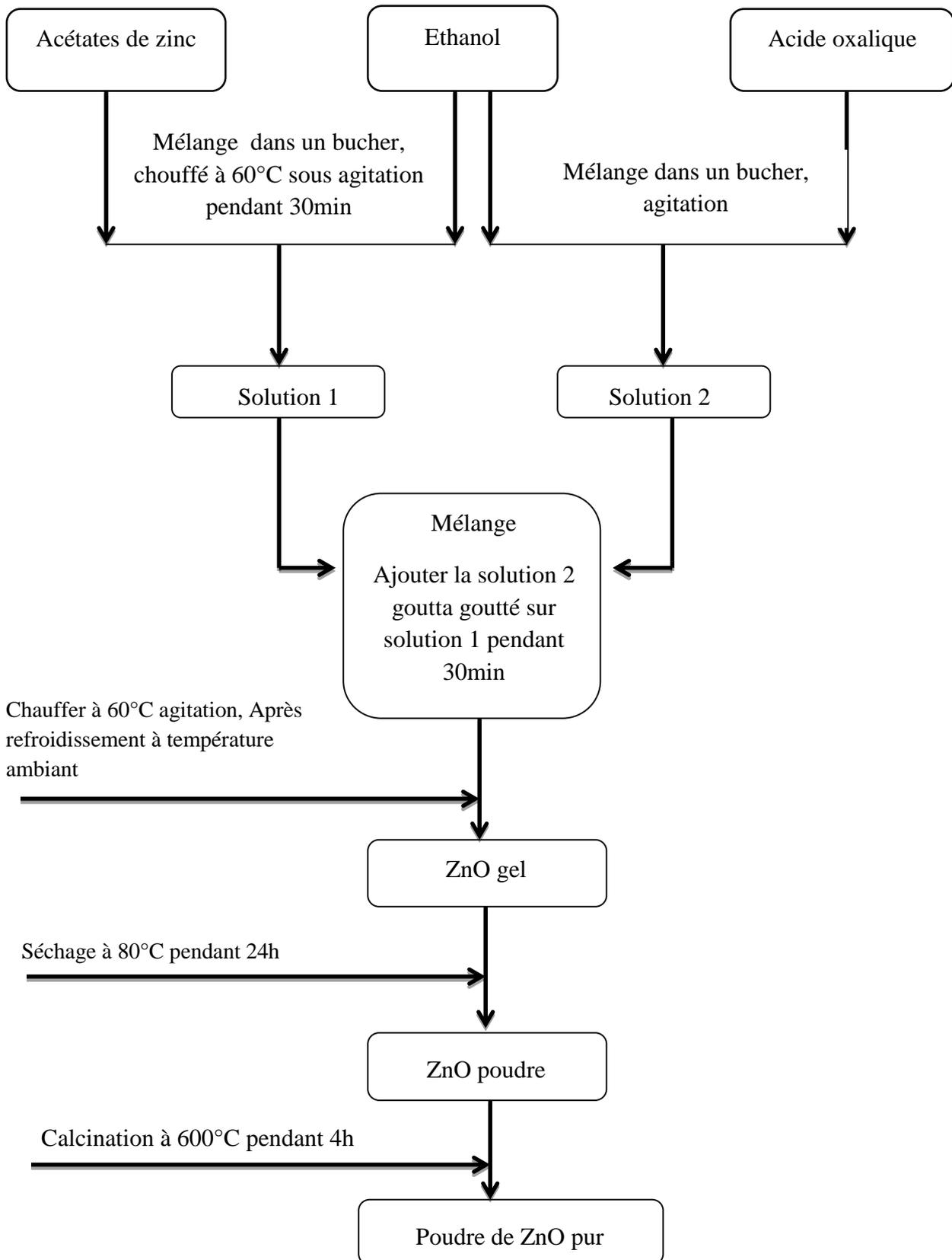


Figure II.2 : Synthèse de l'oxyde de zinc

## II.2.3 Caractérisation des oxydes

### II.2.3.1 Spectroscopie infrarouge

L'analyse par infrarouge est une méthode d'analyse structurale qui relève la nature des liaisons entre atomes dans une molécule. Les composés organiques ont, en effet, la particularité de posséder des liaisons interatomiques qui entrent en vibration sous l'action d'un rayonnement infrarouge à des longueurs d'ondes caractéristiques. Ce phénomène s'accompagne d'une consommation d'énergie lumineuse à la longueur d'onde considérée.

La spectroscopie infrarouge permet de mesurer les absorbances d'énergie des liaisons chimiques (fonction alcool, acide, méthyles, méthylène...) de toutes les composantes présentes dans les produits analysés et de les corréler à leurs concentrations, puisque l'intensité de l'absorption est directement proportionnelle à la concentration de la molécule considérée.

#### II.2.3.1.1 Spectre IR d'oxyde de magnésium

La figure II.3, montre le spectre IR pour les particules MgO. Il montre clairement que les bandes de 865 et 663  $\text{cm}^{-1}$  sont attribués à la vibration de liaison Mg-O-Mg [139].

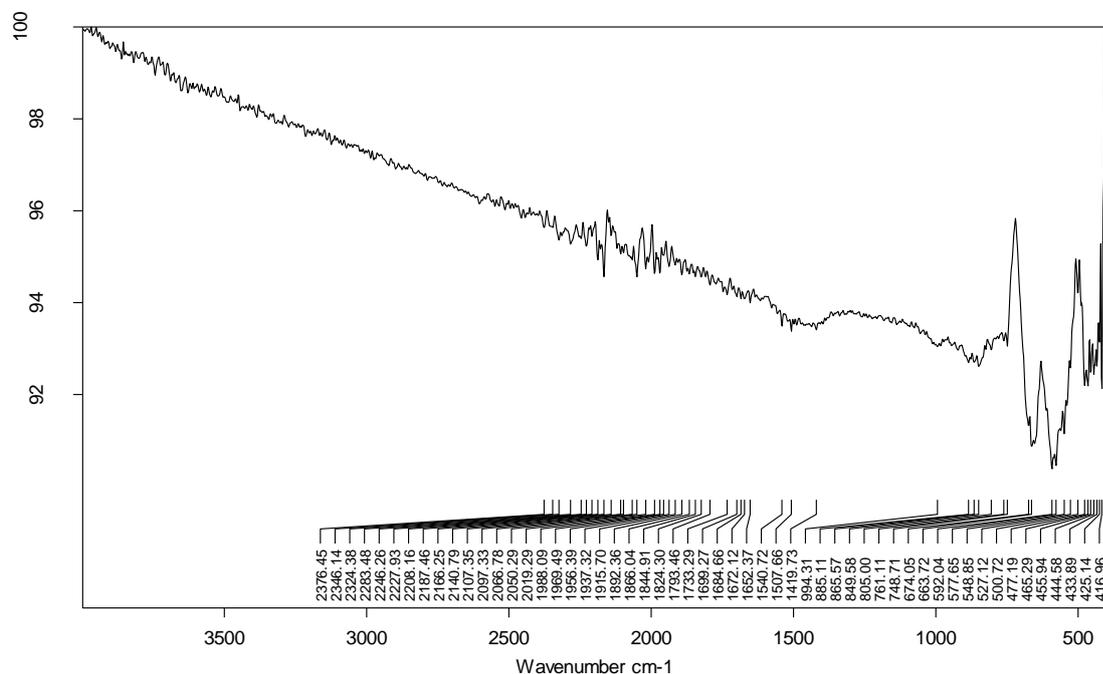


Figure II.3 : Spectre infrarouge d'oxyde de magnésium

### II.2.3.1.1 Spectre IR d'oxyde de zinc

Le spectre IR de poudre de ZnO (Figure II.4) a montré un pic caractéristique à  $3409\text{ cm}^{-1}$ , qui était attribué aux vibrations d'étirement du groupe hydroxyle. La position du pic à  $1114\text{ cm}^{-1}$  était affectée à une déformation -CH. En raison des vibrations interatomiques, les oxydes métalliques présentent généralement des bandes d'absorption dans la région des empreintes digitales inférieure à  $1000\text{ cm}^{-1}$ . [140]. Dans la région infrarouge, le pic au alentour  $493\text{ cm}^{-1}$  est lié à la vibration d'étirement de Zn-O [141].

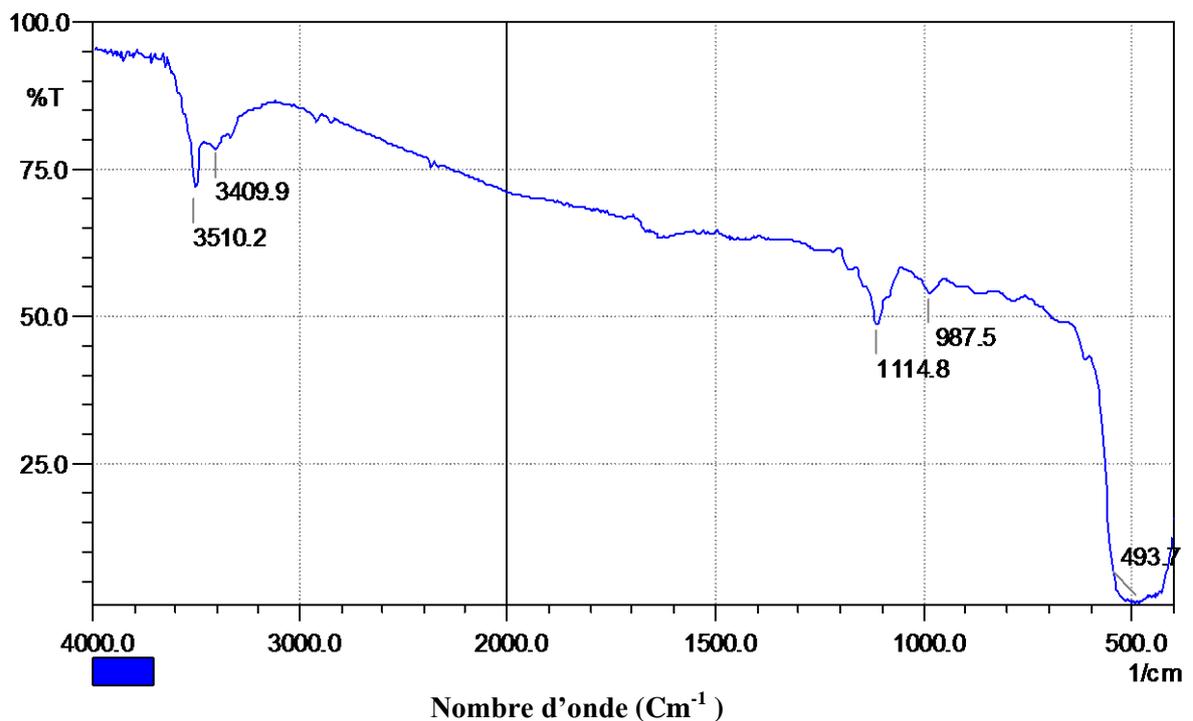


Figure II.4 : Spectre infrarouge d'oxyde de zinc

### II.2.3.2 Analyse par diffraction des rayons X (DRX)

La diffraction des rayons X est une technique qui permet de connaître l'organisation de la matière. Elle donne des informations sur la pureté, la cristallinité et la valeur des paramètres cristallographiques.

- **Principe** : Cette technique est basée sur la mesure de l'angle de diffraction associé au vecteur d'onde diffracté dans une famille de plan parallèles (figure. II.5).

