

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun – TIARET



Faculté des Sciences de la Matière
Département de chimie

Mémoire

Présenté par :

Melle HADDOU BADRA

Melle BELHADJ ANISSA

Pour obtenir le diplôme de

Master

Filière : Chimie

Spécialité: chimie des polymères

Sujet :

***Étude de l'influence du plastifiant sur la
biodégradation d'un film plastique à base d'amidon***

Soutenu le : 30 mai 2016

Devant le jury:

Mr DAHO.B

M^{elle} BENNABI.L

M^{elle} BOUMETHRED.T

M^{elle} HENNI.M

MAA

MAA

MAA

MAA

President

Examinatrice

Examinatrice

Encadreur

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions le Dieu, notre créateur de nos avoir donné les forces, la volonté et le courage afin d'accomplir ce modeste travail.

Ce travail de recherche a été réalisé au sein du laboratoire de chimie, de génie physique et de microbiologique de L'Université ibn Khaldoune de Tiaret.

*Nous adressons le grand remerciement à notre encadreur **Melle M. Henni** qui a proposé le thème de ce mémoire, pour ses conseils et ses dirigés du début à la fin de ce travail.*

*Nous tenons à remercier monsieur **Mr B.DAHO** maitre assistance A à l'université de Tiaret, pour avoir accepté de présider le jury de cette mémoire.*

*Nous souhaitons exprimer notre gratitude à **Melle L.BENNABI** pour son aide précieuse, ses encouragements chaleureux et également d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nous tenons à remercier **M^{elle} T.BOUMETHER**, maitre assistance A à l'université de Tiaret pour avoir accepté d'évaluer ce modeste travail.*

*Nous sommes très contentes d'exprimer nos profondes reconnaissances à **Mr DJAKHDAN KHALED** le chef de département de chimie pour son aide précieuse.*

*Nous tenons à remercier toute l'équipe de laboratoire de graduation de chimie et plus notamment: **Mr A.Larbi** et **Mr Hadidi** ainsi que **M^{elle} Somia** et **M^{me} Fatiha** de nous avoir aidé pendant la réalisation de ce travail.*

Nous tenons également à remercier toute l'équipe de laboratoire de génie physique pour leurs aides à réaliser ce travail.

*Nous adressons nos remerciements à tous les ingénieurs des laboratoires de Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie notamment **M^{elle} Khaira**, **M^{elle} Mebaraka**, **M^{elle} Samira** et **M^{elle} Fatima** pour leurs aide à réaliser ce travail.*

Enfinement, nous tenons à exprimer nos remerciements vont à tout ce qui a participe à réaliser ce mémoire. Ainsi que l'ensemble des enseignants qui ont contribué à notre formation.

Dédicace



Je dédie ce travail :

A mes chers parents ma mère et mon père

Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leurs encouragements

A mes beaux-frères et mes belles-sœurs

A tous mes amies et mes collègues.

Sans oublier tous les professeurs que soit du primaire, du moyen, du secondaire ou de l'enseignement supérieur.

A tous ceux qui m'ont aidé dans l'élaboration de ce travail.

Haddou badra

Dédicace



Je dédie ce modeste travail à :

Mes parents qui m'ont aidé toujours, pour votre amour,

Votre sacrifice, votre dévouement et votre patience

Inconditionnels

Que dieu vous garde, je vous aime de tout mon cœur.

A mes très chères sœurs

Mes frères: Nabil, Khaled, Ali, Amar, Rabeh

A toute ma famille

A tous mes amies et mes collègues

A tous les étudiants de master 2 promotion 2016

Et à tous ceux m'ont aidé

Belhadj anissa

Tables des matières

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

Partie bibliographie

Chapitre I Généralité sur les matières plastiques

1.1. Introduction	2
1.2. Définition des matières plastiques.....	2
1.3. Préparation des matières plastiques	2
1.3.1. Les polymérisations en chaîne	3
1.3.2. Les polymérisations par étape	3
I.4. les polymères et plastiques.....	4
1.5. Classification des polymères	4
1.5.1. Selon leur origine	4
1.5.1.1. Les polymères naturels	4
1.5.1.2. Les polymères artificiels	4
1.5.1.3. Les polymères synthétiques.....	5
1.5.2. Selon leur nature chimique	5
1.5.2.1 polymères minéraux	5
1.5.2.2 Polymères organiques	5
1.5.2.3 polymères mixtes	5
1.5.3 Selon leur domaine d'application.....	5
1.5.3.1. Les polymères de grande diffusion	5
1.5.3.2 Les polymères techniques	5
1.5.3.3 Les polymères spéciaux	5
1.5.4 Selon leur structure des chaînes	5
1.5.4.1 Polymères linéaires ou monodimensionnels	5
1.5.4.2 Polymères bidimensionnels.....	6
1.5.4.2 Les polymères réticulés.....	6
1.5.5 Selon leur comportement thermique	6
1.5.5.1. Les thermoplastiques	6
1.5.5.2 Les thermodurcissables	6
1.5.5.3 Les élastomères	7
1.5.5.4 Les élastomères thermoplastiques	7
I.6. Applications des polymères	7
I.7. Les additifs et les adjuvants	7

I.7.1. Les additifs technologiques.....	7
1.7.1.1. Les stabilisants	8
1.7.1.2. Les antioxydants	8
1.7.1.3. Les antilumières	8
1.7.2. Les adjuvants technologiques.....	8
I.7.3.1 Les modificateurs de propriétés mécaniques	8
1.7.2.1. Les plastifiants	8
1.7.2.2. Les charge	8
1.8. Mises en forme des polymères	10

Chapitre II : biodégradation des matières plastiques

II.1 Introduction	11
II.2 Définition de la dégradation	11
II.3 mécanismes de dégradation	11
II .3.1 Hydrolyse chimique	11
II .3.2 Hydrolyse biologique	12
II .3.3 Photo-oxydation	12
II .3.4 Oxydation biologique	12
II .4 La biodégradabilité	12
II.5 Biodégradations des polymères	12
II.6 Les grandes classes de matériaux polymères biodégradables	13
II.6.1 Polymères issus de la pétrochimie	13
II.6.2 Polymères issus d'agro-ressources	13
II.6.3 Polymères issus d'origine microbienne.....	14
II.6.4 Polymères issus des biotechnologies	14
II.7 Mécanisme général de la biodégradation des polymères.....	15
II.7.1 Première étape ou dégradation primaire	15
II.7.2 Seconde étape ou biodégradation ultime	15
II.8 Acteurs et facteurs de la biodégradation.....	16
II.8.1 Physico-chimie du milieu de dégradation et biodégradation.....	16
II.8.2 La structure et les propriétés des polymères constituant le matériau.....	16
II.8.3 Microbiologie du milieu de biodégradation.....	16
II.9 Grandeurs permettant une évaluation de la biodégradation.....	18
II.9.1 Tests de biodégradation et d'écotoxicité	20

chapitre III :généralités sur l'amidon

III.1 Introduction.....	22
III.2 L'amidon	22
III.3 Procédé d'extraction de l'amidon.....	23
III.4 La structure de l'amidon natif	24
III.4.1 L'amylose	25
III.4.2 L'amylopectine	25
III.4.3 Structure des granules d'amidon.....	26
III.5 Propriétés physico-chimiques de l'amidon	27
III.5.1 Propriétés physiques	27
III.5.2 Propriétés chimiques	28
III.6 Elaboration des matériaux à base d'amidon	28
III.6.1 Gélatinisation.....	28
III.6.2 Plastification.....	29
III.6.3 Mise en forme des matériaux	29
III.7 Le vieillissement des matériaux à base d'amidon	30
III.8 Modifications chimiques de l'amidon.....	30

Partie expérimentale

Chapitre I : étude de la biodégradation en milieu solide

I.1 Introduction.....	31
I.2 biodégradation en milieu solide	31
I.3 Matériel et méthode	31
I.3.1 Préparation des films.....	31

I.3.2 Caractérisation par spectroscopie d'absorption infrarouge	33
I. 3.3 Matériel biologique	35
I.3.3.1 Les micro-organismes	35
I. 3.4 Etude microbiologique	36
I. 3.4. 1 Repiquage des souches isolées	36
I. 4. 1. 2 Préparation de l'inoculum à partir des boues activées	36
I. 4. 1. 3 Repiquage de l'Aspergillus Neiger	36
I.4 Les essais de croissances microbiennes	36
I.4.1 Protocole	36
I.4.2 Résultats et discussions	37
I.5 L'influence de la biodégradation sur la masse des films d'amidon	40
I.5.1 Protocole	40
I.5.2 Résultats et discussions	43
I.5.3 Caractérisation des Produits de dégradation par spectroscopie IR	43

Chapitre II : étude de la biodégradation en milieu liquide

II.1 Mesure de la biodégradabilité en milieu liquide.....	46
II.2 Les phases de la Croissance bactérienne en milieu non renouvelé.....	46
II.3 Méthodes expérimentales	47
II.3.1 Préparation de milieu culture.....	47
II.3.2 Préparation de d'une pré-culture.....	47
II.3.3 Suivi de croissance des trois souches bactériennes.....	47
II.3.4 Etude cinétique de la biodégradation des films d'amidon	48
II. 3.4.1 Mesure de la densité optique (spectrophotométrie).....	48
II.3.5 Résultats et discussion	49
II.4. Evaluation de la biodégradation par mesure de la perte de poids.....	54

II.4.1. Préparation des suspensions bactériennes.....	54
II.4.2 Protocole.....	54
II.4.3 Résultats et discussions.....	56
II.5 Teste de biodégradation des films dans la boue activée	56
II.5.1 Préparation de la suspension.....	56
II.5.2 Croissance bactérienne	57
II.5.3 Cinétique de la biodégradation des films dans la boue activée	58
II.5.4 Résultats et discussion	59
II.6 Etude comparative de biodégradation des films PVC	59

Listes des figures

Partie bibliographie

Figure I.1 : Représentation de la chaîne d'un polymère linéaire	6
Figure I.2 : Représentation schématique d'un polymère bidimensionnel	6
Figure I.3 : Représentation schématique d'un polymère tridimensionnel.....	6
Figure I.4 : Schématisation du mécanisme de plastification à l'échelle	9
Figure II.1 : Mécanisme de biodégradation des polymères	15
Figure II.2 : Organisation générale d'une bactérie	18
Figure II.3 : Edifice tridimensionnel d'une enzyme	18
Figure III.1 : Origine botanique de l'amidon	22
Figure III.2 : Secteur d'application de l'amidon	23
Figure III.3 : Structure de l'amylose	25
Figure III.4 : Structure de l'amylopectine	25
Figure III.5 : Grains de différents amidons observés en MEB	26
Figure III.6 : Structure et ultrastructure d'un grain d'amidon	27
Figure III.7 : Gélatinisation et rétrogradation de l'amidon	28

Partie expérimentale

Chapitre I : étude de biodégradation en milieu solide

Figure I.1 : Structures chimiques des plastifiants utilisés	31
Figure I. 2 : Synthèse des films amidon	32
Figure I.3 : spectre IR du film d'amidon- Glycérol	33
Figure I.4 : spectre IR du film amidon –Sorbitol	33
Figure I.5 : spectre IR du film amidon -alcool polyvinylique	34
Figure I.6 : spectre IR du film amidon- acide citrique.....	34
Figure I.7 : Film d'amidon attaqué par <i>Aspergillus Neiger</i>	35

Figure I.8 : Manipulation de test de croissances microbiennes sur les films d'amidon	37
Figure I.9 : Croissance d'Escherichia sur tous les films	37
Figure I.10 : Croissance de staphylococcus sur les quatre films d'amidon	38
Figure I.11 : Croissance de Pseudomonas aeruginosa sur les quatre films d'amidon.....	38
Figure I.12 : Croissance de Pseudomonas Fluorescence sur les quatre films d'amidon	39
Figure I.13 : Croissance d'Aspergillus niger sur tous les films	39
Figure I.14 : Croissance des suspensions des boues activées sur tous les films	40
Figure I.15 : L'enfouissement des films d'amidon dans le sable et dans le sol	41
Figure I.16 : Variation de la perte de masse des films d' AG enfouis dans le sol et sable	41
Figure I.17 : Pourcentage de perte de masse de films de APVA enfouis dans le sol et sable	42
Figure I.18 : Pourcentage de perte de masse de films d'AS enfouis dans le sol et sable	42
Figure I.19 : Pourcentage de perte de masse de films d' AAC enfouis dans le sol et sable ...	42
Figure I.20 : spectre IR du film dégradé amidon- Glycérol	43
Figure I.21 : spectre IR du film dégradé amidon –Sorbitol	44
Figure I.22 : spectre IR du film dégradé amidon -alcool polyvinylique.....	44
Figure I.23 : spectre IR du film dégradé amidon- acide citrique	45
Chapitre II : étude de biodégradation en milieu liquide	
Figure II.1 : Courbe typique de la croissance bactérienne.....	46
Figure II.2 : Dispositif expérimentale de la biodégradation en milieu liquide	48
Figure I.3 : Schéma d'un spectrophotomètre	49
Figure II.4 : Courbe de croissance de Staphylococcies aureus (30°C ,PH 7).....	49
Figure II.5: Courbe de croissance bactérienne Pseudomonas aeruginosa	50
Figure II.6: Courbe de croissance bactérienne Pseudomonas fluorescence	50
Figure II.7 : Cinétique de biodégradation des films d'amidon par S.aureus	51
Figure II.8 : Cinétique de biodégradation des films par Pseudomonas fluorescens.....	52
Figure II.9 : Cinétique de biodégradation des films d'amidon par de P. Aeruginosa	53
figure II.10 : manipulation sur la biodégradation in vitro.....	54

Liste des figures

Figure II.11 : Pourcentage de perte de masse de film AG avec P .aerug et S.aureus	55
Figure II.12: Pourcentage de perte de masse de film de APVA avec P .aerug et S.aureus	55
Figure II.13 : Pourcentage de perte de masse de film de AS avec P .aeruginosa et S.aureus	55
Figure II.14: Pourcentage de perte de masse de films d'APVA avec P .aerug et S.aureus	56
Figure II.15 : Préparation de l'inoculum des boues activées	57
Figure II.16 : Cinétique de croissance d'inoculum	57
Figure II.17 : Cinétique de biodégradation le film amidon glycérol dans boue activée	58
Figure II.18 : Cinétique de biodégradation de film amidon -PVA par la boue activée	58
Figure II.19 : Pourcentage de la perte de masse de film PVC avec les trois souches	60

Liste des tableaux

Partie bibliographie

Tableau II.1 : Propriétés spécifiques des biopolymères et applications attendues	14
Tableau III.1 : Teneur en amylose et amylopectine des amidons	24
Tableau II.1 : Cinétique de croissance bactérienne dans un milieu liquide	57
Tableau II.2 : Cinétique de la biodégradation de film amidon- glycérol	58
Tableau II.3 : Cinétique de la biodégradation de film amidon- PVA	58
Tableau II.4 : Pourcentage de la perte de masse de film PVC avec <i>S. aureus</i>	60
Tableau II.5 : Pourcentage de la perte de masse de film PVC avec <i>Escherichia coli</i>	60
Tableau II.6 : Pourcentage de la perte de masse de film PVC avec <i>P. fluorescens</i>	60

Liste des abréviations

PVC : poly (chlorure de vinyle)

PE : polyéthylènes

PP : polypropylène

PS : polystyrènes

PU : polyuréthanes

PCL : poly (ϵ -caprolactone)

PBSA : poly (butylène succinate adipate)

PEA : poly (ester amide)

PBAT : poly (butylène adipate téréphtalate)

PHB : poly (β -hydroxybutyrate)

PHV : poly (hydroxyvalérate)

PHBV : poly (hydroxybutyrate-3-hydroxyvalérate)

PLA : Poly (Acide Lactique)

Tg : la température de transition vitreuse

Tf : la température de fusion

CES : La chromatographie d'exclusion stérique

MEB : microscopie électronique à balayage

DO : la densité optique

PVA : polyvinyle alcool

MMN : milieu Minéral Nutritif

Introduction générale

Introduction Générale

Durant les 30 dernières années la consommation et la croissance des polymères d'origine fossile (issu de la pétrochimie) ne cessent d'augmenter fortement. Ces matériaux sont maintenant incontournables dans notre vie quotidienne, mais constituent cependant un problème pour l'environnement, sachant que leurs durées de vie sont supérieures à 400 ans. Par ailleurs, la baisse des réserves en énergie fossile, le renchérissement consécutif de la baisse des réserves en pétrole, les difficultés à recycler nos déchets et la nécessité de valoriser les sous-produits agricoles donnent un intérêt fort au marché des matériaux respectueux de l'environnement. Ceux-ci ne cessent de se développer, en particulier les polymères et composites biodégradables, que ce soient ceux issus des ressources végétales ou ceux qui sont issus des ressources fossiles [1].

L'amidon est une ressource végétale biodégradable, directement disponible. Son utilisation non alimentaire connaît un intérêt croissant en raison de son prix très compétitif et de son abondance. Ces dernières années nous avons constaté une émergence de matériaux à base d'amidon plastifié sur le marché de l'emballage [2].

Les principaux objectifs de ce travail visent la synthèse d'un film plastique à partir d'amidon suivi par une étude de l'influence du plastifiant sur la biodégradation du film.

Le présent manuscrit comprend deux parties :

➤ Partie bibliographique de ce mémoire est consacrée à une synthèse bibliographique sur les matières plastiques, notion de la dégradation et sur les matériaux biodégradables ou sont dites « biodégradables » dont Plusieurs points sont abordés : les acteurs et facteurs de la dégradation, les différents types de tests de mesure de la biodégradabilité, et généralité sur l'amidon.

➤ La partie expérimentale dans laquelle nous abordons les deux méthodes utilisées pour évaluer la biodégradation des films d'amidon plastifiés avec quatre plastifiants, ensuite une caractérisation des échantillons préparés par IR. Cette partie a été complétée par une étude comparative de la biodégradation d'un film en PVC dans un milieu liquide, à la fin une conclusion générale.

Chapitre I

Généralité sur les matières plastique

I. Introduction

Les matières plastiques présentent plusieurs avantages comparativement à d'autres matériaux, notamment leur faible coût d'élaboration, leur polyvalence et leur durabilité. Elles donnent lieu à un vaste éventail de polymères ayant des propriétés et des applications particulières et diversifiées, comparativement à d'autres matériaux [3]. Toutefois, plusieurs critiques leur sont faites. En effet, les matières plastiques soulèvent des problèmes liés à l'environnement, à la santé, ainsi qu'à la gestion des matières résiduelles. Leur persistance dans l'environnement a un impact notable sur la faune et sur la gestion en fin de vie de ces matières. Aussi, la présence d'additifs dans certains matériaux, comme les phtalates ou le bisphénol A, a suscité une vive controverse relativement à leurs risques toxicologiques. Plusieurs pays ont limité, voire banni, l'utilisation de certains produits plastiques. Les sacs en plastiques jetables, de même que les contenants en polystyrène (PS) expansé ont fait l'objet de telles mesures [4].

I.2 Définition des matières plastiques

On peut définir le plastique comme un matériau obtenu par polymérisation (réaction Chimique) et issu du pétrole. A partir de granulés, et par différents procédés de mise en œuvre tels que le calandrage ou l'extrusion soufflage, on aboutit à la matière plastique que l'on peut regrouper sous diverses familles classées selon leurs propriétés (thermodurcissables, thermoplastiques et élastomères).

Ces derniers nous permettent de réaliser une multitude d'objets utiles à la vie quotidienne ainsi que dans l'industrie (l'automobile par exemple). Malheureusement, même s'ils sont devenus vitaux pour nous et pour certains recyclables ils sont également un danger pour l'environnement [5].

I.3 Préparation des matières plastiques

La synthèse chimique est un procédé fondamental permettant de préparer et / ou de fabriquer une entité chimique à partir d'autres unités chimiques plus petites et structurellement différentes. La synthèse de molécules plus complexes fait généralement intervenir plusieurs étapes réactionnelles [6]. La synthèse macromoléculaire conduit à l'élaboration de polymère dans les masses moléculaires, leur distribution, la nature des extrémités de chaînes, la composition et la structure sont bien définies, constituent l'étape de base pour élaborer des édifices supramoléculaire dont l'architecture est contrôlée. Elles possèdent des applications et des propriétés spécifiques.

On distingue habituellement deux types principaux de polymérisation: les polymérisations en chaîne (polyaddition) et les polymérisations par étapes (polycondensation) [7].

I.3.1 La polymérisation en chaîne (polyaddition)

La polymérisation par polyaddition est une réaction dans laquelle les molécules d'un monomère se soudent les unes aux autres en nombre très grand, sans aucune élimination, pour donner un polymère dont le poids moléculaire est un multiple entier de celui du composé initial (monomère). Les réactions de polymérisation font intervenir les centres actifs (radicaux, anions, cation) présents en faibles concentrations, ces centres actifs additionnent en un temps très court (généralement inférieure à une seconde) un grand nombre de molécules de monomère (10^3 à 10^5 molécules/seconde)[8].

La polymérisation en chaîne concerne essentiellement les monomères vinyliques qui conduisent à des polymères constitués d'enchaînement ($-C=C-$) suivant le type du centre actif on distingue les polymérisations :

- **Radicalaire** : comprend trois étapes élémentaires, à savoir l'amorçage, la propagation et la terminaison. L'amorçage consiste en la création des centres actifs, par réaction d'un radical primaire issu par exemple de la décomposition thermique ou photochimique d'un amorceur sur une première molécule de monomère. La croissance de la chaîne polymère se fait alors par addition successive de molécules de monomères sur une macro radicaire en croissance. Enfin les macro radicaux disparaissent deux par deux lors des réactions de terminaison par couplage dismutation.
- **Ionique** : selon le signe de la charge portée par la chaîne croissance on distingue :
 - **Cationique** : les centres actifs sont des carbocations (polymérisation des oléfines) ou des cations issus d'hétéroatomes (polymérisations des hétérocycles). ces centres actifs sont des électrophiles.
 - **Anionique** : les centres actifs sont des anions. la réaction de base est une attaque nucléophile de l'anion sur le monomère. les monomères impliqués sont des oléfines et des hétérocycles.
- **Coordinative** : dans ce cas le centre actif est un complexe de coordination entre le monomère et un atome de métal de transition tel le titane ou le zirconium [9].

I.3.2 La polymérisation par étape (Polycondensation)

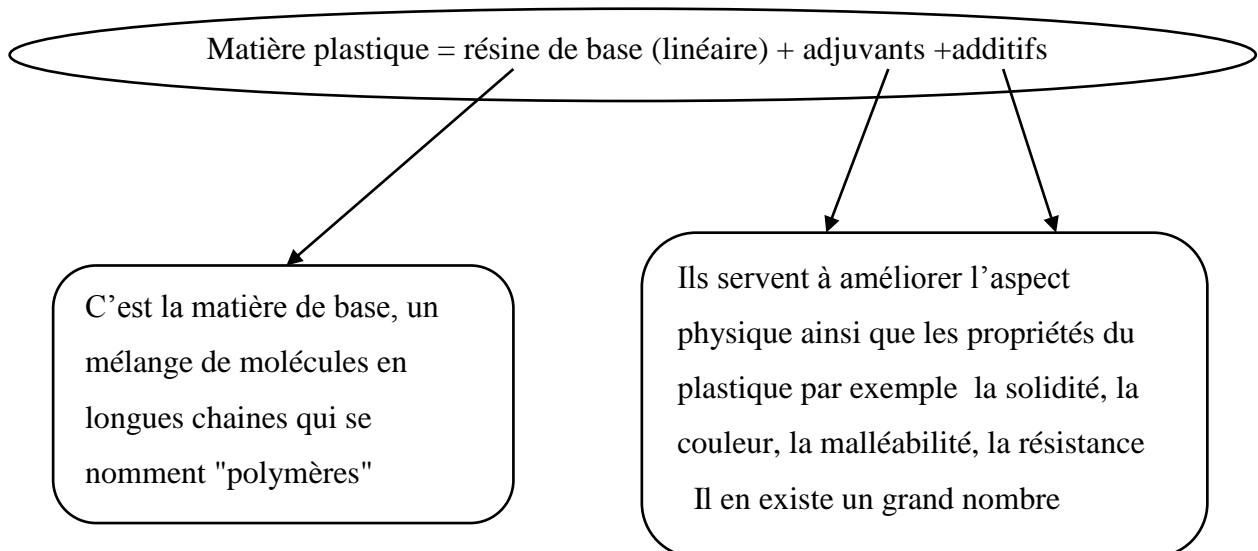
Les réactions de polycondensation sont des réactions par étapes : la macromolécule est construite suite aux réactions successives entre les groupements terminaux de molécules monomères. La poursuite du processus jusqu'à l'obtention d'un polymère peut avoir lieu par ajouts progressifs d'autres molécules monomères ou par réaction entre d'oligomères. Une des particularités de la

polycondensation est l'élimination, au cours de la réaction d'un tiers constituant. Il s'agit le plus souvent de molécules d'eau ou d'alcool [10].

