**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**
**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE DE MEDEA**

**FACULTE DES SCIENCES**

# Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En chimie

**Spécialité :** Chimie pharmaceutique

**Par :**

RAHMANI Amina
KHELIL CHERFI Asmaa

**Thème :**

# Elaboration des systèmes de biosorption à base des biopolymères

Soutenue publiquement le : 12 /06/2019, Devant le jury composé de :

| | | | |
|---|---|---|---|
| BENAISSA F. | Grade : MCB | Univ-Médéa | Président |
| TURKMEN N. | Grade : MCB | Univ-Médéa | Examinateur |
| ZOUAMBIA Y. | Grade : MCA | Univ-Médéa | Encadreur |
| MAACHOU H. | Grade : MCB | Univ-Médéa | Co-Encadreur |

Année universitaire : 2018/2019

## ملخص

تهدف هذه الدراسة أساسا لتكوين أنظمة جديدة للامتصاص الحيوي اعتمادا على ثلاث مركبات حيوية الكيتوزان, بيكتين و الكزانتان واستخدامهم في تثبيت نوعين من العوامل الملوثة أيونات النيستاتين والزنك. الشكلان المحضران هما الحبيبات والأغشية بطريقة التخثر. شكل الغشاء أيضا تم تطويره بواسطة خليط البوليمرات الحيوية (البكتين / الشيتوزان والكسانتان / الشيتوزان). الأغشية التي تشكلت هي أفلام ناعمة وشفافة. أكد تحليل الأغشية من خلال استخدام التحليل الطيفي للأشعة تحت الحمراء فورية. حدوث تفاعل بين البوليمرات الحيوية. دراسة حركية الامتصاص الحيوي للنيستاتين على ثلاثة الأغشية (الكسانتان ، الكسانتان/ الشيتوزان ، البكتين / الشيتوزان)

أظهرت أن أفضل سعة امتصاص بيولوجي كانت لأغشية (البكتين / الشيتوزان) بمعدل0.01 جم/جم علاوة على ذلك لا يمكن لمزيج ( الكسانتان/ الشيتوزان) تعزيز قدرة تثبيت النستاتين والقيم المسجلة في حدود 0،02 جم / جم و 0،0005 جم / جم للأغشية (الكسانتان ، الكسانتان/ الشيتوزان) على التوالي. فيما يتعلق بامتصاص أيونات الزنك، أثبتت النتائج أن تركيزات الشيتوزان مع البكتين قد حسنت قدرته على الامتصاص الحيوي من 0،05 جم / جم إلى 0،16 جم / جم، في حين أن مزج الكسانتان والشيتوزان لا يمكن أن يؤدي إلى تحسن ملحوظ في قدرة تثبيت أيونات الزنك.



**كلمات مفتاحية :** مركبات حيوية ,التخثر ,حبيبات ,أغشية ,امتصاص حيوي ,النيستاتين, الزنك



## Résumé

Cette étude porte principalement sur l'élaboration des systèmes de biosorption à base de trois biopolymères à savoir le chitosane, la pectine et le xanthane et leur utilisation pour la fixation de deux types de polluants : la nystatine et les ions de zinc Zn (II). Les deux formes préparées sont les beads et les membranes par la méthode de gélification. La forme membranaire a été également élaborée par le mélange des biopolymères (Xanthane/Chitosane et Pectine/Chitosane). Les membranes formées sont des films lisses et transparents. L'analyse des membranes par la spectroscopie FTIR a confirmé la réaction entre les deux biopolymères en question. L'étude de la cinétique de biosorption de la nystatine sur trois membranes (Xn, Xn/Cs et Pec/Cs) a montré que la meilleure capacité de biosorption est enregistrée pour la membrane Pec/Cs avec une moyenne de 0.01 g/g. De plus, le mélange Xn/Cs n'a pas abouti à une amélioration de la capacité de fixation de la nystatine où les capacités maximales obtenues sont de l'ordre de 0.02 g/g et 0.0005 g/g pour les membranes Xn et Xn/Cs respectivement. Concernant la biosorption de Zn(II), les résultats obtenus révèlent que la complexation du chitosane par la pectine a amélioré sa capacité de biosorption de 0.05 g/g (Cs seul) à 0.16 g/g ( Pec/Cs), tandis que le mélange Xn/Cs n'a pas abouti à une amélioration de la capacité de fixation de Zn(II).



**Mots clés** : Biopolymères, gélification, Beads, Membranes, Biosorption, Nystatine, Zinc

## Abstract

The current study examines mainly the development of biosorption systems relying on three biopolymers; chitosane, pectin, and xanthan and their usage in the fixation of two types of polluting agents: nystatin and zinc ions. Prepared forms are beads and membranes using the gelification method. Membrane forms were also produced from a mix of one of the polymers with chitosan (pectin/chitosan and xanthan/chitosan). Membranes formed during the process are smooth and transparent films. Analyzing membranes through the use of Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) affirmed the occurrence of a reaction between the two biopolymers in question. Kinetic analysis of nystatin biosorption on the three membranes; Xn, Xn/Cs and Pec/Cs, showed that the best biosorption capacity was registered for the Pec/Cs membrane with an average of 0,01 g/g. Moreover, the Xn/Cs mix couldn't enhance nystatin fixation capacity and the values recorded are in the range of 0,02 g/g and 0,0005 g/g for Xn and Xn/Cs respectively. Regarding zinc ions biosorption, results demonstrate that chitosane complexation with pectin has improved its biosorption capacity from 0,05 g/g to 0,16 g/g, while mixing xanthan and chitosan couldn't lead to an improvement in zinc ions fixing capacity.

**Key words:** biopolymers, gelification, beads, membranes, biosorption, nystatin, zinc.

# Dédicace

*Au Nom de Dieu clément est Miséricordieux*

*C'est avec un grand plaisir que je dédie ce modeste travail à la plus proche qui m'a beaucoup encouragé à poursuivre le bon chemin, qui ma donnée l'amour, la tendresse et la volonté,*

*Je dédie ce mémoire*

*Al 'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu le garde dans son vaste paradis.*

*Mon père*

*A la femme de ma vie, ma raison d'être, ma raison de vivre, mon ami si cher, Un sourire tendre pour guider mon chemin. C'est la lumière du soleil pour éclairer ma journée.*

*Ma mère*

*A mes sœurs : Nessrine, Samia, Hassina et Sarah*

*A mes frères : Belkacem, et Anes.*

*A toute la famille KHELIL CHERFI*

*A mon binôme RAHMANI AMINA, et sa famille*

*A toute mes amies et mes collègues le long de mes Études*

***Je vous dis Merci***

***KHELIL CHERFI Asmaa***

# Dédicace

*Avec toute modestie, je dédie ce travail :*

*A ma très chère mère, qui a toujours été là pour moi, elle a tout sacrifié pour ses enfants. Elle m'a donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance.je suis redevable d'une éducation irremplaçable dont je suis fière.*

*A la mémoire de mon chère père, Qu'ALLAH lui pardonne et ait pitié de lui.*

*Bien sûr, la vie n'aurait pas du gout sans eux, mon très cher frère Mohamed, et mes très chères sœurs :Soade et Hadjer.*

*A tous mes oncles et tantes, à leurs mari(e)s et à leurs enfants, et a tous les membres de ma famille, petits et grands.*

*A toutes mes proches amis.*

*Amina Rahmani*

# Remerciements

En premier lieu, nous tenons à remercier Allah le tout puissant, pour notre avoir donné la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Mes plus vifs remerciements vont à **Dr.ZOUAMBIA YAMINA** et **Dr MAACHOU HAMIDA** qui ont su, par leur disponibilité, leur aide précieuse et leurs conseils bénéfiques, apporter autant de richesse à ce travail. C'est une chance inouïe d'avoir eu l'occasion de travailler sous leur direction.

Nos remerciements vont particulièrement à la présidente de jury **Dr BENAISSA**. F et à l'examinatrice **Dr TURKMEN. N** qui me font l'honneur de juger ce travail.

Nous exprimons notre profonde gratitude à tous les enseignants du département des sciences de la matière de la faculté des sciences de l'université de Médéa qui ont participé à notre formation.

Nous remercions aussi les responsables de laboratoire Biologique au niveau du faculté du science et laboratoire du hall technologique de l'université de Médéa et sans oublier les ingénieurs des laboratoires.

Nous remercions enfin nos chers parents nos frères et toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

# TABLE DE MATIERE

**RESUME**

**REMERCIEMENTS**

**DEDICACES**

**LISTE DES FIGURES**

**LISTE DES TABLEAUX**

**LISTE DES SYMBOLES ET ABREVIATIONS**

**INTRODUCTION GENERALE……1**

## CHAPITRE I : GENERALITE SUR LES BIOPOLYMERES

**I.1.Polymères ..... 3**

**I.2.Biopolymères ..... 3**

**I.2.1. Définition de biopolymère ..... 3**

**I.2.2. Classification des biopolymères ..... 3**

**I.2.2.1. Biopolymère issus de la pétrochimie (fossile) ..... 4**

**I.2.2.2.Biopolymère issus des ressources renouvelables ..... 4**

**I.2.3. Propriétés des biopolymères ..... 5**

**I.2.3.1. Biodégradabilité des biopolymères ..... 5**

**I.2.3.2. Biocompatibilité et biorésorbabilité ..... 6**

**I.2.3.3. Perméabilité à la vapeur d'eau des biopolymères ..... 6**

**I.2.3.4. Propriétés physiques et chimiques ..... 7**

**I.2.4. Principaux avantages et inconvénients des biopolymères . ..... 8**

**I.2.4.1. Principaux avantages des biopolymères ..... 8**

**I.2.4.2. Inconvénients des biopolymères ..... 8**

**I.2.5. Domaine d'Application de biopolymère ..... 8**

**l.2.5.1.Applications médicales ..... 8**

**I.2.5.2. Application agricole ..... 9**

**I.2.5.3. Emballage ..... 9**

**I.3. Polysaccharides ..... 10**

**I.3.1. Définition ..... 10**

**I.3.2.Classification des polysaccharides ..... 11**

**I.3.2 .1. Selon leur composition en monomères……....11**

**A-Homopolysaccharides……..……..…….…….....11**

**B-Hétéro polysaccharides…….……..…..11**

**I.3.2.2. Classification des polysaccharides selon leurs sources……..……11**

**A- Polysaccharides animaux……11**

**B- Polysaccharides d'origine végétale…….....12**

**C- Polysaccharides d'origine microbienne……12**

**I.3.2.3. Classification des polysaccharides selon leur fonction biologique……12**

**A-Polysaccharides de réserve……..12**

**B-Polysaccharides de structure…….……..12**

**I.4.Gomme Xanthane ..... 13**

**I.4.1. Définition..... 13**

**I.4.2. Structure de la gomme xanthane ..... 13**

**I.4.3. Mode de fabrication de xanthane . ..... 14**

**I.4.4. Propriétés de la gomme xanthane..... 14**

- **Solubilité ..... 14**
- **Compatibilité de la gomme xanthane..... 15**

**I.4.5.Domaine d'application de la gomme xanthane..... 15**

**I.4.5.1.Domaine agroalimentaire..... 15**

**I.4.5.2. Domaine pharmaceutique..... 16**

**I.5. Substances pectiques..... 16**

**I.5.1.Définition des pectines ..... 16**

**I.5.2.Origine de pectine..... 17**

**I.5.3.Structure de pectine ..... 18**

**I.5.4 Types de pectines..... 19**

**I.5.5. Propriétés physico-chimiques des substances pectiques..... 19**

- **Masse molaire..... 19**
- **Solubilité ..... 20**
- **Viscosité……..……..20**
- **Propriétés gélifiantes ..... 20**
- **Dégradation des pectines..... 20**
- **Degré de méthylation..... 21**
- **Degré d'acétylation ..... 21**

- **Degré d'amidation ..... 21**

**I.5.6.Domaines d'application de pectine ..... 21**

**I.5.6.1.Pectine dans la nutrition et l'industrie alimentaire ..... 21**

**I.5.6.2.Pectine dans l'industrie pharmaceutique ..... 21**

**I.5.6.3.Industrie cosmétique ..... 21**

**I.6.Chitosane ..... 22**

**I.6.1. Définition et structure ..... 22**

**I.6.2.Source de chitosane ..... 23**

**I.6.3. Préparation du chitosane ..... 23**

**I.6.4.Propriétés du chitosane ..... 23**

- **Degré de désacétylation ..... 23**
- **Solubilité ..... 23**
- **Viscosité ..... 24**
- **Polyélectrolyte en milieu acide ..... 24**
- **Propriétés biologiques ..... 24**
- **Cicatrisant ..... 24**
- **Masse moléculaire ..... 24**