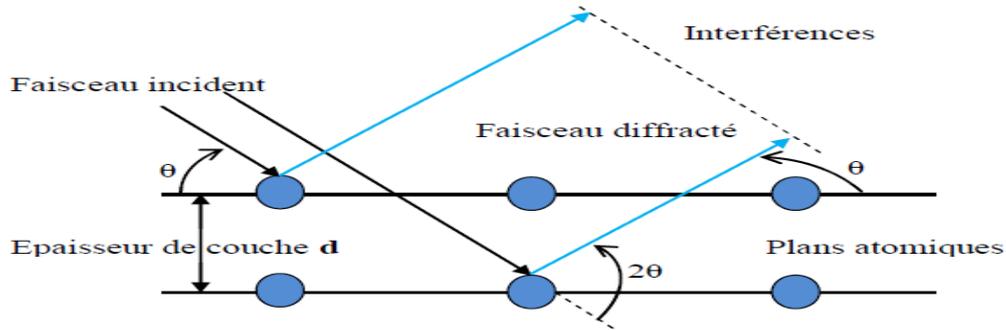


Figure II.5 : Diffraction des rayons X selon la loi de Bragg.

Chacune des familles de plans de diffraction peuvent être répertorié selon les indices de Miller (hkl). À l'aide de la loi de Bragg, il est possible d'associer la distance entre les plans d'une famille de plans à l'angle de diffraction [142] :

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

Ou :

$n$  : ordre de diffraction ( $n=1$ ) ;  $\lambda$  (nm) : longueur d'onde ;  $d_{hkl}$  (nm) : distance entre les plans ;

$\theta$  (°) : angle de Bragg (radians)

L'identification des pics de diffraction de nos échantillons a été faite à partir du spectre de ZnO et MgO stœchiométrique standard selon les fiches ASTM.

### II.2.3.2.1 Le diffractogramme d'oxyde de magnésium

Le résultat de diffraction des rayons X de nanoparticules de MgO obtenu à partir de la synthèse par sol gel est représenté sur la figure suivante :

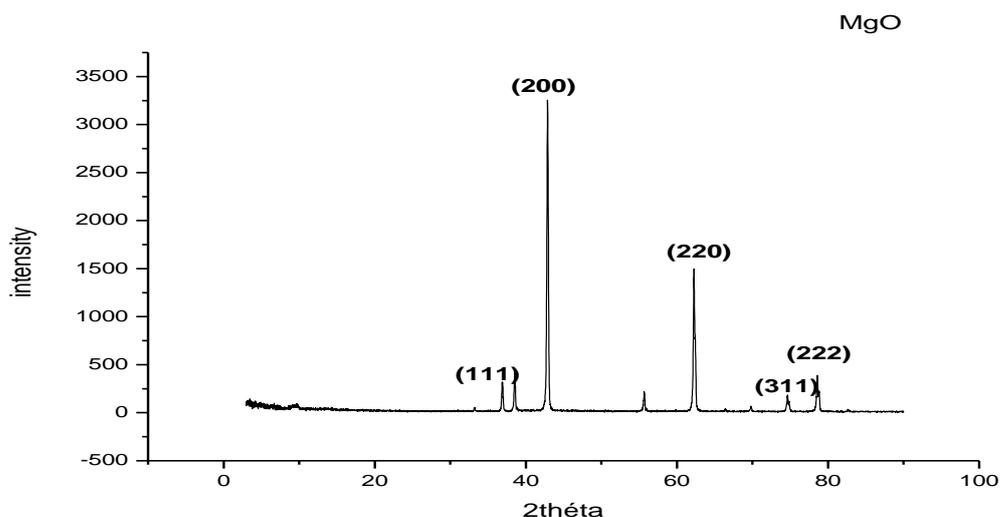
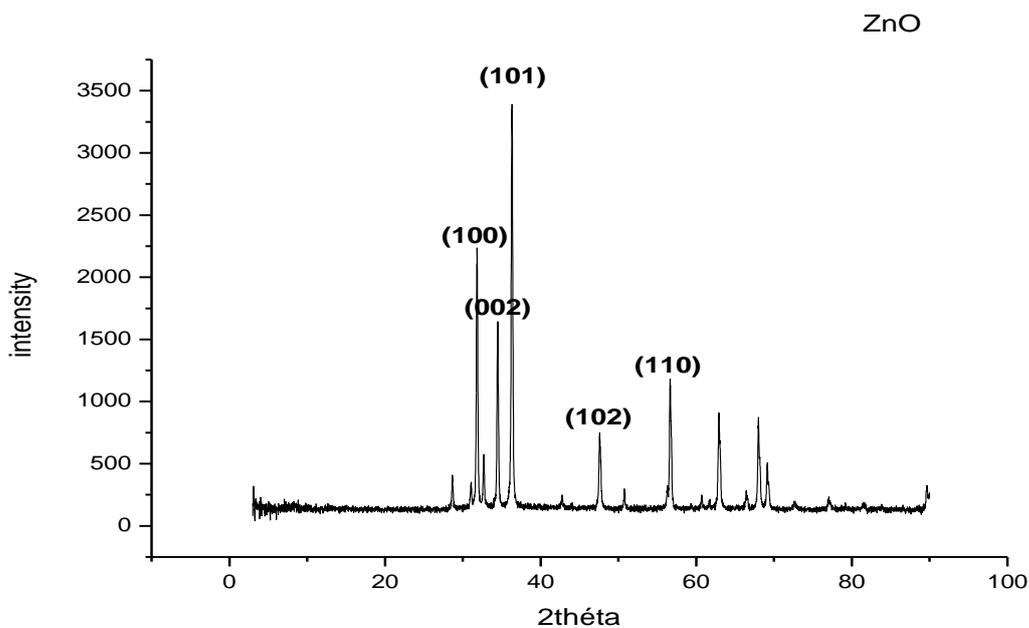


Figure II.6 : Diagramme de diffraction des rayons X d'oxyde de MgO

La figure (II.6) montre que la structure était en structure cubique à faces centrées et ces résultats ont été comparés au numéro de carte JCPDS 75-1525. Les pics ont été absorbés à  $2\theta = 37^\circ, 42^\circ, 62^\circ, 74^\circ$  et  $78^\circ$  ainsi que les valeurs des indices de meunier (1 1 1), (2 0 0), (2 2 0), (3 1 1) et (2 2 2) respectivement. Au fur et à mesure que la largeur du pic augmente, la taille des particules diminue, ce qui ressemble au matériau présent dans la plage nanométrique [143,144]. Les paramètres de réseau ont été obtenus  $a = b = c = 0,421$  nm.

### II.2.3.2.2 Le diffractogramme d'oxyde de zinc

Le diagramme de diffraction des rayons X d'oxyde de zinc préparée à partir de la synthèse de sol gel est tel qu'illustré à la figure II.7.



**Figure II.7 :** Diagramme de diffraction des rayons X d'oxyde de zinc

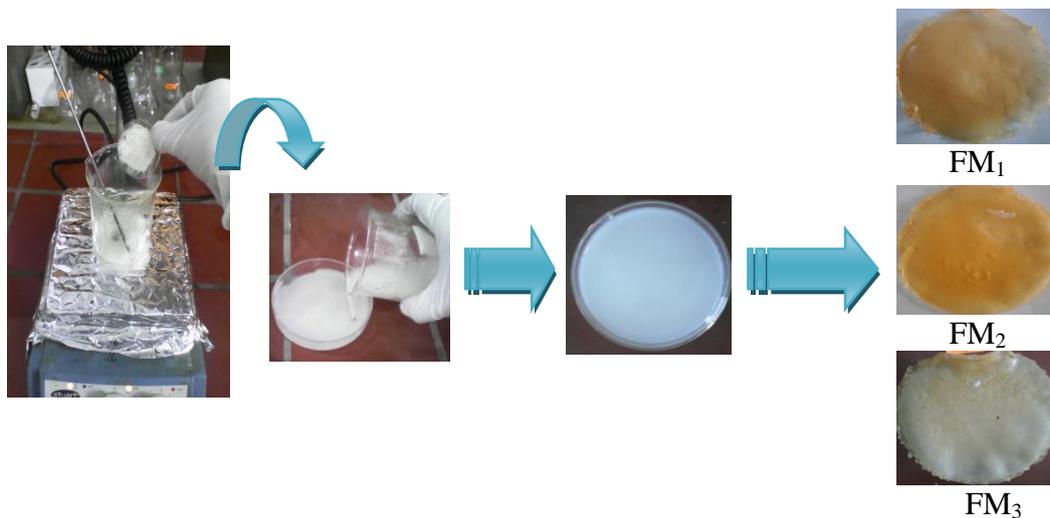
D'après la figure de diffraction des rayons X de la poudre d'oxyde de zinc préparée Les pics de diffraction de ZnO observés à  $2\theta = 31,81^\circ, 34,47^\circ, 36,30^\circ, 47,58^\circ$  et  $56,64^\circ$  sont associés à les valeurs des indices de meunier (100), (002), (101),(102) et (110) respectivement. La position et intensité relative des pics de diffraction sont en bon accord avec les standards de diffraction des poudres données (JCPDS n° 079-0704), correspondant à la structure de hexagonale wurtzite de ZnO (groupe d'espace  $P6_3mc$ ) avec des constantes cellulaires  $a = b = 3,25 \text{ \AA}$ ,  $c = 5,20 \text{ \AA}$ . Les nanoparticules de ZnO ont une orientation de

croissance préférée le long de 101 directions [145]. Les pics caractéristiques ont une intensité plus élevée, ce qui indique que les produits sont de bonne nature cristalline.

### II.3 Préparation des films gélatine/amidon chargés

#### II.3.1 Préparation des films chargés par MgO

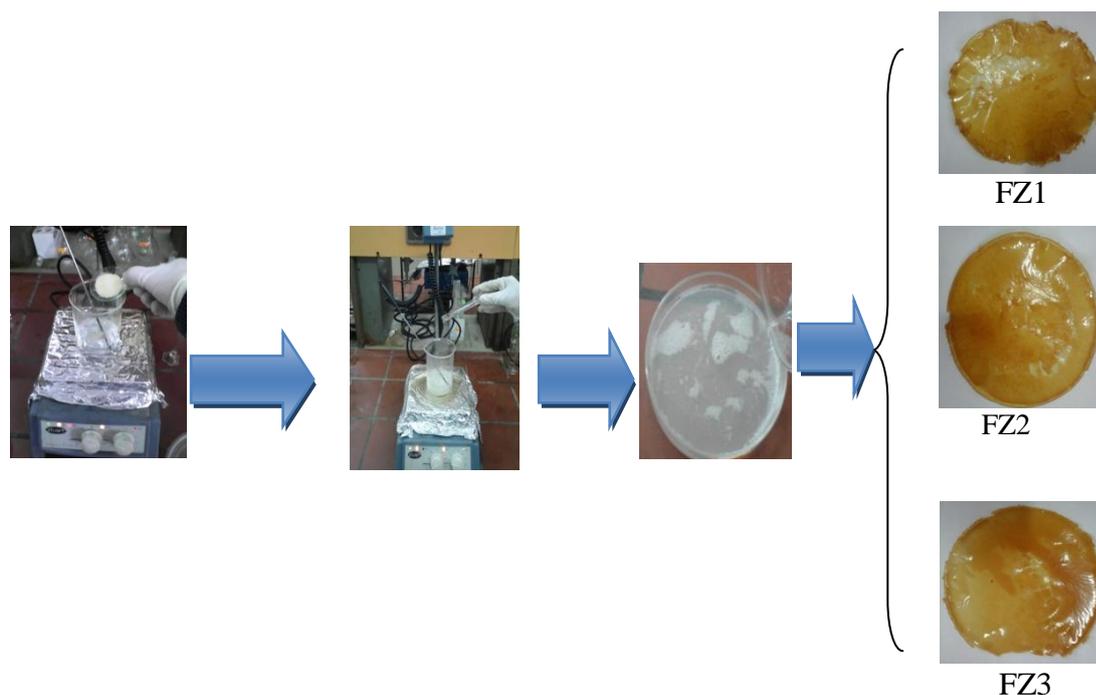
Pour la préparation des films une masse de 1 g de gélatine et 1g d'amidon ont été ajoutés lentement à un volume de 50ml d'eau distillée suivie de l'ajout de différente masse d'oxyde MgO (50,100, et 200mg), ensuite on ajout 3ml de glycérol en tant que plastifiant. Le mélange est mise sous agitation à 67°C pendant 30 min. Puis la solution filmogène a été coulée uniformément dans des boîtes pétrie, séché à la température 50°C pendant environ 24 heures. Les films ont été conservés pendant 3 jours dans un dessiccateur contenant du chlorure de calcium  $\text{CaCl}_2$ .