I.4 . Les polymères et les plastiques

On appelle plastique une matière synthétique constituée de macromolécules. Le terme « plastique » désigne une famille importante de plus de 700 types de matières fabriquées à partir du pétrole. Le pétrole est raffiné, distillé, ce qui permet d'obtenir des chaînes de molécules qu'on appelle les polymères. Pour leur donner les caractéristiques qui répondent à nos besoins, on y ajoute des éléments (chlore, azote, etc..) sous forme d'additifs ou adjuvants.

Le plastique est donc un matériau simple à fabriquer, stable, économique, solide, léger et résistant, facilement transformable et qui peut prendre toutes les formes voulues : le mot plastique vient en effet du grec plastikos qui signifie « malléable, qui peut être modelé » [11].



I.5. Classification des polymères

Il existe plusieurs modes de classification des polymères que peuvent être classés selon divers critères :

I.5.1. selon leur origine : on peut les classer en trois catégories.

- **Les polymères naturels :** Issus des règnes végétal, animal ou minéral, leur importance est considérable. On peut cependant mentionner, dans cette catégorie, la famille polysaccharides (Cellulose, amidon...), celle des protéines (laine, soie...), le caoutchouc naturel, etc. [12].
- **Les polymères artificiels :** Sont obtenue par modification chimique de polymères naturels de façon à transformer certaines de leurs propriétés ; les esters cellulosiques (nitrocellulose, acétate de cellulose ...etc.) et l'ébonite (caoutchouc fortement réticulé par le soufre).

- **Les polymères synthétiques** : Les molécules monomères qui permettent de les obtenir n'existent pas dans la nature. Cependant, on peut remarquer que les structures réalisées par synthèse sont souvent proches de celles des polymères naturels.

I.5.2. Selon leur nature chimique : On distingue trois catégories.

- **Polymères minéraux** : Ils sont constitués soit de chaînes renfermant un seul corps simple (Diamant, graphite, phosphore, soufre...). Ou de chaînes renfermant plusieurs hétéroatomes (silicates, acides polyphosphoriques, chlorure de polyphosphonitrile).
- **Polymères organiques** : C'est la classe la plus riche comme : les polydiène, les polyacryliques, les polyamides, les polyvinyliques.
- **Polymères mixtes** : Doués de propriétés intéressantes dont une bonne résistance thermique (~300°C – 350°C) comme les silicones.

I.5.3. Selon leur domaine d'application : On le regroupe les polymères en 3 grandes catégories.

- **Les polymères de grande diffusion** : Encore appelés polymères de commodité, dont la production annuelle s'évalue par millions de tonnes, sont devenus d'un emploi quotidien pour tous. Le polyéthylène, le polystyrène, le poly (chlorure de vinyle) et quelques autres sont à classer dans cette catégorie d'une importance économique considérable. [13]
- **Les polymères techniques** : Ont des caractéristiques qui leur permettent de se substituer, de plus en plus aux matériaux traditionnels (métaux, céramiques...) pour nombreuses applications ; les polyamides, les polyacétals... font partie de cette famille.
- **Les polymères spéciaux** : Présentent généralement une propriété qui induit leur utilisation pour une application particulière. C'est dans cette catégorie que se trouvent les polymères conducteurs, photo actifs, thermostables, adhésifs, etc.

I.5.4. Selon leur structure des chaînes (dimensionnalité) : Les polymères peuvent encore être classés en trois catégories :

- **Polymères linéaires ou monodimensionnels** : Pour lesquels, chaque chaîne macromoléculaire est constituée d'un nombre (éventuellement) élevé mais fini d'unités monomères ; de tels systèmes correspondent à la polymérisation de monomères bivalents et une macromolécule linéaire peut être très schématiquement représentée par un trait continu divisé en intervalles figurant chacun une unité monomère (figure I.2) chaînes polymères est constituée de longueur variable, propriété désignée par le terme polymolécularité. [14].



Figure I.1 : Représentation de la chaîne d'un polymère linéaire.

- **Polymères bidimensionnels :** dont certains peuvent être produits par la nature (carbone graphite, kératine...) ; dans le domaine des polymères synthétiques ce sont encore des curiosités de laboratoire. Ils se présentent sous la forme de feuillets bidimensionnels, d'épaisseur comparable à celle des molécules simples (figure I.3).

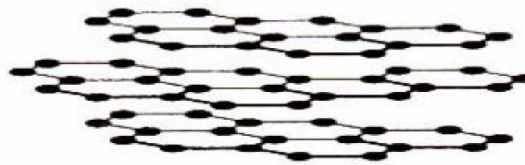


Figure I.2: Représentation schématique d'un polymère bidimensionnel (Le carbone graphite)

- **Les polymères réticulés (les polymères tridimensionnels) :** Dans ce cas, la macromolécule occupe un volume dont toutes les dimensions sont du même ordre de grandeur.

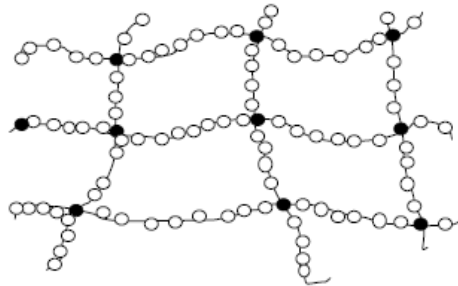


Figure I.3: Schéma schématique d'un polymère tridimensionnel

I.5.5 Selon leur comportement thermique : Les propriétés des polymères permettent des usages très variés. On peut ainsi les regrouper dans quatre familles :

- **Les thermoplastiques :** Un thermoplastique est un polymère linéaire ou ramifié pouvant être ramolli par chauffage et durci par refroidissement dans un intervalle de température spécifique.
- **Les thermodurcissables :** Ils sont constitués par des macromolécules s'étendant dans les trois directions de l'espace, d'autant plus rigides que le réseau tridimensionnel est plus dense. Leur

«réticulation» obtenue le plus souvent sous l'effet de la chaleur est irréversible ; ces produits résistent donc mieux à l'effet de la chaleur [15].

- **Les élastomères** : Un élastomère est un polymère linéaire ou ramifié transformé par vulcanisation en un réseau tridimensionnel faiblement réticulé infusible et insoluble. Les élastomères se différencient des thermodurcissables par leur propriété d'élasticité caoutchoutique, c'est-à-dire la capacité à subir de très grandes déformations réversibles sous l'action de contraintes mécaniques [16].
- **Les élastomères thermoplastiques** : Un élastomère thermoplastique est un polymère linéaire ou ramifié présentant les propriétés d'élasticité caoutchoutique d'un élastomère et de facilité de mise en œuvre d'un thermoplastique.

I.6 Applications des polymères

Les polymères sont devenus l'élément essentiel d'un nombre très important d'objets usuels et courants, dans lesquels, ils ont souvent remplacé les substances naturelles. Les cinq familles les plus utilisées sont:

- Les polychlorures de vinyles (PVC) utilisés comme pièces rigides, tuyauterie, films d'étanchéité
- Les polyéthylènes (PE) utilisé comme emballages transparents, pièces rigides ;
- Les polypropylènes (PP) et les polystyrènes (PS): pièces rigides, fibres;
- Les polyesters saturés: cosmétiques, revêtements de surface, peintures, vernis, plastifiants pour autres polymères; et les polyesters insaturés: films, fibres textiles, matériaux composites ;
- les polyuréthanes (PU). Citons également les élastomères, qui proviennent pour certains de ces différentes familles et ou du caoutchouc naturel, et dont la principale utilisation se trouve dans le domaine des pneumatiques.

Il existe également des polymères spécialement «dessinés» pour des applications plus particulières. Parmi ceux-ci, on retrouve les grandes familles déjà citées, mais aussi les polymères fluorés comme le Téflon ou les polymères minéraux comme les silicones [17].

I.7 Les additifs et les adjuvants

I.7.1 Les additifs

Les additifs sont des matières qui sont ajoutées à un polymère, modifient ses propriétés ou ses caractéristiques. Il existe une grande variété d'additifs pour une multitude de fonctions : développer ou étendre les propriétés des thermoplastiques, améliorer leur transformation, modifier leur aspect ou augmenter leur résistance à l'environnement extérieur.

Cette action sur les caractéristiques et les propriétés des emballages thermoplastiques se fait de plusieurs manières : ils peuvent apporter une protection contre les rayons ultraviolets et l'oxygène pour

étendre la durée de vie du produit ; ils peuvent aussi faciliter le processus de fabrication du polymère et améliorer l'apparence de l'emballage et par extension l'attractivité du produit. Deux principales classes d'additifs sont à prendre en compte : les stabilisants et les adjuvants technologiques [18].

I.7.2 Les stabilisants

Ces additifs permettent de conserver les propriétés physico-chimiques des polymères au cours du temps en réagissant à la place du polymère. Ils s'opposent au vieillissement, c'est à-dire inhibent ou retardent le processus responsable des altérations de la structure pendant la mise en œuvre ou l'utilisation des matériaux. On distingue deux principaux types de stabilisants [19] :

I.7.2.1 Les antioxydants: ces additifs permettent de protéger les polymères contre l'oxydation. L'oxydation est catalysée par la présence de résidu de catalyseur, de défauts dans les chaînes de polymères et aussi par la lumière et la température. Ils génèrent sur les chaînes de polymère des radicaux libres, puis par réaction avec l'oxygène des radicaux peroxyde et enfin des groupements hydroperoxyde. Les antioxydants primaires, en réagissant avec les radicaux peroxyde pour donner des hydroperoxydes, inhibent l'arrachement de l'hydrogène au polymère. Les antioxydants secondaires désactivent les hydroperoxydes en les transformant en alcools. Les deux types d'antioxydants sont généralement utilisés simultanément dans les polymères, car ils sont complémentaires.

I.7.2.2. Les antilumières: ces additifs absorbent la lumière à la place du polymère (directement ou par transfert de l'énergie absorbée par le polymère) en empêchant la création de radicaux libres sur les chaînes macromoléculaires. Généralement, ces substances transforment l'énergie lumineuse en chaleur.

I.7.3 Les adjuvants technologiques

Les adjuvants technologiques permettent de modifier les propriétés physiques et/ou chimiques des polymères. Il en existe une grande diversité, que l'on peut classer par leur mode d'action :

I.7.3.1 Les modificateurs de propriétés mécaniques : qui rendent le polymère plus résistant aux sollicitations mécaniques (plastifiants, charges, antichoc, ... etc.).

- **Les additifs de mise en œuvre** (plastifiants, stabilisants, agents de nucléation, agents de réticulation... etc.).
- **Les modificateurs des propriétés de la surface du polymère** (antistatique, lubrifiants... etc.) [20].

➤ Les plastifiants

Les plastifiants sont des additifs utilisés pour améliorer la flexibilité ou la plasticité des polymères et occasionnellement ils sont utilisés pour faciliter le processus de la mise en forme d'un polymère [21].

Certaines théories ont été proposées pour expliquer les mécanismes de l'action des plastifiants [22,23]:

- La théorie de la lubrification postule que le plastifiant, par insertion entre deux chaînes de polymères, réduit les interactions intermoléculaires.
- La théorie de gels postule que la rigidité d'un polymère provient d'une structure tridimensionnelle. Le plastifiant brise un certain nombre d'interactions intermoléculaires en masquant les centres de forces attractives et en solvatants les chaînes de polymères en ces points (Figure I.4). polymères, ils en facilitent la mise en œuvre et sont ensuite éliminés).

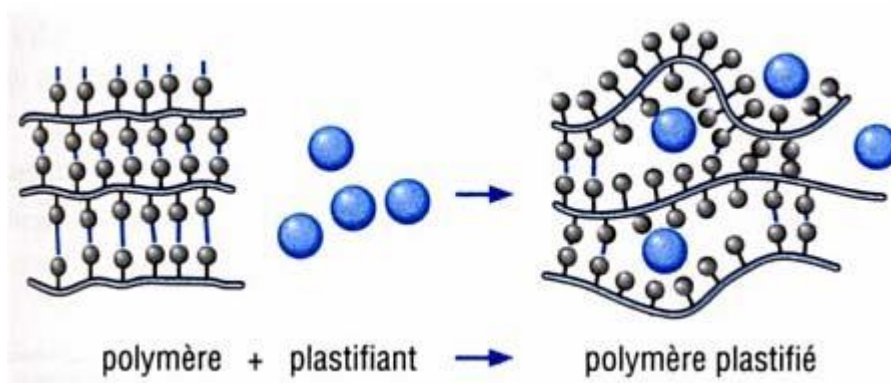


Figure I.4 : Schématisation du mécanisme de plastification à l'échelle moléculaire [24]

I.8 Les transformations ou mises en forme

Une fois synthétisés, les polymères se présentent sous forme de poudres ou granulées, prêtes à être transformés en demi-produits ou en produits finis. Il existe également de nombreux procédés de transformation adaptés à la nature du polymère à mettre en œuvre et à la forme finale souhaitée :

- **Injection** : ce procédé permet de donner aux matières plastiques une fois ramollies la forme – simple ou complexe - du moule dans lequel elles ont été injectées ; exemples : palettes, coques de télévisions, boîtes, pots, tableaux de bord, ...
- **Extrusion** : cette méthode permet de fabriquer des produits en continu ; exemples : profilés, tubes, films, feuilles, sacs, plaques,....

- **Extrusion-soufflage** : les matières plastiques extrudées cette fois en discontinu (préformes) sont ensuite soufflées dans un moule pour en prendre la forme ; exemples : bouteilles, flacons, bidons, réservoirs, conteneurs,....
- **Roto moulage** : La matière plastique en poudre est introduite dans un moule clos puis est centrifugée sur les parois chaudes. On obtient par cette méthode des corps creux de gros volume ; exemples : cuves, réservoirs, conteneurs, ...
- **Expansion** : le moussage ou expansion des polystyrènes et des polyuréthanes permet de fabriquer des produits alvéolaires ; exemples : calage, sièges automobiles, ameublement, cassettes, ...
- **Compression** : cette méthode sert à mettre en forme les polymères thermodurcissables ; exemples : pièces plates (vaisselle, accessoires électriques,...).
- **Calandrage** : ce procédé permet d'obtenir des produits plats de grande largeur par laminage de la matière plastique entre plusieurs séries de rouleaux ; exemples : feuilles, plaques, films, sols plastiques.
- **Enduction** : couplée au calandrage, cette méthode permet de déposer une résine plastique sur un support continu (papier, carton, tissu) en décoration ou en protection ; exemples : revêtement de sols, de murs, mobilier, ...
- **Thermoformage** : après avoir été ramollis sous la chaleur, les demi-produits thermoplastiques (plaques ou feuilles) sont emboutis sur une forme ; exemples : gobelets, pots de yaourts, cuves [25].

Chapitre II

Biodégradation des matières plastique

II.1 Introduction

Le secteur de l'emballage et du plastique de commodité sont les plus gros producteurs de déchets. Actuellement, diverses solutions sont déjà mises en œuvre pour pallier ce problème de consommation, avec, par exemple, le recyclage ou l'incinération ; l'innovation la plus prometteuse reste cependant le développement des polymères et « biopolymères » biodégradables. Offrant généralement des propriétés au moins égales voir supérieure à leurs homologues non biodégradables, ces nouveaux matériaux « verts » présentent en général l'avantage de se dégrader de manière non toxique dans les conditions environnementales, ceci sans gaspiller les énergies fossiles. Ce phénomène connu sous le terme de « biodégradation » consiste en la dégradation résultant d'une activité biologique (présence de micro-organismes) menant à une modification de la structure chimique du matériau. Généralement, ce processus se termine par une phase de bioassimilation, dont laquelle consiste à une minéralisation des intermédiaires de dégradation par les micro-organismes et aboutit dans des conditions aérobies à la production des composés simples tels le dioxyde de carbone et l'eau ainsi qu'une nouvelle biomasse. [26].

II.2 Définition de la dégradation

Désigne de manière générale toutes les altérations chimique et/ou physique qu'un matériau est susceptible de subir. Cependant, il est important de différencier les altérations que subit ce matériau au cours de son utilisation, assimilée à un phénomène de vieillissement non désiré, de celles qu'il subit lorsqu'il est traité en fin d'utilisation afin de le faire disparaître de manière définitive ou partielle (le compostage par exemple). C'est pour ce dernier cas que nous emploierons le terme « dégradation » [27].

II.3 Mécanismes de dégradation

L'hydrolyse et l'oxydation peuvent être initiées par des composés chimiques ou biologiques. L'oxydation est généralement subie par le matériau lors d'une exposition plus ou moins prolongée à la lumière du soleil ou à la chaleur et à l'air. L'hydrolyse peut être d'origine chimique ou enzymatique par les exo-enzymes libérées par les micro-organismes du milieu [28].

II.3.1 Hydrolyse chimique

D'une manière générale, l'hydrolyse est caractérisée par l'équation bilan suivante :

$$\text{RCOOH} + \text{R}'\text{OH} \rightarrow \text{RCOOR}' + \text{H}_2\text{O}$$

L'hydrolyse chimique peut avoir lieu en milieu basique ou être catalysée en milieu acide, cela provoque des ruptures de liaisons estère de manière aléatoire ou en bout de chaîne, cela dépend de la nature de l'hydrolyse et du type de polymère [29].

II .3.2 Hydrolyse biologique

L'hydrolyse biologique est catalysée par des enzymes. Un nombre significatif d'enzymes est employé, selon le type de liaisons pour être hydrolysé. En général, ils sont des dépolymérisés [30]. Les produits de dégradation d'une hydrolyse biologique ou chimique sont les mêmes. La différence réside probablement dans le type de catalyse mise en œuvre.

A cause de la taille des enzymes, les réactions biologiques ont lieu à la surface du polymère. Ainsi, avec une hydrolyse enzymatique, la masse du polymère décroît, alors que sa masse molaire ne change pas. Le phénomène contraire est observé pour l'hydrolyse chimique.

II. 3.3 Photo-oxydation

Il est bien établi que la photo-oxydation a un rôle majeur dans la dégradation des polymères exposés à la lumière UV et à l'air atmosphérique. La plupart des polymères n'absorbent pas directement ces radiations que l'on doit envisager la présence de groupements chromophores qui sont à l'origine du phénomène de photo-oxydation. Ceux-ci donnent naissance à des radicaux libres qui amorcent la photo-oxydation des matériaux polymères[31].

II .3.4 Oxydation biologique

L'oxydation biologique est catalysée par un large groupe d'enzymes appelées oxydoréductases. Les réactions pouvant être catalysées par ces enzymes [32].

II .4 La biodégradabilité

La biodégradabilité d'un matériau se définit comme la capacité intrinsèque du matériau à être dégradé par une attaque microbienne, pour simplifier progressivement sa structure et finalement se convertir en CO₂, H₂O et/ou CH₄ et une nouvelle biomasse. Le Comité Européen de Normalisation a proposé qu'un matériau polymère d'emballage sera considéré comme biodégradable par compostage, s'il se transforme en au moins 90% de gaz carbonique et de biomasse en une période de six mois d'enfouissement [33].

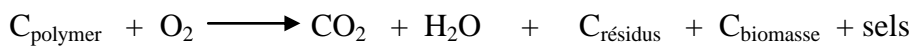
II.5 Biodégradations des polymères

La biodégradation peut être définie de la manière suivante : « il s'agit d'une fragmentation, par l'action de microorganismes, avec perte des propriétés mécaniques ou avec modification chimique ». La structure du matériau se simplifie pour finalement se convertir en

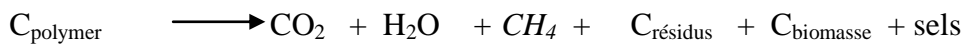
H₂O, CO₂ et ou CH₄, une nouvelle biomasse et éventuellement en résidus. La biodégradation est donc une dégradation catalysée par des microorganismes. Ces phénomènes de dégradation et biodégradation sont différents, mais il n'est pas aisé, au cours de la désintégration et de la disparition du matériau, de séparer la dégradation abiotique et biotique.

Le processus biochimique est résumé par les équations suivantes (C représente le carbone) :

Conditions aérobiques :



Conditions anaérobiques :



Les tests de biodégradation peuvent être effectués dans des conditions diverses : en présence ou en absence d'oxygène, en milieu solide ou aqueux [34, 35]:

II.6 Les grandes classes de matériaux polymères biodégradables

Les polymères biodégradables peuvent être classés en quatre grands groupes [36, 37]

II.6.1 Polymères issus de la pétrochimie

Il s'agit de matériaux polymères réalisés à partir de matières premières issues de ressources fossiles. Ils combinent les bonnes propriétés mécaniques d'usage et la capacité d'être dégradés par des micro-organismes. Basée sur l'incorporation de liaisons labiles tels que l'ester ou amide dans la chaîne principale facilement dégradables dans un composte spécifique. Ils sont constitués de polyesters aliphatiques tels que le poly(ϵ -caprolactone) (PCL), de copolyesters aliphatiques tels que le poly(butylène succinate adipate) (PBSA) ou le poly(ester amide) (PEA) et de copolyesters aromatiques tel que le poly(butylène adipate téréphtalate) (PBAT).

II.6.2 Polymères issus d'agro-ressources

Les polymères naturels sont des matériaux synthétisés par les êtres vivants : végétaux, animaux et micro-organismes. Ils possèdent des rôles structuraux ou servent de réserves en énergie. Ils peuvent être synthétisés directement au sein d'une plante au cours de sa croissance, ou être produits à partir de processus biologiques, par exemple la culture en anaérobiose de micro-organismes (champignons, bactéries) en présence de composés organiques. Leurs utilisations récentes dans la formulation de matières plastiques (polysaccharides, protéines) et dans le secteur médical, dépendent des modifications apportées à leurs propriétés physico-chimiques initiales. Parmi les

polymères naturels, la famille la plus importante est celle des polysaccharides comme l'amidon et la cellulose

II.6.3 Polymères issus d'origine microbienne

Ce sont des polyesters d'origine microbienne, issus de la fermentation par des bactéries (biotechnologie). Les matières premières fermentescibles sont principalement les sucres simples et l'amidon. Parmi ces polymères, les plus connus, il y a le poly(β -hydroxybutyrate), PHB, le poly(hydroxyvalérate), PHV et le poly(hydroxybutyrate-3-hydroxyvalérate), PHBV.

II.6.4 Polymères issus des biotechnologies

Ils sont produits au départ de ressources renouvelables (amidon, sucres) via une voie biotechnologique par la polycondensation de monomères naturels ou identiques aux naturels. Le plus connu est le (Poly(Acide Lactique)) ou PLA (amidon de maïs ou sucre de betterave transformé par fermentation).

Quatre domaines d'applications des biopolymères sont identifiés en fonction de leurs propriétés (tableau 1.1): la médecine, l'agriculture, les emballages et l'automobile.

Biopolymères	Propriétés particulières	Applications ciblées
Polymères à base d'amidon	Antistatiques, anticondensation, toucher naturel	Emballages et sac
Polymères à base de cellulose	Tranparences, antistatiques	Emballages
Polymères à base protéines	Comestibles, grandes diversités chimiques des acides aminés, perméabilité sélective aux gaz	Galénique, emballages, alimentaires
Polymères à base d'huile	Siccativités	Peinture, vernis
Polymères de synthèse à base d'acide lactique	Anti-condensations, brillances, antibactériens	Emballages, textiles
Polyesters bactériens (polyhydroxyalcanoates)	Propriétés piézoélectriques, anti-oxydants, insolubilité dans l'eau	Médical, matériaux ostéosynthétique, emballage
Caoutchouc	Elastomère	Vulcanisation

Tableau II.1 : Propriétés spécifiques des biopolymères et leurs applications attendues [38]

III.7 Mécanisme général de la biodégradation des polymères

Les polymères biodégradables sont généralement dégradés en deux étapes (figure III.2):

III.7.1 Première étape ou dégradation primaire

Cette première étape correspond soit à une détérioration physico-chimique du produit, soit à une biofragmentation du produit. Dans le cas de la détérioration physico-chimique, elle est généralement provoquée par des agents extérieurs (mécanique, chimique ou thermique). Dans le cas d'une biofragmentation, elle est provoquée par des êtres vivants (bactéries, champignons, vers de terre, insectes, etc.) [39].