**I.6.5. Gélification du chitosane ..... 25**

**I.6.6. Principales applications du chitosane ..... 26**

**I.6.6.1.Dans le domaine médical ..... 26**

**I.6.6.2.En cosmétique ..... 26**

**I.6.6.3.En agriculture ..... 27**


## CHAPITRE II : BIOSORPTION


**II.1. Adsorption ..... 28**

**II.1.1. Définition d'adsorption ..... 28**

**II.1.2.Classification des phénomènes d'adsorption ..... 28**

**II.1.2.1.Adsorption chimique (ou chimisorption) ..... 28**

**II.1.2.2. Adsorption physique (ou physisorption) ..... 29**

**II.1.3. Description du mécanisme d'adsorption ..... 29**

**II.1.4. Facteurs influençant l'adsorption ..... 30**

II.1.4.1.Température ..... 30
II.1.4.2.pH ..... 30
II.1.4.3.Surface spécifique ..... 30
II.1.4.4.Masse de l'adsorbant..... 31
II.1.4.5. Nature des groupements fonctionnels..... 31
II.1.4.6. Structure moléculaire de l'adsorbat ..... 31
II.2.Biosorption ..... 31
II.2.1. Définition de Biosorption..... 31
II.2.2. Classification des biosorbants..... 32
II.2.2.1. Biosorbants d'origine aquatique..... 32
II.2.2.2. Biosorbants d'origine agro-industrielle ..... 32
II.2.3. Propriétés des biosorbants..... 33
II.2.3.1. Propriétés physiques ..... ...33
a) Structure poreuse.....33
b) Surfaces pécifique..... .33
II.2.3.2. Propriétés chimiques des biosorbants ..... .....33
a)Composition élémentaire.....33
b) Point de charge nulle.....34
II.2.3.3. Propriétés des biosorbants en suspension aqueuse.....34
a) Fraction soluble.....34
b) Gonflement.....35

## CHAPITRE III : RESULTAT ET DISCUSSION

III.1. Introduction.....36
III.2. Matériels et produits utilisés.....36
III.2.1. Matériels .....36
III.2.2. Produits.....37
III.3. Caractérisation physicochimique des biopolymères.....37
III.3.1. Aspect général.....37
III.3.2. Caractérisation par la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF).....38

## CHAPITRE III : RESULTAT ET DISCUSSION

**III.1. Introduction** ..... 36
**III.2. Matériels et produits utilisés** ..... 36
**III.2.1. Matériels** ..... 36
**III.2.2. Produits** ..... 37
**III.3. Caractérisation physicochimique des biopolymères** ..... 37
**III.3.1. Aspect général** ..... 37
**III.3.2. Caractérisation par la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)** ..... 38
**A. Principe de l'IRTF** ..... 38
**B. Protocole expérimentale** ..... 39
**C. Résultats et discussion** ..... 39
**III.3.3. Détermination du degré de désacetylation du chitosane (DD)** ..... 41
**III.3.4. Détermination du degré d'estérification de la pectine** ..... 42
**A.Protocole expérimental** ..... 42
**B.Résultats et discussion** ..... 43
**III.4. Préparation des systèmes biosorbants** ..... 43
**III.4.1. Préparation des beads des biopolymères** ..... 43
**Principe** ..... 43
**A. Préparation des beads de pectine** ..... 43
**B. Préparation des beads de chitosane** ..... 43
**C. Préparation des beads de Xanthane** ..... 44
**III.4.2. Préparation des membranes** ..... 44
**III.4.2.1. Préparation des membranes des biopolymères seuls** ..... 44
**A. Préparation des membranes de chitosane seul** ..... 44
**B. Préparation des membranes de Xanthane seul et de pectine seule** ..... 45
**III.4.2.2. Préparation des membranes complexes** ..... 45
**III.5. Caractérisation des systèmes biosorbants** ..... 47
**III.5.1. Aspect général** ..... 47
**A. Beads de chitosane** ..... 47
**B. Beads de Xanthane et de pectine** ..... 48
**Membranes** ..... 49
**III.5.2. Conductivité et pH des solutions des mélanges des biopolymères** ..... 50
**A. Mode opératoire** ..... 50

**B. Résultats et discussions ..... 50**
**III.5.3. Test de gonflement ..... 51**
**A. Préparation des solutions tampons ..... 52**
**B. Mode opératoire ..... 52**
**C. Résultats et discussion ..... 52**
**III.5.4. Test de perte en poids ..... 57**
**A. Mode opératoire ..... 57**
**B. Résultats et discussions ..... 58**
**III.5.5. Analyse par IRTF des membranes des mélanges de biopolymères ..... 59**
**III.6. Application des membranes élaborées dans la biosorption ..... 60**
**III.6.1. Biosorption de nystatine par les membranes ..... 61**
**III.6.1.1. Principe actif utilisé ..... 61**
**III.6.1.2. Protocol de la biosorption ..... 61**
**III.6.1.3. Etablissement de la courbe d'étalonnage de nystatine ..... 62**
**A. Principe de la spectroscopique UV-Visible ..... 62**
**B. Détermination de la longueur d'onde maximale ..... 63**
**C. Courbe étalonnage ..... 63**
**III.6.1.4. Résultats et discussion ..... 64**
**III.6.2. Biosorption du Zinc par les membranes formulées……..... 67**
**III.6.2.1. Mode opératoire ..... 68**
**III.6.2.2. Résultats et discussion ..... 68**

**CONCLUSION GENERALE……71**
**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## CHAPITRE I : BIOPOLYMERE

**Figure I.1.Structure du polymère** ..... **3**
**Figure I.2. Organigramme de différentes familles de biopolymères** ..... **4**
**Figure I.3. Structure de la gomme xanthane** ..... **13**
**Figure I.4. Mode de fabrication de xanthane** ..... **14**
**Figure I.5.Principales sources industriellesdes pectines.** ..... **17**
**Figure I.6 : Structure unitaire du squelette de la pectine** ..... **18**
**Figure I.7 : Structure des trois principales unités des pectines** ..... **19**
**Figure I.8. Structure chimique du chitosane** ..... **22**
**Figure I.9 :Structure chimique de la chitine** ..... **22**

## CHAPITRE II : BIOSORPTION

**Figure II.1 : représente un schéma simplifié du phénomène d'adsorption** ..... **28**
**Figure II.2 : Domaines d'existence d'un soluté lors de l'adsorption sur un matériau Microporeux.** ..... **30**
**Figure II.3. Classification des mécanismes de biosorption.** ..... **32**

## CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCISSIONS

**Figure III.1 : Aspect général des biopolymères utilisés** ..... **38**
**Figure III.2: Spectre FTIR du chitosane** ..... **39**
**Figure III.3 : Spectre FTIR de la pectine** ..... **40**
**Figure III.4 : Spectre FTIR du Xanthane** ..... **40**
**Figure III.5 : Bain de glace utilisé pour la préparation des beads du chitosane dans TPP** ..... **44**
**Figure III.6 : Etapes de préparation des membranes de chitosane** ..... **45**
**Figure III.7 : Homogénéiseur utilisé** ..... **46**
**Figure III.8 : Beads du chitosane après gélification** ..... **48**

## CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCISSIONS

**Figure III.1 : Aspect général des biopolymères utilisés ..... 38**

**Figure III.2: Spectre FTIR du chitosane ..... 39**

**Figure III.3 : Spectre FTIR de la pectine ..... 40**

**Figure III.4 : Spectre FTIR du Xanthane ..... 40**

**Figure III.5 : Bain de glace utilisé pour la préparation des beads du chitosane dans TPP ..... 44**

**Figure III.6 : Etapes de préparation des membranes de chitosane ..... 45**

**Figure III.7 : Homogénéiseur utilisé ..... 46**

**Figure III.8 : Beads du chitosane après gélification ..... 48**

**Figure III.9: Aspect des beads de Xanthane(A) et de pectine (B) ..... 48**

**Figure III.10: Membranes de chitosane (A), de pectine (B) et de xanthane (C) ..... 49**

**Figure III.11 : Membranes des complexes : Pec/Cs (A : 10/10, B : 4/16, C : 16/4) ..... 50**

**Xn/Cs (D : 10/10, E : 4/16, F : 16/4)**

**Figure III.12 : Test de gonflement des membranes de biopolymères seuls ..... 53**

**chitosane, (b) xanthane et (c) pectine.**

**Figure III.13 : Test de gonflement des membranes de Xn/Cs : (a) 16/4, (b) 10/10 et (c) 4/16. ..... 54**

**Figure III.14 : Test de gonflement des membranes de Pec/Cs: (a) 16/4, ..... 56**

**10/10 et (c) 4/16**

**Figure III.15 : Tests de gonflement des différentes membranes aux différents pH ..... 57**

**Figure III.16 : Spectre FTIR des membranes du M-Pect, M-Cs etM-Pect/Cs (10/10). 59**

**Figure III.17 : Spectres FTIR des membranes du chitosane , xanthane et du complexe Cs/Xn (10/10). ..... 60**

**Figure III. 18 : Structure de nystatine ..... 61**

**FigureIII.19. Courbe d'étalonnage de la nystatine ..... 63**

**Figure III.20 : Cinétique de biosorption de la nystatine sur la membrane de xanthane ..... 65**

**Figure III.21 : Cinétique de biosorption de la nystatine sur la membrane de Xn/Cs : 10/10 ..... 66**

**Figure III.22 : Cinétique de biosorption de la nystatine sur la membrane de Pec/Cs : 10/10 ..... 67**

**Figure III.23 : Cinétique de biosorption des ions Zn(II) sur la membrane de chitosane……...69**

**Figure III.24 : Cinétique de biosorption des ions Zn(II) sur la membrane de xanthane……..69**

**Figure III.25 : Cinétique de biosorption des ions Zn(II) sur la membrane de Pect/Cs……70**

**Figure III.26 : Cinétique de biosorption des ions Zn(II) sur la membrane de Xn/Cs….....70**

## CHAPITRE I : BIOPOLYMERE

**Tableau I.1. Grandes classes de biopolymères ..... 5**

**Tableau I.2.Propriétés spécifiques de quelques biopolymères et les applications attendues ..... 7**

**Tableau.I.3. Applications des biopolymères dans l'emballage ..... 9**

**Tableau. I.4. Exemples des polysaccharides les plus courants ..... 10**

**Tableau.I.5. Teneur en substances pectiques de quelques végétaux. ..... 17**

**TableauI.6. Autres propriétés principales de chitosane ..... 25**

**Tableau I.7 :résume les principales applications du chitosane. ..... 27**

### CHAPITRE II : BIOSORPTION

**Tableau II.1 : Différence entre l'adsorption physique et l'adsorption chimique. ..... 29**

**Tableau II.2. Principales caractéristiques physiques de quelques biosorbants ..... 33**

**Tableau II.3.Composition élémentaire d'échantillons de biosorbants..... 34**

## CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCISSIONS

**Tableau III.1. Appareillage utilisé..... 36**

**Tableau III.2. Produits utilisés dans la partie expérimentale ..... 37**

**Tableau III.3 : Différentes bandes des spectres FTIR des biopolymères étudiés ..... 41**

**Tableau III.4 : Compositions des mélanges préparés..... 47**

**Tableau III.5 : pH et conductivité des mélanges des biopolymères ..... 51**

**Tableau III.6 : Solutions tampons ..... 52**

**Tableau III.7 : Résultats du test de dégradation des membranes étudiées ..... 58**

**ADN :** Acide désoxyribonucléique

**AMP :** Adénosine-5'-monophosphate

**ARN :** Acide ribonucléique

**ATP:** Adénosine-5'-triphosphate

**DMF :** Diméthylformamide

**DMS :** Diméthylsulfoxide

**EDTA :** Ethylendiamintetraessigsaure

**FTIR :** Infra rouge à transformée de Fourier

**GalA :** Acide D-galacturonique

**Gx** : Gomme xanthane

**HM :** Pectine hautement méthylée

**IR :** Infra rouge

**LM :** Pectine faiblement méthylée

**LMA :** Pectine faiblement méthylée amidée

**LMPA :** Low methylated amidated pectin

**MHS :** Mark-Houwink-Sakurada

**PLA :** Acide polylactique

**PHA :** Polyhydroxydlkanoates

**PHV :** Polyhydroxyvalerate

**PHB :** polyhydroxbutyrate

**PHBV :** Polyhydroxybutyrate-hydroxyvalerate

**PET :** Polyethylentrephtalate

**PTFE:** Polytétrafluoroéthylène

**RG :** Rhamnogalacturonanes

**RMN :** Résonance magnétique nucléaire

**TPP :** Tripolyphosphate

**UV-vis :** Ultra-violet-visible

| Symboles | Signification |
|---|---|
| **A** | Absorbance |
| **C** | Concentration **(g/l)** |
| **DA** | Degré d'acétylation |
| **DD** | Degré de désacétylation |
| **DE** | Degré d'estérification |
| **DM** | Degré de méthylation |
| **DO** | Densité optique |
| **DP** | Degré de polymérisation |
| **k, a** | Constantes de MHS |
| **M-Cs** | Membrane de chithosane |
| **M-Pec** | Membrane de Pectine |
| **M-Xn** | Membrane de xanthane |
| **M** | Masse moléculaire **(g/mol)** |
| **min** | Minute |
| **pH** | Potentiel hydrogène |
| **pHpznpc** | Point of zero net proton charge |
| **pKa** | constante d'acidité |
| **T** | Transmittance |
| **TG** | Taux de gonflement |
| **TD** | Taux de dégradation |
| **V** | Volume **(ml)** |
| **Cs** | Chitosane |
| **Pc** | Pectine |
| **Xn** | Xanthan**e** |

| | |
|---|---|
| **λ max** | Longueur d'onde maximale **(nm)** |
| **q** | Capacité **(g/g)** |
| **η** | viscosité intrinsèque **($cm^2$/ml)** |
| **$R^2$** | coefficient de corrélation |