**Figure II.8 :** Elaboration des films gélatine amidon chargé en MgO

#### II.3.1 Préparation des films chargés par ZnO

Pour la préparation des films amidon gélatine / ZnO 1 gramme de gélatine et 1g d'amidon ont été dissous dans 50 ml d'eau distillée, puis la poudre d'oxyde de zinc a été ajoutée au mélange avec différente masse (20,50 et 100mg). En suite on ajout 3ml de glycérol en tant que plastifiant. Le mélange est maintenu sous agitation magnétique à 67°C pendant 30min. La solution filmogène a été coulé sur des boîtes de pétri et séché à 50°C pendant 24 h. Les films ont été conservés pendant 3 jours dans un dessiccateur.



**Figure II.9** : Synthèse des films chargés par ZnO

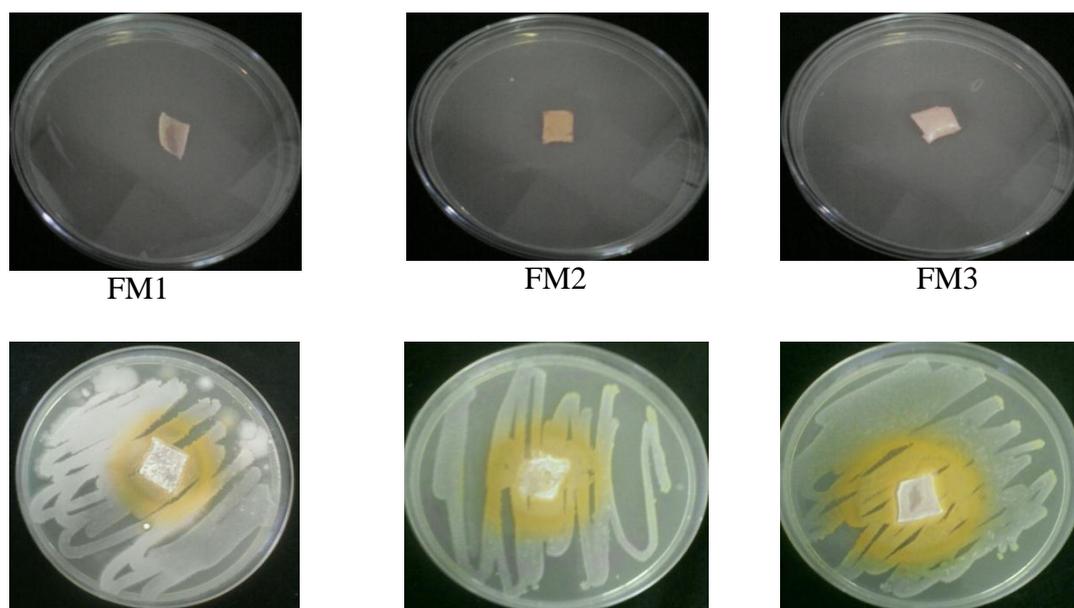
## ***II.4 Activité antibactérienne des films chargés***

### ***II.4.1 Mode opératoire***

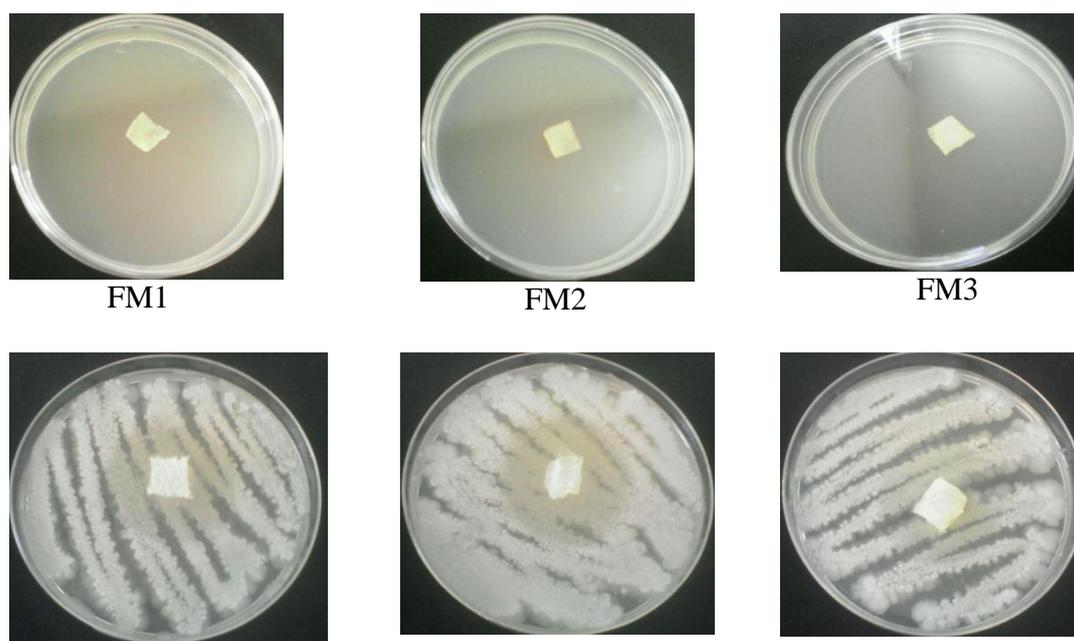
L'activité antibactérienne des films a été évaluée à l'aide de la méthode de diffusion de gélose selon Chen et al [146]. Le test de zone d'inhibition sur le milieu solide a été utilisé pour la détermination des effets antibactériens des films contre trois bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* et *Bacillus cereus*). Les films plastiques ont été découpés en forme carrée (1cm×1cm), et ensuite placés sur gélose nutritive, qui avaient été précédemment ensemencées avec l'inoculum contenant environ  $10^5$ -  $10^6$  UFC / ml de bactéries testées. Les boîtes pétries sont incubé à 37°C pendant 48 à 72 h.

L'activité antibactériens des films a été déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance bactérienne autour du film à l'aide d'un pied à coulisse (exprimé en mm ).

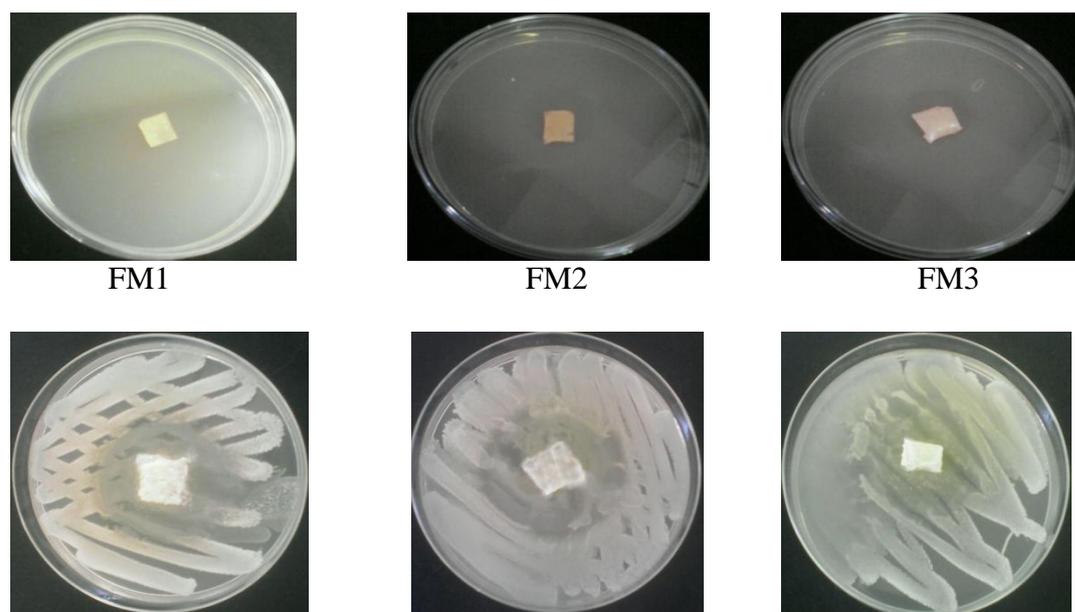
Les résultats des testes d'activité biologique des films sont représentés sur les figures ci dessous :



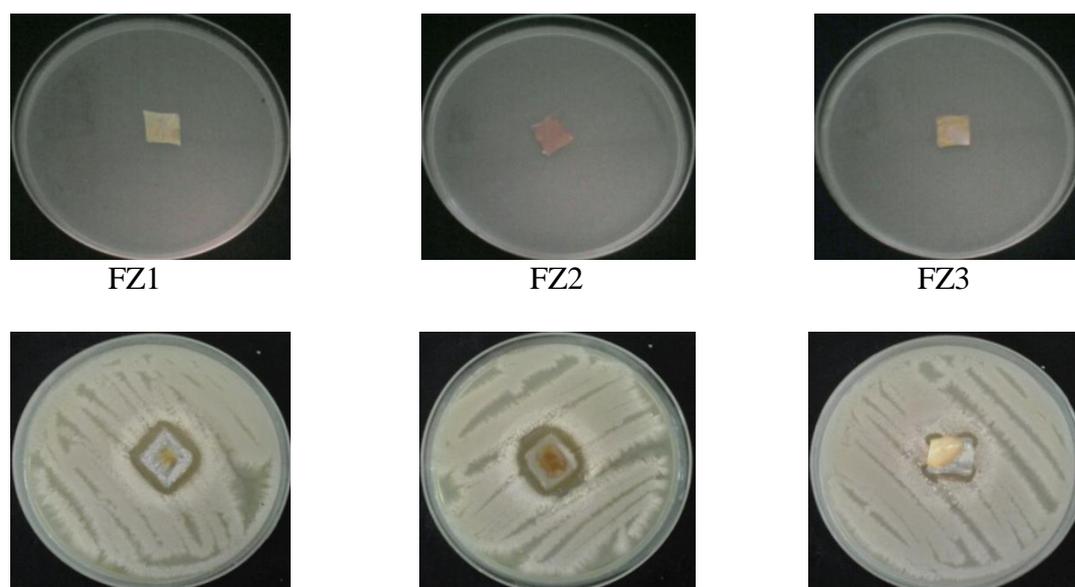
**Figure II.10 :** Activité antibactérienne des films MgO vis-à-vis S.aureus



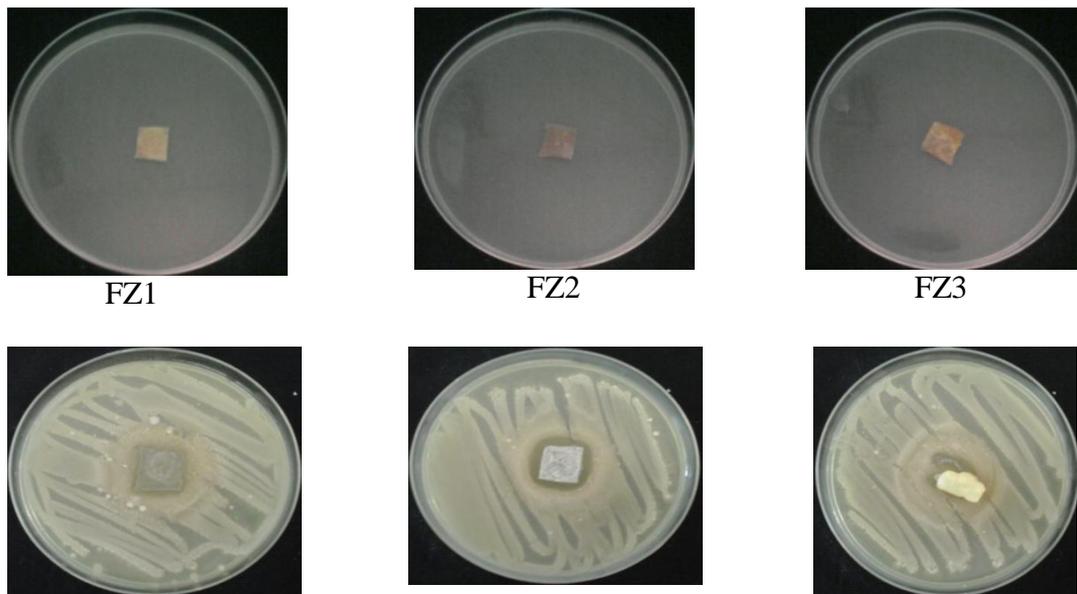
**Figure II.11 :** Activité antibactérienne des films MgO vis-à-vis Streptococcus .