Cette première qui est étape, très utile, a pour résultat le clivage de la chaîne principale formant des fragments de bas poids moléculaire (oligomères) ce qui permet d'augmenter la surface en contact avec les micro-organismes [40, 39].

III.7.2 Seconde étape ou biodégradation ultime

Il s'agit de la digestion du matériau par les microorganismes et les enzymes (bioassimilation) qui vont les transformer en métabolites, assimilés par la suite dans les cellules puis minéralisés. [39]. Dans des conditions aérobies, les fragments de bas poids moléculaires produits peuvent être assimilés par les microorganismes pour produire du dioxyde de carbone, eau et des produits métaboliques de ces microorganismes. Dans des conditions anaérobies, le méthane est principalement produit à la place du dioxyde de carbone et de l'eau. Une nouvelle biomasse est produite dans les deux conditions [40, 39].

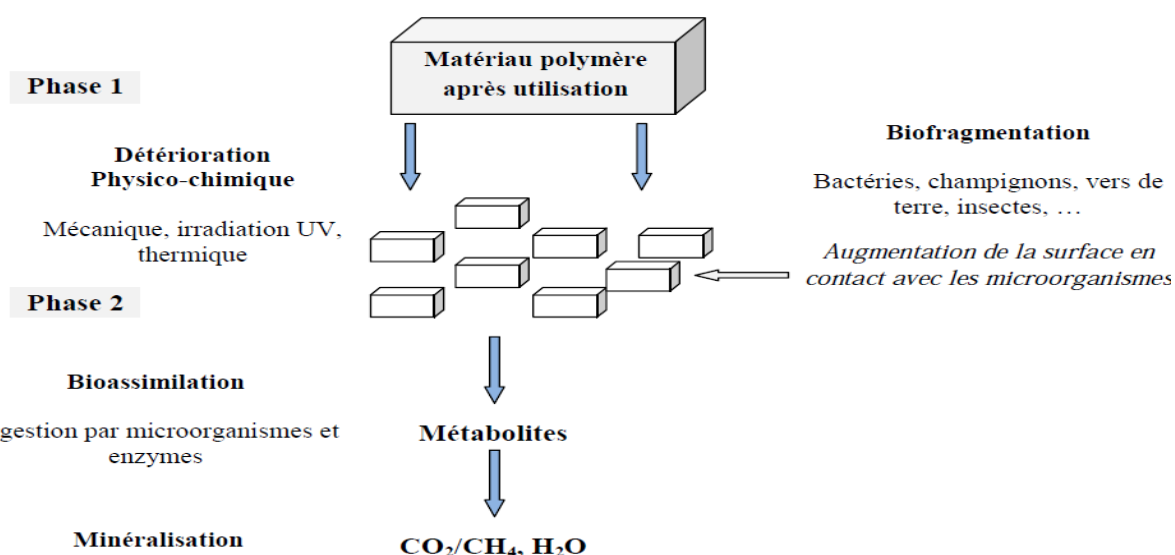


Figure II.1 : Mécanisme de biodégradation des polymères [39]

II.8 Acteurs et facteurs de la biodégradation

Après avoir établi un inventaire des différents types de polymères biodégradables et dits « Biodégradables », il convient de décrire les trois grandes familles de facteurs qui influencent le processus de biodégradation d'un matériau [41, 42], à savoir la physico-chimie du milieu, sa microbiologie et la nature du matériau.

II.8.1 Physico-chimie du milieu de dégradation et biodégradation

Certains facteurs sont déterminants non seulement pour la croissance des micro-organismes intervenant dans la dégradation mais aussi pour le matériau amené à être dégradé. Citons notamment :

- la température
- l'humidité
- le pH
- la présence ou non d'oxygène
- l'approvisionnement en différents nutriments [43].

II.8.2 La structure et les propriétés des polymères constituant le matériau

Le degré de polymérisation influence fortement la biodégradation. Un polymère faiblement cristallin et de masse molaire peu élevée est plus facile à dégrader. Par contre il sera difficile d'hydrolyser un polymère dont la structure est bien organisée (cristalline) [44].

II.8.3 Microbiologie du milieu de biodégradation

L'environnement biologique, dans lequel les polymères sont placés en vue de leur élimination est essentiel puisqu'il abrite les agents biologiques capables de procéder à une attaque biologique, les micro-organismes. Ces agents, champignons et bactéries notamment, sont capables de synthétiser des enzymes actives sur le polymère cible, afin d'initier le processus de fragmentation et de minéraliser les monomères et oligomères.

a. Les micro-organismes

Le terme « micro-organisme » couvre un groupe hétérogène d'être vivants de taille microscopique. L'analyse de la structure interne a permis de déterminer l'appartenance des micro-organismes à deux principaux groupes :

- les procaryotes qui n'ont pas de noyau (les eubactéries et archéobactéries).

- les eucaryotes qui ont un système membranaire interne enfermant des organites dans un noyau (protozoaires (unicellulaire), algues et champignons). Les eucaryotes présentent un cytosquelette interne d'actine et de tubuline absent chez les procaryotes.

Les deux types de micro-organismes qui jouent un rôle déterminant dans la biodégradation des polymères naturels et synthétiques sont les champignons et les bactéries [45].

- **Les champignons**

Les champignons, ou mycètes, sont des eucaryotes thallophytes non chlorophylliens. Les microbiologistes utilisent le terme « mycète » pour désigner des organismes eucaryotes, porteurs de spores, dépourvus de chlorophylle, dont la nutrition se fait par absorption. Les Champignons sont principalement des organismes terrestres ; plus de 80 000 espèces sont identifiées [46]. Avec les bactéries et quelques autres groupes d'organismes hétérotrophes, les mycètes jouent un rôle important comme agents de décomposition. Ils dégradent des matières organiques complexes de l'environnement en substances organiques simples et en composés inorganiques. Les mycètes, en particulier les levures, sont essentiels à beaucoup de procédés industriels impliquant une fermentation (exemple : la fabrication d'antibiotiques et de boissons alcoolisées). Présents partout où des matières organiques sont disponibles, les mycètes se développent surtout dans des habitats sombres et humides [47].

- **Les bactéries**

Les bactéries sont des êtres unicellulaires de structure simple (Fig. 3). Elles sont aérobies ou anaérobies. Les bactéries peuvent présenter une morphologie variable bien qu'elles soient souvent sous formes de coques et de diplocoques à peu près sphériques ou en bâtonnets. La taille des bactéries varie autant que leur forme. Les plus petites ont de 100 à 200 nm de diamètre. Certaines peuvent atteindre 500 μ m de longueur. Elles peuvent se développer à une température comprise entre -12°C et +112°C, dans une gamme de pH qui peut varier de 1 à 12 et avec un degré de salinité allant de zéro jusqu'à une saturation du milieu environnant.

Cultivées sur des milieux appropriés, les bactéries s'organisent en colonies dont l'aspect sera caractéristique d'une souche donnée. Les bactéries constituent, par leur multiplication rapide et la variété de leurs activités biochimiques, un groupe d'une importance capitale pour l'équilibre du monde vivant [47].

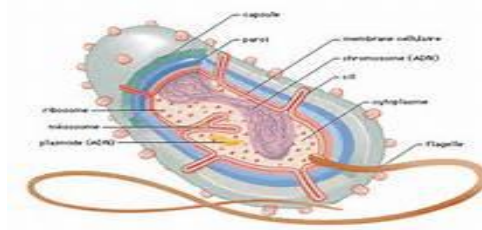


Figure II.2 : Organisation générale d'une bactérie [48]

▪ **Les enzymes**

Le rôle des enzymes est primordial puisque celles-ci catalysent les réactions chimiques se produisant dans les organismes vivants. Les enzymes sont des protéines (polypeptides de masse molaire élevée) résultant de la condensation d'acides aminés. Ces derniers se lient entre eux par l'intermédiaire de liaisons amide, résultant de la réaction des fonctions amine sur les fonctions acides, pour constituer de proche en proche la chaîne peptidique. Cette chaîne se replie pour donner un édifice tridimensionnel spécifique pour chaque enzyme (figure 4), dans lequel se trouve le site actif. C'est dans cette cavité que se déroule la réaction catalysée par l'enzyme. Le substrat vient s'insérer dans le site actif et est maintenu dans une certaine position par l'intermédiaire de liaisons non covalentes [47].

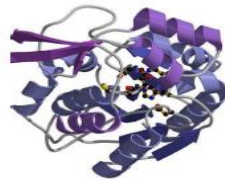


Figure II.3 : Edifice tridimensionnel d'une enzyme

II.9 Grandeurs permettant une évaluation de la biodégradation

La biodégradabilité d'un matériau consiste en sa minéralisation totale par le métabolisme des micro-organismes, non seulement du polymère de base, mais aussi des additifs inclus. Plusieurs paramètres peuvent être suivis, dans des conditions expérimentales définies [49] :

- **Le changement d'aspect du matériau**

Ceci consiste à observer la colonisation microbienne à la surface du polymère et à examiner les modifications macroscopiques (fragmentation, érosion,...) et/ou microscopiques

(modification de la morphologie) de celle-ci. Les techniques utilisées sont notamment les microscopies optique, électronique ou à force atomique.

- **La perte de masse**

L'évolution de la masse est mesurée en fonction du temps.

- **L'évolution des propriétés thermiques et mécaniques**

L'évolution des propriétés thermiques (T_g , T_f ,...) et mécaniques telles que la résistance à la traction, l'allongement à la rupture, etc... sont des mesures indirectes de la biodégradation d'un polymère. Ces méthodes permettent d'estimer des degrés de biodégradabilité par rapport aux propriétés d'origine du matériau.

- **La distribution des masses molaires**

Cette distribution peut être mesurée par chromatographie d'exclusion stérique (CES). Cette méthode est analytique et permet d'affiner la compréhension des mécanismes de dégradation.

- **La consommation en oxygène**

C'est une méthode directe de mesure de l'activité biologique en présence du matériau. Elle nécessite néanmoins de bien connaître les mécanismes biochimiques impliqués afin de différencier les consommations en oxygène liées à la biodégradation du matériau de celles liées à d'autres processus (oxydation chimique, ...).

- **L'émission de CO₂**

Cette autre méthode directe de mesure de l'activité biologique est sans doute la plus utilisée à l'heure actuelle. Produit lors de la minéralisation du matériau, le CO₂ est en effet assez facilement détectable par spectroscopie infrarouge ou par chromatographie. Il est toutefois important de souligner que la totalité du carbone provenant du polymère n'est pas transformée en CO₂. En effet, une partie sera utilisée à d'autres fins par la biomasse (reproduction, stockage d'énergie, ..). Le rendement de transformation du carbone en CO₂ n'est donc pas de 100%. Dès lors, le CO₂ produit doit être ramené à la quantité de CO₂ total qui aurait pu être produit à partir de l'échantillon. Le degré de biodégradation est alors exprimé comme un pourcentage du CO₂ théorique total.

II.9.1 Tests de biodégradation et d'écotoxicité

Pour choisir un test de biodégradabilité, il faut tenir compte de divers critères comme les similitudes avec le milieu naturel, la durée de l'essai, la reproductibilité des mesures, facteur important pour comparer les polymères entre eux et les classer en fonction de leur degré de biodégradabilité, et le coût du test.

a. Tests en milieu gélosé

Pour les tests en milieu gélosé, le polymère employé peut se présenter sous la forme d'un film ou d'une éprouvette d'épaisseur réduite, ou encore sous forme de poudre intégrée ou non à la gélose [50]. L'évaluation de l'action microbienne s'effectue visuellement par observation de la croissance microbienne, au microscope, sur et à proximité du polymère. Il est également possible et recommandé d'analyser les propriétés physico-chimiques et mécaniques du film. Ces résultats doivent cependant être interprétés avec prudence car les conditions d'incubation, notamment la température, sont susceptibles d'être responsables d'une modification des propriétés.

intrinsèques du matériau. Ces tests ne permettent pas de quantifier la biodégradabilité d'un matériau mais ils s'avèrent très intéressants s'il s'agit de rechercher les souches microbiennes capables de dégrader un polymère particulier et de mettre en évidence certains effets inhibiteurs (fongistatiques ou bactériostatiques) voire létaux du matériau lui-même ou de certains de ses additifs.

b. Tests respirométriques

➤ Tests en milieu liquide

Le test le plus fréquemment utilisé pour évaluer la biodégradation d'un matériau en milieu liquide, est le test de Stürm. Le principe de ce test consiste en la mise en contact d'un matériau « test » avec un inoculum biologique pouvant provenir d'un extrait de compost, de sol ou de boues activées (composées essentiellement de micro-organismes flocculants, sont mélangées avec de l'oxygène dissous et de l'eau usée) de station d'épuration. Cependant, il est également possible d'inoculer le milieu avec une seule souche microbienne ou un mélange de plusieurs souches sélectionnées. La seule source de carbone est le matériau, soluble ou non, que l'on place dans le réacteur sous la forme de film ou de poudre. Le milieu ainsi préparé est placé sous agitation constante et alimenté par un flux gazeux exempt de CO₂. La production de CO₂ est mesurée et est exprimée en pourcentage par rapport à la quantité totale

théorique de CO₂ (pourcentage théorique de CO₂) [51-53].

➤ **Tests en milieu compost**

On trouve dans la littérature [54-56] plusieurs types de tests de biodégradation de polymères en milieu compost ; ils s'appuient tous sur le même principe, à savoir la mesure du taux de minéralisation du polymère. La différence entre eux est basée sur la quantité de compost utilisée pour le test.

Le compost est placé dans un équipement de laboratoire qui permet de contrôler et d'enregistrer l'humidité, l'aération et la température. Le CO₂ produit est mesuré et exprimé en pourcentage de CO₂ total théorique. Les tests en compost peuvent aller de 45 jours à 6 mois.

c. Tests de terrain

L'échantillon est exposé directement dans un milieu naturel : enfouissement dans le sol, immersion dans un lac ou un fleuve, traitement en station de compostage, ... Les essais de terrain représentent les conditions environnementales idéales et permettent d'estimer la vitesse réelle de biodégradation ; cependant leur mise en oeuvre demeure problématique car le milieu de dégradation (composition chimique et microbienne, température, pH, ...) est peu maîtrisable et le suivi de la dégradation s'avère difficile. Dans la plupart des cas, il est ainsi seulement possible d'évaluer la biodégradabilité par la mesure de la perte de masse ou l'évolution des propriétés thermo-mécaniques. Les résultats sont par ailleurs peu reproductibles et peuvent fortement varier en fonction de la situation géographique et des saisons.

d. Tests d'écotoxicité

Les tests d'écotoxicité ne sont pas destinés à évaluer la biodégradabilité d'un matériau mais ils représentent un complément indispensable de ceux-ci car ils permettent de s'assurer de l'innocuité du processus de biodégradation et des sous-produits émis dans le milieu naturel. Rappelons en effet que la notion de « biodégradabilité » implique que le matériau ne soit pas nocif pour l'environnement pendant et après sa biodégradation [57].

Chapitre III

Généralités sur l'amidon

III.1 Introduction

L'amidon est un polymère naturel, renouvelable et biodégradable synthétisé par les végétaux supérieurs à partir de l'énergie solaire. Il est l'un des matériaux de biomasse les plus abondants dans la nature, et il constitue une source énergétique indispensable à l'alimentation des êtres vivants et de l'homme en particulier. On le trouve dans les organes de réserves des plantes telle que les céréales (30-80% de la matière sèche (ms)), les tubercules (60-90% ms), et les légumineuses (25-50 ms). Dans le monde entier les principales sources d'amidon sont le maïs (82%), le blé (8%), les pommes de terre (5%) et le manioc (5%) à partir de laquelle l'amidon de tapioca est dérivé. En 2010, le marché de l'amidon du monde a été estimé à 68 millions de tonnes [58].

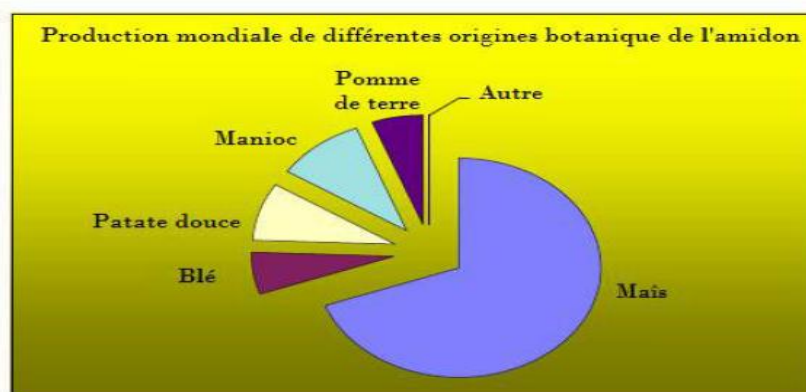


Figure III.1 : Origine botanique de l'amidon d'après International Starch Institute (2004)

III.2 L'amidon

L'amidon est un composé nutritionnel abondant, renouvelable, peu coûteux, qui se trouve dans les aliments de multiples fonctions comme épaississant, gélifiant, liant et matières sucrantes. Les diverses caractéristiques de l'amidon lui confèrent de nombreuses applications, dans ces dernières années, dans les secteurs suivants : adhésifs et colles (fabrication des cartons ondulés, ...), textiles (préparation des chaînes de tissage et d'impression des tissus), industrie chimique (substrat de fermentation, liant...), et quelques applications pharmaceutiques et cosmétiques, et il est devenu une matière première intéressante pour la production de matières plastiques renouvelables et biodégradables [59].

Aujourd'hui, les principales utilisations de l'amidon n'ont pas beaucoup changé, avec près de 60% utilisé pour la nourriture et 40% pour les applications industrielles (comme décrit dans la figure III.2).

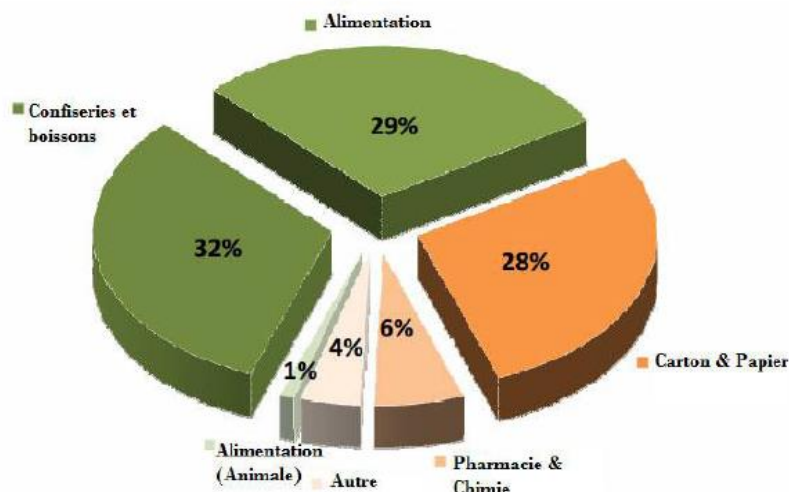


Figure III.2 : Secteur d'application de l'amidon [60]

L'amidon peut être utilisé comme extrait de la plante, est appelé «amidon natif », ou il subit une ou plusieurs modifications chimiques pour atteindre des propriétés spécifiques , est appelé «amidon modifié». Cependant, la plupart des amidons ont dans leurs formes natives des limitations qui les rendent moins idéaux pour la diversité des applications souhaitées [61].

III.3 Procédé d'extraction de l'amidon

La technologie d'extraction de l'amidon est un ensemble d'opérations unitaires, à savoir : le lavage, broyage par voie humide, le tamisage, la décantation et le séchage.

Les principales étapes sont:

- **Nettoyage** pour éliminer les contaminants des lots tels que le maïs concassé, pierres, poussières et grains étrangers.
- **Trempage** à 50°C, pour 40-50 heures et à un pH acide par addition de l'acide sulfurique ou l'acide chlorhydrique puis traité avec du dioxyde de soufre afin d'obtenir le relâchement de la matrice de protéines et la libération de la conséquence soluble, le gonflement des grains par l'absorption d'eau (teneur en eau augmente de 15 à 45%), est commandé par la fermentation des bactéries lactiques. La croissance des bactéries lactiques empêche également le développement des micro-organismes indésirables.
- **Broyage et séparation de germes** (dégermination).

- **Séparation de gluten** à partir de lait d'amidon par des séparateurs centrifuges continus et successifs.
- **Raffinage** d'amidon avec hydrocyclone qui est un dispositif qui utilise la force centrifuge pour séparer des particules les plus lourdes que l'eau.
- **Déshydratation et séchage** avec un Sèche Flash. L'humidité du résidu de durée de vie optimale ne doit pas dépasser 14 %.

Les méthodes d'extraction sont à peu près similaires pour les autres amidons bien que certains pourraient différer légèrement par leurs désignations pour s'adapter au produit donné [62].

III.4 La structure de l'amidon natif

Bien qu'hydrophile, l'amidon est un mélange de polymères organisé insoluble dans l'eau froide. C'est sous cette forme condensée que les végétaux accumulent les glucides photosynthétisés. Deux fractions homogènes peuvent en être extraites :

- l'amylose qui représente 5 à 30% de l'amidon
- l'amylopectine qui représente 70 à 95% de l'amidon

Ces deux polymères sont constitués d'unités de glucose. Les proportions respectives de ces deux constituants varient suivant l'origine botanique [63]. La farine d'amidon contient également d'autres matières non polysaccharidiques dans des proportions très faibles : des lipides, des protéines (amidon) et des matières minérales [64]. La teneur en chacun des constituants est différente suivant l'origine de l'amidon (Tableau III.1).

Source botanique	Amylose [%]	Amylopectine[%]
Maïs	28	72
Pomme de terre	21	79
Blé	28	72
Maïs cireux	0	100
Amylomaïs	50-80	50-20
Ris	17	83
Pois	35	65
Manioc	17	83

Tableau III.1 : Teneur en amylose et amylopectine des amidons de différentes sources botaniques.

III.4.1 L'amylose

L'amylose est un polymère à chaîne linéaire formé d'unités de D-glucose liées par des liaisons α -1,4 glucidiques (Figure III.3). La conformation et le mode de liaison

permettent à l'amylose d'adopter des formes hélicoïdales comportant 6 à 8 unités glucose par tour, stabilisées par des liaisons hydrogène [65].

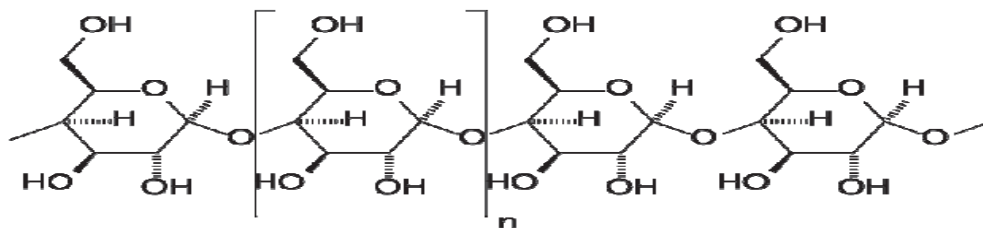


Figure III.3 : Structure de l'amylose

III.4.2 L'amylopectine

L'amylopectine est un polymère ramifié, composé de multiples courtes chaînes d'unités D-glucose liées par des liaisons glucidiques α -1,4 mais sur lesquelles viennent s'attacher, par des liaisons α -1,6 glucidiques aux points de ramifications, formant ainsi une molécule arborescente (Figure III.4).

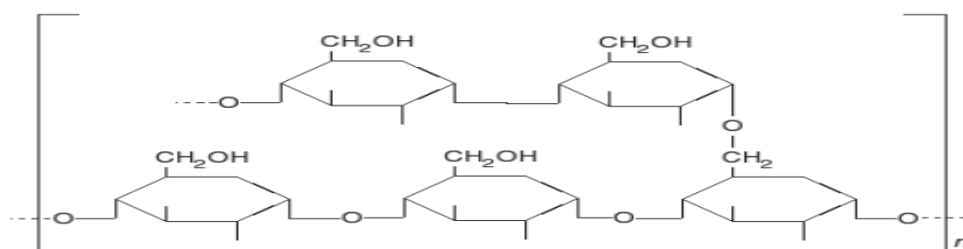


Figure III.4 : Structure de l'amylopectine

Les ramifications ne sont pas régulièrement arrangées mais sont regroupées dans des zones plus ou moins limitées ; il en résulte la formation de sorte de grappes plus ou moins étagées [66,67]. Comme les points de ramification ne sont pas distribués au hasard mais regroupés, la disposition des grappes est régulière. Une association peut ainsi intervenir entre des ramifications appartenant à des molécules différentes. L'organisation est alors ordonnée sous forme cristalline.