# INTRODUCTION

# Introduction générale

A l'heure actuelle, les biopolymères sont devenus incontournables dans notre vie quotidienne. Ils sont utilisés dans une multitude d'applications et il serait désormais difficile de s'en passer. Ce sont des polymères naturels issus des ressources renouvelables de plantes, d'algues ou d'animaux. Les biopolymères possèdent des propriétés physicochimiques et biologiques importantes permettant des applications ciblées dans des domaines très variés notamment dans les secteurs de l'emballage, textile, l'agriculture, pharmaceutique, l'électronique, environnementale et biomédical **.**

Les polysaccharides constituent la famille de biopolymères les plus répandus et les plus utilisés grâce à leurs diverses propriétés physicochimiques et biologiques. Les polysaccharides sont, en général, non toxiques, biodégradables et biocompatibles. Ils sont également caractérisés par leur capacité d'adsorption, leur abondance dans la nature. Toutes ces propriétés leur confèrent l'opportunité d'être des matériaux prometteurs dans divers domaines pharmaceutique, médical, environnemental…Parmi ces applications l'adsorption des matières organiques et inorganique sur des supports naturels (la biosorption) a suscité un intérêt particulier **.**

Dans cet ordre d'idée, nous nous sommes intéressés, dans cette présente étude, à l'utilisation de trois biopolymères (chitosane, pectine et xanthane) de nature polysaccharidique de différentes origines (animale, végétale et microbienne) pour l'élaboration des systèmes biosorbants. Les biopolymères ont été utilisés seuls et sous formes de complexe polyélectrolytes. Les biosorbants élaborés ont été appliqués pour l'élimination de la nystatine (un antibiotique) et un métal lourd (les ions du zinc $Zn^{2+}$).

Pour ce faire, ce manuscrit est structuré en deux parties :

- Une étude bibliographique, organisée en deux chapitres :
  - Le premier chapitre présente des généralités sur les biopolymères : définitions, classification, propriétés et application et quelques détails sur les biopolymères utilisés dans ce travail (xanthane, pectine et chitosane).
  - Le deuxième chapitre est consacré au phénomène d'adsorption et de biosorption (définition, classification, et paramètres influençant ce phénomène et propriétés)

- Une étude expérimentale, organisée en un seul chapitre qui représente notre travail pratique relatif la caractérisation des trois biopolymères : xanthane, pectine et chitosane, l'élaboration et la caractérisation des systèmes biosorbants (beads et membranes) à base biopolymères et finalement, comme application, l'étude de la biosorption de nystatine et des ions Zn(II) par les systèmes élaborés.

Ce travail est, enfin, clôturé par une conclusion générale qui résume les principaux résultats obtenus et quelques perspectives.

# CHAPITRE 1

# BIOPOLYMERES

## I.1.Polymères

Les polymères sont parmi les produits chimiques ayant le plus d'applications industrielles. Ce sont des macromolécules obtenues par la combinaison d'un grand nombre de molécules plus petites appelées « monomères » **figure I.1**.Ils ont une masse molaire très importante. Un monomère est un composé constitué de molécules simples pouvant réagir avec d'autre monomères pour donner un polymère. Contrairement au polymère, un monomère a une faible masse moléculaire **[1]**.

Un polymère peut être caractérisé par son degré de polymérisation (DP) ou sa masse moléculaire. Si le degré de polymérisation est inférieur à 30, on qualifie la macromolécule d'oligomère. A l'inverse, si le degré de polymérisation est supérieur à 30 c'est un polymère **[2]**.

Les polymères peuvent être d'origine naturelle (animale ou végétale) ou d'origine synthétique. Les macromolécules naturelles sont les caoutchoucs, les polysaccharides, le glycogène, l'ADN, les protéines... Les macromolécules synthétiques sont représentées par exemple par le polyéthylène, le polypropylène, le polystyrène, le polychlorure de vinyle, le polytétrafluoroéthylène, les polyesters, les polycarbonates, les polysiloxanes, les polyamides... **[3]**.

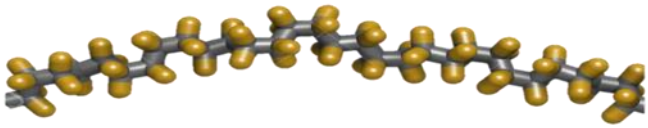


**Figure I.1**.Structure du polymère

## I.2.Biopolymères

### I.2.1. Définition de biopolymère

Les biopolymères sont des polymères présents dans des organismes vivants ou synthétisés par ceux-ci. Ils comprennent notamment les polymères provenant de ressources renouvelables qu'on peut polymériser pour fabriquer des bioplastiques **[4]**. Les biopolymères peuvent être obtenus par polymérisation de monomère naturels et par la fermentation **[5]**.

### I.2.2. Classification des biopolymères

Les biopolymères sont soit issus de la pétrochimie, soit issus des ressources renouvelables comme le montre la **figure I.2 [6]**.

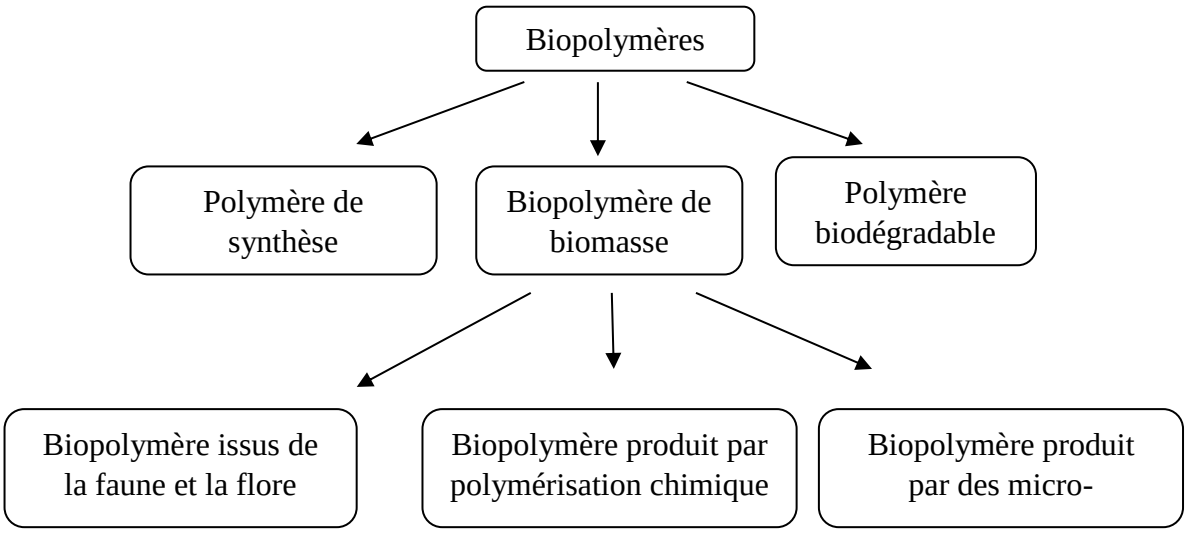



**Figure I.2**. Organigramme de différentes familles de biopolymères **[4]**

### I.2.2.1. Biopolymère issus de la pétrochimie (fossile)

Ce sont des polymères issus de la pétrochimie associés à un composé naturel (amidon, cellulose…), on parlera plutôt de dégradabilité, d'autant qu'ils peuvent comporter des additifs à base de métaux lourds (améliorer la dégradabilité). Soit des polymères biodégradables de synthèse, peuvent être considérés comme biodégradables, et c'est le cas notamment des : polyesters aliphatiques, Opolyesters aliphatiques, Polyethylentrephtalate (PET)modifiés…etc**. [6]**.

### I.2.2.2. Biopolymère issus des ressources renouvelables

Une alternative pour obtenir des polymères biodégradables consiste à utiliser les ressources renouvelables d'origines agricoles, (non tirés de la pétrochimie).

Les biopolymères biodégradables issus des ressources renouvelables peuvent être classés en trois catégories **[7]** :

- Les polymères issus directement des ressources végétales comme les polysaccharides (amidon ,cellulose ) et les protéines ;
- Les polymères issus d'origines bactériennes comme le poly (hydrox butyrate) (PHB) ;
- Les polymères obtenus indirectement par polymérisation de monomères eux-mêmes issus de ressources végétales comme l'acide lactique résultant de la fermentation de sucre ou des composés monomères réactifs dérivés d'huiles végétales.

  Le **tableau I.1**regroupe les différentes classes de biopolymère.

**TableauI.1**. Grandes classes de biopolymères **[8]**

| Classe | Descriptions | Exemples de biopolymère |
|---|---|---|
| **Polysaccharides** (plantes/animaux) **Polysaccharides** (issus des bactéries) | Glucides ou sucres complexes constitués de plusieurs monosaccharides (glucides ou sucres simples)liés entre eux. | Amidon, cellulose, alginate, chitosane, Agar, pectine, Gommes, Carraghénane. Xanthane, Dextrane, Gellane, Curdlan, Pullulane, Elsinane. |
| **Protéines et Polypeptides** | Macromolécules biologiques composées d'une ou plusieurs chaines d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques. | Polyacideaminé,collagène, Gluten, caséine, soja, glycoprotéine, zéine. |
| **Polyesters** (synthétisés par des bactéries). | Polymères dont les motifs répétitifs de la chaine principales contiennent la fonction ester. | Poly acide lactique (PLA) polyhydroxyalcanoate (PHA). |
| **Polyphénols** | Molécules présentant plusieurs groupements phénoliques. | Lignines, Tanins, Acides humiques. |
| **Poly nucléotides et Nucléotides** | Molécules composées de plusieurs nucléotides certains nucléotides forment la base de l'ADN et l'ARN. | Adénosine-5'-triphosphate(ATP) Adénosine-5'-monophosphate(AMP). |

### I.2.3. Propriétés des biopolymères

Les biopolymères sont utilisés dans des domaines très variés tels que l'emballage, l'agriculture, la construction, l'automobile, l'électronique et le textile. Ils sont également employés pour des applications à forte valeur ajoutée dans le domaine médical (implants vasculaire, fils de suture, vis et broches, ligaments artificiels…).

#### I.2.3.1. Biodégradabilité des biopolymères

La biodégradabilité est la propriété la plus importante pour caractériser l'impact d'un produit organique sur l'environnement. La biodégradabilité est un processus naturel de décomposition de la matière organique. Elle est due à la présence de liaisons facilement clivables comme les liaisons esters ou amides conduisant à la formation de molécules simples et de fragments de

plus petite taille **[9]**. Leurs décompositions moléculaire et chimique conduisent à la formation de $CO_2$ et d'$H_2O$ en présence d'oxygène (ou à la formation de $CO_2$ et d'$H_2O$ en milieu anaérobie, plus une nouvelle biomasse **[10]**.

Le terme « biodégradabilité » suscite donc beaucoup de discussions. La définition émergeante proposée par de nombreux auteurs se traduit par une dégradation du matériau par les microorganismes comme les bactéries, les champignons et les algues **[7,11]**.