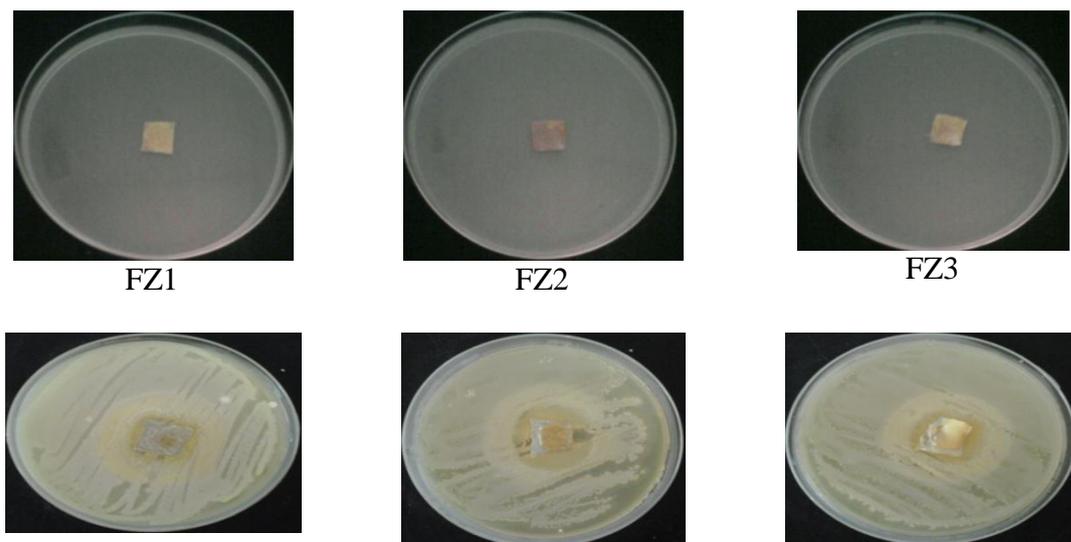
**Figure II.12 :** Zones d'inhibition des films MgO vis-à-vis *Bacillus. Cereus*



**Figure II.13 :** Activité antibactérienne des films ZnO vis-à-vis *Streptococcus*



**Figure II.14 :** Activité antibactérienne des films ZnO vis-à-vis *Bacillus. Cereus*



**Figure II.15 :** Activité antibactérienne des films ZnO vis-à-vis *Staphylococcus*

#### **II.4.2 Interprétations des résultats**

- D'après les tests de diffusion sur gélose, l'inhibition des trois souches a été clairement montrée par l'absence des colonies dans la région circulaire directement au-dessus des films.
- L'inhibition microbienne indique qu'une petite portion de d'oxyde a été libéré des films, diffusé dans la couche de gélose, puis inhibé les cellules microbiennes incluses dans la couche de gélose.

- On peut en conclure que l'addition de l'oxyde de magnésium ou l'oxyde de zinc a permis d'inhiber la croissance des bactéries testées (Staphylococcus aureus, Bacillus Cereus et Streptococcus).
- On note une augmentation de la zone d'inhibition des films chargés avec l'augmentation des taux massique des oxydes, ce qui suggère que les films chargés peuvent agir comme des films actifs.

Les moyennes des diamètres des zones d'inhibition des films élaborés sur les souches étudiées sont représentées dans le tableau ci-dessous :

**Tableau II.1:** Diamètre de la zone d'inhibition des films chargés par MgO

Films	Bactéries cibles en fonction du diamètre d'inhibition (mm)		
	Bacillus Cereus	Staphylococcus aureus	Streptococcus Thermophilus
FM1	30	32,13	30,5
FM2	35,25	36,85	32,95
FM3	36,85	39,18	34,40

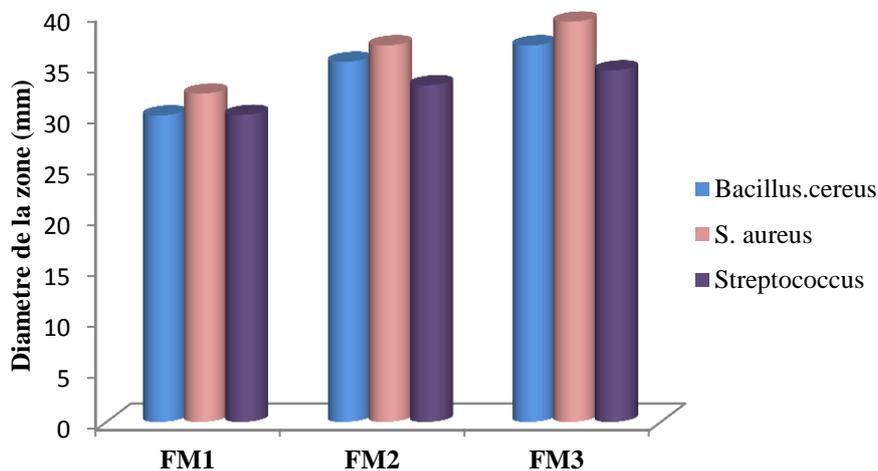
**Tableau II.2:** Diamètre de la zone d'inhibition des films chargés par ZnO

Films	Bactéries cibles en fonction du diamètre d'inhibition (mm)		
	Bacillus. Cereus	Staphylococcus aureus	Streptococcus Thermophilus
FZ1	30,60	29,40	28,30
FZ2	33,15	33,55	30,75
FZ3	35,50	37,25	34,85

- Le tableau II.1 indique que plus la concentration de l'oxyde de magnésium dans le film est grande, plus la capacité inhibitrice des bactéries est importante.
- Les résultats présentés au tableau II.2 indiquent une sensibilité des souches sélectionnées vis-à-vis des films incorporés avec ZnO.

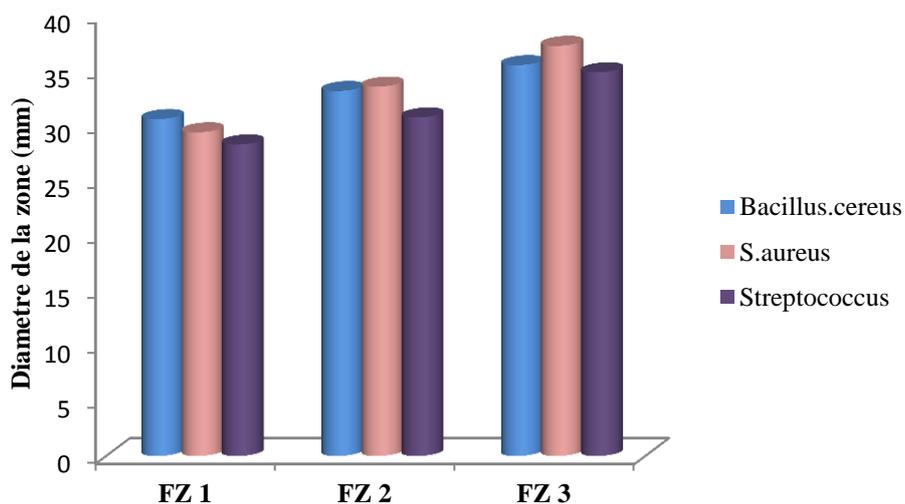
- Nous constatons que les films chargés par ZnO ont presque la même activité antibactérienne sur la bactérie S.aureus et Bacillus. Cereus

A l'aide des résultats mentionnés dans les tableaux ci-dessus, on a pu tracer l'histogramme de comparaison suivant :



**Figure II.16** : Histogramme de comparaison des zones d'inhibition des films chargés par MgO

- Les films chargés présentent des bonnes valeurs des zones d'inhibition, ce qui confirme l'existence d'une activité antibactérienne contre les trois souches testées.



**Figure II.17** : Histogramme de comparaison des zones d'inhibition des films chargés par ZnO

- Selon la figure (I.17) nous constatons que le film FZ3 présente l'activité antibactérienne la plus élevée sur *S. aureus* avec un diamètre de 37,25 mm
- On constate que les souches *S.aureus* et *Bacillus cereus* sont les plus sensibles ceci peut être attribué à la structure de la paroi de ces bactéries.
- On constate que les variations du diamètre de la zone d'inhibition observées pour les souches sont dues à la composition de la paroi cellulaire bactérienne.

### II.4.3 Cinétique de l'activité antibactérienne des films chargés par MgO

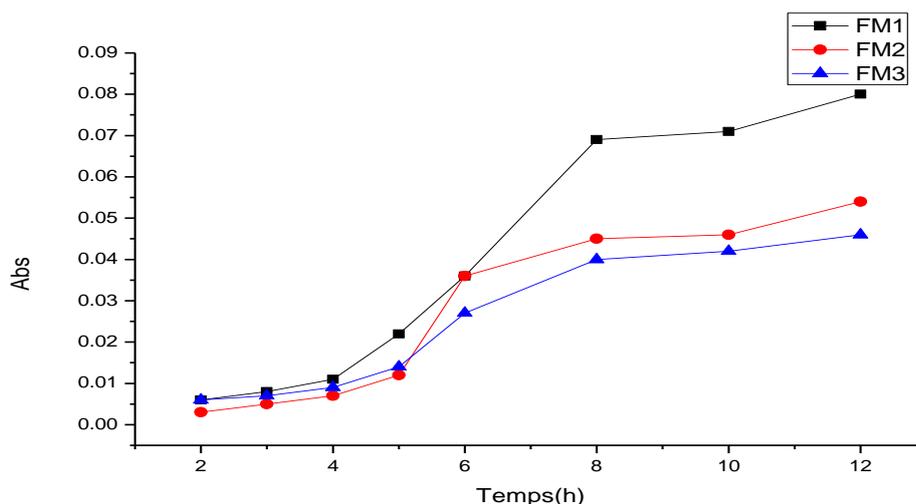
Les effets inhibitrices des films gélatine chargés par MgO contre la croissance d'une bactérie à Gram positif dans le milieu liquide, à été étudié selon la méthode de Li, Xing [147,148].

#### II.4.3.1 Mode opératoire

Des colonies de la souche *S. aureus* ont été inoculées de manière aseptique dans le milieu MNN puis incubées à 37°C pendant 24 h. des inoculum (5ml) de *Staphylococcus aureus* ont été transféré de manière aseptique dans 100 ml de milieu liquide contenant des film découpé en carrés (2 cm× 2 cm), ensuite incubés à une température de 37°C sous agitation douce. L'effet inhibitrice a été estimé périodiquement (1, 2, 4, 8, 10, 12 heures) en mesurant la turbidité du milieu cultivé à 625 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV Visible pour estimer des profils de croissance microbienne. L'expérience a été réalisée en triple pour tous les échantillons.