III.4.3 Structure des granules d'amidon

A l'état natif, l'amidon se présente sous forme de granule. L'origine botanique détermine la taille (1 à 100 μm), la morphologie (sphérique, lenticulaire...), la composition (amylose/amylopectine) et la position du hile (départ de croissance du grain) des granules d'amidon (figure III.5) [68].

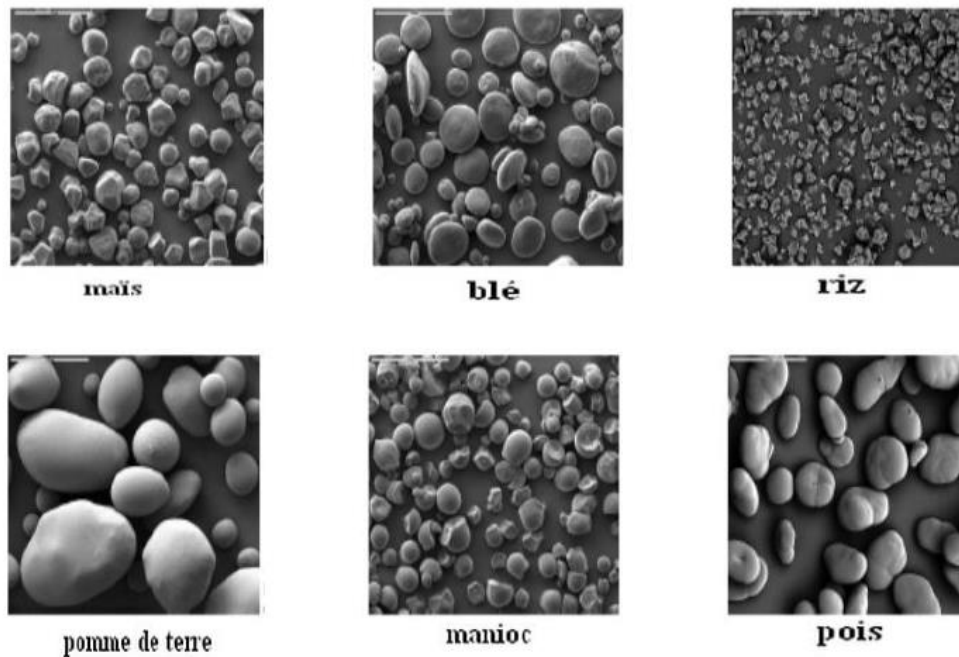


Figure III.5 : Grains de différents amidons observés en MEB (grossissement x 280) [69]

Les granules d'amidon sont organisés macroscopiquement en anneaux (Figure III.6), avec des alternances d'anneaux cristallins et d'anneaux amorphes [70]. Les zones amorphes sont composées d'amylose libre, et d'eau liée [71]. Les zones cristallines sont constituées uniquement d'amylopectine. L'organisation dépend donc de la manière dont sont associées les molécules d'amylose et d'amylopectine.

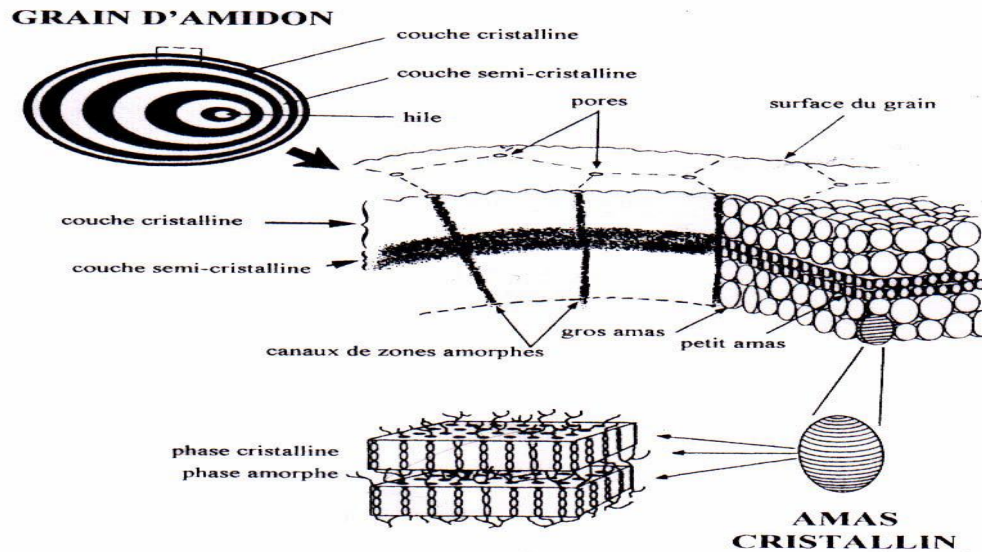


Figure III.6 : Structure et ultrastructure d'un grain d'amidon [72]

III.5 Propriétés physico-chimiques de l'amidon

III.5.1 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°C) une solution colloïdale qui épaisse en donnant un gel communément appelé empois.
- Température de gélification : la gélification commence graduellement à partir de 50°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'oeuf, les crèmes aux oeufs contenant de l'amidon peuvent être portées à ébullition [73].

III.5.2 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 dextrine. Le gel formé 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[73].

III.6 Elaboration des matériaux à base d'amidon

III.6.1 Gélatinisation

La première étape de mise en œuvre d'un matériau à base d'amidon est la gélatinisation ou déstructuration de la partie semi-cristalline des grains d'amidon. Elle s'obtient sous excès d'eau (>50%) et pour des températures supérieures à 60°C. La gélatinisation peut également être obtenue en jouant sur la variable pression [74]. La gélatinisation est définie en trois étapes (Figure III.7): la sorption (gonflement du grain), l'empesage (gélatinisation du grain) et la dispersion (solubilisation).

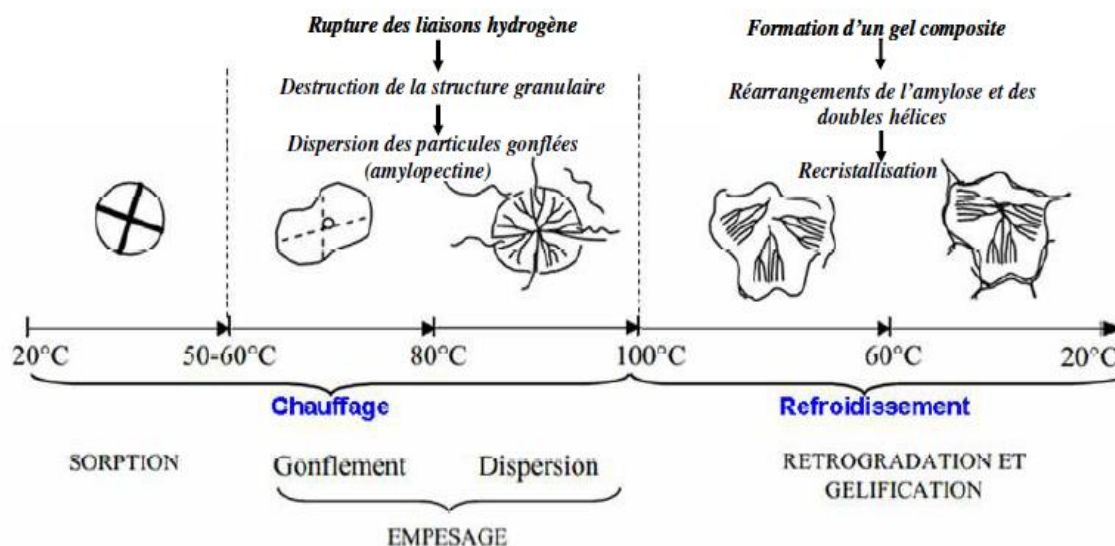


Figure III.7 : Gélatinisation et rétrogradation de l'amidon [75]

Selon l'espèce botanique et le type cristallin de l'amidon natif, les conditions de gélatinisation diffèrent [76] :

- Amidon de blé: $T^{\circ}_{\text{gélatinisation}} = [50-80]^{\circ}\text{C}$
- Amidon de pomme de terre: $T^{\circ}_{\text{gélatinisation}} = [55-78]^{\circ}\text{C}$
- Maïs cireux: $T^{\circ}_{\text{gélatinisation}} = [64-82]^{\circ}\text{C}$
- Amylomais: $T^{\circ}_{\text{gélatinisation}} = [66-120]^{\circ}\text{C}$

III.6.2 Plastification

➤ **Principe :** La plastification consiste à améliorer la ductilité du matériau (allongement à la rupture) et plus généralement son comportement face à une sollicitation mécanique. D'un point de vue thermodynamique, la plastification diminue la température de transition vitreuse du matériau.

➤ **Type de plastifiants :** Les plastifiants doivent avoir une bonne solubilité et une bonne mobilité avec le polymère à plastifier. L'amidon étant un matériau polaire à travers ses groupements hydroxyles, l'eau est ainsi son meilleur plastifiant. Les matériaux à base d'amidon sont plastifiés à l'aide de composés non-volatils qui permettent de fixer un degré minimum de plastification. Les principaux plastifiants étudiés sont les suivants:

- Les sucres : xylitol, fructose, glucose (Mathew et al. 2002; Zhang et al. 2006)
- Les polyols : glycérol, glycols, sorbitol, maltitol, etc... (Lourdin et al. 1997; Mali et al. 2005; Talja et al. 2007)
- L'urée, acétamide, formamide (Ma et al. 2005; Huang et al. 2006)
- Les acides aminés (Stein et al. 1999)

III.6.3 Mise en forme des matériaux

Les techniques de mises en oeuvre des matériaux à bases d'amidon comme l'extrusion, l'injection, le casting, sont identiques aux techniques utilisées dans le domaine des polymères traditionnels. Néanmoins la mise en oeuvre des matériaux à base d'amidon est bien plus compliquée et difficile à contrôler du fait de ses propriétés particulières: haute viscosité, hydrophilie, rétrogradation, etc.

III.6.3.1 Le procédé d'extrusion

L'extrusion est une technique classique de transformation et de mise en oeuvre des polymères synthétiques. Appliquée à l'amidon, elle provoque la perte de la structure granulaire de l'amidon à travers le traitement thermomécanique et permet d'obtenir un matériau amorphe.

III.6.3.2 Le casting : Le phénomène de gélatinisation de l'amidon à température et en présence d'excès d'eau permet l'obtention de films par casting aqueux. Les films sont obtenus

à partir de suspensions aqueuses de 1 à 6% d'amidon natif et selon deux techniques principales :

- En réacteur de type Brabender sous pression atmosphérique par traitement thermomécanique à 90-95°C [77] avec suivi du couple mécanique de mélange.
- En réacteur haute pression : chauffage sous pression et sous atmosphère inerte à 120-140°C [78-80].

La solution obtenue est ensuite coulée dans un moule anti-adhérent et laissée à température ambiante ou à température plus élevée (prévention de la recristallisation) pour évaporer le solvant plus ou moins rapidement.

III.7 Le vieillissement des matériaux à base d'amidon

En plus du taux de plastifiant utilisé, les propriétés mécaniques des matériaux à base d'amidon sont influencées par les conditions de stockage. Trois facteurs sont susceptibles de provoquer des modifications au niveau de la structure de l'amidon:

- La température
- Le temps
- L'humidité relative du conditionnement

L'amidon peut subir deux types de vieillissement en fonction de la température de stockage :

- Vieillissement physique ;
- Vieillissement par rétrogradation.

Plusieurs auteurs ont montré que le vieillissement physique pour des matériaux à base d'amidon se produit à des températures inférieures à la température de transition vitreuse (T_g) contrairement à la rétrogradation qui est observée à des températures supérieures à la T_g [81]. Selon [82], le phénomène de vieillissement physique de l'amidon est le même que celui observé dans le cas des polymères d'origine synthétique.

III.8 Modifications chimiques de l'amidon

L'amidon peut être modifié chimiquement du fait de la présence des nombreux groupes hydroxyles tout au long des chaînes d'amidon. Tomasik et al. [83] ont réalisé une revue très complète sur les diverses modifications chimiques par voie solvant que l'on peut effectuer sur l'amidon. On peut citer par exemple diverses réactions telles que : l'oxydation, la réduction, l'éthérisation, l'estérification, l'acétylation ou encore l'halogénéation.

Partie expérimentale

The image features the text 'Partie expérimentale' in a bold, sans-serif font. Each letter is filled with a different color from a rainbow spectrum, starting with purple for 'P', transitioning through red, orange, yellow, green, and blue to purple for 'e'. The text is rendered with a slight 3D effect, as it casts a soft, grey shadow onto the white background below it.

Chapitre I

Etude de la Biodégradation en milieu solide

I.1 Introduction

Les tests réalisés pour mesurer la biodégradabilité diffèrent généralement par le choix de l'environnement (liquide, solide) et de la méthode employée (qualitative, quantitative). Ces tests sont menés au laboratoire d'où le matériau testé est placé dans un milieu qui simule à l'environnement naturel ou le matériau est placé in situ (sol, compost, décharge, eau de mer, effluent de rejet). Les tests au laboratoire sont mieux maîtrisés et plus reproductibles que ceux réalisés en milieu naturel qui se déroulent en conditions connues mais non maîtrisées.

I.2 biodégradation en milieu solide

Le but de cette partie est de présenter les différents matériaux utilisés, le processus expérimental et les méthodes employées pour l'évaluation du taux de biodégradation des films d'amidon.

I.3 Matériel et méthode

I.3.1 Préparation des films

a) Nature du plastifiant : Les plastifiants sont des composés organiques de faibles poids moléculaires utilisés pour assouplir les polymères rigides. Ils agissent en réduisant la Tg des polymères, réduisant leur cristallinité ou leur température de fusion. Dans cette étude nous avons utilisé le glycérol, le sorbitol, l'acide citrique et le polyvinyle alcool (PVA) pour plastifier l'amidon.

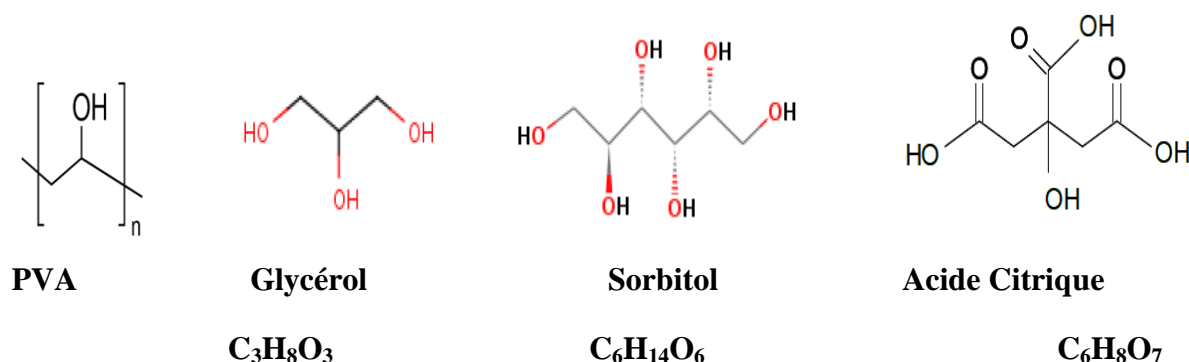


Figure I.1 : Structures chimiques des plastifiants utilisés.

b) Synthèse d'un film d'amidon Glycérol AG

Introduire dans un bécher 2,5 g d'amidon de maïs, 2 ml de glycérol (à 50 % en volume), 3 ml d'acide chlorhydrique 0.1 M et 25 ml d'eau distillée. La solution est mise sur une plaque chauffante (réglée à 150 °C) pendant 15 minutes, de façon à ce que la solution ne soit pas à ébullition. A la moitié du temps, ajouter 1 ml de la soude 0.1 M. Neutraliser avec 2 ml de solution NaOH 0.1 M restant pour diminuer la viscosité du mélange. Verser la solution dans

une boîte de Pétri en étalant. Laisser 5 minutes à l'air libre puis sécher dans l'étuve à 90 °C pendant 1 heure. On obtient alors un film plastique, la même chose pour les autres films.

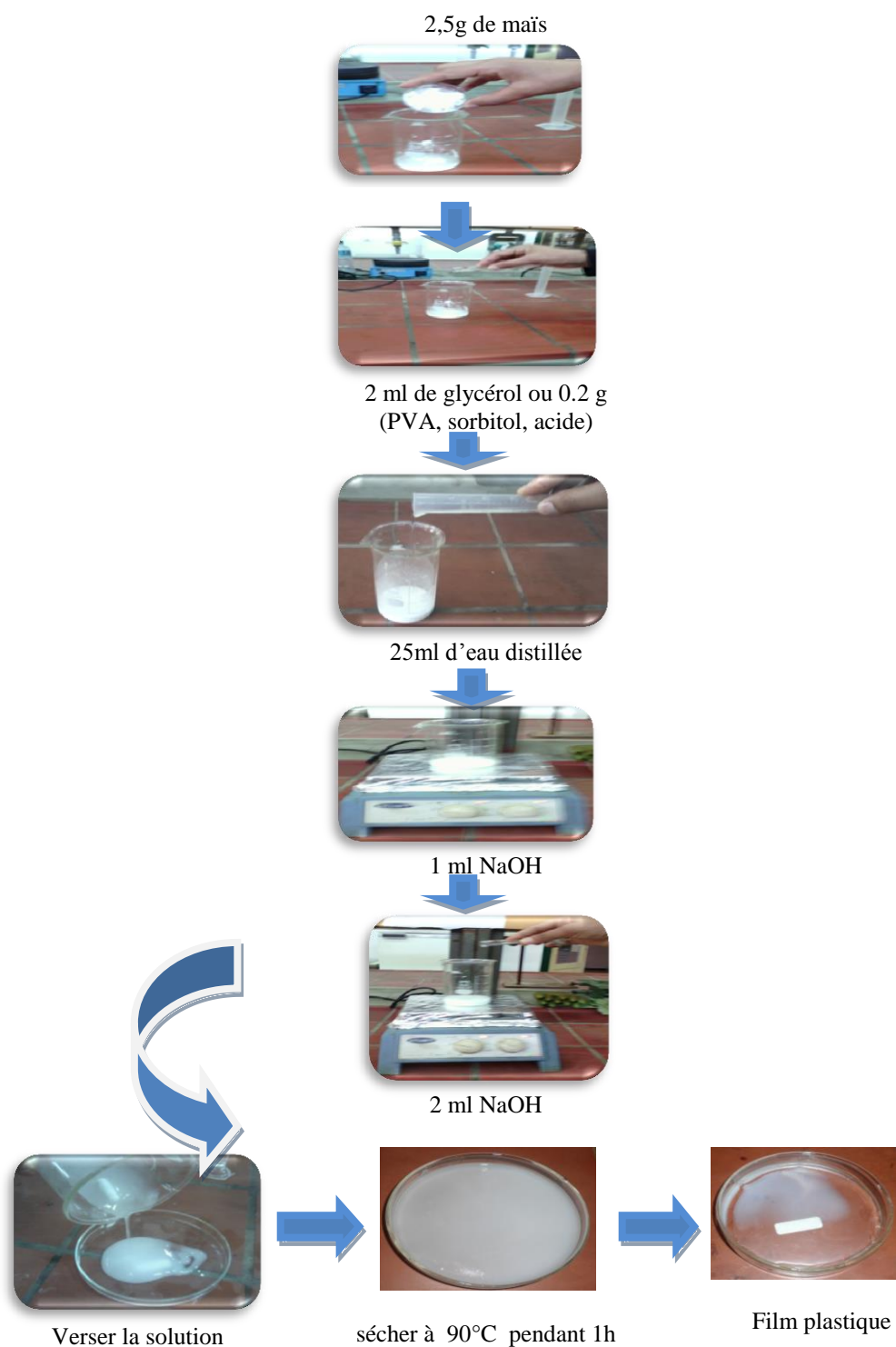


Figure I.2 : Synthèse des films d'amidon

I.3.2 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 d'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 cm^{-1} . Les spectres Infrarouge obtenus sont présentés ci-dessous :

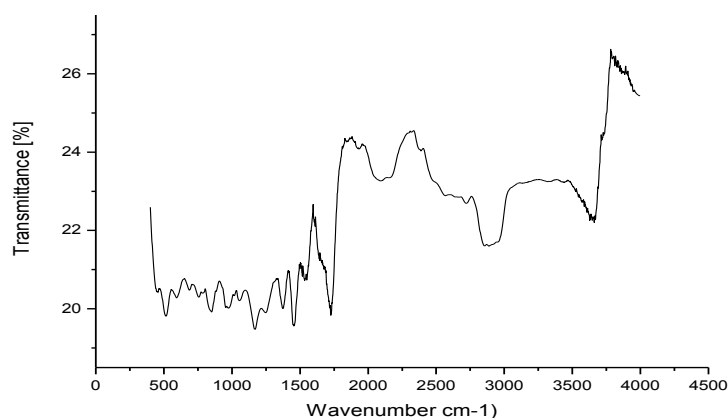


Figure I.3 : spectre IR du film d'amidon- Glycérol

Le spectre IR de film amidon glycérol montre les bandes caractéristiques suivantes :

- ✓ Une bande fort d'absorption situe vers 3800 cm^{-1} correspond aux vibrations des fonctions alcool du glycérol (OH)
- ✓ Une bande moyenne vers 2800 cm^{-1} d'une liaison de vibration élongation CH et CH₂

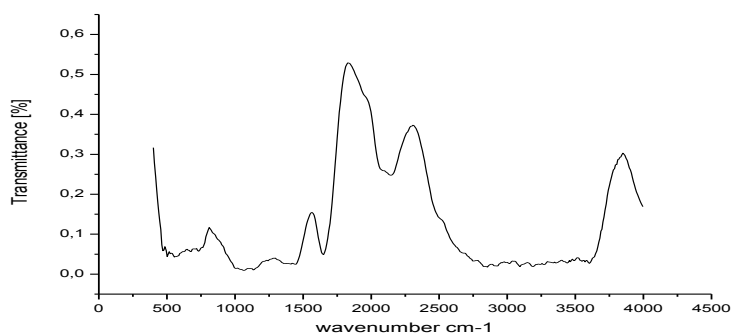


Figure I.4 : spectre IR du film amidon –Sorbitol

Le spectre IR de film amidon sorbitol montre les bandes caractéristiques suivantes :

- ✓ Une forte bande fort d'absorption située à 3850cm^{-1} correspond aux vibrations des fonctions alcool du sorbitol (OH).
- ✓ Une bande forte vers 1650 cm^{-1} d'une liaison de vibration d'élongation de groupe hydroxyle.

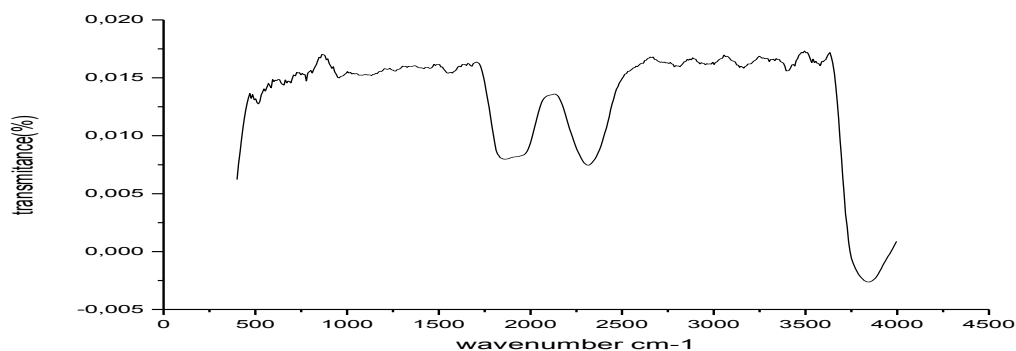


Figure I.5 : spectre IR du film amidon -alcool polyvinylique

Le spectre IR de film amidon PVA montre les bandes caractéristiques suivantes :

- ✓ Une large bande située vers 3860 cm^{-1} correspond aux vibrations des fonctions alcool du PVA (OH).