La biodégradation d'un biopolymère dépend de différents facteurs regroupe qui sont regroupés en trois grandes catégories :

- ✓ Les paramètres physicochimiques du milieu de dégradation : température, teneur en eau du milieu, pH, présence d'oxygène et action des UV.
- ✓ Les paramètres microbiologiques du milieu de dégradation : nature et abondance des microorganismes présents sur le site.
- ✓ La structure chimique et la morphologie du polymère constituant le matériau : un matériau hydrophile, poreux et possédant une faible masse molaire aura une vitesse de dégradation supérieur à celle d'un matériau massif et dense.

La cristallinité du polymère également une influence sur sa biodégradabilité **[10]**. En plus les biopolymères sont dégradés naturellement dans l'organisme humain par hydrolyse (enzymatique) et libèrent des molécules assimilables et non toxiques **[12]**.

### I.2.3.2. Biocompatibilité et biorésorbabilité

La biorésorbabilité d'un matériau est recherchée pour une application médicale spécifique. Des matériaux biorésorbables peuvent se décomposer tout naturellement dans l'organisme humain pour être remplacés après par un tissu vivant **[12]**.

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

### I.2.3.3. Perméabilité à la vapeur d'eau des biopolymères

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

antistatique **[13]**. L'inconvénient de la perméabilité à la vapeur d'eau dans certaines applications, notamment pour les emballages alimentaires : les viennoiseries ne peuvent pas se trouver dans un endroit trop humide pour conserver leur fraicheur. Par contre, existe l'avantage pour certains types d'emballages : La condensation et la durée de conservation des produits frais est allongée. Cette propriété trouve également une application dans les emballages des produits humides leurs laissant la possibilité de continuer de sécher pendant les étapes de stockage et de transport **[14]**.

### I.2.3.4. Propriétés physiques et chimiques

La réactivité des biopolymères est due à la présence des fonctions alcool, amine ou aldéhyde qui réagissent facilement grâce à leur site nucléophile et électrophile **[15]**. Une autre particularité des biopolymères est l'existence de stéréo-isomères due à la présence de carbone asymétrique sur certains bio-monomères comme l'acide lactique. Cette propriété influence les propriétés physiques des polymères. Dès lors, on peut modifier les propriétés physiques et mécaniques des polymères ainsi que leurs applications **[16]**.

Le **tableau I.2** rassemble quelques propriétés physiques et chimiques intéressantes des biopolymères et les applications potentielles.

**Tableau I.2.**Propriétés spécifiques de quelques biopolymères et les applications attendues

| Biopolymères | Propriétés particulières | Applications ciblées |
|---|---|---|
| Polymèresà base d'amidon | Antistatiques, Anti-condensation toucher naturel | Emballage et sacs |
| Polymères à base de cellulose | Transparence, Antistatique | Fibre, épaississant |
| Polymères à base de protéine | Comestibles, perméabilité sélective aux gaz | Emballages alimentaires<br>Galénique |
| Polymères à base d'huile | Siccativités | Peinture, Vernis |
| Polymères de synthèse (PLA) | Antibactériens, brillances | Emballages, Fibres, textiles |
| Polyesters bactériens(PHA) | Piézoéléctrique, insolubilité dans l'eau, antioxydants | Médical, matériauostéosynthétique |

### I.2.4. Principaux avantages et inconvénients des biopolymères [17]

#### I.2.4.1. Principaux avantages des biopolymères

- Neutralité en termes de cycle $CO_2$.
- Gestion de fin de vie facilitée par le compostage.
- Panel varié de biopolymères disponibles.
- Issus de ressources abondamment renouvelables.
- Transformables par les processus traditionnels (extrusion, gonflage, injection, thermoformage).
- Haute valeur ajoutée

#### I.2.4.2. Inconvénients des biopolymères

- Prix de vente élevé (coût plus faible production)
- Propriétés physiques parfois limitées.
- Compostage industriel des déchets biopolymériques peu développé.

### I.2.5. Domaine d'Application de biopolymère

Les applications des biopolymères reposent sur leur principale propriété qui consiste en leur caractère biodégradable, en plus ne sont pas polluants, ils peuvent même être compostés et donc servir à favoriser la croissance d'autres végétaux **[18]**. Le plus souvent, bon nombre de ces biopolymères sont utilisés en tant que biomatériaux dans le domaine médical, en agriculture, en sports et aussi dans l'emballage alimentaire. Ces biopolymères sont aussi utilisés comme mousses et chips d'emballage, vêtements textiles jetables ou dans le traitement des eaux polluées comme par exemple la chitine et le chitosane **[19]**.

Les trois grands domaines d'application des biopolymères émergeant sont :

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

#### I.2.5.1. Applications médicales

Les applications médicales des biopolymères ont été développées comme **[19]**:

- ✓ Systèmes à libération contrôlée de substances actives.
- ✓ Implants en chirurgie vasculaire et cardiovasculaire.
- ✓ Fils chirurgicaux résorbables.

- ✓ Pour remplacer certains tissus malades ou non fonctionnels ;
- ✓ Pour assurer la réparation de tissus ;
- ✓ Pour remplacer tout ou une partie de la fonction d'un organe (la dialyse : le rein…,).

### I.2.5.2. Application agricole

L'utilisation de polymère en agriculture n'a cessé d'augmenter. Les différentes applications sont **[19]** :

- ❖ La libération contrôlée de pesticides et de nutriments ;
- ❖ Le conditionnement de sols ;
- ❖ La protection de graines ;
- ❖ La protection de plants.

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

- ❖ Films de paillage agricoles.
- ❖ Libération contrôlée de produits chimiques pour agriculture.
- ❖ Godets pour plants.

### I.2.5.3. Emballage

Les propriétés physiques requises d'un emballage dépendent aussi bien de ce qui est emballé que de ses conditions de stockage. Les matériaux dérivés de ressources renouvelables sont utilisés pour des applications dans le domaine alimentaire **tableau I.3**:

- ➢ Emballage alimentaire.
- ➢ Emballage industriel **[4,7, 18]**.

**TableauI.3**. Applications des biopolymères dans l'emballage **[18]**

| Polymères | Applications |
|---|---|
| Amidon | Emballages films alimentaires et produit d'hygiène, sacs de pomme de terre, couverts jetables… |
| Cellulose | Emballages films alimentaires, emballages films divers. |
| Acide polylactique (PLA) | Raviers et pots, bouteilles d'eau et de lait, gobelets jetables, divers emballages alimentaires, emballages films divers… |
| Polyhydroxyalcanoates (PHA) | Emballages (cosmétiques, films…). |

## I.3. Polysaccharides

### I.3.1. Définition

Les polysaccharides sont des polymères d'unités de monosaccharides, et leurs nombres et degré de polymérisation varient selon la source. Plusieurs facteurs influencent la structure des polysaccharides. La nature des unités de base (monosaccharides), la liaison glycosidique, les groupements fonctionnels (carboxyle, sulfate, etc.) et le poids moléculaire influencent directement les propriétés des polysaccharides.

Les polysaccharides sont retrouvés dans les algues, les plantes ou synthétisés par des microorganismes qui produisent respectivement l'alginate, l'amidon et la gomme xanthane.
Les β-glucanes sont une famille de polysaccharides retrouvées dans plusieurs sources différentes (plante, champignon, levure, etc.) qui sont largement étudiées. Ces derniers possèdent tous la même caractéristique structurale soit d'être majoritairement composés de β-D-glucose mais le type de liaison glycosidique et leurs poids moléculaires diffèrent grandement **[20]**. Le **tableau I.4** regroupe les polysaccharides les plus courants.

**TableauI.4**. Exemples des polysaccharides les plus courants**[21]**

| Sources | Polysaccharides |
|---|---|
| Animale | Glycosaminoglycane<br>✓ Chitine<br>✓ Hyaluronate<br>✓ Chondroïtine |
| Bactérienne | ✓ Curdlane<br>✓ Gellane<br>✓ Pullulane<br>✓ Xanthane |
| Végétale | ✓ Amidon<br>✓ Pectine<br>✓ Oligosaccharides<br>✓ Cellulose…etc. |
| Algale | ✓ Agar<br>✓ Carraghénane<br>✓ Ulvane<br>✓ Alginates |

### I.3.2. Classification des polysaccharides

#### I.3.2.1. Selon leur composition en monomères

Les polysaccharides d'origine végétale étant les plus valorisés. On distingue les homopolysaccharides et les hétéropolysaccharides selon qu'ils présentent un ou plusieurs types de monosaccharides :

**A- Homopolysaccharides**

Les homopolysaccharides comportent un seul type de monosaccharide (homogène). Ils peuvent être classés en fonction de la nature de leur unité monosaccharide. Par exemple **[22]** :

- Les glucanes sont des monomères de D-glucose ;
- Les galactanes sont des monomères de D-galactose ;
- Les xylanes sont des monomères de D-xylose ;
- Les chitosanes sont des monomères de D-glucosamine.

**B- Hétéropolysaccharides**

Polysaccharides hétérogènes : ce groupe de composés est mal défini car, d'une part, certains polysaccharides mixtes ne sont sans doute que des mélanges de polysaccharides homogènes non séparés et d'autre part, il fait transition avec les mucopolysaccharides par association à des fractions protéiques. Ces substances essentiellement végétales entrent dans la composition des gommes et des mucilages et participent à la constitution des enveloppes cellulaires bactériennes et des capsules. Exemple **[22]** :

- Galactose + arabinose = galactoarabane
- Xylose + arabinose = hémicellulose.

#### I.3.2.2. Classification des polysaccharides selon leurs sources

Les polysaccharides proviennent principalement des végétaux, mais il existe aussi des sources animales, algales et bactériennes.

**A- Polysaccharides animaux**

Les polysaccharides animaux appartiennent à la famille des glycosaminoglycanes et sont issus des protéoglycanes. Ces polymères sont soit impliqués dans la structure des tissus conjonctifs soit dans des mécanismes de communication cellulaires via leur propriétés fonctionnelles (héparine et héparane sulfate) **[23]**.

**B- Polysaccharides d'origine végétale**

Les parois des cellules végétales sont essentiellement composées de polysaccharides, expliquant la part majoritaire de ces molécules dans la biomasse. Les polysaccharides des végétaux sont divisés en deux groupes selon leur fonction en : les polysaccharides de structure, les polysaccharides de réserve tel que l'amidon qui constitue une source d'énergie pour la cellule **[24]**.

**C- Polysaccharides d'origine microbienne**

- **Polysaccharides fongiques :** Les polysaccharides produits par des champignons représentent un pourcentage majeur de la biomasse fongique (jusqu'à environ 75%). Ces biopolymères assurent un rôle de soutien ou forment une gaine protectrice autour du mycélium. Le principal représentant de ces polymères fongiques est la chitine **[25]**.
- **Polysaccharides bactériens :** Les bactéries synthétisent plusieurs types de polysaccharides qui peuvent être classés en trois grands groupes selon leur localisation dans la cellule : le premier groupe rassemble les polysaccharides du cytosol, ils servent de source de carbone et d'énergie à la cellule ; le second groupe concerne les constituants de la paroi tels que les acides téichoïques et les peptidoglycanes ; le troisième groupe qui réunit les polysaccharides élaborés par la cellule est secrétés dans le milieu **[25]**.

### I.3.2.3. Classification des polysaccharides selon leur fonction biologique

**A- Polysaccharides de réserve**

Les polysaccharides de réserve sont des ressources caloriques. Le plus connu d'entre eux est l'amidon (aussi appelé dans certains cas fécule), qui n'est synthétisé que par les plantes **[26]**.

**B- Polysaccharides de structure**

Les polysaccharides de structure constituent la paroi des cellules végétales, sont très stables et très rigides et ne sont pas assimilables par l'être humain. Ils jouent cependant un rôle important dans l'alimentation humaine : ce sont les fibres alimentaires, dont les plus connues sont la cellulose et la pectine **[26]**.

# I.4.Gomme Xanthane

## I.4.1. Définition

La gomme xanthane (XG) est un polysaccharide extracellulaire sécrété par *Xanthomonas campestris* (Pseudomonaceae) produite industriellement par fermentation à partir d'une source de carbone. La gomme xanthane est complètement soluble dans l'eau chaude ou froide en donnant un comportement pseudo plastique à la solution. Elle est utilisée dans plusieurs sphères de fabrication industrielle. La XG est reconnue pour sa très grande stabilité sous différentes conditions de pH et de températures. Ce polysaccharide est résistant à la dégradation enzymatique. Ses propriétés épaississantes et stabilisantes sont largement exploitées dans le domaine des émulsions **[27]**.

## I.4.2. Structure de la gomme xanthane

Le xanthane est un hétéropolysaccharide ayant une structure primaire constituée d'unités penta saccharidiques répétées **figure I.3**. La structure chimique de la chaîne principale est identique à celle de la cellulose (β-D-(1→4)-glucopyranose).