**Tableau II.3:** Résultat cinétique de l'activité antibactérienne des films chargés par MgO

Temps(h)	2	3	4	5	6	8	10	12
Abs(FM1)	0,006	0,008	0,011	0,022	0,036	0,069	0,071	0,080
Abs(FM2)	0,003	0,005	0,007	0,012	0,036	0,045	0,046	0,054
Abs(FM3)	0,006	0,007	0,009	0,014	0,027	0,040	0,042	0,046



**Figure II.18:** Cinétique antibactérienne des films chargés par MgO avec *S. aureus*

#### II.4.3.2 Interprétations des résultats

- On observe une différence claire entre les courbes de croissance des trois films. Pour commencer le film FM1 a montré une augmentation du nombre de cellules *Staphylococcus aureus* avec l'augmentation du temps d'incubation, comme l'indiquent les valeurs croissantes de DO.
- Le profil de croissance dans le cas de film FM2 est similaire du premier film avec une légère différence.
- Le film FM3 présente une croissance très faible, ce qui indique que la croissance des cellules *Staphylococcus aureus* est inhibée.
- On constate que l'augmentation de concentrations de l'oxyde MgO dans les films provoque une inhibition considérable de la croissance de *S. aureus*.
- Le film FM3 est la formulation la plus efficace pour inhiber *Staphylococcus aureus*.
- On constate que le film à base des polymères (gélatine/amidon) incorporé avec de l'oxyde MgO s'est avéré plus efficace contre les bactéries Gram+.

# Conclusion et perspectives

## Conclusion générale et perspectives

Les bioplastiques biosourcés peuvent pallier beaucoup d'inconvénients des plastiques synthétiques d'origine fossile et devenir ainsi une vraie alternative pour les substituer. Ces produits peuvent être utilisés dans différents secteurs comme celui de la papeterie, de l'emballage alimentaire et dans secteur pharmaceutique

L'objectif de la présente étude est d'élaborer des films plastiques à base de biopolymères gélatine/amidon, renforcés avec des charges minérale.

Notre travail a été réalisé en deux parties, la première partie est consacrée à la préparation et la caractérisation des films gélatine/amidon non chargé suivi d'un teste de dégradation des films dans les milieux solides et liquides , par une évaluation du taux de biodégradation.

La deuxième partie consiste à la synthèse des films gélatine/amidon chargé par les oxydes (ZnO ,MgO), en premier lieu, on a fait la synthèse et la caractérisation des oxyde . ,en deuxième lieu on a examiner l'activités antibactériennes des films. Cette étude est compléter par un suivi cinétique de l'activité des films vis-a-vis Staphylococcus aureus .

Au terme de nos expériences et sur la base des différents résultats expérimentaux obtenus, on a pu tirer les principales conclusions suivantes :

- Les microorganismes testés ont approuvés leur capacité de dégrader les films gélatine/amidon.
- Les expériences d'enfouissement dans le sol confirment que la biodégradation des films est considérable durant cette phase d'incubation.
- Les résultats cinétiques de la biodégradation des films dans la suspension de boue activée ont montré que ces microorganismes peuvent utiliser ces polymères comme nutriment.
- Le film F3 présente une biodégradation beaucoup plus importante que les autres films.
- A travers des valeurs des taux de biodégradation on constate que la biodégradation en milieu liquide est plus rapide qu'en milieu solide.
- la présence des oxydes (MgO et ZnO ) dans les différentes formulation a provoquer L'inhibition de ces souches sélectionnées.
- les tests de diffusion sur gélose ont confirmer l'efficacité d'inhibition des films vis-à-vis les quatre souches (Staphylococcus aureus, Bacillus Cereus , streptococcus et Ecoli).

- Les résultats cinétiques de l'activité antibactérienne ont approuvé que le film FM3 montre une bonne activité inhibitrice vis-à-vis la souche *Staphylococcus aureus*.

### ***Perspectives***

Pour une poursuite de ce travail, nous avons formulé les perspectives suivantes:

- ✓ Effectuer une caractérisation thermique des films par l'analyse thermogravimétrique (ATG).
- ✓ Faire une étude morphologique du matériau par microscopie électronique à balayage (MEB) pour confirmer l'immiscibilité des deux polymères.
- ✓ Réaliser un suivi cinétique de l'activité antibactérienne des films vis-vis une souche à gramme négatif.
- ✓ Etablir des tests mécaniques tels que l'essai de traction.

## Références Bibliographiques

- [1] Fakhouri, F. M., Fontes, L. C. B., Gonçalves, P. V., de M., Milanez, C. R., Steel, C. J., et al. (2007). Films and edible coatings based on native starches and gelatin in the conservation and sensory acceptance of crimson grapes. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27, 369–375.
- [2] Almeida, P. F. D., & Santanta, J. C. C. (2010). Avaliação da qualidade de uma gelatina obtida a partir de tarsos de frango. In Encontro Nacional de Engenharia de Produção (National Meeting of Production Engineering) São Carlos.
- [3] Hussain F., Hojjati M., Okamoto M., Gorga R.E., 2006. Review article: polymer matrix nanocomposites, processing, manufacturing and application. *Journal of Composite Materials*. 40 (17), 1511–1575.
- [4] Lin W., Xu Y., Huang C.C., Ma Y., Shannon K., Chen D.R., Huang Y.W., 2009. Toxicity of nano and micro-sized ZnO particles in human lung epithelial cells. *Journal of Nanoparticle Research*. 11, 25-39.
- [5] Badaoui Fouzia, Comportement rhéologique de solutions de biopolymères. Application au Chitosane, au Poly(vinyle alcool) et à leurs mélanges, Mémoire de Magister, Université de Boumerdes (2012).
- [6] 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.
- [7] Bewa, H. (2006). Matériaux polymères biodégradables et applications, Note de Synthèse II, Direction des Energies Renouvelables, des Réseaux et des Marchés Energétiques.
- [8] De Wilde, B. 2003. Plastiques biodégradables- emballages compostables : point de la situation. Coll. « Pack News », n°154, p. 27-33.
- [9] Xiu-Li W., K., Yang, Y.Z., Wang. 2003. «Properties of Starch blends with biodegradable Polymers». *J. Macromol. Sci., Part C- Polymer Reviews*, vol. 43, n°3, p. 385–409.
- [10] Rutot D. et P. Dubois. 2004. Les biopolymères biodégradables : l'enjeu de demain, Coll. «Chim. Nouv.», n° 86, p. 66-75.
- [11] Gu, J.D. 2003. «Microbiological deterioration and degradation of synthetic polymeric materials: recent research advances». *Int. Biodeter. Biodegr.*, vol. 52, p. 69-91.
- [12] Auras, R., B., Harte et S., Selke. 2004. «An overview of polylactides as Packaging Materials». *Macromol. Biosc.*, vol.4, p. 835–864.
- [13] Petersen, K., Nielsen P., Vaeggemose, G., Bertelsen, M., Lawther, MB., Olsen, NH., Nilsson et G., Mortensen. 1999. « Potential of biobased materials for food packaging». *Trends in Food Sci. Techno.*, vol. 10, p. 52-68.
- [14] Middleton, J.C. et A.J., Tipton 1998. «Synthetic biodegradable polymers as medical devices». *Med. Plast. Biomater. Mag.*, p. 30-39.
-

- [15] Liu, J.W., Q., Zhao et C.X., Wan. 2001. «Research progresses on degradation mechanism in vivo and medical applications of polylactic acid». *Space Med. Eng.*, vol. 14, n°4, p. 308-312.
- [16] Hasirci, V., K., Lewandrowski, J.D., Gresser, D.L., Wise et D.J., Trantolo. 2001. «Versatility of biodegradable biopolymers: degradability and an in vivo application». *J. Biotechnol.*, vol. 86, p. 135-150.
- [17] Chen, S.C. et Y., Lu. 2004. «Micro and nano-fabrication of biodegradable polymers for drug delivery». *Adv. Drug Delivery Rev.*, vol. 56, p. 1621-1633.
- [18] Liu, X., Q., Sun, H., Wang, L., Zhang et J. Y. Wang. 2005. «Microspheres of corn protein, zein, for an ivermectin drug delivery system». *Biomaterials*, vol. 26, p. 109-115.
- [19] Kumar, R., V., Choudhary, S., Mishra, I. K., Varma et B., Mattiason. 2002. «Adhesives and plastics based on soy protein products». *Ind. Crop Prod.*, vol. 16, p. 155-172.
- [20] Okada, M. 2002. «Chemical syntheses of biodegradable polymers». *Prog. Polym. Sci.*, vol. 27, p. 87-133.
- [21] Van Dam, J.E.G., B., de Klerk-Engels, P.C., Struik et R., Rabbinge. 2005. «Securing renewable resource supplies for changing market demands in a bio-based economy». *Ind. Crop Prod.*, vol.21, p. 129-144.
- [22] Warwel, S., F., Bruse, C., Demes, M., Kunz et M.R.G., Klaas. 2001. «Polymers and surfactants on the basis of renewable resources». *Chemosphere*, vol. 43, p. 39-48.
- [23] Södergard, A. et M., Stolt. 2002. «Properties of lactic acid based polymers and their correlation with composition». *Prog. Polym. Sci.*, vol. 27, p. 1123-1163.
- [24] Van de Velde, K. et P., Kiekens. 2002. «Biopolymers: overview of several properties and consequences on their applications». *Polym. Test.*, vol. 21, p. 433-442.
- [25] Rabetafika HN. Les polymères issus du végétal: matériaux à propriétés spécifiques pour des applications ciblées en industrie plastique. *Biotechnol Agron Soc Environ* 2006;10:185–196.
- [26] Albertsson, P. A. (1971). *Partition of Cell Particles and Macromolecules*, 2ème édition, New York : Wiley Interscience.
- [27] Tolstoguzov, V. (2003). Some thermodynamic considerations in food formulation. *Food Hydrocolloids*, 17, 1-23.
- [28] Turgeon, S.L., Schmitt, C., and Sanchez, C. (2007). Protein-polysaccharide complexes and coacervates. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 12, 166-178.
- [29] Frugier, D., and Audebert, R. (1994). Interaction between oppositely charged low ionic density polyelectrolytes : complex formation or simple mixture? Dans Dubin, P. L., Bock, J., Davis, R., Schultz, D. N., & Thies, C. (Eds), *Macromolecular Complexes in Chemistry and Biology*, pp135-149, Berlin : Springer Verlag.
- [30] Dickinson, E. (1993). Protein-polysaccharide interaction in food colloids. Dans: *Food colloids and polymer: Stability and mechanical proper ties*. Dickinson, E. & Walstra, P. (Eds), Royal Chem Soc., Cambridge, U.K., pp 77- 93.
-