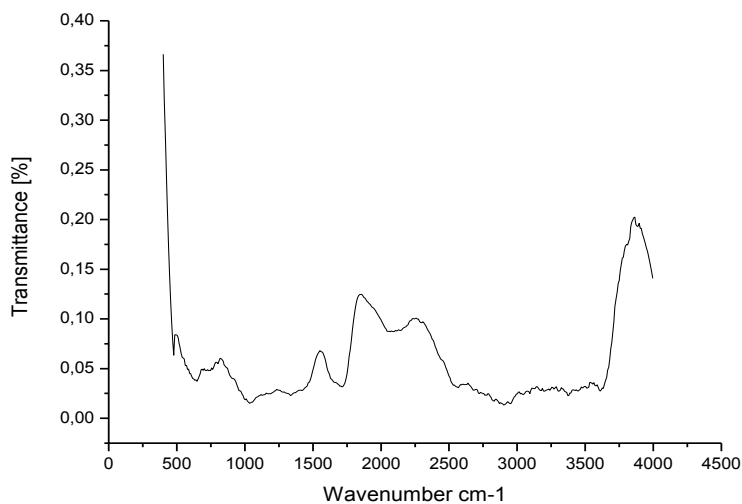


Figure I.6 : spectre IR du film amidon- acide citrique

Le spectre IR de film amidon acide citrique montre les bandes caractéristiques suivantes :

- ✓ Une bande d'absorption située entre 3700 à 3900cm^{-1} correspond aux vibrations des fonctions alcool de l'acide (OH).
- ✓ Une bande forte vers 1750 cm^{-1} correspond à une vibration d'élongation C=O d'acide carboxylique.

I. 3.3 Matériel biologique

I.3.3.1 Les micro-organismes

Les souches choisies pour cette étude sont quatre souches : une bactérie à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et trois bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *pseudomonas fluorescence*) et une souche fongique qui est *Aspergillus Niger*.

a) Origine des souches bactériennes utilisées

- ***Pseudomonas fluorescence*** : cette souche bactérienne a été isolée à partir du sol de jardin et identifiée dans le laboratoire de microbiologie.
- **les autres souches** : ont été isolées et identifiées dans le laboratoire d'Amélioration et valorisation des productions animales locales de l'université de Tiaret.
- ***Aspergillus Niger*** : cette souche fongique a été isolée à partir d'un film d'amidon qui a été attaqué par ce champignon (figure I.1)



Figure I.7 : Film d'amidon attaqué par *Aspergillus Niger*

b) Milieux et conditions de culture

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 King A, pour les souches *P. fluorescence* et *P. Aeruginosa*.
- Milieu Chapman, pour la souche *Staphylococcus aureus*.
- Milieu Gélose nutritive pour la souche *E. coli*.
- Milieu Sabouraud pour l'*Aspergillus Niger*

I. 3.4 Etude microbiologique

I. 3.4. 1 Repiquage des souches isolées : Elle consiste à prendre une colonie bien isolée et la déposer dans une boîte pétri qui contient un milieu spécifique pour chaque bactérie, ensuite les boîtes sont incubées pendant 24 heures à 37°C.

I. 4. 1. 2 Préparation de l'inoculum à partir des boues activées

Une masse de 3g de la boue activée a été mise dans 50ml de l'eau distillée, la solution a été maintenue sous agitation pendant 4h à température ambiante 20°C, ensuite elle sera filtrée pour récupérer le surnageant. Ce dernier dépourvu de matières en suspension et d'aspect limpide, est utilisée comme inoculum pour réaliser les tests de biodégradation en milieu solide.

I. 4. 1. 3 Repiquage de l'Aspergillus Niger : Dans une boîte de Pétri, contenant le milieu sabouraud, on dépose un disque de l'Aspergillus Niger au centre de la boîte de pétri, et on les incube à 30°C de trois à sept jours, jusqu'à ce que la croissance mycélienne atteigne les bords des boîtes de Pétri.

I.4 Les essais de croissances microbiennes

I.4.1 Le protocole

Le milieu d'incubation contient : le polymère sous forme film (10 × 10 mm), et des suspensions bactériennes. Les films ont été désinfectés avec de l'éthanol pendant 30min et rincés avec de l'eau distillée stérile puis séchés dans l'étuve. Les milieux d'ensemencement ont été préalablement stérilisés à l'autoclave à 120°C pendant 20 min, les milieux spécifiques sont mis 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 prélève des colonies bactériennes à l'aide d'une pipette pasteur (figure I.8). 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°C pendant de 1 à 5 jours pour les bactéries et de 5 à 10 jours pour le champignon et l'inoculum de la boue activée, les résultats des films exposés à l'attaque biologique sont représentés dans les figures (9,10,11,12,13 et 14)

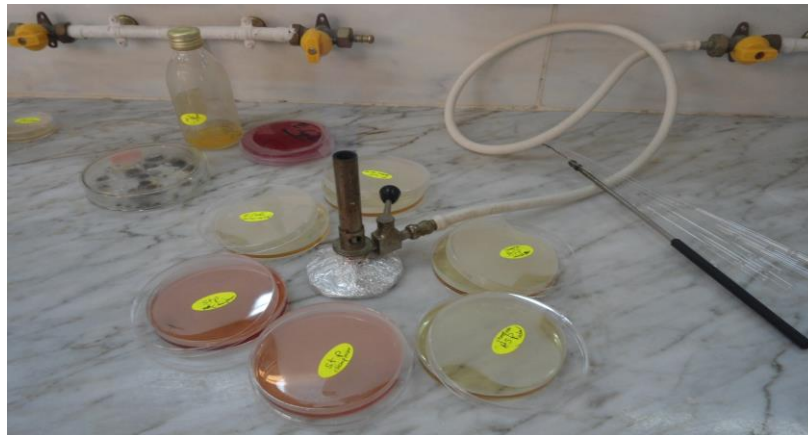


Figure I.8 : Manipulation de test de croissances microbiennes sur les films d'amidon

I.4.2 Résultats et discussions

- L'examen des différentes boîtes de pétri après 24 heures d'incubation, a révélé une forte croissance bactérienne autour des quatre films, avec les quatre souches testées, (figure 9, 10, 11,12) .Ce phénomène est encore plus marqué après 3 jours d'incubation.

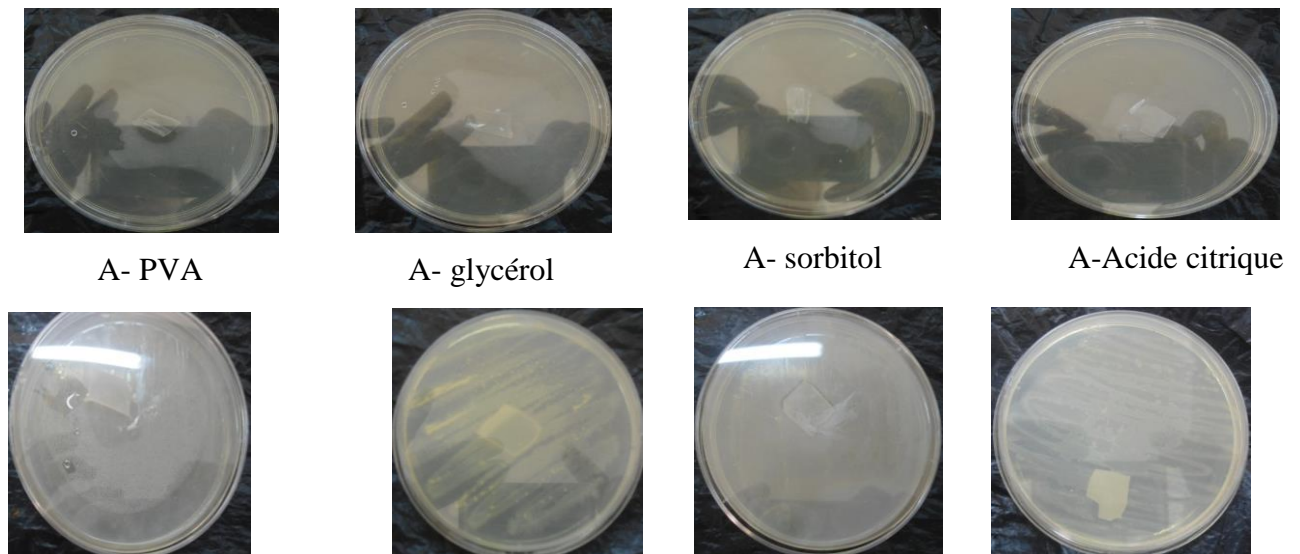


Figure I.9 : Croissance d'Escherichia sur tous les films

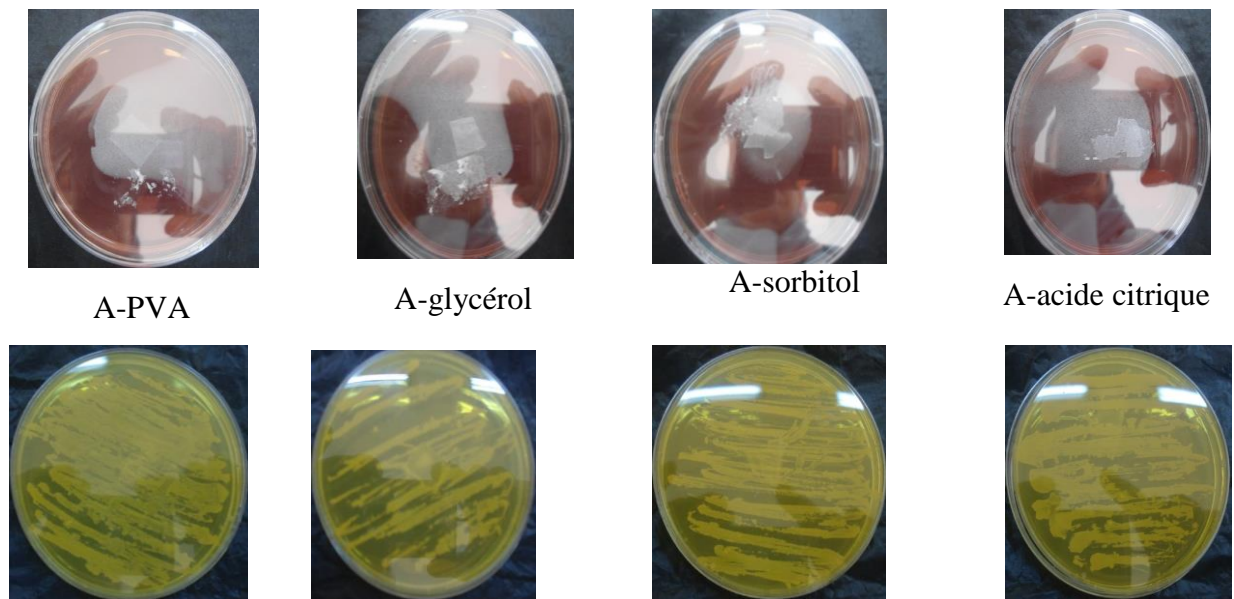


Figure I.10: Croissance de *staphylococcus* sur les quatre films d'amidon

- Cependant, la souche *Pseudomonas Aeruginosa* montre un développement énorme sur toute la surface des films d'amidon, cela peut être expliqué, par la nature de sa membrane externe.

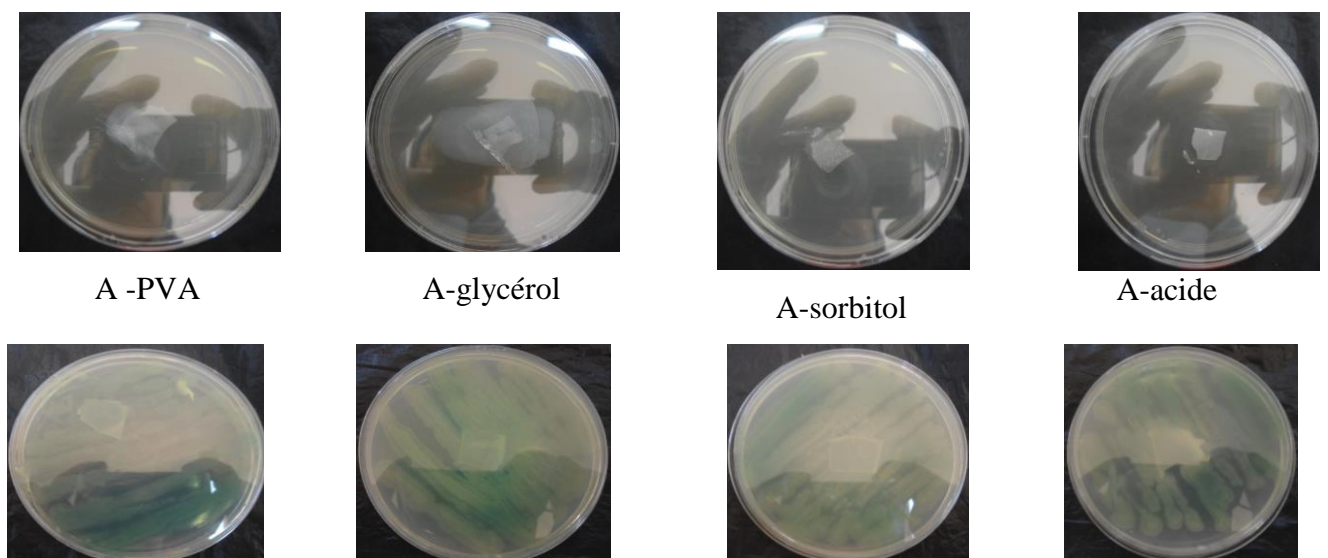


Figure I.11: Croissance de *Pseudomonas aeruginosa* sur les quatre films d'amidon

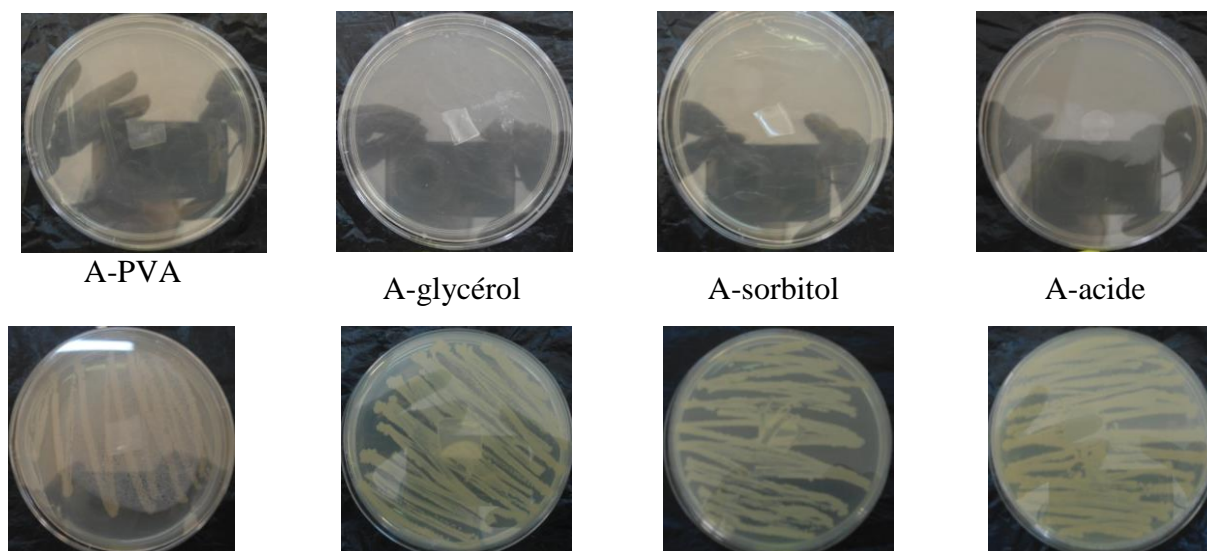


Figure I.12: Croissance de *Pseudomonas Fluorescence* sur les quatre films d'amidon

- En effet, le développement des bactéries pourrait s'expliquer par la résistance développée par ces souches et qui réagissent différemment aux diverses formes d'amidon.
- L'examen effectué sur les films exposés à une suspension de champignon *Aspergillus Niger* après 10 jours d'incubation (figure 13) attesté d'une forte croissance fongique visible à l'œil nu, ce qui confirme la biodégradation fongique effective de ce polymère.

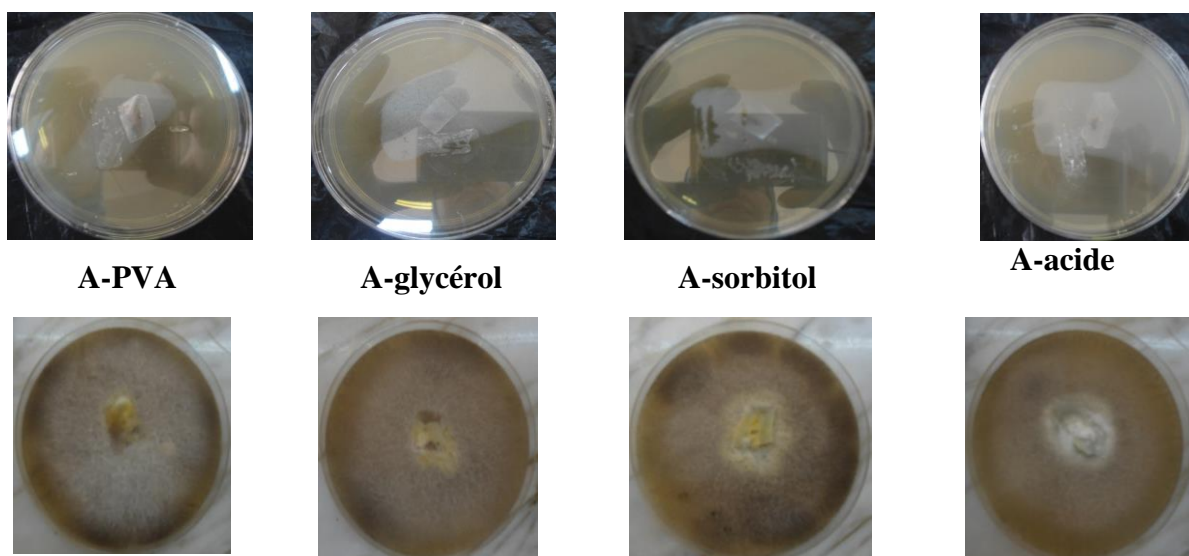


Figure I.13 : Croissance d'*Aspergillus Niger* sur tous les films

- L'examen effectué sur les échantillons exposés à l'inoculum de la boue activée après 7 jours d'incubation (figure 14) atteste une forte croissance microbienne.

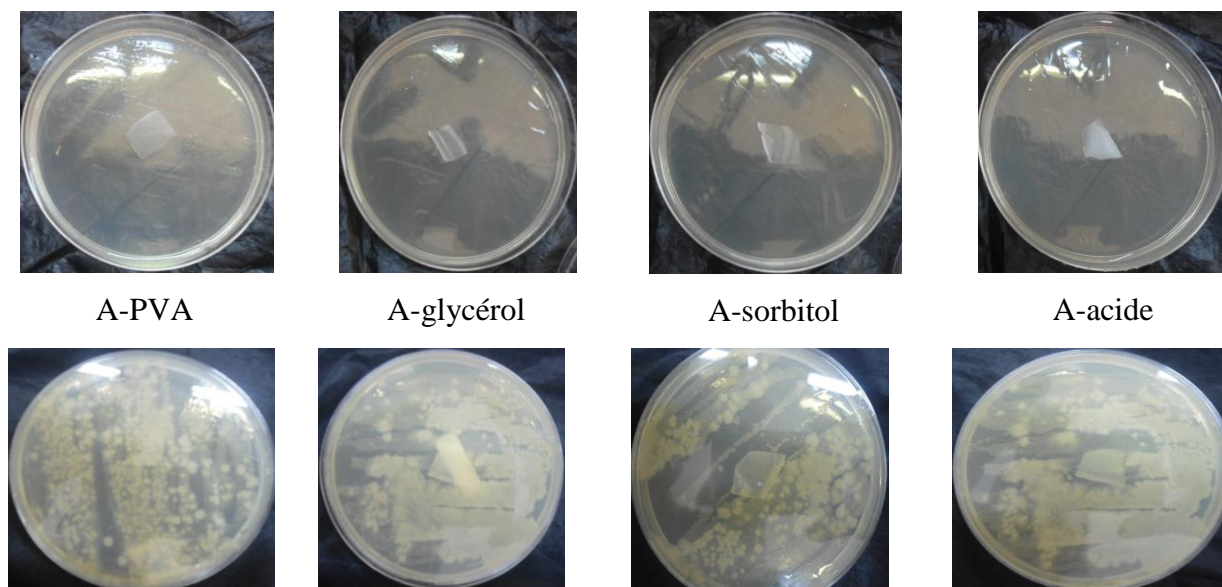


Figure I.14 : Croissance des suspensions des boues activées sur tous les films

- En fin l'envahissement microbien est total pour tous les films d'amidon. Ce phénomène est encore plus marqué après 5 jours d'incubation.

I.5 L'influence de la biodégradation sur la masse des films d'amidon

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

I.5.1 Protocole

Les deux milieux ont été tamisés avec un tamis à mailles de 2 mm. Les films d'amidon sont coupés en bandes de différentes masses, la dégradation d'amidon a été évaluée dans deux milieux :

1. un sol de jardin (pH =8,12)
2. sable (pH =8,28)

Les films plastiques ont été enterrés dans le sol et le sable durant différents période 7 , 14 ,21 et 28 jours à la température ambiante $T= 13^{\circ}\text{C}$, 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, es films ont été retirés du sol rincer avec l'eau du robinet, en suite séché dans l'étuve à 60°C pendant 30 min. La biodégradation de polymère à été évaluée en mesurant le pourcentage de perte de masse des films (la masse de chaque échantillon à été mesurée avant et après la dégradation).

Le pourcentage de perte de poids dans le milieu est calculé on utilisant la relation suivante :

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

m_i : masse des films d'amidon avant la biodégradation.

m_f : masse des films d'amidon après la biodégradation.

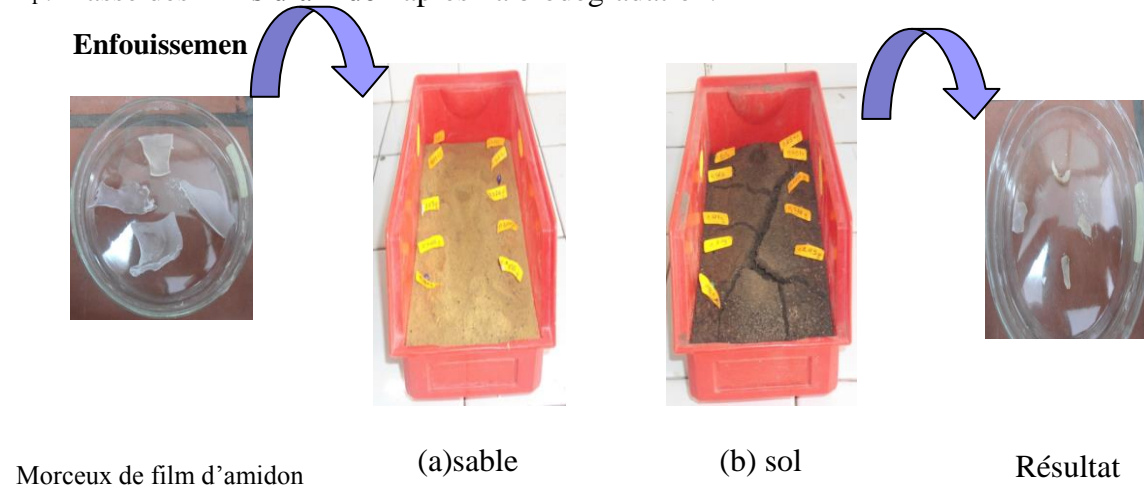


Figure I.15 : L'enfouissement des films d'amidon dans le sable et dans le sol

Les résultats sont donnés dans les tableaux (annexe I.2) et représentés sur les (figures 16, 17, 18,19).