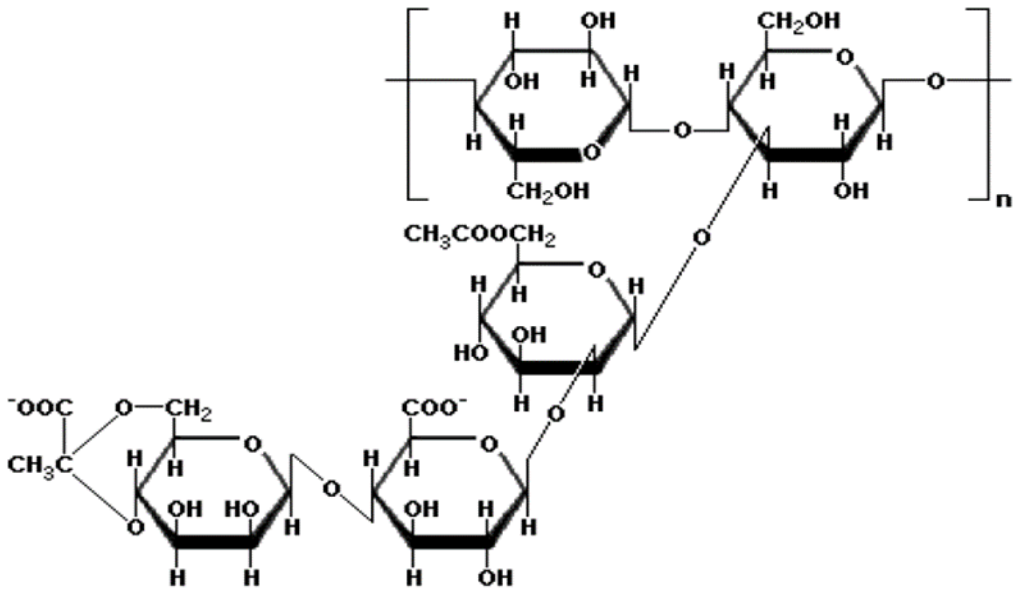


**Figure I.3**. Structure de la gomme xanthane **[28]**

Les chaînes latérales trisaccharidiques contiennent une unité d'acide α-D-glucuronique entre deux unités D-mannose liées à la position 3 de tous les résidus de glucose de la chaîne principale. Près de la moitié des résidus D-mannose terminal contient un résidu d'acide

pyruvique lié aux positions 4 et 6, avec une distribution inconnue. Le D-mannose lié à la chaîne principale contient un groupe acétyle en position 6. La présence d'acides acétique et pyruvique, produit un type de polysaccharide anionique. Environ 50% des résidus mannose terminaux sont liés au pyruvate et le résidu non-terminal porte habituellement un groupe acétyle en C-6 **[28]**. Trois fonctions apparaissent sur les cycles de la chaîne latérale du motif :

- ✓ Un groupement acétate sur le cycle le plus proche du squelette principal.
- ✓ Un acide glucuronique sur le cycle intermédiaire.
- ✓ Un acide pyruvique sur le cycle terminal.

### I.4.3. Mode de fabrication de xanthane [29]

La gomme xanthane est produite naturellement par une bactérie *Xanthomonas campestris*. Cette production est réalisée à l'échelle industrielle par fermentation **(figure I.4)**.

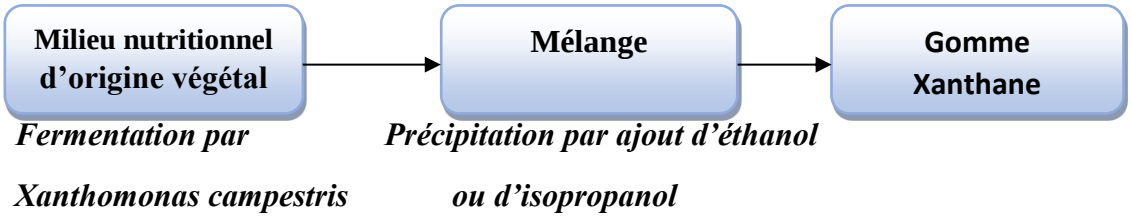



**Figure I.4**. Mode de fabrication de xanthane

L'obtention du xanthane suit un processus complexe en passant par plusieurs étapes. La première étape consiste à mettre en fermentation le milieu bactérien. À l'issue de cette fermentation un mout brut est récupéré, stérilisé quelque dizaine de minutes à 110°C, puis purifié par filtration et précipité dans l'isopropanol (les petites molécules restent dissoutes mais certains cellulaires doivent être adsorbés sur argiles).

Après séchage, le résidu est broyé de façon à obtenir une poudre. Ces différentes étapes et leur mise en œuvre conditionnent les propriétés finales du polymère : composition finale de la poudre, masse moléculaire de la macromolécule, composition chimique du motif, rhéologie.

### I.4.4. Propriétés de la gomme xanthane

- **Solubilité**

Le fort degré de substitution des chaines polymérique par les groupements latéraux hydrophiles ainsi que la présence de charges portées par les fonctions acides (pyruvate et carboxylate) dans la macromolécule de xanthane favorisent la dispersion et l'hydratation dans

l'eau froide. La dispersion en générale se fait à 20 minutes jusqu'à30 minutes, quant à l'hydratation, elle est complète après 24 heures à température ambiante **[30]**.

- **Compatibilité de la gomme xanthane**

Le xanthane présente une grande compatibilité avec plusieurs matières premières, il peut être utilisé avec pratiquement tous les conservateurs usuels employés dans l'industrie à l'exception des composés cationiques **[30]** :

- Le xanthane comme biopolymère anionique est compatible avec les molécules de même nature ou non ionique, cette compatibilité se réduit de plus en plus que l'espèce présente en solution est cationique.
- Les solutions de xanthane de 1% présentent un pH proche de la neutralité et présentent une grande stabilité dans une très large zone de pH entre 3 et 12, et ils sont peu sensibles à la dégradation en milieu acide.
- La présence d'ions univalent ou divalent en solution, notamment$Na^+$,$K^+$,$Ca^{2+}$ ou $Mg^{2+}$ fait augmenter la viscosité ainsi que la stabilité de la dispersion.
- La gomme xanthane présente une forte résistance à l'hydrolyse enzymatique y compris les galactomannases, les amylases cellulases, les pectinées et les protéases **[31]**.

### I.4.5. Domaine d'application de la gomme xanthane

La gomme xanthane est un biopolymère très utilisé dans différents domaines industriels, particulièrement dans le domaine agroalimentaire, pharmaceutique ou cosmétique.

#### I.4.5.1. Domaine agroalimentaire

Dans le domaine agroalimentaire, la gomme xanthane assure essentiellement un rôle stabilisant ou dispersant, où il est utilisé seul ou en mélange avec d'autres polymères tels que la gomme guar ou les dérivés cellulosiques. La gomme xanthane combinée avec de la méthylcellulose et de la carboxyméthylcellulose fonctionne bien dans les produits laitiers congelés et en combinaison avec de la carboxyméthylcellulose pour yaourts préparés par acidification directe **[32]**.

De par les propriétés rhéologiques que cette gomme possède, les assaisonnements peuvent être facilement pompés pendant l'opération de remplissage et facilite par la suite le flux de la bouteille pendant l'utilisation. La gomme xanthane est largement utilisée dans les sauces pour salade (seule ou en combinaison avec du propylène glycol, alginate ou pectines), en raison de

sa haute pseudo-plasticité qui permet aussi de garder l'assaisonnement sur la partie supérieure de la salade **[29]**.

Les excellentes propriétés de solutions à base de gomme de xanthane permettent son utilisation dans les sirops, garnitures, condiments et sauces. Les crèmes au beurre et revêtements de chocolat, contenant la gomme de xanthane, ont d'excellentes propriétés en raison de sa haute viscosité au repos. La gomme xanthane est un excellent épaississant pour ces produits en raison de sa grande stabilité dans les milieux acides et pour ses propriétés d'écoulement pseudo plastiques. La viscosité élevée au repos assure que la pénétration des condiments et des sauces dans les petits pains est minimisée, en fournissant au consommateur des aliments esthétiquement plus attrayant **[29]**.

#### I.4.5.2. Domaine pharmaceutique

La gomme xanthane est largement employée en pharmaceutique en tant qu'excipient entrant dans la formulation de différentes formes galéniques. Dans les formes orales, la gomme xanthane a été utilisée comme agent de suspension dans une suspension à libération prolongé **[33**] et dans les matrices à libération prolongée **[34]**. Dans les formes ophtalmiques le xanthane a permis de prolonger la libération de molécules actives, permettant ainsi d'améliorer leur efficacité thérapeutique **[35]**, en prolongeant le temps de rétention de ces formes sur la muqueuse cornéenne **[36]**.

La gomme xanthane peut être également utilisée dans les formes vaginales **[37]** ou topiques **[38]** afin d'améliorer le pouvoir de bioadhésion ou encore en tant qu'un agent cryoprotecteur dans les procédés de lyophilisation **[39]**.

## I.5. Substances pectiques

### I.5.1.Définition des pectines

Le mot « pectine » vient du mot grec « pectos », signifiant le « coagulât »**[40]**.Les pectines sont des macromolécules de natures glucidique, d'origine exclusivement végétale **[41]**.

Les pectines sont des polysaccharides complexes entrant dans la composition des parois cellulaires de la plupart des végétaux supérieurs. Elles sont majoritairement présentes dans la lamelle moyenne et la paroi primaire. Elles participent à la cohésion de la cellule et au maintien des parois par le biais d'interactions mécaniques et chimiques avec les autres constituants de la paroi **[42]**. La quantité de substances pectiques dans le végétal varie fortement en fonction de son origine botanique et de son histoire (mode de culture, période de croissance…) **[43]**.

Les pectines normales (E440i) et les pectines amidées (E 440ii) ont des applications variées dans les desserts, crèmes, plats cuisiniers, etc., et sont des substituts des graisses **[44]**.

### I.5.2. Origine de pectine

Les substances pectiques sont abondantes dans les fruits et les légumes et largement responsables de leur fermeté et forment la rétention de leur tissu **[45]**. Les marcs de pomme et les écorces d'agrumes représentent les principales sources industrielles des pectines **figure I.5**.



**Figure I.5**.Principales sources industrielles des pectines

La teneur en pectines d'un tissu végétal varie selon l'origine botanique et anatomique de ce végétal .Le **tableau I.5** donne la teneur en substances pectiques de quelques végétaux **[46]**.

**TableauI.5**. Teneur en substances pectiques de quelques végétaux

| Origine | Teneur en pectines (%de matière sèche) |
|---|---|
| Pomme | 4.5 |
| Carotte | 15 |
| Raifort | 3 |
| Tomate | 15-20 |
| Marc de Pomme | 25 |
| Capitules de tournesol | 15-20 |
| Albédo des agrumes | 30-35 |

### I.5.3.Structure de pectine

La pectine est un hydrocolloïde présent dans tous les végétaux, constituée d'une chaîne principale d'acides galacturoniques (GALA) liés en α (1→4) et dont la fonction acide est plus oumoins estérifiée par du méthanol **figure I.6**.La structure des pectines est influencée par des réactions enzymatiques et des modifications chimiques pendant la croissance, la maturation et le stockage des fruits et des légumes **[47]**.

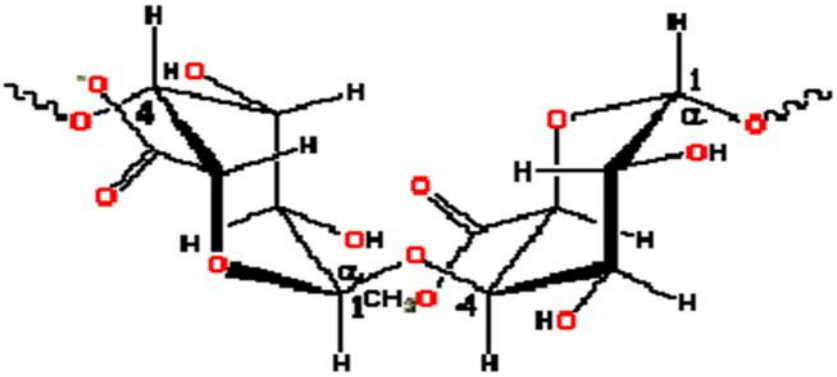


**Figure I.6** : Structure unitaire du squelette de la pectine

Généralement, les pectines sont constituées essentiellement de trois unités structurelles structurales distinctes comme le montre la **figure I.7 [48]** :

1- Les homogalacturonanes : sont composés principalement de chaînes d'acides D - galacturonique liés en α (1→4).
2- Les rhamnogalacturonanes (RG) :les RG représentent la liaison entre l'acide galacturonique et le rhamnose, ce dernier est suivi de chaînes d'arabinane et d'arabinogalactane.
3- Les xylogalacturonanes : sont des résidus de xyloses liés à l'acide galacturonique.