- [31] Bergfeldt, K., Piculell, L., and Linse, P. (1996). Segregation and association in mixed polymer solutions from Flory-Huggins model calculations. *Journal of Physical Chemistry*, 100, 3680-3687.
- [32] A Schoch; Fractionation of starch by selective précipitation with butanol, *Journal of the American Chemical Society*, 64, 2957-2961. 1945.
- [33] J. Ahan , S.T. Lim . (2004). Structural changes in corn starches during alkaline dissolution by vortexing *Carbohydrate polymers* ,55,193-199.
- [34] A Imberty et al; “A revisit to the three-dimensional structure of B-type starch.”, *Biopolymers*, 27(8), 1205-1221. 1988.
- [35] D. Monnet, Etude de l'évolution des propriétés mécaniques des matériaux amylicés par sélection et/ou modifications structurales dirigées, Université de Reims , Champagne-Ardenne, 2008.
- [36] D, Henri., J.L,Malwiak ., M, Irène. Amidon Alimentation et nutrition humaine. PARIS: ESF editeur (1992), 127
- [37] E. Schwach. Etude de systèmes multiphasés biodégradables à base d'amidon de blé plastifié, Relations structure – propriétés, Approche de la compatibilisation, 2004.
- [38] D. Lafargue. Etude et élaboration de films à base de polysaccharides pour la fabrication de gélules pharmaceutiques, Thèse de Doctorat, Université de Nantes, 2007
- [39] D. MONNET, Etude de l'évolution des propriétés mécaniques des matériaux amylicés par sélection et/ou modifications structurales dirigées, Université de Reims , Champagne-Ardenne, 2008.
- [40] A, Sahoré Drogba. Propriétés physico-chimiques et fonctionnelles des tubercules et amidons d'igname (*Dioscorea*), IDDN.FR.010.0115854.000.R.P.2010.030.31500, 2010.
- [41] Lourdin, D., Coignard, L., Bizot, H., & Colonna, P. (1997). Influence of equilibrium relative humidity and plasticizer concentration on the water content and glass transition of starch materials. *Polymer*, 38(21), 5401-5406.
- [42] Chao-Chi Chuang, G., & Yeh, A. (2004). Effect of screw profile on residence time distribution and starch gelatinization of rice flour during single screw extrusion cooking. *Journal of Food Engineering*, 63(1), 21-31.
- [43] Schrieber R., Gareis H., 2007. *Gelatin handbook: theory and industrial practice*. Wiley Verlag Gmbh & Co. KGaA, Weinheim, p 45-66.
- [44] Karim A.A., Bhat R., 2009. Review fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. *Food hydrocolloids*. 23, 563-576.
- [45] Cho S.M., Kwak K.S., Park D.C., Gu Y.S., Ji C.I., Jang D.H., Lee Y.B., Kim S.B., 2004. Processing optimization and functional properties of gelatin from shark (*Isurus oxyrinchus*) cartilage. *Food Hydrocolloids*, 18 : 573- 579.
- [46] Muyonga J.H., Cole C.G.B., Duodu K.G., 2004. Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Chemistry*, 85: 81–89.
-

- [47] Singh P., Benjakul S., Maqsood S., Kishimura H., 2011. Isolation and characterisation of collagen extracted from the skin of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Food Chemistry*,124: 97–105.
- [48] Nagarajan M., Benjakul S., Prodpran T., Songtipya P., Kishimura H., 2012. Characteristics and functional properties of gelatin from splendid squid (*Loligo formosana*) skin as affected by extraction temperatures. *Food Hydrocolloids*, 29: 389-397
- [49] Jridi M., Nasri R., Ben-salem R., Lassoued I., Barkia A., Nasri M., Souissi N., 2015. Chemical and biophysical properties of gelatin extracted from the skin of octopus (*Octopus vulgaris*). *Food Science and Technology*, 60: 881-889.
- [50] Boran G., Regenstein J. M.,2010. Chapitre 5: Fish gelatin in advances in Food and Nutrition Reaserch, Buckle K., Camire M. E., Clemens R., Heymann H., Hutkins R., Jackson R., Lelieveld H., Lund D. B., Weaver C., rolstad R., volume 60, *Elsevier*, p : 120-140.
- [51] Mariod A.A., Abdel-Wahab S.I., Ibrahim M.Y., Mohan S., Abd Elgadir M., Ain N.M., 2011 . Preparation and characterisation of gelatin from two Sudanese edible insects. *Journal Food Science and Engineering*, 1 : 45-55.
- [52] Cho S. M., Gu Y. S., Kim S. B., 2005.Extracting optimization and physical properties of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) skin gelatin compared to mammalian gelatins. *Food hydrocolloids*, 19: 221-229.
- [53] Fernandez-Diaz M.D., Montero P., Gomez-Guillen M.C., 2001.Gel properties of collagens from skins of cod (*Gadus morhua*) and hake (*Merluccius merluccius*) and their modification by the coenhancers magnesium sulphate, glycerol and transglutaminase. *Food Chemistry*,74:161-167.
- [54] Mariod A. A., Adam H. F., 2013.Review: gelatin, source, extraction and industrial application. *Acta Scientiarum Polonorum, Technol. Aliment.*, 12(2) : 135-147.
- [55] Gómez-Guillén M. C., Turnay J., Fernandez-Diaz M. D., Ulmo N., Lizarbe M. A., Montero P., 2002.Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. *Food Hydrocolloids*, 16: 25-34.
- [56] Karim A , and A., Bhat R., 2008. Gelatin alternatives for food industry: recent developments, challenges and prospects. *Trends in food science and technology*, 19:644-656.
- [57] Gómez-GuillénM.C., Giménez B., López-Caballero M.E., Montero P., 2011. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review.*Food Hydrocolloids*, 25: 1813-1827.
- [58] Surh J., Decker E. A., McClements J., 2006. Properties and stability of oil-in-water emulsion stabilized by fish gelatin. *Food Hydrocolloids*, 20: 596-606.
- [59] Badii F., Howell N. H., 2006. Fish gelatin: Structure, gelling properties and interaction with egg albumen proteins.*Food Hydrocolloids*,20: 630-640.
-

- [60] Rbii K., 2010. Formation d'agrégats de hauts poids moléculaires dans la gélatine et comportement en solution aqueuse : pathologie, toxicologie, génétique et nutrition. Thèse de doctorat de l'université de Toulouse. P : 32.
- [61] Ofri R. A., 1999. Preparation of gelatin from fish skin by an enzyme aided process. Msc. Thesis, McGill university, Montreal, Canada, p: 5-14.
- [62] Olijve J., Mori F., Toda Y., 2001. Influence of the Molecular-Weight Distribution of Gelatin on Emulsion Stability. *Journal of Colloid and Interface Science*, 243 : 476– 482.
- [63] Lobo L., 2002. Coalescence during emulsification. 3. Effect of gelatin on rupture and coalescence. *Journal of Colloid and Interface Science*, 245: 165-174.
- [64] Bigi, A., Panzavolta, S. & Rubini, K. (2004). Relationship between triple-helix content and mechanical properties of gelatin films. *Biomaterials*, 25, 5675-5680.
- [65] Djabourov, M. Maquet, J. Theveneau, H., Leblond, J., & Papon, P. (1985). Kinetics of gelation of aqueous gelatin solutions. *British Polymer Journal*, 17 (2), 169-174.
- [66] Harrington, W.F., & Rao, N.V. (1970). Collagen structure in solution. I. Kinetics of helix regeneration in single-chain gelatins. *Biochemistry*, 9 (19), 3714–3724.
- [67] Krochta, J.M. et De Mulder-Johnston, C. (1997). Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities. *Food Technol.*, 51(2), 61–74.
- [68] Kester, J.J. et Fennema, O.R. (1986). Edible films and coatings: a review. *Food Technol.*, 40(12), 47–59.
- [69] Rhim, J.W. et Perry, K.W. (2007). Natural Biopolymer-Based Nanocomposite Films for Packaging Applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(4), 411 — 433.
- [70] Cuq, B., Gontard, N., Aymard, C. et Guilbert, S. (1997). Relative humidity and temperature effects on mechanical and water vapor barrier properties of myofibrillar protein-based films. *Polymer Gels and Networks*, 5(1), 1–15.
- [71] Baldwin, E.A. (1994). Edible coatings for fresh fruits and vegetables: past, present and future. In: *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality* (Krochta, J. M., Baldwin, E. A., and Nisperos-Carriedo, M. O., eds.), pp. 25–64. Technomic Publishing Company, Inc., Lancaster, PA.
- [72] Rhim, J.W. (2004a). Increase in water vapor barrier properties of biopolymer-based edible films and coatings by compositing with lipid materials. *Food Sci. Biotechnol.*, 13, 528–535.
- [73] Kamper, S.L. et Fennema, O. (1984). Water vapor permeability of an edible, fatty acid bilayer films. *J. Food Sci.*, 49, 1482–1485.
- [74] Krochta, J.M. (2002). Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status, and opportunities. In: *Protein-Based Films and Coatings* (Gennadios, A. ed.), 1–41. CRC Press, Boca Raton, FL.
- [75] Sothornvit, R. et Krochta, J. M. (2000). Plasticizer effect on mechanical properties of  $\beta$ lactoglobulin films. *Journal of Food Engineering*, 50, 149–155.
-

- [76] Han, J.H. (2003). Antimicrobial food packaging. In: Novel Food Packaging Techniques (Ahvenainen, R. ed.), 50–70. Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, UK.
- [77] Chandra, R. and Rustgi, R. (1998). Biodegradable polymers. *Prog Polym Sci*, 23, 1273–335.
- [78] Rhim, J.W. et Perry, K.W. (2007). Natural Biopolymer-Based Nanocomposite Films for Packaging Applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(4), 411 — 433.
- [79] Souza, A.C., Benze, R., Ferrão, E.S., Ditchfield, C., Coelho, A.C.V. et Tadini, C.C. (2012). Cassava starch biodegradable films: Influence of glycerol and clay nanoparticles content on tensile and barrier properties and glass transition temperature. *LWT – Food Science and Technology*, 46(1), 110 – 117.
- [80] García, N.L., Ribba, L., Dufresne, A., Aranguren, M. & Goyanes, S. (2011). Effect of glycerol on the morphology of nanocomposites made from thermoplastic starch and starch nanocrystals. *Carbohydrate Polymers*, 84, 203 – 210.
- [81] Alves, V.D., Mali, S., Beléia, A. and Grossmann, M. V. E. (2007). Effect of glycerol and amylose enrichment on cassava starch film properties. *Journal of Food Engineering*, 78(3), 941–946.
- [82] Cyras, V. P., Manfredi, L. B., Ton-That, M-T. & Vázquez, A. (2008). Physical and mechanical properties of thermoplastic starch/montmorillonite nanocomposite film. *Carbohydrate Polymers*, 73, 55 – 63.
- [83] Famá, L., Flores, S. K., Gerschenson, L. et Goyanes, S. (2006). Physical characterization of cassava starch biofilms with special reference to dynamic mechanical properties at low temperatures. *Carbohydrate Polymers*, 66, 8–15.
- [84] Kampeerappun, P., Ahtong, D., Pentrakoon, D. and Srikulkit, K. (2007). Preparation of cassava starch/montmorillonite composite film. *Carbohydrate Polymers*, 67(2), 155–163.
- [85] Kechichian, V., Ditchfield, C., Veiga-Santos, P. et Tadini, C.C. (2010). Natural antimicrobial ingredients incorporated in biodegradable films based on cassava starch. *LWT - Food Science and Technology*, 43(7), 1088–1094.
- [86] Talja, R. A., Helén, H., Roos, Y.H. and Jouppila, K. (2007). Effect of various polyols and polyol contents on physical and mechanical properties of potato starch-based films. *Carbohydrate Polymers*, 67(3), 288–295.
- [87] Mali, S., Grossmann, M. V. E., Garcia, M. A., Martino, M. M. et Zaritzky, N. E. (2002). Microstructural characterization yam starch films. *Carbohydrate Polymers*, 50, 379–386.
- [88] López, O.V., Lecot, C.J., Zaritzky, N.E. and García, M. A. (2011). Biodegradable packages development from starch based heat sealable films. *Journal of Food Engineering*, 105(2), 254–263.
- [89] Wu, H., Liu, C., Chen, J., Chang, P.R., Chen, Y. and Anderson, D.P. (2009). Structure and properties of starch/ $\alpha$ -zirconium phosphate nanocomposite films. *Carbohydrate Polymers*, 77(2), 358–364.
- [90] Wilhelm, H.-M., Sierakowski, M.-R., Souza, G.P. & Wypych, F. (2003a). Starch films reinforced with mineral clay. *Carbohydrate Polymers*, 52, 101 -110.
-