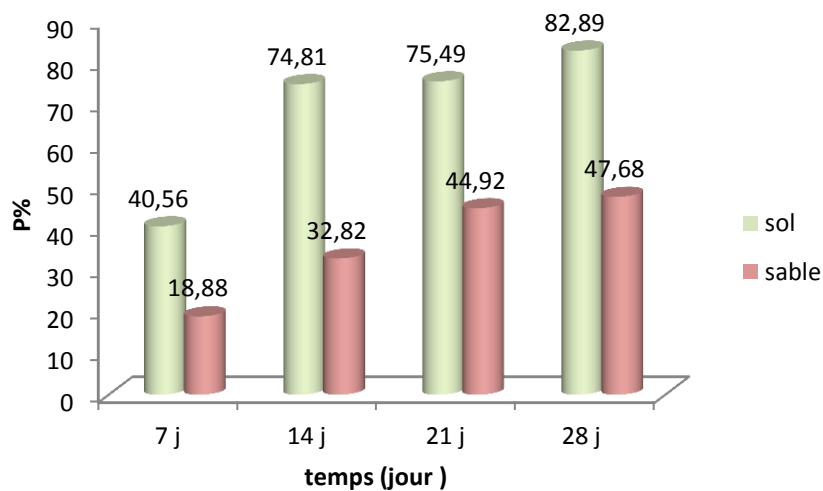


Figure I.16 : Le pourcentage de biodégradation des films AG enfouis dans le sol et sable

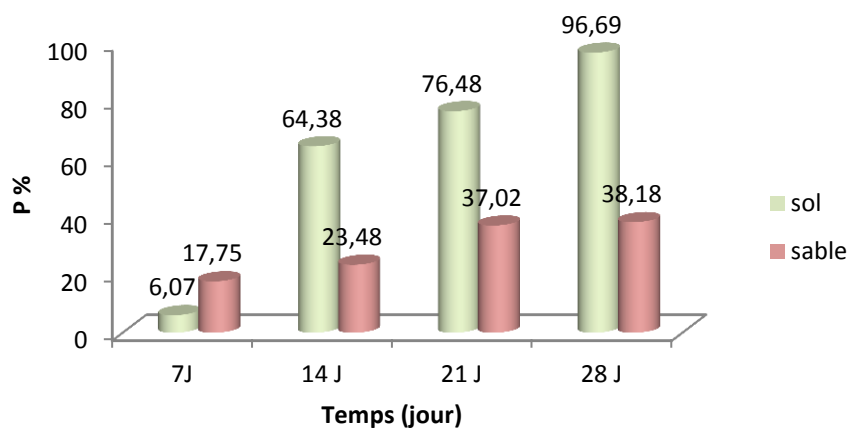


Figure I.17 : Pourcentage de perte de masse des films d'APVA enfouis dans le sol et sable

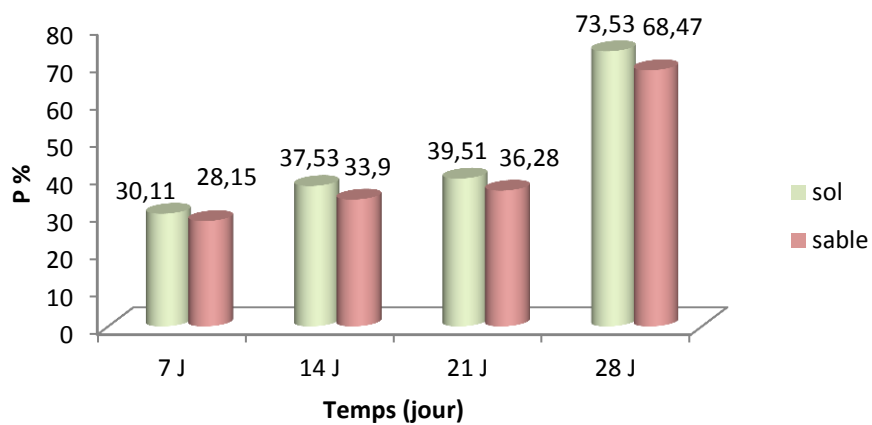


Figure I.18 : Pourcentage de perte de masse des films d'AS enfouis dans le sol et sable

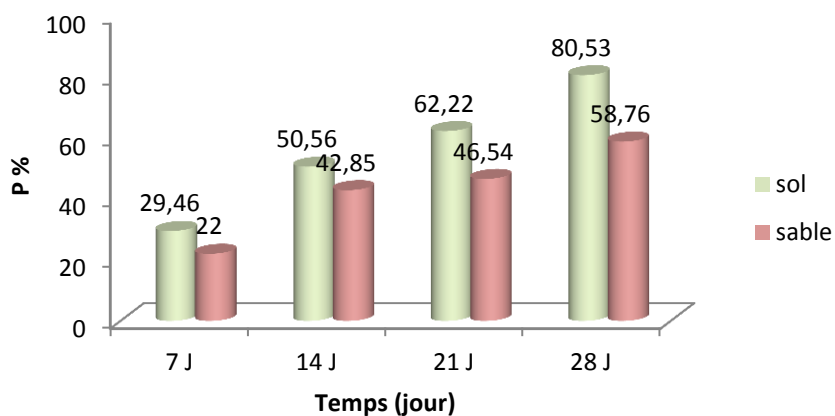


Figure I.19 : Pourcentage de perte de masse des films d'AAC enfouis dans le sol et sable

I.5.2 Résultats et discussions

- Les différentes données obtenues indiquent clairement que le pourcentage de perte de masse des films augmente en fonction du temps pour tous les polymères enterrés dans le sable et le sol.
- 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 amidon-PVA est plus importante, avec un taux de biodégradation de 96,69% qui a été atteint au bout de 28 jours de test d'incubation en sol.
- On mentionne que la dégradation des films amidon-sorbitol dans le sable est notable avec un pourcentage de 68,47% au bout de 28 jours.
- A travers des valeurs de taux de biodégradation on ne constate que la souche *Pseudomonas Fluorescence* à un grand pouvoir de dégrader le polymère.
- La différence dont le taux de biodégradation des quatre films pourrait s'expliquer par l'hétérogénéité de la structure du film, ainsi que par la densité des microorganismes dans le sol.

I.5.3 Caractérisation des Produits de dégradation par spectroscopie IR

Les spectres IR des matériaux sont présentés dans les figures (5, 6 et 7), ces spectres en transmission ont été réalisés directement à partir des échantillons solides dans la zone des longueurs d'ondes 500-4000 cm^{-1} .

Les spectres Infrarouge obtenus sont présentés ci-dessous :

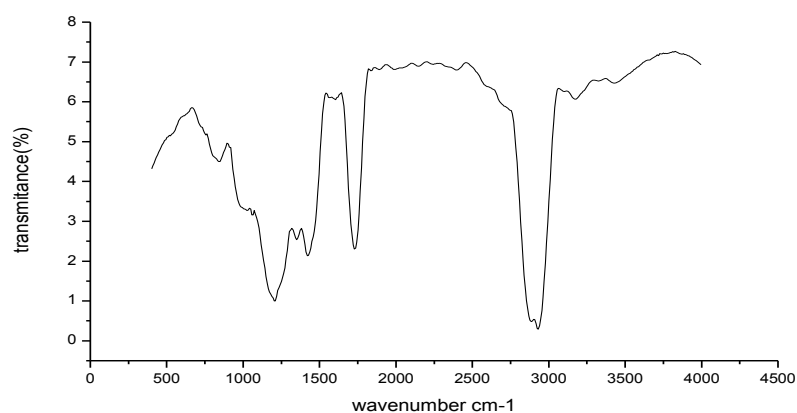


Figure I.20 : spectre IR du film dégradé amidon- Glycérol

Le spectre du film dégradé amidon- Glycérol montre que les bandes ont les caractéristiques suivantes :

- ✓ Une bande forte vers 2850 cm^{-1} d'une liaison de vibration élongation CH et CH_2
- ✓ Un pic vers 1720 cm^{-1} qui correspond aux vibrations de liaison C=O
- ✓ Une bande faible vers 1150 cm^{-1} correspond à une vibration élongation C—O.

L'action des microorganismes entraîne l'hydrolyse des liaisons (OH)

Ce qui amène à penser que les microorganismes peuvent relever du milieu des composés organiques facilement assimilables (glycerol,..) pour leurs croissances.

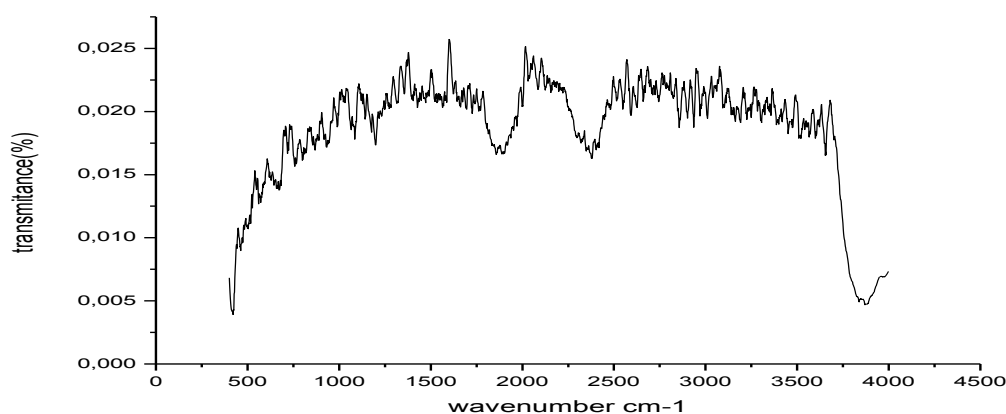


Figure I.21 : spectre IR du film dégradé amidon –Sorbitol

La comparaison des deux spectres met en évidence une diminution de l'intensité des bandes de vibration suivante

- ✓ la bande fort d'absorption situe à 3850 cm^{-1} correspond à des vibrations de fonction alcool du sorbitol (OH).

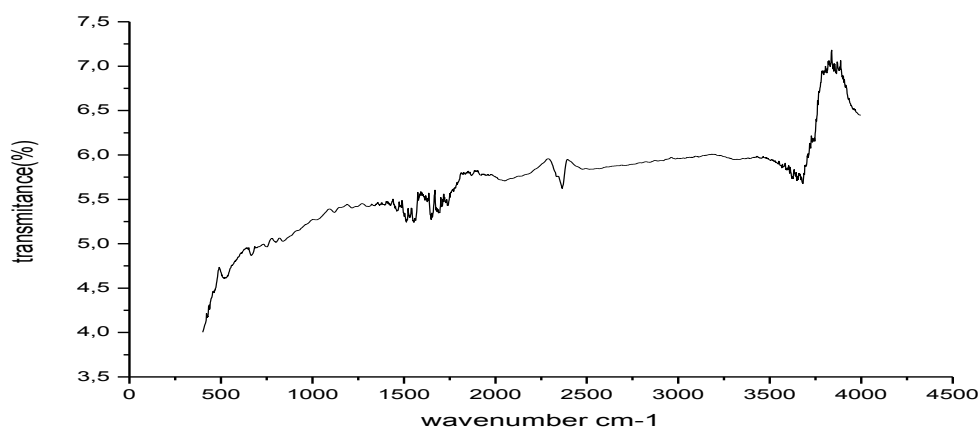


Figure I.22 : spectre IR du film dégradé amidon -alcool polyvinylique

Le spectre IR du film dégradé d'amidon PVA est représenté sur la (figure 23)

On note une diminution de l'intensité des bandes de vibration suivante

- ✓ la bande de vibration à 3860 cm^{-1} des fonctions alcool (OH).

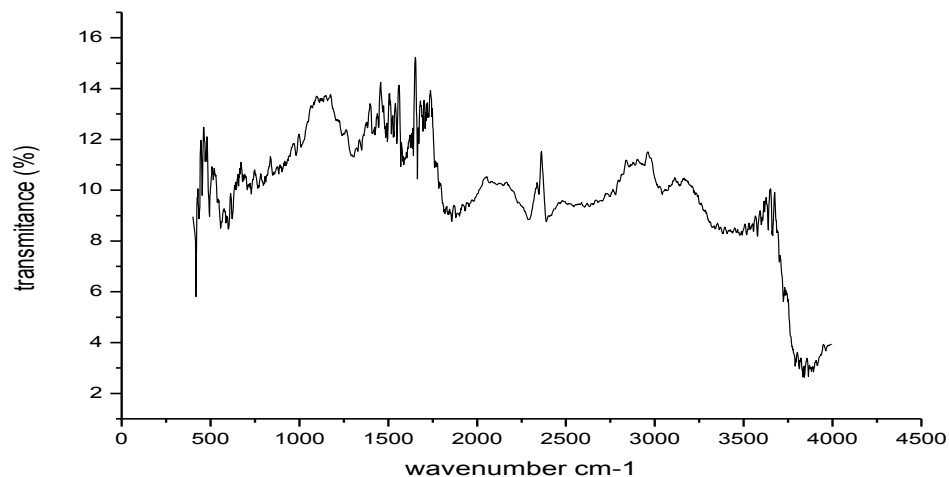


Figure I.23 : spectre IR du film dégradé amidon- acide citrique

Le spectre IR du film dégradé amidon- acide citrique montre les bandes caractéristiques suivantes :

- ✓ la bande forte de vibration vers 3850 cm^{-1} des fonctions alcool (OH).
- ✓ Une bande forte vers 1750 cm^{-1} correspond à une vibration d'élongation C=O d'acide carboxylique.
- ✓ Une bande vers 1210 cm^{-1} correspond à une vibration d'élongation C-O acide carboxylique.

Chapitre II

Etude de la Biodégradation en milieu liquide

II.1 Mesure de la biodégradabilité en milieu liquide

Le dispositif expérimental mis en place au sein du laboratoire de microbiologie dont le but de quantifier la biodégradation de ces polymères en milieu aqueux. A l'issue de la synthèse bibliographique réalisée sur les tests de biodégradation en milieu liquide, certains paramètres ont été arbitrairement fixés selon les normes et les tests décrits tels que la méthode de détection de la biodégradation, le pH, la température et la composition du milieu minéral.

II.2 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.

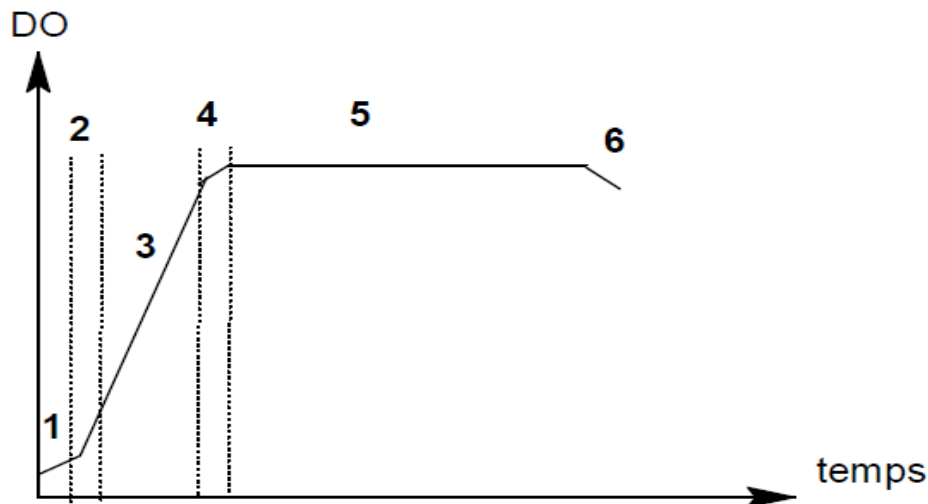


Figure II.1 : Courbe typique de la croissance bactérienne

Il existe six étapes lors de ce processus :

1 : la phase de latence : dès 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.

II.3 Méthodes expérimentales

II.3.1 Préparation de milieu culture

Le milieu de culture utilisé dans le suivi de la biodégradation des polymères est un milieu Minéral Nutritif MMN composé de :

Un tampon phosphate (0,35 g de KH_2PO_4 , 1.825g de Na_2HPO_4) ainsi que des sels minéraux (0,244 g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 0,0198g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0.015g de NaCl ; 0.0614 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0.032g de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 0,5g de glucose et 1g extrait de levure.

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 glucose sera dissous séparément, une solution de glucose à 1% a été préparée et préservée dans un flacon stérile, le milieu liquide est ensuite stérilisé par autoclavage à 120°C pendant 20 minutes.

II.3.2 Préparation d'une pré-culture

Elle consiste à prendre une colonie bien isolée et la déposer dans des boîtes de pétri contenant des milieux spécifiques pour chaque bactérie. Ensuite les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 heures, ces colonies jeunes isolées de la culture bactérienne sont prélevées à l'aide d'une anse de platine en suite homogénéisées dans 60 ml de l'eau distillée stérile, puis incubées pendant 24 à 48 h à 30 °C pour avoir une pré-culture.

II.3.3 Suivi de croissance des trois souches bactériennes

L'étude de l'évolution de la croissance des bactéries (*Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas Aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*) sélectionnés sont effectuées dans un milieu liquide, incubation à 30 °C.

Un volume de 5 ml a été prélevé respectivement de la pré-culture des souches *Pseudomonas* (*fluorescens* et *Aeruginosa*) et *Staphylococcus aureus* et ajouté à 100 ml de milieu

liquide stérile et 5 ml d'une solution de glycose (1%) stérile. La suspension est homogénéisée et ensuite placée dans un bain-marie agité et réglé à 30°C sous agitation moyenne.

Le suivi de la croissance bactérienne a été réalisé en prélevant des aliquotes de 3 ml de suspension. Une mesure de densité optique à 600 nm (DO_{600}) est réalisée, toutes les 1 heure, à l'aide d'un spectrophotomètre UV visible. Les lectures se font dans des cuves jetables avec une solution de référence de milieu de culture liquide.

II.3.4 Etude cinétique de la biodégradation des films d'amidon

Dans des flacons ou Erlenmeyers contenant chacun 100 ml de milieu liquide stérile sont inoculés avec 5 ml de suspension bactérienne et homogénéisée dans un bain-marie agité (MEMMERT de type GFL 1083) réglé à 30°C sous agitation moyenne. Quand les suspensions bactériennes sont en phase de croissance stationnaire 5h à la fin de la culture, on ajoute 250 mg de poudre du polymère (Ag, Aa, AP, AS) aux flacons, Chaque culture est réalisée en duplicate. Des prélèvements stériles sont effectués chaque heure périodiquement afin de suivi La dégradation de polymère dans des milieux liquides par des mesures de microbes de croissance en termes de DO à 600 nm, avec un spectrophotomètre UV-visible.



Figure II.2 : Dispositif expérimental de la biodégradation en milieu liquide

II. 3.4.1 Mesure de la densité optique (spectrophotométrie)

Le suivi de la croissance bactérienne est réalisé en mesurant la densité optique (DO) au moyen d'un spectrophotomètre UV- visible à une longueur d'onde de 600 nm. Cette mesure est considérée comme indicateur biologique direct de la biodégradabilité.

Pour la mesure de la densité optique, on se base sur la loi de Beer-Lambert :

$$A = \log(I_0 / I) = \epsilon \cdot l \cdot C$$

A: densité optique.

I_0 : intensité de la lumière incidente.

I : intensité de la lumière émergente.

ϵ : absorption molaire (absorption d'une solution $c = 1 \text{ mol/l}$ dans une cuvette de dimension de $l = 1 \text{ cm}$) [$\text{l} / \text{mole. cm}$].

C : concentration molaire [mol/l].

l : épaisseur de la cuvette [cm].

La loi de Beer- Lambert est valable seulement pour les solutions suffisamment diluées.



Figure II.3 : Schéma d'un spectrophotomètre

II.3.5 Résultats et discussion

a) Courbe de croissances

Le suivi cinétique de la croissance des trois souches bactériennes nous a permis de tracer les courbes de croissance représentées dans les figures 4, 5 et 6.

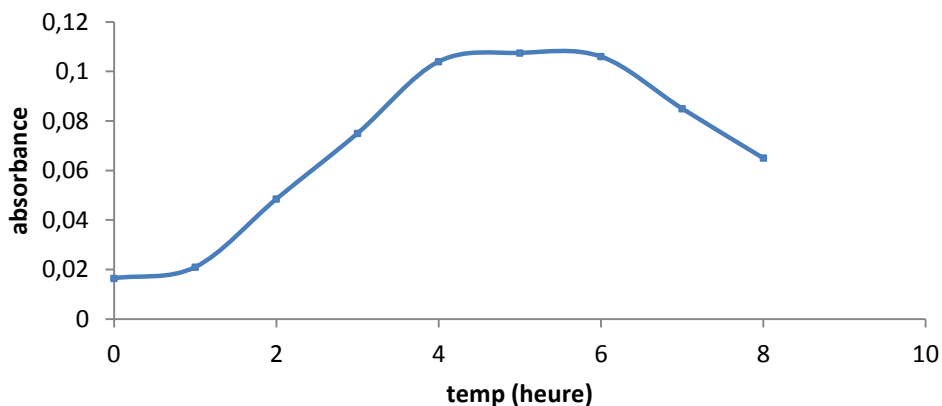


Figure II.4 : Courbe de croissance de *Staphylococcus aureus* (30°C , PH 7)

➤ La courbe de croissance de *Staphylococcus aureus* démontre une adaptation plus rapide de 1 heure au-delà, on observe une augmentation exprimée par une phase de croissance exponentielle entre 2 et 4 heures, puis la concentration microbienne augmente légèrement, cette augmentation ralentie par la suite qui correspond à la phase stationnaire, en fin de cette phase de déclin à partir de 6 heures.

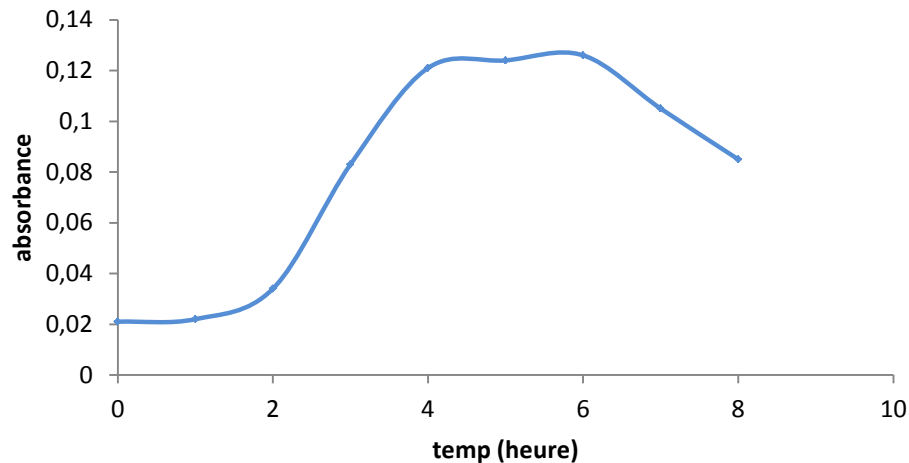


Figure II.5: Courbe de croissance bactérienne *Pseudomonas Aeruginosa*

- Le profil caractéristique de croissance de *Pseudomonas Aeruginosa* en milieu non renouvelé est observé par la figure : il commence par une phase d'adaptation pendant les premiers heurs en suite d'une phase exponentielle de croissance devient ensuite linéaire.

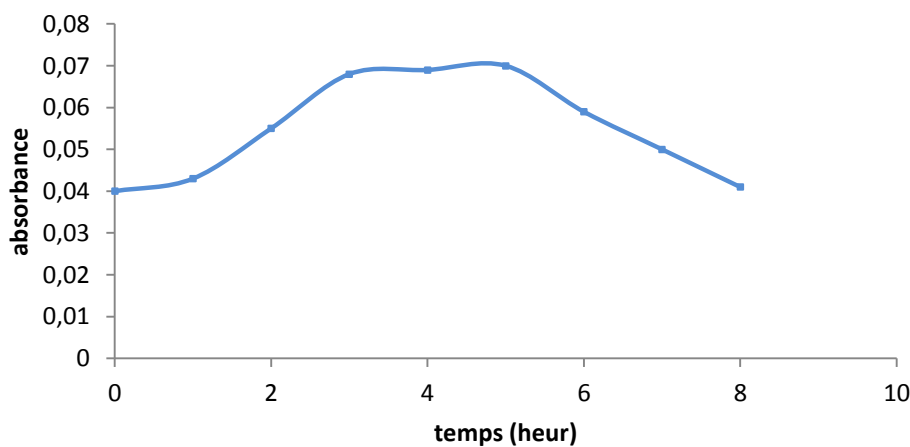


Figure II.6: Courbe de croissance bactérienne *Pseudomonas fluorescence*

- La croissance de *Pseudomonas fluorescence* commence par une phase d'adaptation pendant la première heure en suite une phase exponentielle de croissance de 2 heure, la croissance devient ensuite linéaire en phase stationnaire et par la suite passe à une phase de déclin à partir de 6 heure.

b) Cinétique de croissance des souches bactériennes de *Staphylococcus aureus*

L'évolution de la densité optique de la souche *S.aureus* en présence des quatre films est représentée dans la (figure 7).