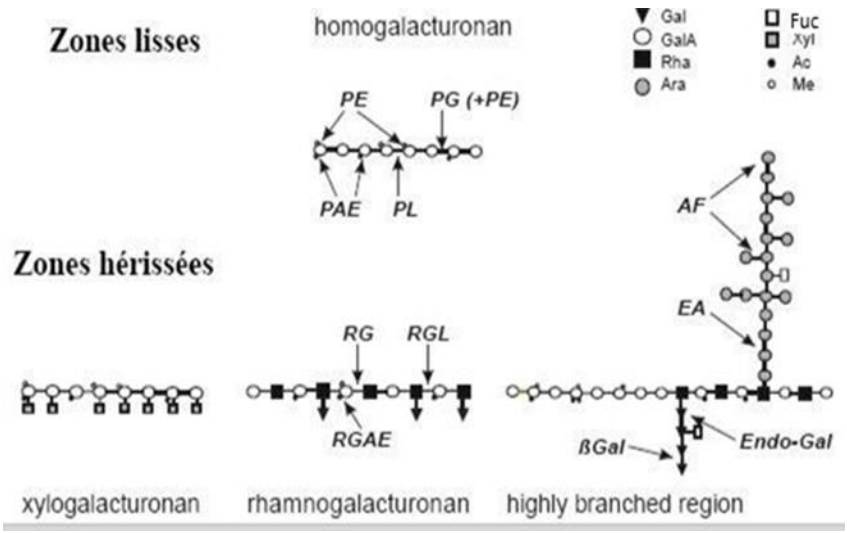



**Figure I.7 :** Structure des trois principales unités des pectines **[48]**

### I.5.4. Types de pectines

Les pectines sont divisées en référence à leur degré de méthylation en deux catégories :

❖ **Les pectines hautement méthylées** ou H.M (High Methoxyl), ce sont les pectines dont plus de 50% des groupements carboxyles sont estérifiés avec le méthanol.

❖ **Les pectines faiblement méthylées** ou L.M (Low Methoxyl), ce sont les pectines dont moins de 50% de groupements carboxyles sont estérifiés.

Chez certaines pectines LM, les fonctions acides sont neutralisées par de l'ammoniac ($NH_3$) et forment une fonction amide. Ce sont les pectines amidées ou pectines LMA (Low Methylated Amidated Pectins**) [49]**.

### I.5.5. Propriétés physico-chimiques des substances pectiques

✓ **Masse molaire**

La détermination de la masse moléculaire des pectines est à l'heure actuelle, un défi à cause des problèmes d'hétérogénéité **[49]**. Le calcule de masse molaire (M)en fonction de la viscosité intrinsèque [η]est donné d'après le modèle de Mark-Houwink-Sakurada (MHS) :

$$[\eta] = K \cdot M^a \quad \text{..... (I.1)}$$

k et a sont les constantes de MHS.

Il existe d'autres techniques pour la détermination de la masse moléculaire moyenne en poids et en nombre, utilisant des méthodes de chromatographie ou par le détecteur de diffusion de lumière **[50]**.La masse molaire moyenne de la pectine commerciale varie entre 50,000 et 150,000 Daltons **[51]**.

- ✓ **Solubilité**

La pectine est généralement soluble dans l'eau et insoluble dans la plupart des solvants organiques. La solubilité dans l'eau augmente avec la diminution du poids moléculaire et l'augmentation de degré de distribution des groupes carboxyliques. Elle est liée à l'état d'ionisation des groupements carboxyles mais aussi au degré de polymérisation et à leur distribution. En effet, l'ionisation des fonctions carboxyliques permet l'individualisation des chaines grâce aux répulsions électrostatiques entre les charges et donc la solubilisation du polymère. Les paramètres : pH, température, nature et concentration des pectines jouent un rôle important sur la solubilité **[52]**.

Les substances pectiques sont insolubles dans les solvants organiques tels que le formamide, le diméthylformamide (DMF) et le dimethylsulfoxide (DMSO). Elles peuvent être aisément précipitées en présence de solvants organiques (acétone, éthanol, isopropanol), de détergents quaternaires, des cations mono- et multivalents ($Na^+$, $Ca^{2+}$, $H^+$, $Al^{3+}$) et de polymères basiques (protéines et polyamides).

- ✓ **Viscosité des pectines en solution**

Comme pour toutes les macromolécules, la viscosité des substances pectique est une fonction de leur concentration et de leur masse moléculaire. Mais le caractère poly électrolytique des pectines leur confère un comportement particulier : la viscosité dépend aussi du degré de méthylation (DM), de la présence d'électrolyte et du pH **[53]**.

- ✓ **Propriétés gélifiantes**

Une bonne solubilisation de pectine est la première étape de gélification **[54]**.Outre un nombre non négligeable de facteurs intrinsèques (masse moléculaire, charge…) et extrinsèque (température, pH, force ionique, nature des ions dans le milieu……),les mécanismes de gélification sont principalement gouvernés par l'appartenance des pectines aux familles HM ou LM **[55]**.

Les substances pectiques peuvent former des gels qui sont des réseaux macromoléculaires tridimensionnels **[52]**. Les substances pectiques hautement méthylées (HM) et faiblement méthylées (LM) donnent des gels dans des conditions différentes.

- ✓ **Dégradation des pectines**

Les substances pectiques en solution peuvent subir deux principaux types de dégradation, des dépolymérisations et des d'estérifications, dont tous les deux peuvent être réalisées chimiquement ou enzymatiquement **[56]**.

- ✓ **Degré de méthylation**

  Le degré de méthylation (DM) est défini comme le pourcentage des groupements carboxyliques estérifiés avec du méthanol. Le DM peut atteindre des valeurs allant souvent jusqu'à 70-80% **[57]**.

- ✓ **Degré d'acétylation**

  Le degré d'acétylation (DA) est défini comme le pourcentage des résidus de Acide D-galacturonique (GALA) estérifiés par un groupe d'acétyle **[58]**.

- ✓ **Degré d'amidation**

  Ce paramètre concerne surtout la pectine faiblement méthylée amide (LMAP), le degré d'amidation et le pourcentage de groupements carboxyliques sous la forme d'amide. Un degré d'amidation autour de 17% permet à cette pectine de tolérer plus de variation de contenu de calcium et de posséder un degré plus élevé de thermo réversibilité **[59]**.

### I.5.6.Domaines d'application de pectine

#### I.5.6.1.Pectine dans la nutrition et l'industrie alimentaire

Les pectines forment un gel dans certaines conditions. Cette propriété leur donne un grand intérêt dans l'industrie alimentaire. Elles sont utilisées aussi comme ingrédient dans la préparation des confitures, des marmelades et des gelées. Des études récentes ont montré qu'elles peuvent être utilisées comme stabilisateur d'émulsion et notamment pour les acides des produits laitiers **[57]**.

#### I.5.6.2.Pectine dans l'industrie pharmaceutique

Les pectines sont potentiellement utiles en tant que produits pharmaceutiques puisqu'elles sont employées pour réduire le niveau du cholestérol dans le sang chez l'homme, et sont appliquées pour éliminer les métaux lourds toxiques.

La pectine entre dans la composition de spécialités pharmaceutiques pour ses propriétés antiacides (GELOPECTOSE®), hémostatiques (ARHEMAPECTINE ANTIHEMORRAGIQUE®) ou anti-diarrhéiques (TANALONE®), et peut aussi être utilisée comme adhésif dans la chirurgie dentaire **[60]**.

#### I.5.6.3.Industrie cosmétique

Les propriétés de la pectine sont utilisées dans une variété d'applications personnelle de soin, y compris des produits de peau et de cheveux. Les gels de pectine peuvent être employés pour préparer des pâtes sans utilisation des agents tensioactifs.

Dans l'industrie cosmétique, la pectine est utilisée dans des fabrications des vernies, des huiles et des crèmes. Elle est aussi utilisée comme un agent épaississant et stabilisant des gels pour les cheveux, les lotions et les shampooings **[60,61]**.

## I.6.Chitosane

### I.6.1. Définition et structure

Le chitosane est un polymère naturel de la famille des polysaccharides d'origine biologique **[62]**. Il s'agit d'un copolymère linéaire composé d'unités monomériques de D-glucosamine (ou 2-amino-2-désoxy-D-glucopyranose) et de N-acétyl-D-glucosamine (ou 2-acétamido-2-désoxy-D-glucopyranose) **figure I.8**.Cesunitésmonomères sont reliées entre elles par des liaisons glycosidiques β-(1→4) **[63]**. La chitine est la source la plus intéressante du chitosane, obtenus par N-désacétylation de chitine **figure I.9.**

Ces deux biopolymères (chitine, chitosane) se différencient par la proportion des unités acétylées présentes dans le copolymère, appelée aussi le degré d'acétylation (DA). Bien que le terme « chitosane » soit habituellement limité à tout chitine suffisamment désacétylée pour être soluble en milieu acide dilué, il n'existe pas des nomenclatures officielles proposant la limite précise entre les deux termes. En conséquence, chitosane est défini comme tout échantillon avec des degrés d'acétylation résiduels (DA)inférieur ou égale 30%**[64]**.

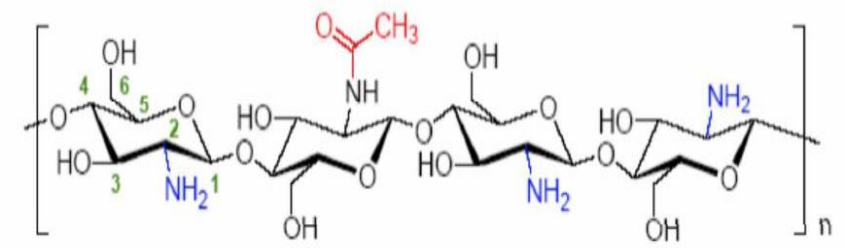


**Figure I.8.** Structure chimique du chitosane

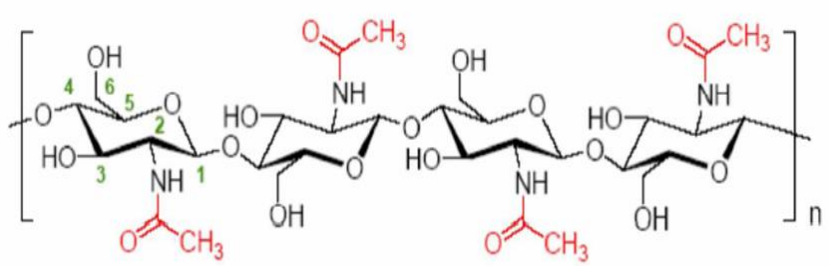


**Figure I.9.** Structure chimique de la chitine.

Le chitosane est caractérisé par trois types de groupements fonctionnels [**65]** :

- Les groupements amines sur le carbone C (2).
- Les groupements hydroxyles secondaires sur le carbone C(3).
- Les groupements hydroxyles primaires sur le carbone C (6).

### I.6.2. Source de chitosane

Le chitosane est obtenus à partir de la chitine(polyN-acétyl-D-glucosamine).La chitine est le composant structural primaire des exosquelettes des crustacés, et est également trouvée dans beaucoup d'autres espèces telles que des mollusques, des insectes et des mycètes. Le α-chitosane est la forme la plus généralement obtenus de la chitine crustacée issue des coquilles de crabe et de crevette.

Le chitosane en tant que tel est rare en nature, excepté dans certains mycètes dernières années, la production du chitosane des mycétes, par des méthodes de fermentation gagne également beaucoup d'intérêt **[66]**.

### I.6.3. Préparation du chitosane

Le chitosane est préparé à partir de la chitine brute dans une solution d'hydroxyde de sodium concentrée avec une température entre [110-115] °C pendant quelques heures, en atmosphère inerte et en présence d'un agent réducteur ($NaBH_4$). Donc, le chitosane obtenu, doit être séché puis redissous dans une solution d'acide organique afin de le purifier. La solution acidifiée est alors filtrée et séchée **[67]**. En effet, il est à noter que les trois étapes d'extraction de la chitine (déprotéinisation, déminéralisation et décoloration) et l'étape de désacétylation influencent la qualité du chitosane **[67]**.

### I.6.4. Propriétés du chitosane

- **Degré de désacétylation**

Le degré de désacétylation (DD) est l'une des propriétés les plus importantes de chitosane. Il influe sur les propriétés des chaines macromoléculaire des polymères et leur comportement en solution comme la solubilité du chitosane, la flexibilité des chaines macromoléculaires, la conformation du polymère et par conséquent la viscosité des solutions **[68]**.