- [91] Wilhelm, H.M., Sierakowski, M.R., Souza, G.P. and Wypych, F. (2003b). The influence of layered compounds on the properties of starch/layered compound composites. *Polymer International*, 52(6), 1035–1044.
- [92] Almasi, H., Ghanbarzadeh, B. and Entezami, A.A. (2010). Physicochemical properties of starch-CMC-nanoclay biodegradable films. *International journal of biological macromolecules*, 46(1),1–5,.
- [93] Li, R., Liu, C. et Ma, J. (2011). Studies on the properties of graphene oxide-reinforced starch biocomposites. *Carbohydrate Polymers*, 84(1), 631–637.
- [94] Greener Donhowe, I. et Fennema, O. (1994). Edible films and coatings; characteristics, formation, definitions, and testing methods. In J. M. Krochta, E. A. Baldwin, et M. NisperosCarriedo. *Edible coatings and films to improve food quality* (pp. 1-24). Lancaster: Technomic.
- [95] Santacruz, I., Ferrari, B., Nieto, M. I. et Moreno, R. (2004). Graded ceramic coatings produced by thermogelation of polysaccharides. *Materials Letters*, 58(21), 2579-2582.
- [96] Podczeck, F. et Jones, B. (2004). *Pharmaceutical Capsules Second Edition*. London: Pharmaceutical Press. Preservation, theory and practice. Mathlouthi, M., (Ed.), Elsevier Applied Science, London.
- [97] Singh, G.D., Joyce E. M., Beddow J. B., Mason T. J., 2012. Evaluation of antibacterial activity of ZnO nanoparticles coated sonochemically onto textile fabrics. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*.p:107-113.
- [98] Y. Liu, L. He, A. Mustapha, H. Li, Z. Hu, and M. Lin, "Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against Escherichia coli O157: H7," *Journal of applied microbiology*, vol. 107, pp. 1193-1201, 2009.
- [99] M. Rai, A. Yadav, and A. Gade, "Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials," *Biotechnology advances*, vol. 27, pp. 76-83, 2009.
- [100] Matsui, M. (1989). *The Journal of chemical physics*, 91, 489-494.
- [101] D.R. Lide, *Handbook of chemistry and physics*, CRC Press, Boca Raton, FL, 87<sup>e</sup>édition, 2007
- [102] E.D. Palik, *Handbook of optical constants of solids*, Volume 1, 2 and 3. Academic Press, 1998.
- [103] G. Timmer, G. Borstel, Electronic structure of nickel, iron impurities in MgO, *Phys. Rev. B* 43 (1991) 5098.
- [104] L. Dagens, W. B. Fowler, Hartree-Fock band structure and optical gap in solid Neon and Argon, *Phys. Rev. B* 5 (1972) 641-648.
- [105] C. Bondoux *et al.* MgO insulating films prepared by sol–gel route for SIC substrate, *Journal of the European Ceramic Society* 25 (2005) 2795-2798.
- [106] Ouraipryvan, P., Sreethawong, T. and Chavadej, S., Synthesis crystalline MgO nanoparticle with mesoporous- assembled structure via a surfactant-modified sol-gel process. *Materials Letters*, 63, 1862-1865 (2009).
-

- [107] Mirzaei, H. and Davoodnia, A., Microwave assisted sol-gel synthesis of MgO nanoparticles and their catalytic activity in the synthesis of hantzsch 1, 4- dihydropyridines. *Chinese Journal of Catalysis*, 33, 1502-1507 (2012).
- [108] Bertinetti, L., Drouet, C., Combes, C., Rey, C., Tampieri, A., Coluccia, S. and Martra, G., Surface characteristics of nanocrystalline apatites: Effect of MgO surface enrichment on morphology, surface hydration species, and cationic environments. *Langmuir*, 25, 5647-5654 (2009).
- [109] Boubeta, C. M., Bacells, L., Cristofol, R., Sanfeliu, C., Rodriguez, E., Weissleder, R., Piedrafita, S., Simeonidis, K., Angelakeris, M., Sandiumenge, F., Calleja, A., Casas, L., Monty, C. and Martinez, B., Self-assembled multifunctional Fe/MgO nanospheres for magnetic resonance imaging and hyperthermia. *Nanomedicine*, 6, 362-370 (2010).
- [110] Di, D. R., He, Z. Z., Sun, Z. Q. and Liu, J., A new nano-cryosurgical modality for tumor treatment using biodegradable MgO nanoparticles. *Nanomedicine*, 8, 1233-1241 (2012).
- [111] M.H. Choi, T.Y. Ma, *Mater. Lett.* 62, 1835–1838 (2008)
- [112] P. J. P. Espitia, N. d. F. F. Soares, J. S. dos Reis Coimbra, N. J. de Andrade, R. S. Cruz, and E. A. A. Medeiros, "Zinc oxide nanoparticles: synthesis, antimicrobial activity and food packaging applications," *Food and Bioprocess Technology*, vol. 5, pp. 1447-1464, 2012.
- [113] L.-E. Shi, Z.-H. Li, W. Zheng, Y.-F. Zhao, Y.-F. Jin, and Z.-X. Tang, "Synthesis, antibacterial activity, antibacterial mechanism and food applications of ZnO nanoparticles: a review," *Food Additives & Contaminants: Part A*, vol. 31, pp. 173-186, 2014.
- [114] S. B. Kulkarni, U. M. Patil, R. R. Salunkhe, S. S. Joshi, and C. D. Lokhande, "Temperature impact on morphological evolution of ZnO and its consequent effect on physico-chemical properties," *Journal of Alloys and Compounds*, vol. 509, pp. 3486-3492, 2011/02/24/ 2011.
- [115] Luc BÉAUR, Propriétés excitoniques de puits quantiques ZnO/(Zn,Mg)O, Discipline Information, Systèmes et Structures (I2S), Thèse de Docteur de l'Université de Montpellier 2, (2011).
- [116] J.M. Davidson, C. H. Lawrie, And K. Sohail. *Ind. Eng. Chem. Res*, 34, 2981, (1995).
- [117] G. Gordillo, And C. Calderon, *Adv. Mat. Sci & Tech.*, 70, 2230, (1997).
- [118] T. Brouri, « Élaboration Et Etude Des Propriétés Electriques De Couches Minces Et De Nano-Fils De ZnO », Université Paris-Est, (2011).
- [119] Z. Yuan, W. Zhou, T. Hu, Y. Chen, F. Li, Z. Xu, et al., "Fabrication and properties of silicone rubber/ZnO nanocomposites via in situ surface hydrosilylation," *Surface Review and Letters*, vol. 18, pp. 33-38, 2011.
- [120] W. Rathnayake, H. Ismail, A. Baharin, I. Bandara, and S. Rajapakse, "Enhancement of the antibacterial activity of natural rubber latex foam by the incorporation of zinc oxide nanoparticles," *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 131, 2014.
- [121] S. Tjong and G. Liang, "Electrical properties of low-density polyethylene/ZnO nanocomposites," *Materials chemistry and physics*, vol. 100, pp. 1-5, 2006.
-

- [122] Z. Song, T. A. Kelf, W. H. Sanchez, M. S. Roberts, J. Rička, M. Frenz, *et al.*, "Characterization of optical properties of ZnO nanoparticles for quantitative imaging of transdermal transport," *Biomedical Optics Express*, vol. 2, pp. 3321-3333, 2011/12/01 2011.
- [123] S. E. Cross, B. Innes, M. S. Roberts, T. Tsuzuki, T. A. Robertson, and P. McCormick, "Human skin penetration of sunscreen nanoparticles: in-vitro assessment of a novel micronized zinc oxide formulation," *Skin pharmacology and physiology*, vol. 20, pp. 148-154, 2007.
- [124] A. Kołodziejczak-Radzimska and T. Jesionowski, "Zinc Oxide—From Synthesis to Application: A Review," *Materials*, vol. 7, p. 2833, 2014.
- [125] J. T. Seil and T. J. Webster, "Reduced *Staphylococcus aureus* proliferation and biofilm formation on zinc oxide nanoparticle PVC composite surfaces," *Acta biomaterialia*, vol. 7, pp. 2579-2584, 2011.
- [126] W. Zhang, G. Tu, H. Zhang, Y. Zheng, and L. Yang, "Synthesis and antibacterial activity of mesoporous zinc oxide particle with high specific surface area," *Materials Letters*, vol. 114, pp. 119-121, 2014.
- [127] Y. Xie, Y. He, P. L. Irwin, T. Jin, and X. Shi, "Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles against *Campylobacter jejuni*," *Applied and environmental microbiology*, vol. 77, pp. 2325-2331, 2011.
- [128] X. H. Li, W. L. Li, Y. G. Xing, Y. H. Jiang, Y. L. Ding, and P. P. Zhang, "Effects of Nano-ZnO Power-Coated PVC Film on the Physiological Properties and Microbiological Changes of Fresh-Cut "Fuji" Apple," in *Advanced Materials Research*, 2011, pp. 450-453.
- [129] J. Sawai, "Quantitative evaluation of antibacterial activities of metallic oxide powders (ZnO, MgO and CaO) by conductimetric assay," *Journal of microbiological methods*, vol. 54, pp. 177-182, 2003.
- [130] J. Sawai and T. Yoshikawa, "Quantitative evaluation of antifungal activity of metallic oxide powders (MgO, CaO and ZnO) by an indirect conductimetric assay," *Journal of applied microbiology*, vol. 96, pp. 803-809, 2004.
- [131] L. Zhang, Y. Jiang, Y. Ding, M. Povey, and D. York, "Investigation into the antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids)," *Journal of Nanoparticle Research*, vol. 9, pp. 479-489, 2007.
- [132] A. Sirelkhatim, S. Mahmud, A. Seeni, N. H. M. Kaus, L. C. Ann, S. K. M. Bakhori, et al., "Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism," *Nano-Micro Letters*, vol. 7, pp. 219-242, 2015.
- [133] Mohammedi Z., (2006) ; Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et des flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse magistère, Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen, 155p.
- [134] Duraffourd C., Dhervicourt L. et Laparaz J.C., (1990) ; Examen de laboratoire galémique, *Eléments thérapeutiques synergiques*, T.1.2ème édition, Masson, Paris, p.10.
-

- [135] Kim MN, Lee AR, Yoon JS, Chin IJ (2000). Biodegradation of poly(3-hydroxybutyrate), Sky-Green(R) and Mater-Bi(R) by fungi isolated from soils. *Eur. Polym. J.* pp. 36-1677
- [136] R.Kavitha, Anju k. Mohanan, and V.Bhuvanewari 2014, Biodegradation of low density polyethylene by bacteria isolated from oil contaminated soil, *international journal of plant animal and environmental sciences* ,4(3),pp. 601 – 610.
- [137] Kadari .A, Mostefa , Mahi , Badaoui M,(2016); Optical and structural properties of Mn doped MgO powders synthesized by Sol-gel, *Optik*, 127 (2016) 8253–8258
- [138] Hadj Benhebal , M.Chaib , Ange´ lique Leonard,, Ste´phanie D.Lambert b, Michel Crine, Photodegradation of phenol and benzoic acid by sol–gel-synthesized alkali metal-doped ZnO; *Materials Science in Semiconductor Processing*; 15 (2012) 264–269.
- [139] F. Jun, J. Xin, Z. Weiguang, Y. Yunhui, *CJI* 6 (7) (2004) 45–49.
- [140] Janaki C., Sailatha E., Gunasekaran S. Synthesis, characteristics and antimicrobial activity of ZnO nanoparticles. *Spectrochim. Acta Part A.* 2015;144:17–22.
- [141] B. K. Sharma, A. K. Guptha, N. Kharea, S. K. Dhawan, H. C. Guptha. (2009) Synthesis and characterization of polyaniline-ZnO composite and its dielectric behavior, *Synthetic Metals*, 159: 391-395.
- [142] O. Lupan, T. Pauporté, L. Chow, B. Viana, F. Pellé, L. K. Ono, B. R. Cuenya, H. Heinrich, *Appl.Surf. Sci.* 256 (2010) 1895-1907.
- [143] Rameshwar Rao, V.Rajendar and K. Venkateswara Rao, “Structural and Optical Properties of ZnO Nano Particles Synthesised by Mixture of Fuel Approach in Solution Chemical Combustion,” *Advanced Materials Research*, 629, pp. 273-278, 2013.
- [144] K. TamizhSelvi, M. Rathnakumari, M. Priya and P. Suresh Kumar, “Shape Transition Effect of Temperature on MgO Nanostructures and its Optical Properties,” *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 5, pp. 60-64, 2014.
- [145] M. Nirmala, G. Manjula, K. Nair, A. Rekha, S.K. Anukaliani, Ranjith G.N. Samdarshi, *African Journal Basic & Applied Sciences* 2 (2010) 161–166.
- [146] Chen, M.C., Yeh, G.H.C. and Chiang, B.H. 1996. Antimicrobial and physicochemical properties of methylcellulose and chitosan films containing a preservative. *Journal Food Process Preservation*, 20: 279-390.
- [147] Li, X., Xing, Y., Jiang, Y., Ding, Y., & Li, W. (2009). Antimicrobial activities of ZnO powder-coated PVC film to inactivate food pathogens. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 2161–2168.
- [148] Shankar, S., Teng, X., & Rhim, J. W. (2014). Properties and characterization of agar/CuNPs bionanocomposite films prepared with different copper salts and reducing agents. *Carbohydrate Polymers*, 114, 484-492.
-