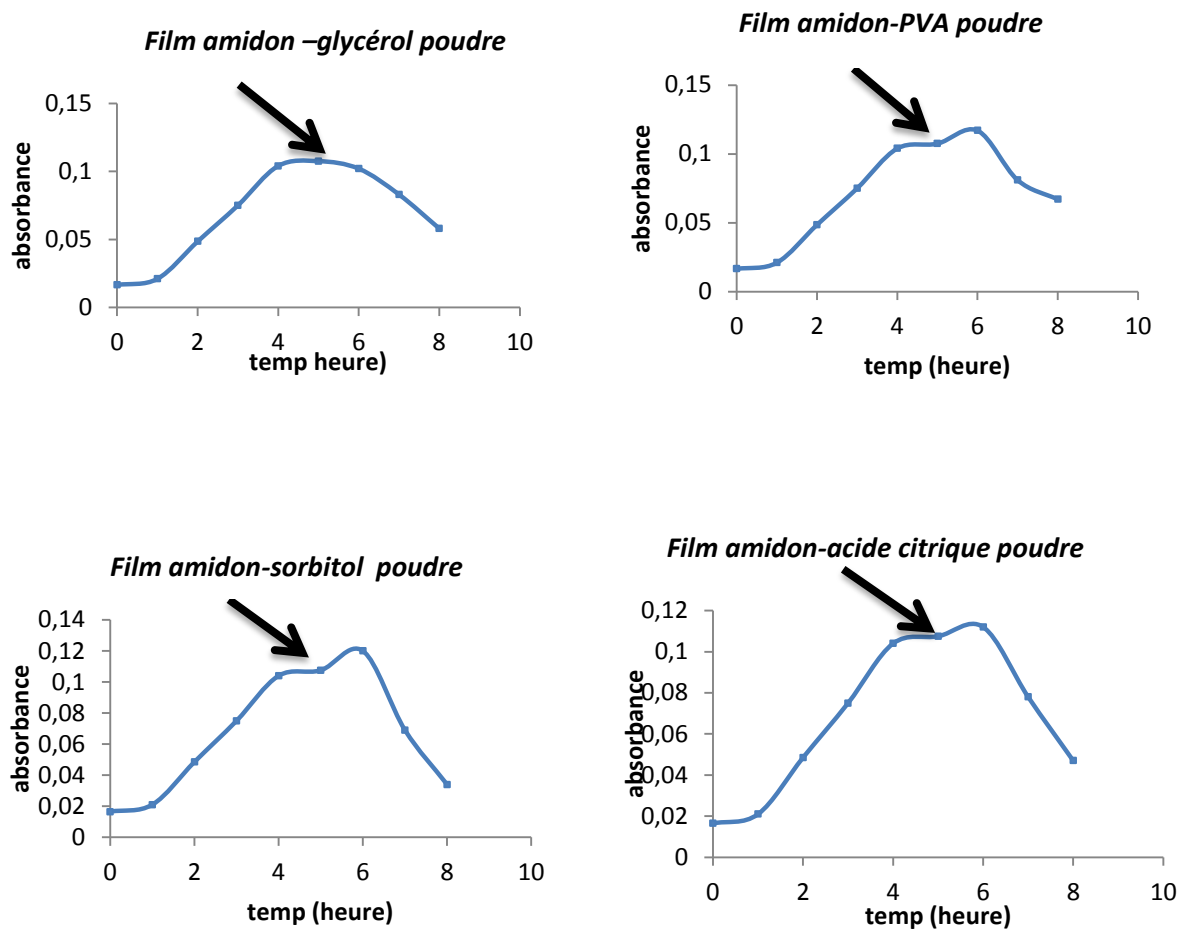


Figure II.7 : Cinétique de la biodégradation des films d'amidon par *S.aureus*

- En présence des films d'amidon la biomasse bactérienne de la souche *S.aureus* connaît une augmentation importante qui débute de la phase d'accélération arrivant à la phase stationnaire qui atteint 0,12 et 0,117 au bout de 6h pour les films amidon-sorbitol et amidon-PVA respectivement.
- L'examen de cette figure montre que le film à base de sorbitol présente la DO la plus élevée veut dire que la bactérie peut le dégradé facilement.

c)La cinétique de croissance de la souche bactérienne *Pseudomonas fluorescence*

L'évolution de la densité optique de la souche *P. fluorescence* en présence des quatre films est représentée dans la (figure 8).

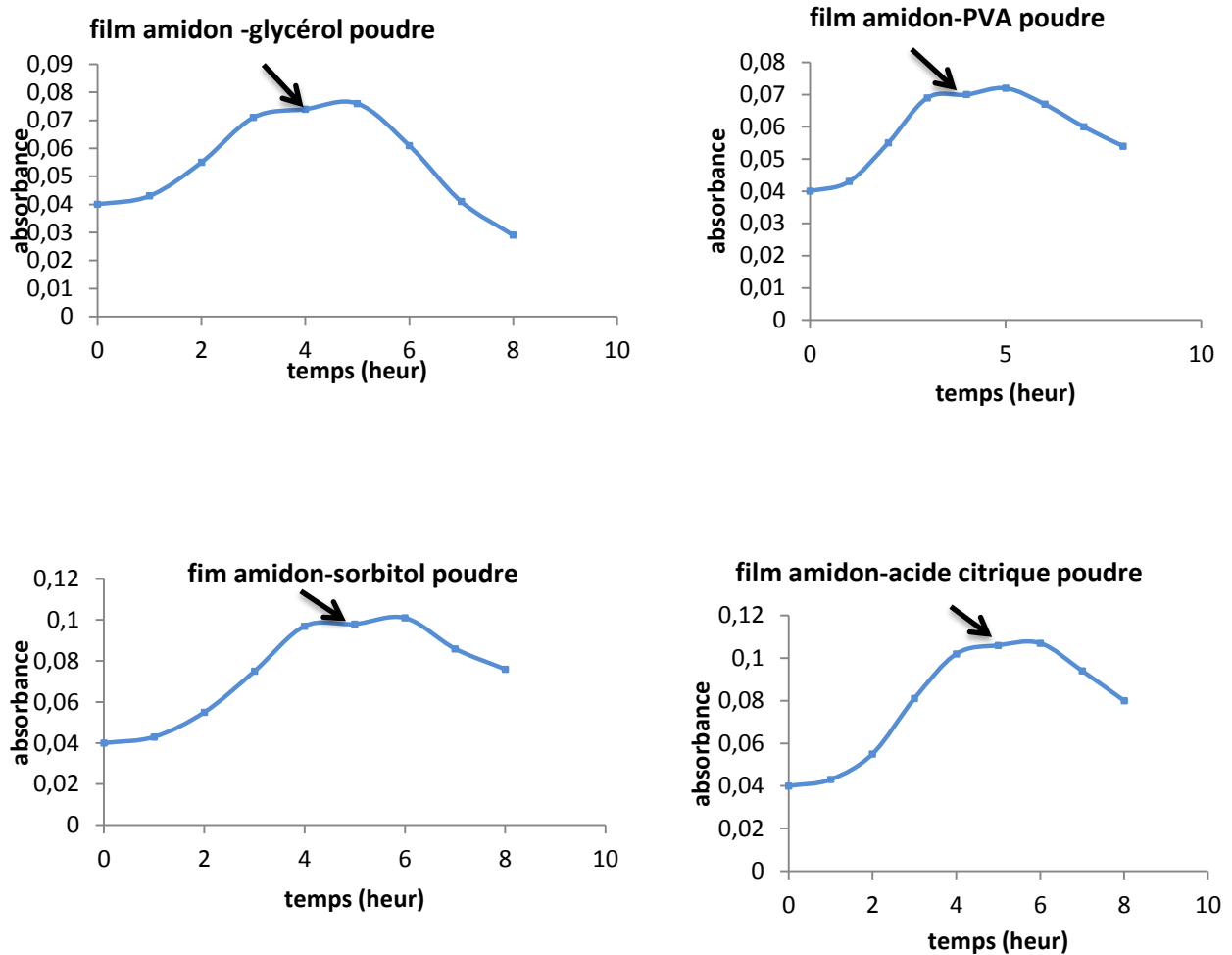


Figure II.8 : Cinétique de la biodégradation des films d'amidon par *P. fluorescence*

- En présence de polymère la biomasse bactérienne de la souche *P. fluorescence* augmente rapidement à partir de la phase exponentielle jusqu'à la phase stationnaire.
- L'examen de cette figure montre que le film à base d'acide citrique exprime des valeurs importantes de DO, donc ce film se dégrade facilement.
- d'après les résultats cinétiques on ne constate que la croissance de la souche *Pseudomonas f* connaît une vitesse rapide pour tous les films ce qui confirme que cette souche utilise le polymère comme source de carbone.

d) La cinétique de la biodégradation des films par *Pseudomonas Aeruginosa*

L'évolution de la densité optique de la souche *P. Aeruginosa* en présence des quatre films est représentée dans la (figure 9).

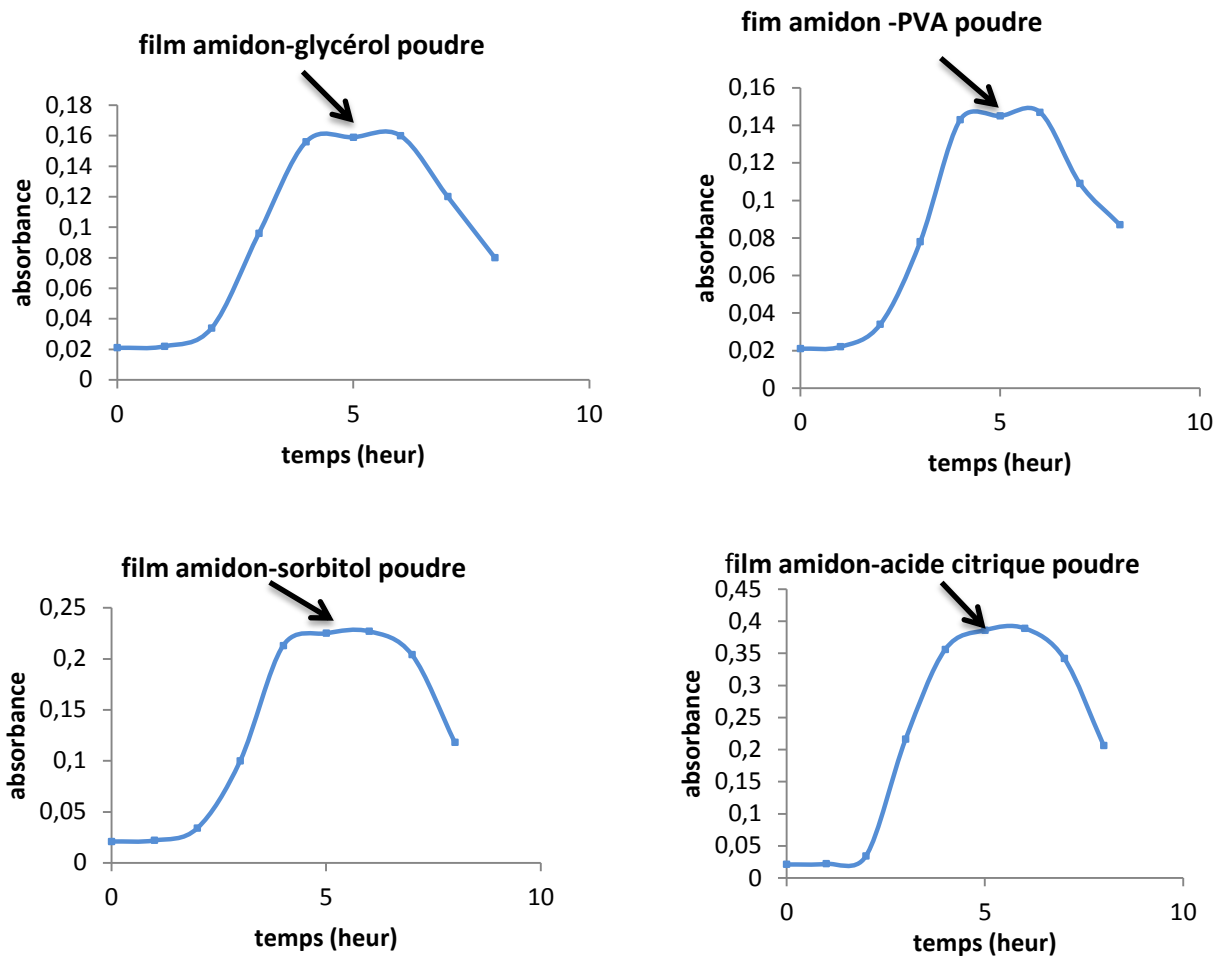


Figure II.9 : Cinétique de la biodégradation des films d'amidon par de *P. Aeruginosa*

- D'après les résultats obtenus on note une croissance rapide de la souche *P. Aeruginosa* dès la première heure et cela est marqué par les valeurs de la DO, cette augmentation est poursuivi jusqu' au la phase stationnaire.
- On constate qu'en présence du polymère à base d'acide citrique la biomasse bactérienne connait une augmentation bactérienne importante qui est exprimée par des valeurs maximales de la DO, cela veut dire qu'elle peut le dégradé facilement.
- La variation des densités optiques constatées dans ces milieux de culture pour les trois souches bactériennes étudiées peuvent être dues à la différence de leur vitesse d'adaptation au milieu utilisé.

- La courte phase de latence démontre une adaptation plus rapide des souches étudiées cela peut être expliqué par la nature de source de carbone utilisée (les films d'amidon).

II.4. Evaluation de la biodégradation par mesure de la perte de poids

II.4.1. Préparation des suspensions bactériennes

Les bactéries *Pseudomona Aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* sont ensemencées sur des boîtes de Pétri contenant King A et la gélose Chapman respectivement puis incubées pendant 24 heures, afin d'obtenir une culture jeune des bactéries et des colonies isolées. A partir de ces boîtes et à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées sont prélevées et mises dans 50 ml d'eau distillée stérile, La suspension bactérienne est bien homogénéisée pendant 24 h.

II.4.2 Le protocole

Les cultures de *P. aeruginosa* et *S.aureus* sont incubé dans l'eau distillée stérile à 30 ° C pendant 24 h, ensuite 5ml de cette suspension a été inoculé des flacons contenant 45 ml de milieu synthétique avec un film d'amidon comme seule source de carbone. Avant de transférer vers les milieux de culture liquides, les films d'amidon ont été coupés en morceaux pesé, désinfectés (30 min dans l'éthanol) et séché pendant 15 minutes. Ces essais étaient réalisés pour les deux souches bactériennes durant différents période 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 d'amidon avant et après la biodégradation, respectivement.



Figure II.10 : manipulation sur la biodégradation in vitro

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau (annexe II.2) et les (figures 11,12,13,14) suivantes.

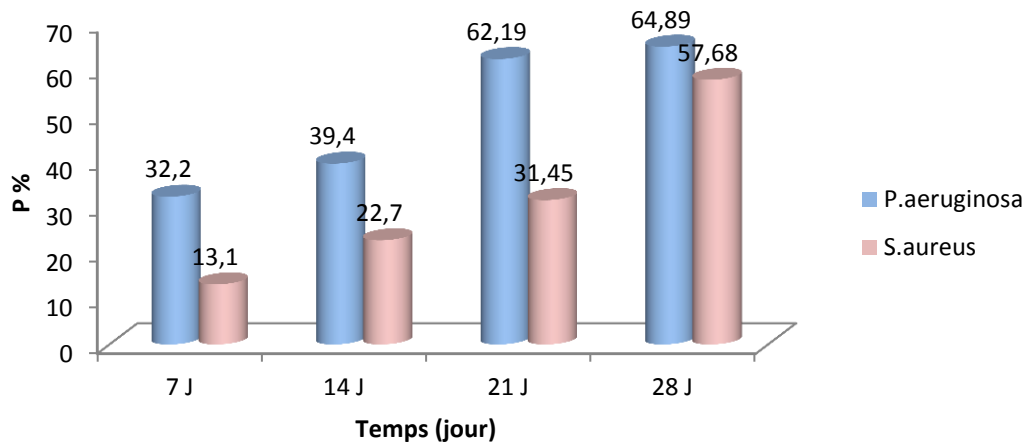


Figure II.11 : Pourcentage de la perte de masse des films AG avec P .aeruginosa et S.aureus

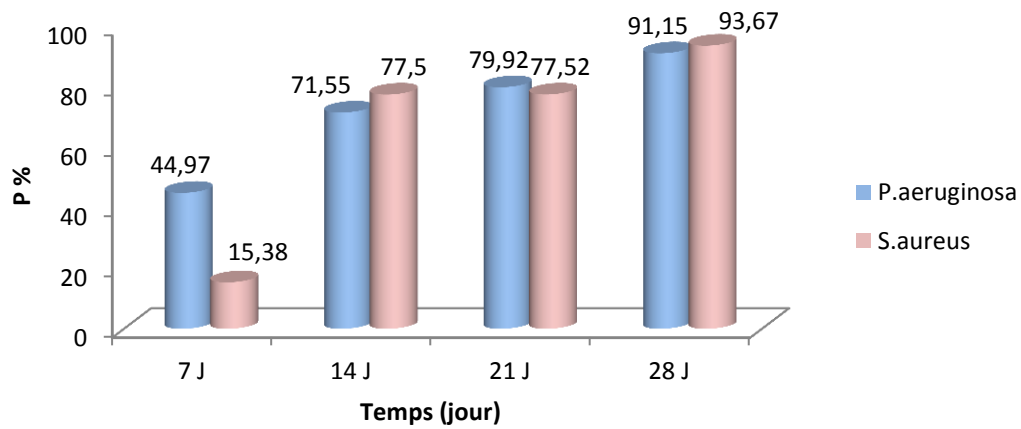


Figure II.12: Pourcentage de la perte de masse des films APVA avec P .aeruginosa et S.aureus

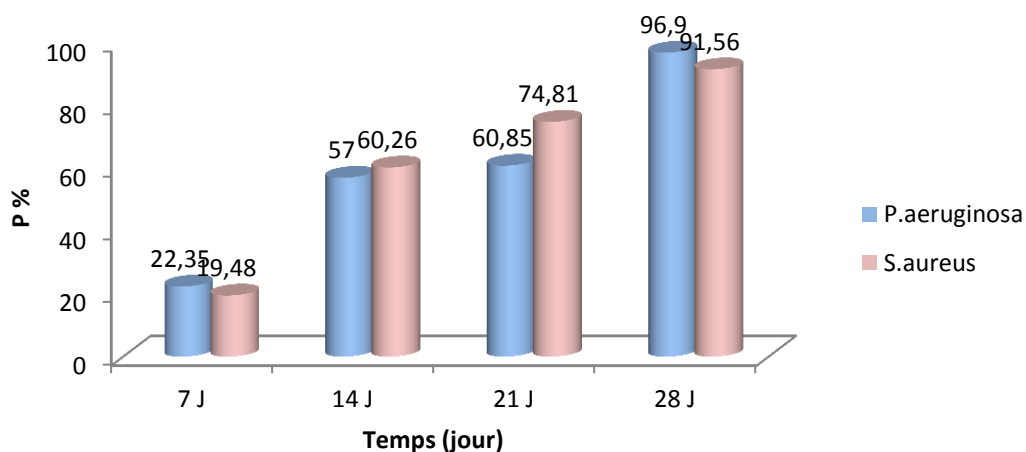


Figure II.13 : Pourcentage de la perte de masse des films AS avec P .aeruginosa et S.aureus

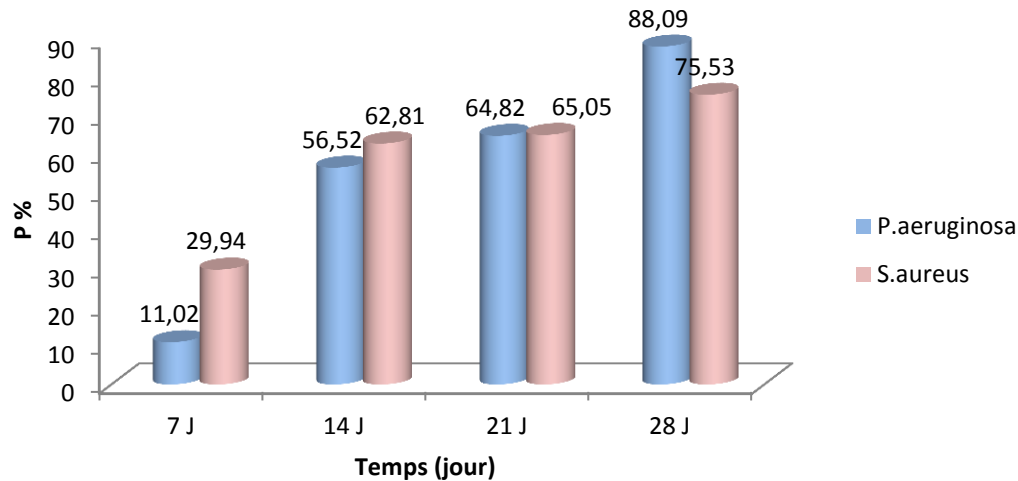


Figure II.14: Pourcentage de la perte de masse des films APVA avec *P. aeruginosa* et *S. aureus*

II.4.3 Résultats et discussions

- On constate que les taux de biodégradation des films sont variables suivant le type de souches bactériennes testées et la durée d'incubation.
- A travers ces résultats, on constate *Pseudomona Aeruginosa* à un grand pouvoir à dégrader les films d'amidon, cela peut être expliqué par la nature de sa membrane externe.
- On remarque que la souche *Staphylococcus aureus* à une capacité à dégrader les films moins marqué que *P. Aeruginosa*.
- On constate que la biodégradation des films amidon-sorbitol avec *P. Aeruginosa*, est plus importante, qui atteint une valeur maximale de 96.90%, au bout de 28 jour, cela peut être expliqué par la différence de structure des films.
- Ces résultats confirment que ces deux souche *Pseudomona Aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* sont capables de biodégrader tous les films d'amidon.

II.5 Teste de biodégradation des films dans la boue activée

II.5.1 Préparation de la suspension

Une masse de 3g de la boue activée a été mise dans 50ml d'eau distillée, la solution a été mise sous agitation pendant 4h à 30 °C ensuite elle a été filtrée pour récupérer le surnageant. Ce dernier dépourvu de matières en suspension et d'aspect limpide est utilisé comme inoculum pour réaliser les tests de biodégradation en milieu liquide.

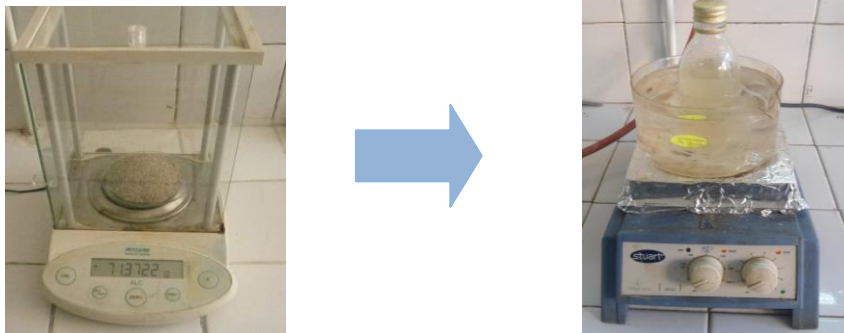


Figure II.15 : Préparation de l'inoculum des boues activées

II.5.2 Croissance bactérienne

Dans des flacons contenant 140 ml milieu de culture, onensemencer par 50ml de la suspension et 9,5 ml de glyucose .L'incubation est effectuée à 30°C dans un bain-marie agité 120 tour/min, Des prélèvements sont effectués tous les 1h afin de suivre la croissance bactérienne par des mesures de densité optique (DO) à 600 nm, avec un spectrophotomètre UV-visible. Il est possible de tracer une courbe de croissance qui va mettre en relation l'absorbance mesurée de la culture, en fonction du temps. Le résultat obtenu est représenté sur la figure 16 et le tableau.1 ci-dessous.