- **Solubilité**

En général, la solubilité du chitosane dépend de la valeur de DD, de la force ionique, du pH, de la nature de l'acide utilisé et de la distribution des groupements acétyles le long de la chaine macromoléculaire. Il est soluble dans les acides dilués grâce à la protonation de ces fonctions

amines. Plus le milieu est acide, plus les groupements amines sont protonés, et cela favorise donc la solubilité du chitosane. Ce dernier est, en effet, insoluble dans l'eau et dans les solutions alcalines concentrées ou diluées. Il est également insoluble dans les solvants purs et les acides concentrés, en raison de l'impossibilité d'hydrater le matériau. L'acide le plus utilisé pour préparer une solution de chitosane est l'acide acétique dilué (0.1-1%)**[68]**.

- **Viscosité**

La viscosité de chitosane dépend du degré de désacétylation de ce polymère. Plus il est désacétylé, plus il y'a des groupements amines libres, le chitosane est donc plus soluble et par conséquence sa viscosité est plus importante. La viscosité dépend également : de la concentration du polymère (elle augmente avec la concentration), de la température (elle chute lorsque la température augmente), du poids moléculaire (la viscosité intrinsèque augmente en fonction du poids moléculaire) et enfin du pH (plus il est bas plus la viscosité est élevée).Ce paramètre est déterminé par viscosimétrie **[69]**.

- **Polyélectrolyte en milieu acide**

Le chitosane est l'un des rares polyélectrolytes naturels cationiques et il est une base faible présentant un pKa voisin de 6,3. Il se dissout en milieu acide par protonation des fonctions amines présentes sur la macromolécule. En dessous de ce pKa, les groupements amines sont protonés et font du chitosane un polyélectrolyte cationique, soluble dans l'eau acidifiée. Au-dessus du pKa, les groupements amines sont déprotonés et le chitosane est insoluble dans l'eau. Le pKa du chitosane dépend du degré de neutralisation des groupes $NH_3^+$et du DD. En général, la valeur du pKa augmente quand le DD diminue **[68]**.

- **Propriétés biologiques**

Le chitosane est biodégradable et biocompatible. Il ne présente aucun comportement antigénique, mais possède un caractère antithrombogénique et hémostatique. Il montre des propriétés cicatrisantes remarquables. En plus de ces propriétés inhibitrices sur la croissance de nombreux parasites et infections, il présente des propriétés immunologiques antitumorales, antibactériennes et antifongiques **[69]**.

- **Cicatrisant**

Le chitosane peut former des films perméables qui sont utiles dans la peau artificielle et dans d'autres produits où la flexibilité, la protection et la non allergénicité sont essentiels **[70]**.

- **Masse moléculaire**

La valeur de la masse moléculaire du chitosane dépend intimement du procédé de fabrication car celui-ci peut induire une dépolymérisation des chaines macromoléculaires et/ou une dégradation lors de sa production **[71]**.

Le **tableau I.6** donne d'autres propriétés du chitosane.

**TableauI.6**. Autres propriétés principales de chitosane **[72]**

| Propriétés | Description |
|---|---|
| Physico-chimiques | • Polyamine linéaire,hydrophile<br>• Structure semirégide,réactive<br>• Matériau brut non poreux |
| Polyélectrolytes | • Polymère cationique à forte densité de charges |
| Biologiques | • Matériau nonn toxique<br>• Substance biocompatible<br>• Biorésorbable biodégradable<br>• Activité antibactérienne et antifongique<br>• Agent hypocholestérolémiant<br>• Activité hémostatique<br>• Stimule la croissance cellulaire |
| Filmogénes :interactions avec d'autres substances | • Complexation/chélation.<br>• Propriétés decoagulation/floculation et d'adsorption.<br>• Propriétés de rétention d'eau<br>• Propriétés d'adhésion |

### I.6.5. Gélification du chitosane

Le phénomène de gélification d'un polymère est la conséquence de l'association intermoléculaire des chaines de polymères. L'hydrogel est un type particulier de gel constitué d'un réseau tridimensionnel de polymères hydrophiles dans lequel le solvant de gonflement est l'eau. Sa principale caractéristique et sa capacité de se gonfle renprésence d'eau et à se contracter lorsque celle-ci s'évapore. Suivant la nature des interactions mises en œuvre dans le réseau, on distingue les hydrogels « chimiques »et les hydrogels « physiques ».Le gel « chimiques » est dû à la formation des liaisons covalentes qui peuvent être obtenues par réticulation des polymères. Alors que dans le cas d'un gel « physique », les chaines sont liées par des liaisons ioniques, hydrogènes et/ou des interactions dipolaires **[73]**. Le chitosane a la capacité de former des hydrogels, il est très réactif grâce à ses nombreux groupements amine et hydroxyle.

La réaction de réticulation consistant à relier les chaines de chitosane entre elles afin de créer un réseau macromoléculaire tridimensionnel par exemple le tripolyphosphate (TPP) qui agit sur les charges positives du chitosane permet d'obtenir un gel physique. Toutefois, ce réticulant ne permet pas de former un gel de chitosane en milieu acide. Le TPP se protone en milieu acide et ne forme plus de liaison avec le chitosane. C'est pourquoi le plus souvent, les gels de chitosane sont obtenus par réticulation chimique, ce qui a pour effet de diminuer la sensibilité à l'hydrolyse des liaisons β-(1→4) des chaines macromoléculaires du chitosane, et aussi de prévenir sa dissolution en milieu acide.

Les réticulants chimiques les plus courants sont le glutaraldéhyde ($C_5H_8O_2$), des époxy comme l'épichlorhydrine ($C_3H_5ClO$), l'éthylène glycol éther diglycidylique ($C_8H_{14}O_4$) ou encore la génipine ($C_{11}O_{14}O_5$). Le glutaraldéhyde et l'épichlorhydrine restent les plus employés pour la réticulation des chitosanes.

La réaction de réticulation avec le glutaraldéhyde se fait entre les deux fonctions carbonyle glutaraldéhyde et les groupements amines du chitosane formant ainsi une base de Schiff (imine). L'inconvénient de ce type de réticulation est la diminution des groupements amines qui sont les principaux sites d'adsorption du chitosane **[73]**

### I.6.6. Principales applications du chitosane

Le chitosane possède de nombreuses propriétés physico-chimiques intéressantes qui ont permis d'entrevoir de nombreuses applications potentielles. Les premières applications ont été développées en pharmacologie, cosmétologie et surtout en médecine.…

#### I.6.6.1. Dans le domaine médical

Le chitosane a démontré son efficacité pour toute forme de pansements : peau artificielle, fil de structure…En chirurgie dentaire, le chitosane est utilisé dans les implants ou dans la cicatrisation des gencives. Kim et Coll ont montré l'application du chitosane et de ses dérivés dans les organes artificiels comme le fois, les nerfs, les os, la peau les cartilages, les vaisseaux sanguins…etc. **[74]**.

En outre, c'est un bon support pour le transport et le relargage lent des principes actifs médicamenteux pour des applications à la santé humaines et animales **[75, 76]**.

#### I.6.6.2.En cosmétique

Le chitosane forme à la surface de la peau un film protecteur, capable de fixer d'autres principes actifs pour la peau. Il est aussi utilisé comme filtre solaire et rentre dans la composition

de la pâte des dentifrices, crème de soins shampooing… De nombreux brevets ont été déposés dans ce domaine **[77]**.

### I.6.6.3. En agriculture

Le chitosane est capable de déclencher chez les plantes des mécanismes de défense contre les infections et les agressions parasitaires et ceci avec des doses extrêmement faibles, de l'ordre de quelques milligrammes par mètre cube d'eau. Ils peuvent être utilisés en solution, en poudre ou en enrobage de semences **[78]**.

Le **tableau I.7**résume les principales applications du chitosane.

**Tableau I.7 :**Principales applications du chitosane

| | |
|---|---|
| Domaine Médical | -structures chirurgicales.<br>-implants dentaires.<br>-Peaux artificiels. |
| Domaine cosmétique | -crème de traitement de l'acné.<br>- formulation de dentifrices.<br>-formulation de shampooing. |
| Domaine agriculture | -stimule la croissante des plantes<br>-libération de fertilisants et nutriments. |
| Traitement des eau | -diminution de la turbidité<br>-diminution des odeurs<br>-bactéricides. |
| Alimentaire | -agent de conservation.<br>-stabilisateur antimicrobien<br>-enrobage protecteur (fruits). |
| Biopharmaceutique | -anticoagulants<br>-libération contrôlées (maitrices). |

# CHAPITRE II

# BIOSORPTION

## II.1. Adsorption

### II.1.1.Définition d'adsorption

L'adsorption à l'interface soluté/solide est un phénomène de nature physique ou chimique par lequel des molécules présentes dans un effluent liquide ou gazeux, se fixent à la surface d'un solide. Ce phénomène dépend à la fois de cette interface et des propriétés physico-chimiques de l'adsorbat. Ce phénomène spontané provient de l'existence à la surface du solide de forces non composées, qui sont de nature physique ou chimique. Ces forces conduisent respectivement à deux types d'adsorption : la chimisorption et la physisorption **[79,80]**.La **figure II.1** représente un schéma simplifié du phénomène d'adsorption.

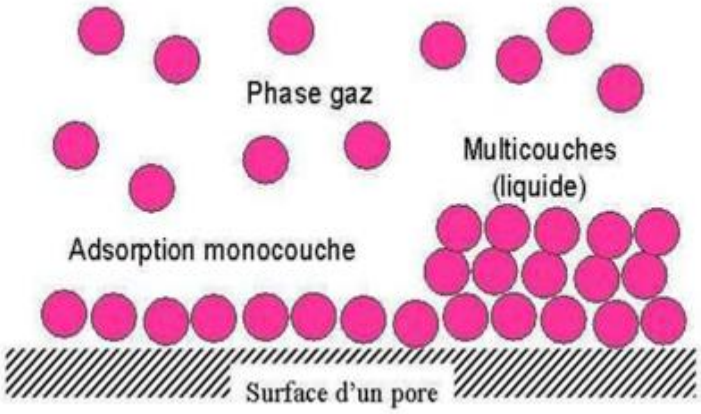



**Figure II.1 :**Schéma simplifié du phénomène d'adsorption

### II.1.2.Classification des phénomènes d'adsorption

On distingue deux types d'adsorption : la chimisorption et la physisorption.

#### II.1.2.1. Adsorption chimique (ou chimisorption)

Elle met en jeu une ou plusieurs liaisons chimiques covalentes ou ioniques entre l'adsorbat et l'adsorbant. La chimisorption est généralement irréversible, produisant une modification des molécules adsorbées. Ces dernières ne peuvent pas être accumulées sur plus d'une monocouche. Seules sont concernées par ce type d'adsorption, les molécules directement liées au solide **[81].** Ils existent des cas où des groupements réactifs greffés peuvent former des longues chaînes (cas des silices modifiées).

### II.1.2.2. Adsorption physique (ou physisorption)

Contrairement à la chimisorption, l'adsorption physique se produit à des températures basses. Les molécules s'adsorbent sur une ou plusieurs couches (multicouches) avec des chaleurs d'adsorption souvent inférieure à 20 kcal/mol **[79,81]**.

Les interactions entre les molécules du soluté (adsorbat) et la surface du solide (adsorbant) sont assurées par des forces électrostatiques de types dipôles- dipôles, liaison hydrogène ou force de Wan der Waals **[82,83]**. La physisorption est rapide, réversible et n'entraîne pas de modification des molécules adsorbées. La distinction entre les deux types d'adsorption n'est pas toujours facile. En effet, les énergies mises en jeu dans les physisorptions fortes rejoignent celles qui interviennent dans les chimisorptions faibles.

Les principales différences enregistrées entre la chimisorption et physisorption sont données dans le **tableau II.1**.