# Annexe

# Caractéristique des souches bactériennes étudiées

## I. Bactéries à Gram positif

### 1. Staphylococcus aureus

les staphylocoque ce sont des cocci (forme arrondie) à Gram positif avec un diamètre de 0,5 à 1,5  $\mu\text{m}$ , de forme non sporulée, qui tendent à se grouper en paires, petites chaînes. Elles sont habituellement non capsulées, ou possédant des capsules limitées. Non mobiles, elles sont anaérobies facultatives. Staphylococcus aureus représente l'agent commun des infections postopératoires de blessures, endocardite aigue, intoxication alimentaire. Les staphylocoques sont des bactéries qui colonisent très largement la peau et les muqueuses (couche de cellules recouvrant l'intérieur des organes creux). Ils sont responsables d'infections diverses superficielles ou profondes, mais également d'intoxications et d'infections urinaires .

### 2. Bacillus cereus

Bacillus cereus aussi appelé Bacillus cereus sensu stricto (ss) fait parti morphologiquement et de part sa phylogénie à un groupe de bactéries que l'on nomme : groupe B. cereus ou B. cereus sensu lato. Outre les caractères généraux du genre Bacillus, les espèces du groupe Bacillus cereus sont des bacilles de grande taille ( $>1.0 \mu\text{m}$ ) à Gram positif, généralement mobiles grâce à une ciliature péritriche. Ils se distinguent des autres Bacillus essentiellement par leur aptitude à croître en anaérobiose.

### 3. Streptococcus Thermophilus

St. thermophilus est un coque à Gram positif, anaérobie facultatif, non mobile. On le trouve dans les laits fermentés et les fromages . C'est une bactérie dépourvue d'antigène du groupe D, thermorésistante, sensible au bleu de méthylène (0,1%) et aux antibiotiques. Elle est isolée exclusivement du lait et des produits laitiers sous forme de coques disposés en chaînes de longueurs variables ou par paires. Sa température optimale de croissance varie entre 40 et 50°C et son métabolisme est du type homofermentaire

## II. Bactéries Gram négatif

### 1. Escherichia coli

Appartenant à la famille des Enterobacteriaceae, c'est une bactérie à Gram négatif, commensal du tube digestif de l'Homme et de l'animal, de forme non sporulée, de type aérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles (flagellés péritriches). Sa longueur varie de 2 à 6  $\mu\text{m}$ , alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5  $\mu\text{m}$ , c'est la bactérie la plus impliquée dans les infections aigues d'appareil urinaire, elle provoque également les diarrhées d'été, diarrhée infantile et les intoxications alimentaires.

---

## Les phases de la croissance bactérienne en milieu non renouvelé

La croissance bactérienne se traduit par l'augmentation du nombre d'individus résultant de plusieurs divisions cellulaires successives. Il est possible de tracer une courbe de croissance qui va mettre en relation l'absorbance mesurée de la culture, en fonction du temps. Un exemple de courbe de croissance est représenté sur la figure 1.

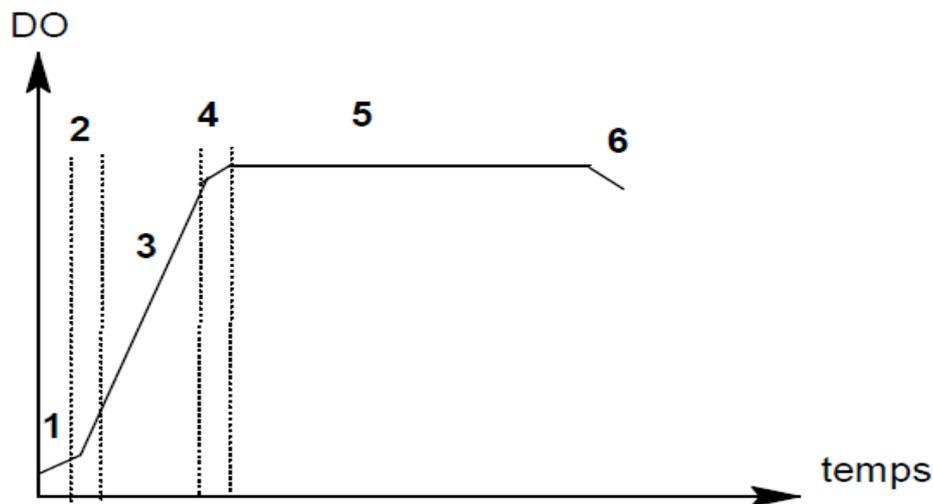


Figure II.1 : Courbe typique de la croissance bactérienne

Il existe six étapes lors de ce processus :

**1 : la phase de latence** : des l'ensemencement de la bactérie dans le milieu, il s'agit d'une étape d'adaptation.

**2 : la phase d'accélération** : correspondant au début du développement cellulaire.

**3 : la phase exponentielle de croissance** : correspond, pour la bactérie, à une vitesse de Développement maximale donc un taux de croissance maximal.

**4 : la phase de ralentissement** : cette phase correspond à un épuisement du milieu de culture, donc une perte probable d'éléments nécessaires au développement cellulaire et donc une réponse bactérienne spécifique à un stress, la vitesse de croissance diminue.

**5 : la phase stationnaire** : cette étape correspond à un équilibre entre les cellules qui disparaissent et celles qui apparaissent grâce à la multiplication. La culture atteint alors sa densité maximale.

**6 : la phase de déclin** : le nombre de cellules vivantes diminue.

La mesure de la densité optique (DO) avec un spectrophotomètre automatique permet de suivre la croissance de la biomasse bactérienne dans les milieux de culture translucides. L'interprétation des courbes de croissance obtenues par spectrophotométrie n'est cependant pas immédiate.

## Les résultats de dégradation des films dans le milieu liquide

### 1. Pourcentage de perte de masse des films par la suspension de sol

**Tableau 1 :** Pourcentage de la perte de masse des films F1 par la suspension de sol

Temps (jour)	7	15	22	29
Masse initiale $m_i$ (g)	0,9231	1,2747	1,3379	1,3507
Masse finale $m_f$ (g)	0,4421	0,3228	0,2336	0,0458
P %	52,11	74,67	82,53	96,60

**Tableau 2 :** Pourcentage de la perte de masse des films F2 par la suspension de sol

Temps (jour)	7	15	22	29
Masse initiale $m_i$ (g)	0,8880	1,2670	1,3183	1,5515
Masse finale $m_f$ (g)	0,6230	0,5796	0,4435	0,0061
P %	29,84	54,36	66,35	99,60

**Tableau 3 :** Pourcentage de la perte de masse des films F3 par la suspension de sol

Temps (jour)	7	15	22	29
Masse initiale $m_i$ (g)	0,8089	1,1306	1,2585	1,3054
Masse finale $m_f$ (g)	0,4999	0,5980	0,5492	0,0217
P %	38,20	47,10	56,35	98,33

### 2. Pourcentage de perte de masse des films par la suspension de boue activée

**Figure 1 :** Pourcentage de la perte de masse des films F1 par la suspension de boue activée

Temps (jour)	7	15	22	29
Masse initiale $m_i$ (g)	1,1566	1,1743	1,2781	1,3231
Masse finale $m_f$ (g)	0,4771	0,0522	0,0510	0,0500
P %	58,74	95,55	96,01	96,22

**Tableau 2 :** Pourcentage de la perte de masse des films F2 par la suspension de boue activée

Temps (jour)	7	15	22	29
Masse initiale $m_i$ (g)	1,0932	1,2115	1,4113	1,6383
Masse finale $m_f$ (g)	0,2214	0,0235	0,0230	0,0200
P %	79,74	98,06	98,01	98,77

**Tableau 3 :** Pourcentage de la perte de masse des films F1 par la suspension de boue activée

Temps (jour)	7	15	22	29
Masse initiale $m_i$ (g)	1,7190	1,7754	1,8413	2,1201
Masse finale $m_f$ (g)	0,1649	0,0356	0,0260	0,0275
P %	90,40	97,99	98,58	98,70

---

**Résumé :** L'objectif de ce travail c'est la préparation des films à base gélatine/amidon incorporé par des agents antibactérien l'oxydes de ZnO et l'oxyde de MgO. Le travail a été réalisé en deux parties, la première partie est consacrée à la préparation des films gélatine/amidon suivi par des tests de la dégradation des films dans le milieu solide et liquide. L'ensemble des résultats obtenus révèlent que ces milieux ont une bonne capacité de dégradé ces polymères avec perte de masse considérable. La deuxième partie présente la préparation et la caractérisation des oxydes suivis par la synthèse des films chargés par différente masse d'oxyde. Cette étude est complétée par des tests d'activité antibactérienne des films .Les résultats visuels indiquent que les films synthétisés inhibent la croissance des bactéries sélectionnées.

**Mots-clés :** agents antibactériens, amidon, bactéries, biopolymère, gélatine, ZnO, MgO,

**Summary:** The objective of this work is the preparation of gelatin / starch-based films incorporated by antibacterial agents the oxides of ZnO and the oxide of MgO. The work was done in two parts , the first part is devoted to the preparation of gelatin / starch films followed by tests of the degradation of the films in solid and liquid media. All the results obtained reveal that these media have a good ability to degrade these polymers with considerable loss of mass.The second part presents the preparation and the characterization of the oxides followed by the synthesis of the films charged by different oxide mass. This study is complemented by tests of antibacterial activity of the films. The visual results indicate that the synthesized films inhibit the growth of the selected bacteria.

**Key words:** antibacterial agents, bacteria, biopolymer, starch, gelatin, ZnO, MgO.

**ملخص:** الهدف من هذا العمل هو إعداد أفلام جيلاتينية / نشاء مدمجة مع عوامل مضادة للجراثيم أكسيد الزنك وأكسيد المغنيسيوم. تم إنجاز العمل في جزأين ، الجزء الأول مكرس لإعداد أفلام الجيلاتين / النشا تليها اختبارات تدهور الأفلام في الوسط الصلب والسائل. جميع النتائج التي تم الحصول عليها تكشف أن هذه البيئات لديها قدرة جيدة على تحطيم هذه البوليمرات مع فقدان كبير للكتلة. يعرض الجزء الثاني إعداد وتوصيف الأكاسيد متبوعاً بتوليف الأفلام المشحونة بواسطة كتلة أكسيد مختلفة. و في نهاية هذه الدراسة قمنا باختبارات النشاط المضاد للبكتيريا للأفلام, تشير النتائج المرئية إلى أن الأفلام المركبة تمنع نمو البكتيريا المختارة.

**الكلمات المفتاحية:** العوامل المضادة للجراثيم ، البكتيريا, النشا ، البوليمر ، الجيلاتين ، ZnO ، MgO.