Temps(h)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Absorbance	0.035	0.115	0.120	0.131	0.135	0.169	0.196	0.204	0.220
Temps(h)	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Absorbance	0.296	0.397	0.409	0.411	0.403	0.410	0.397	0.367	0.217

Tableau II.1: Cinétique de croissance bactérienne dans un milieu liquide

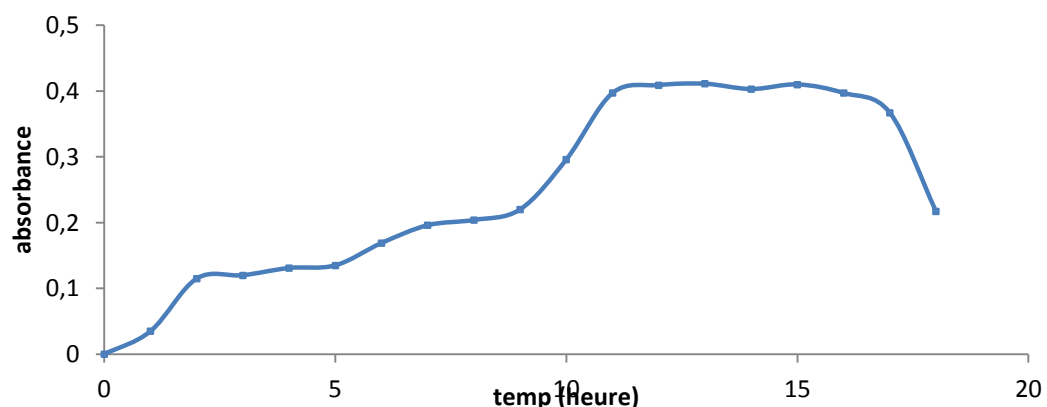


Figure II.16 : Cinétique de croissance d'inoculum

II.5.3 Cinétique de la biodégradation des films dans la boue activée

Dans des flacons contenant 140 ml de milieu de culture, ensemercer avec 50 ml de l'inoculum de boues activées 0.5 g poudres des films plastique (AG et APVA), les cultures sont incubées à 30°C sous agitation (120 tour/min). Des prélèvements réguliers sont effectués pour suivre la dégradation de polymère par mesures de densité optique DO à 600 nm, avec un spectrophotomètre UV-visible.

Les résultats obtenu sont représentés dans les tableaux (2,3) et les (figures 17,18)

Temps(h)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Abs	0.401	0.57	0.592	0.602	0.559	0.494	0.451	0.39	0.35

Tableau II.2 : Cinétique de la biodégradation de film amidon- glycérol

Temps(h)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Abs	0.345	0.536	0.697	0.813	0.812	0.811	0.810	0.709	0.621	0.496

Tableau II.3 : Cinétique de la biodégradation de film amidon- PVA

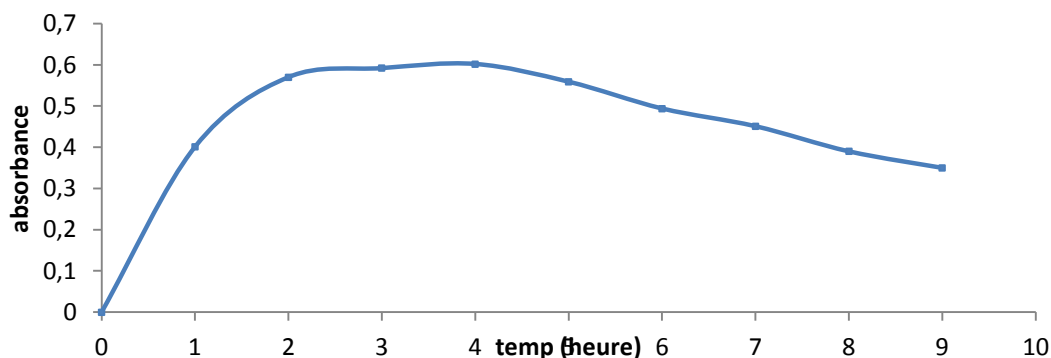


Figure II.17 : Cinétique de la biodégradation de film amidon glycérol dans la boue activée

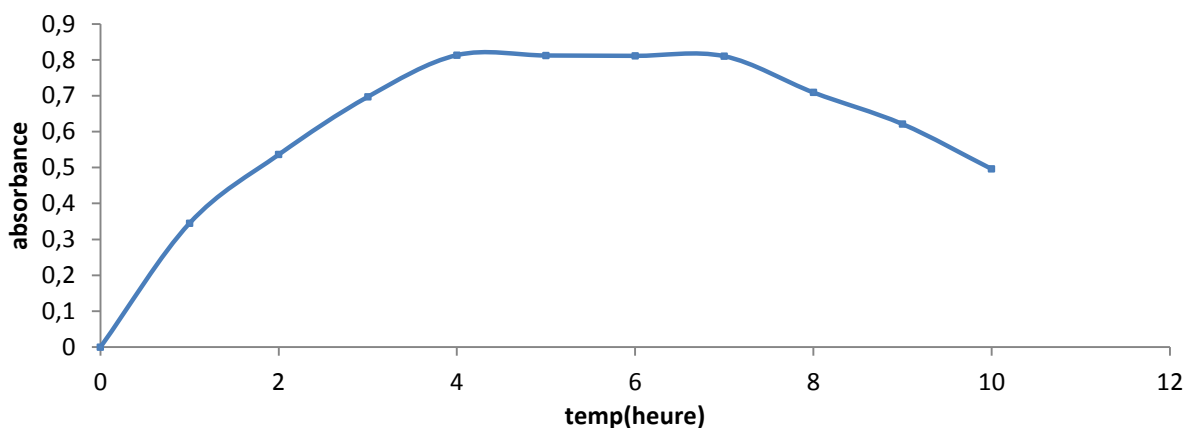


Figure II.18 : Cinétique de la biodégradation de film amidon PVA dans la boue activée

II.5.4 Résultats et discussion

➤ Courbe de la croissance bactérienne

L'examen de la courbe de croissance nous indique une phase latence plus courte, ce résultat démontre une adaptation plus ou moins rapide des bactéries avec le milieu, suivi d'une phase exponentielle très lente qui dure 10 heures, la croissance devient ensuite presque linéaire au de la de 16 heures et par la suite passe à une phase de déclin.

➤ Cinétique de la biodégradation des films

Nous observons dans les deux (figures 17,18) une augmentation de croissance rapide justifiée par une phase latence courte, le résultat démontre une adaptation plus rapide des bactéries à la source de carbone utilisée (poudre de amidon glycérol et amidon PVA), suivie d'une phase de croissance exponentielle plus rapide pour le film amidon glycérol. Cependant on remarque une augmentation lente presque stable de la biomasse bactériennes plus marquée pour le film d'amidon PVA ceci correspond à la phase stationnaire ensuite la croissance devient linéaire en suite une phase de déclin.

- En fin en présence de nos polymères, on constate une forte augmentation de la concentration bactérienne dont les valeurs de la DO atteignent 0,812 au bout de 5 heures, cela explique que ces bactéries ont une capacité très forte pour dégrader le polymère.

II.6 Etude comparative de biodégradation des films PVC

Les cultures de *P.aeruginosa*, *S.aureus* et *E. coli* sont incubées dans de l'eau distillée et stérile à 30° C pendant 24 h, ensuite 5ml de cette suspension a été inoculé des flacons contenant 45 ml de milieu synthétique avec un film de PVC comme seule source de carbone, avant le transfert dans des milieux de cultures liquides, les films de PVC ont été coupés en morceaux, pesés désinfectés (30 min dans l'éthanol), séché pendant 15 minutes. Ces essais étaient réalisés à plusieurs intervalles (20,30, et 60 jours). Le suivi de la dégradation des polymères dans le milieu liquide a été évaluée par les mesures de pourcentage de la perte de masse. Les résultats obtenus sont représentés dans les tableaux (4,5 ,6) et la (figure 19).

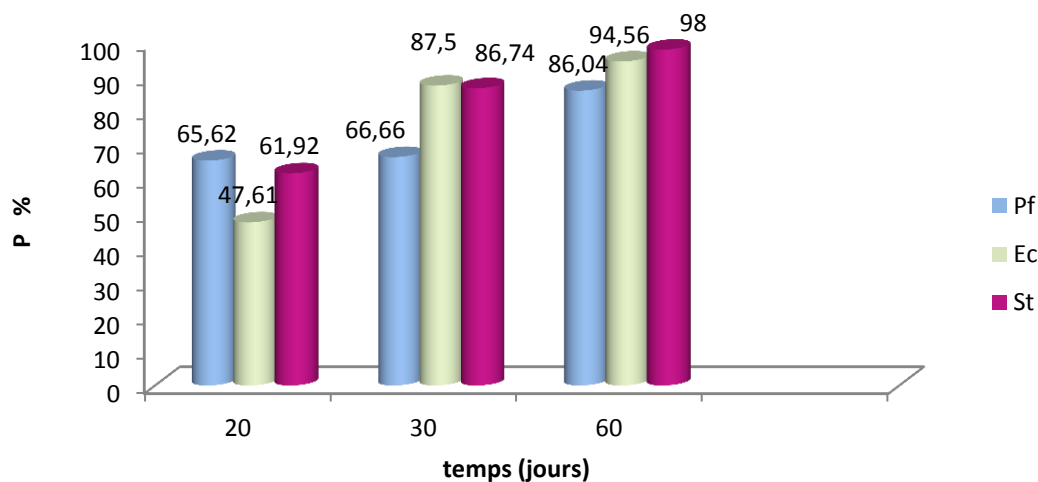
Temps (jours)	20	30	60
Masse initiale m_i (g)	0.031	0.083	0.100
Masse finale m_f (g)	0.012	0.011	0.002
P%	61.29	86.74	98

Tableau II.4 : Pourcentage de la perte de masse de film PVC avec *Staphylococcus aureus*

Temps (jours)	20	30	60
Masse initiale m_i (g)	0.063	0.072	0.092
Masse finale m_f (g)	0.033	0.009	0.005
P%	47.61	87.5	94.56

Tableau II.5 : Pourcentage de la perte de masse de film PVC avec *Escherichia coli*

Temps (jours)	20	30	60
Masse initiale m_i (g)	0.032	0.051	0.086
Masse finale m_f (g)	0.011	0.017	0.012
P %	65.62	66.66	86.04

Tableau II.6 : Pourcentage de la perte de masse de film PVC avec *Pseudomonas fluorescens***Figure II.19 :** Pourcentage de la perte de masse de film PVC avec les trois souches

- D'après les résultats du taux de biodégradation, on constate que la dégradation de film PVC est très lente avec les trois souches.

Conclusion générale

Conclusion générale

Notre travail a été réalisé en deux parties, la première partie est consacrée au teste et au suivi de la dégradation des films d'amidon dans les milieux solides ainsi que la caractérisation du polymère.

La deuxième partie consiste à examiner la dégradation du polymère en milieu liquide, en premier lieu par un suivi cinétique des souches bactériennes en deuxième lieu par une évaluation du taux de biodégradation, à la fin une étude comparative avec les films de PVC.

En résumé, les différents résultats obtenus dans ce chapitre nous permettent de tirer les conclusions suivantes concernant les différentes méthodes d'évaluation de la biodégradabilité :

- Les microorganismes testés ont approuvées leur capacité de dégrader les films d'amidon.
- La souche *Pseudomonas Aeruginosa* est la meilleure souche capable de dégrader le polymère en milieu liquide.
- Les expériences d'enfouissement dans le sol confirment que la biodégradation des films est considérable durant cette phase d'incubation.
- La dégradation dans le sol se manifeste d'une façon significative, cela indique que le sol renferme certaine micro-organismes susceptible d'attaquer les films d'amidon.
- La souche *Pseudomonas Fluorescence* a une grande capacité de dégrader les films d'amidon enfouis dans le sol.
- Les résultats cinétiques de la biodégradation des films dans la boue activée ont montré que ces microorganismes peuvent utiliser ces polymères comme nutriment.
- A travers des valeurs des taux de biodégradation on constate que la biodégradation en milieu liquide est plus rapide qu'en milieu solide.
- Le film amidon-PVA présente une biodégradation beaucoup plus importante que les autres films.
- L'étude comparative révèle que la vitesse de dégradation de film PVC est plus lente que le film d'amidon.

Matériels utilisés

1. Matériel du laboratoire

Les matériaux du labo comptent les équipements, appareillages, verreries, matériel en Plastique, solutions, réactifs et des milieux de cultures qui figurent dans le tableau ci-après :

Tableau N° 01 :

Appareillage et équipements	Verreries et matériels	Solutions et réactifs
Agitateur magnétique	Boite de pétri en plastique	Glucose
Bain marie	Erlenmeyer (500ml)	Gélose nutritive
Balance	Fioles (100 ml)	Sorbitol
Autoclave	Pipettes graduées	Glycérol
Bec bunsen	Pipettes pasteur	Polyvinyle alcool
Etuve	Des flacons	HCl (0,1M)
Incubateur	Coton cardé	NaOH (0,1M)
PH mètre	Papier aluminium	L'amidon de maïs
Spectrophotomètre	Cuvettes de spectrophotomètre	Milieu King A
Anse de platine	Bêcher	Gélose Sabouroud
Ecouvillons		Milieu Chapman
Bain secoure		Acide citrique
Réfrigérateur		
Barreau magnétique		

❖ **Les résultats du pourcentage de pertes de masse en milieu solide**

1. Les résultats du pourcentage de pertes de masse des films amidon enfouis dans le sol

Temps (jour)	7	15	22	29
Masse initiale m_i (g)	0,249	0,274	0,506	0.608
Masse finale m_f (g)	0,148	0,069	0,124	0,103
P %	40,56	74.81	75.49	82.89

Tableau 1: Pourcentage de perte de masse des films amidon -glycérol enfouis dans le sol

Temps (jour)	7	15	22	29
Masse initiale m_i (g)	0,214	0,219	0.404	0,605
Masse finale m_f (g)	0,201	0,078	0,095	0,02
P %	6.07	64.38	76.48	96.69

Tableau 2: Pourcentage de perte de masse des films amidon -PVA enfouis dans le sol

Temps (jours)	7	15	22	29	36
Masse initiale m_i (g)	0.342	0.397	0.496	0.529	0.661
Masse finale m_f (g)	0.239	0.248	0.300	0.140	0.123
P %	30.11	37.53	39.51	73.53	81.39

Tableau 3 : Pourcentage de perte de masse des films amidon -sorbitol enfouis dans le sol

Temps (jours)	7	15	22	29	36
Masse initiale m_i (g)	0.224	0.267	0.270	0.298	0.353
Masse finale m_f (g)	0.158	0.132	0.102	0.058	0.04
P %	29.46	50.56	62.22	80.53	88.66

Tableau 4 : Pourcentage de perte de masse des films amidon -acide citrique enfouis dans le sol

2. Les résultats du pourcentage de pertes de masse des films amidon enfouis dans le sable

Annexe I.2

Temps (jour)	7	15	22	29
Masse initiale m_i (g)	0,143	0,329	0,256	0,346
Masse finale m_f (g)	0,116	0,221	0,141	0,181
P %	18.88	32,82	44,92	47.68

Tableau 5 : Pourcentage de perte de masse des films amidon -glycérol enfouis dans le sable

Temps (jour)	7	15	22	29
Masse initiale m_i (g)	0,169	0,379	0,289	0,495
Masse finale m_f (g)	0,139	0,290	0,182	0,306
P %	17.75	23.48	37.02	38.18

Tableau 6 : Pourcentage de perte de masse des films amidon -PVA enfouis dans le sable

Temps (jours)	7	15	22	29	36
Masse initiale m_i (g)	0.238	0.351	0.361	0.406	0.624
Masse finale m_f (g)	0.216	0.232	0.230	0.128	0.193
P %	28.15	33.90	36.28	68.47	69.07

Tableau 7 : Pourcentage de perte de masse des films amidon -sorbitol enfouis dans le sable

Temps (jours)	7	15	22	29	36
Masse initiale m_i (g)	0.259	0.266	0.376	0.388	0.486
Masse finale m_f (g)	0.202	0.152	0.201	0.160	0.093
P %	22	42.85	46.54	58.76	80.86

Tableau8 : Pourcentage de perte de masse des films amidon -acide citrique enfouis dans le sable

Résultat de la cinétique de croissance

1. Courbe de croissance de *Pseudomonas aeruginosa*

Temps (h)	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Absorbance	0.021	0.022	0.034	0.083	0.121	0.124	0.126	0.105	0.085

Tableau 1 : la cinétique de croissance de *Pseudomonas aeruginosa*

2. cinétique de croissance de *Pseudomonas aeruginosa* avec les films d'amidon

Temps(h)	0	1	2	3	4	6	7	8	9
Absorbance	0.021	0.022	0.034	0.078	0.143	0.145	0.147	0.109	0.087

Tableau 2 : la cinétique de croissance bactérienne *P. aeruginosa* avec film amidon-PVA

Temps (h)	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Absorbance	0.021	0.022	0.034	0.096	0.156	0.159	0.160	0.120	0.08

Tableau 3: la cinétique de croissance de *P. aeruginosa* avec film amidon-glycérol

Temps(h)	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Absorbance	0.021	0.022	0.034	0.1	0.213	0.225	0.227	0.204	0.118

Tableau 4 : la cinétique de croissance *P.aeruginosa* avec film amidon-Sorbitol

Temps(h)	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Absorbance	0.021	0.022	0.034	0.216	0.356	0.386	0.389	0.342	0.201

Tableau 5 : la cinétique de croissance de *P.aeruginosa* avec film amidon-Acide citrique

2. La courbe de croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus*

Temps(h)	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Absorbance	0,0165	0,021	0,045	0,075	0,104	0,0107	0,106	0,085	0,065

Tableau 1 : la cinétique de croissance de *S. aureus*

- **Cinétique de croissance des souches bactériennes de *Staphylococcus aureus***

Temps(h)	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Absorbance	0.0165	0.021	0.045	0,075	0,104	0,107	0,106	0,085	0,065

Tableau 2 : la cinétique de croissance de *Staphylococcus aureus* avec film amidon-glycérol

Temps(h)	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Absorbance	0.0165	0.021	0.045	0,075	0,104	0,107	0,117	0,081	0,067

Tableau 3 : la cinétique de croissance de *S. aureus* avec film amidon-PVA

Temps(h)	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Absorbance	0.0165	0.021	0.045	0,075	0,104	0,1075	0,112	0,078	0,047

Tableau 4 : la cinétique de croissance de *S. aureus* avec film amidon-Acide citrique

Temps(h)	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Absorbance	0.0165	0.021	0.045	0,075	0,104	0,1075	0,12	0,069	0,034

Tableau 5 : la cinétique de croissance de *S.aureus* avec film amidon-Sorbitol

3. Cinétique de croissance des souches bactériennes de *Pseudomonas fluorescence*

Temps(h)	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Absorbance	0,04	0,043	0,055	0,068	0,069	0,07	0,059	0,05	0,041

Tableau 1: la cinétique de croissance de *P. fluorescence*

Temps(h)	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Absorbance	0.04	0.043	0.055	0,075	0,097	0,098	0,101	0,086	0,076

Tableau 2: la cinétique de croissance de *P.fluorescence* avec film amidon-Sorbitol

Temps(h)	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Absorbance	0.04	0.043	0.055	0,071	0,074	0,076	0,061	0,041	0,029

Tableau 3: la cinétique de croissance de *P. fluorescence* avec film amidon-Glycérol

Temps(h)	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Absorbance	0.04	0.043	0.055	0,069	0,07	0,072	0,067	0,06	0,054

Tableau 4: la cinétique de croissance de *P. fluorescence* avec film amidon-PVA

Temps(h)	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Absorbance	0.04	0.043	0.055	0,081	0,102	0,106	0,107	0,094	0,08

Tableau 5 : la cinétique de croissance *P. fluorescence* avec film amidon-Acide citrique

Les résultats du Pourcentage de pertes de masse en milieu liquide

1. Les résultats du pourcentage de pertes de masse des Films amidon avec *Pseudomonas aeruginosa*

Temps (jours)	7	14	21	28
Masse initiale m_i (g)	0.169	0.218	0.259	0.339
Masse finale m_f (g)	0.093	0.062	0.052	0.03
P %	44.97	71.55	79.92	91.15

Tableau 1 : Pourcentage de perte de masse des films amidon -PVA avec *Pseudomonas aeruginosa*

Temps (jours)	7	14	21	28
Masse initiale m_i (g)	0.177	0.203	0.246	0.282
Masse finale m_f (g)	0.120	0.123	0.093	0.099
P%	32.20	39.40	62.19	64.89

Tableau 2: Pourcentage de perte de masse des films amidon -glycérol avec *Pseudomonas aeruginosa*

Temps (jours)	7	14	21	28
Masse initiale m_i (g)	0.492	0.628	0.797	0.970
Masse finale m_f (g)	0.382	0.270	0.312	0.03
P%	22.35	57	60.85	96.90

Tableau 3: Pourcentage de perte de masse des films amidon --sorbitol avec *Pseudomonas aeruginosa*

Temps (jours)	7	14	21	28
Masse initiale m_i (g)	0.136	0.230	0.290	0.714
Masse finale m_f (g)	0.121	0.1	0.102	0.085
P %	11.02	56.52	64.82	88.09

Tableau 4 : Pourcentage de perte de masse des films amidon -acide citrique avec *Pseudomonas aeruginosa*

2. Les résultats du pourcentage de pertes de masse des Films amidon avec Staphylococcus aureus

Temps (jours)	7	14	21	28
Masse initiale m_i (g)	0.130	0.160	0.218	0.237
Masse finale m_f (g)	0.110	0.036	0.049	0.015
P %	15.38	77.50	77.52	93.67

Tableau 5: Pourcentage de perte de masse des films amidon -PVA avec Staphylococcus aureus

Temps (jours)	7	14	21	28
Masse initiale m_i (g)	0.206	0.207	0.248	0.319
Masse finale m_f (g)	0.179	0.160	0.170	0.135
P %	13.10	22.70	31.45	57.68

Tableau 6: Pourcentage de perte de masse des films amidon -glycérol avec Staphylococcus aureus

Temps (jours)	7	14	21	28
Masse initiale m_i (g)	0.503	0.521	0.798	0.830
Masse finale m_f (g)	0.405	0.207	0.201	0.07
P %	19.48	60.26	74.81	91.56

Tableau 7 : Pourcentage de perte de masse des films amidon-sorbitol avec Staphylococcus aureus

Temps (jours)	7	14	21	28
Masse initiale m_i (g)	0.177	0.277	0.289	0.417
Masse finale m_f (g)	0.124	0.103	0.101	0.102
P%	29.94	62.81	65.05	75.53

Tableau 8 : Pourcentage de perte de masse des films amidon-acide citrique avec Staphylococcus aureus

Résumé : Le développement de polymères biodégradables, pour l'emballage et les produits d'usage courant a pris un intérêt considérable. Cependant, dire qu'un matériau est biodégradable nécessite d'évaluer son taux de biodégradabilité. L'objectif de ce travail est d'étudier la biodégradation du film d'amidon plastifié avec différents plastifiants (sorbitol, glycérol, PVA et acide citrique) par certaines souches bactériennes, deux approches ont été envisagées ; En premier lieu, on a testé la dégradation des films d'amidon dans des milieux solides (sol et gélose nutritive) avec l'inoculum des boues activées, quatre souches bactériennes et un champignon; Les résultats obtenus révèlent que ces souches ont une bonne croissance dans ces milieux avec une perte de masse considérable.

En deuxième lieu, un suivi cinétique de croissance bactérienne et une évaluation de taux de biodégradation ont été réalisés en milieu liquide avec les quatre films d'amidon. Cette étude est complète par une étude comparative de la biodégradation de film de PVC, ces essais de biodégradation en milieu liquide ont montré que *Pseudomonas aeruginosa* dégrade considérablement le polymère.

Mots clés : amidon, sorbitol, PVA, glycérol, acide citrique, biodégradation, bactéries, micro-organisme, boues activées

Abstract: The development of biodegradable polymers for packaging and everyday products has gained considerable interest. However, to say that a material is biodegradable requires to assess its degree of biodegradability. The objective of this work is to study the degradation of starch film plasticized with different plasticizer (sorbitol, glycerol, citric acid and PVA) by certain bacterial strains, two approaches were considered;

First, we tested the degradation of the starch films in solid media (nutrient agar and soil) with the inoculum of the activated sludge, four bacterial strains and a fungus; the results show that these strains have good growth in these environments with considerable loss of mass.

Secondly a monitoring bacterial growth kinetics and evaluation of biodegradation rate was performed in liquid medium with the four films of starch. This study is completed by a comparative study of the PVC film biodegradation, these liquid medium degradation tests showed that *Pseudomonas aeruginosa* significantly degrades the polymer.

Keywords: starch, sorbitol, PVA, glycerin, citric acid, degradation, bacteria, microorganism, activated sludge.