**Tableau II.1** : Différence entre l'adsorption physique et l'adsorption chimique

| **Propriétés** | **Adsorption physique** | **Adsorption chimique** |
|---|---|---|
| Energie d'adsorption | 5 à 10 Kcal/mol (faible) | 10 à 100 Kcal/mol (élevée) |
| Température | Basse | Elevée |
| Nature de liaison | Physique | Chimique |
| Energie d'activation | Non appréciable | Importante |
| Cinétique | Très rapide | Lente |
| Désorption | Plus ou moins parfaite | Difficile |
| Etat de surface | Formation de multicouches | Formation de monocouches |

### II.1.3. Description du mécanisme d'adsorption

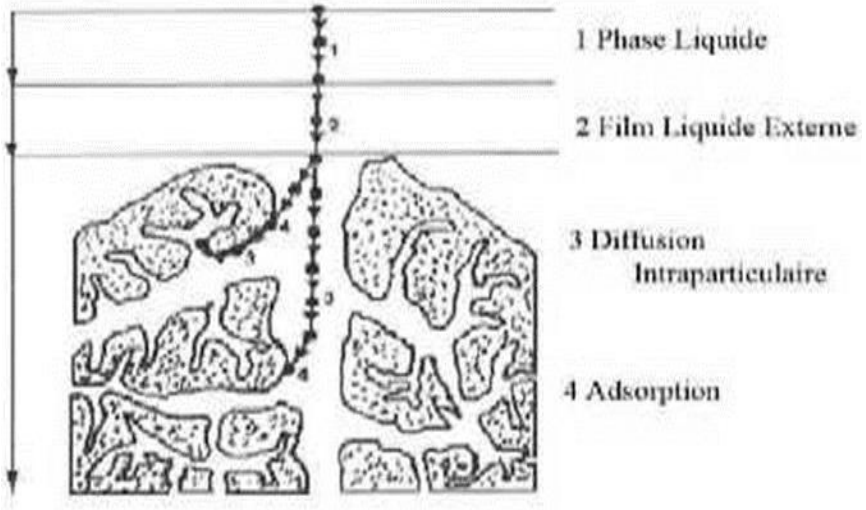
L'adsorption se produit principalement en quatre étapes. La **figure II.2** représente un matériau (adsorbant) avec les différents domaines dans lesquels peuvent se trouver les molécules organiques ou inorganiques qui sont susceptibles d'être en interaction avec le solide. Avant son adsorption, le soluté va passer par plusieurs étapes :

1)Diffusion de l'adsorbât de la phase liquide externe vers celle située au voisinage de la surface de l'adsorbant.

2)Diffusion extra granulaire de la matière (transfert du soluté à travers le film liquide vers la surface des grains).

3)Transfert intra granulaire de la matière (transfert de la matière dans la structure poreuse de la surface extérieure des graines vers les sites actifs).

4)Réaction d'adsorption au contact des sites actifs, une fois adsorbée, la molécule est considérée comme immobile.




**FigureII.2 :** Domaines d'existence d'un soluté lors de l'adsorption sur un matériau Microporeux **[84]**

### II.1.4. Facteurs influençant l'adsorption

#### II.1.4.1. Température

L'adsorption physique s'effectue à des basses températures (phénomène exothermique), alors que l'adsorption chimique demande des températures plus élevées (phénomène endothermique). Ce qui nécessite de fixer la température du processus dès le départ. En pratique, il n'y a pas de modification significative dans l'intervalle 5-20 °C **[85]**.

#### II.1.4.2.pH

Le pH est un facteur important dans toute étude d'adsorption du fait qu'il peut influencer à la fois la structure de l'adsorbant et de l'adsorbat ainsi que le mécanisme d'adsorption. Ce facteur dépend de l'origine des eaux à traiter du procédé de leurs traitements (coagulation, floculation, oxydation,). Donc, il est judicieux de connaitre l'efficacité de l'adsorption à différents pH **[85]**.

#### II.1.4.3.Surface spécifique

Plus la surface spécifique est grande, plus on aura une meilleure adsorption, ceci a été montré dans l'étude d'adsorption de la tyrosine sur charbon actif **[85]**.

### II.1.4.4.Masse de l'adsorbant

La capacité d'adsorption est d'autant plus grande que la masse de l'adsorbant dans la solution est importante. Du fait du coût des adsorbants, le choix d'un rapport liquide/solide optimal est recommandé **[85]**.

### II.1.4.5. Nature des groupements fonctionnels

Bien que les propriétés précédemment situées jouent un rôle primordial dans la capacité d'adsorption, ce sont les groupements fonctionnels présents à la surface de l'adsorbant qui influent principalement sur celle-ci **[85]**.

### II.1.4.6. Structure moléculaire de l'adsorbat

Plus la structure moléculaire des particules à fixer n'est grande, plus le remplissage des pores s'effectue rapidement et la saturation est atteinte avec des rendements faibles. Ce qui fait diminuer le nombre des sites libres pour les autres molécules **[85]**.

## II.2.Biosorption

### II.2.1. Définition de Biosorption

La biosorption correspond à l'utilisation des matériaux biologiques ayant un grand potentiel de fixation des polluants par adsorption. Elle est considérée comme alternative ou complémentaire aux méthodes conventionnelles, utilisées pour le traitement des effluents contenant des ions métalliques ou des colorants qui sont généralement coûteuses. En effet, la biosorption des métaux lourds, colorants ou autres composés organiques contenus dans des effluents aqueux est un procédé pas très ancien qui a montré une grande efficacité dans l'élimination de ces espèces métalliques ou organiques polluantes, utilisant des matériaux naturels comme adsorbants, tels qu'à titre d'exemple, les dérivés de déchets agricoles **[86]**.

Le terme général « Biosorption » a été utilisé pour décrire la propriété des matériaux d'origine naturelle, morts ou vivants, à retenir des ions métalliques lourds ainsi que des éléments radioactifs **[87]**.

Les principaux mécanismes impliqués dans le processus de biosorption sont regroupés dans la **figure II.3**.

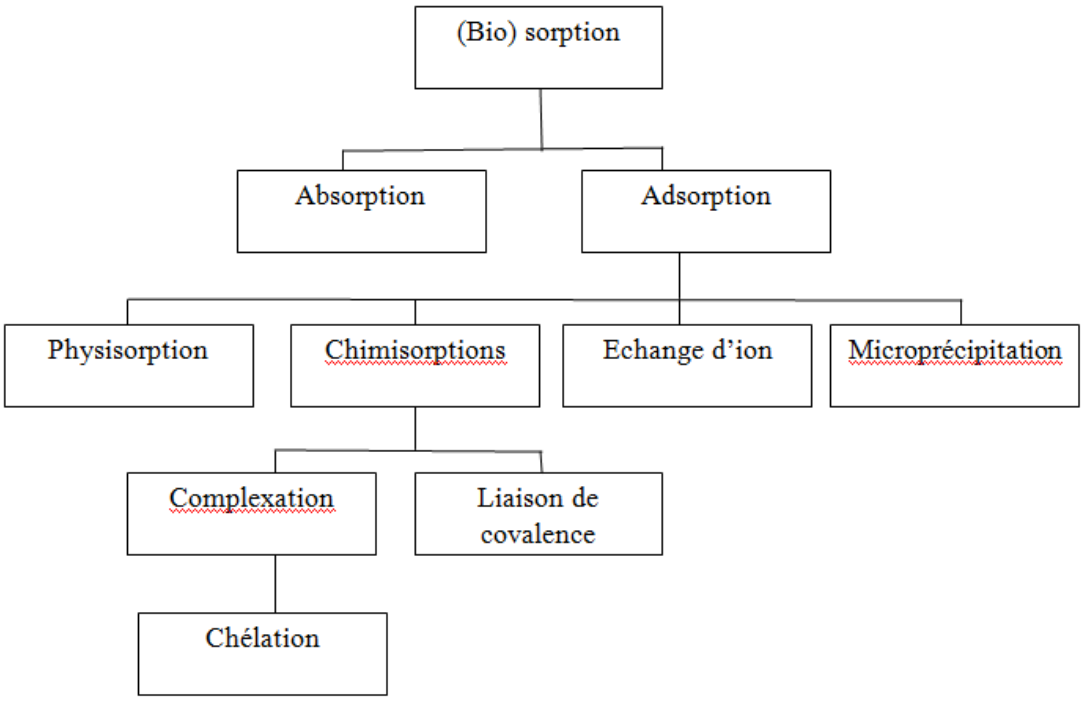



**Figure II.3.** Classification des mécanismes de biosorption

### II.2.2. Classification des biosorbants

Les biosorbants peuvent être regroupés en deux catégories : les biosorbants d'origine aquatique et ceux provenant du secteur agro-industriel.

#### II.2.2.1. Biosorbants d'origine aquatique

Les biosorbants d'origine aquatique désignent la biomasse, constituée à la fois d'espèces animales et végétales. Il est prouvé que la biomasse (vivante ou morte) possède de très bonnes capacités d'adsorption dues particulièrement à ses caractéristiques physico-chimiques **[88]**. Toutefois, il est préférable d'utiliser la biomasse morte, car sont alors éliminés les problèmes de toxicité, d'alimentation et de maintenance du milieu de culture **[88]**.

#### II.2.2.2. Biosorbants d'origineagro-industrielle

Cette catégorie de biosorbants regroupe les matériaux d'origine végétale, provenant du secteur agricole ou d'une filière industrielle. Ce sont des matériaux riches en tanin qui, grâce aux groupements polyhydroxy-polyphénol, leur confère une grande efficacité dans la rétention des polluants **[88]**.

### II.2.3. Propriétés des biosorbants

#### II.2.3.1. Propriétés physiques

**a) Structure poreuse**

La structure poreuse d'un adsorbant est caractérisée par la mesure de sa surface spécifique et de son volume poreux, exprimés en $m^2.g^{-1}$ et $cm^3.g^{-1}$, respectivement **[89]**. Le **tableau II.2** regroupe les principales caractéristiques physiques de quelques biosorbants natifs. Ces données montrent clairement le faible développement de la structure poreuse de ces matériaux, qui présente des valeurs de surface spécifique très inférieures à celles des charbons actifs commerciaux. La répartition du volume poreux total des charbons actifs et des biosorbants suggère que l'adsorption des polluants sur ces deux types de matériaux se fait par des mécanismes différents.

**b) Surface spécifique**

La surface spécifique d'un adsorbant, mesurée par adsorption en phase gazeuse, est calculée à partir de la capacité d'adsorption du matériau et représente la surface occupée par une molécule-sonde adsorbée dans une monocouche **[89]**.

**Tableau II.2.** Principales caractéristiques physiques de quelques biosorbants **[90]**

| Biosorbants | $S_{BET}$ ($m^2.g^{-1}$) | $V_t$ ($cm^3.g^{-1}$) | ρ ($kg/m^3$) |
|---|---|---|---|
| Ecorces de mandarine | 119,3 | 0,38 | / |
| Noyau d'olive | 0,187 | / | 1,25 |
| Déchet de maïs | 37 – 43 | 0,31 – 0,65 | / |
| Coquilles de graine | 614,01 | 0,4722 | / |

#### II.2.3.2. Propriétés chimiques des biosorbants

**a) Composition élémentaire**

La composition élémentaire d'un adsorbant influence fortement la chimie de sa surface. Les principaux éléments constituant quelques biosorbants sont récapitulés dans le **tableau II.3**. Ces données mettent en évidence la similarité de la composition élémentaire des charbons actifs commerciaux et des biosorbants. Cependant, les deux types de matériaux présentent des teneurs en carbone, en oxygène et en hydrogène très différentes, soit environ 2 fois plus de carbone pour les charbons actifs commerciaux, et des teneurs en oxygène et en hydrogène plus élevées pour les biosorbants. Ces

différences significatives au niveau de la teneur des éléments constitutifs peuvent être attribuées notamment à la carbonisation.

**Tableau II.3**. Composition élémentaire d'échantillons de biosorbants **[90]**

| Biosorbants | C (%) | H (%) | O (%) | N (%) |
|---|---|---|---|---|
| Déchet de maïs | 46.1± 0.04 | 6.1 ± 0.04 | / | 1.2 ± 0.02 |
| Fibre de noix coco | 45,94 | 5,79 | 42,84 | 0,30 |
| Coquilles de graine | 36,623 | 5,785 | 49,501 | / |
| Charbon actif | 97.05 | / | 1.48 | 1.625 |
| Charbon actif commercial | 88.17 | 0.80 | 3.34 | / |

**b) Point de charge nulle**

La charge de surface d'un adsorbant, résultant des équilibres acido-basiques, dépend du pH et de la force ionique de la solution avec laquelle le matériau est en contact. Cette charge peut être positive, négative ou nulle selon les conditions du milieu. Une caractéristique importante de la surface est le point de charge nulle $pH_{pznpc}$ (point of zero net proton charge). Il définit le pH pour lequel la charge de surface, liée aux échanges de protons, s'annule. Le $pH_{pznpc}$ caractérise alors l'acidité ou l'alcalinité de la surface. A pH inférieur au $pH_{pznpc,}$ la charge de surface est globalement positive (acidité) et à pH supérieur au $pH_{pznpc,}$ elle est négative (alcalinité).

### II.2.3.3. Propriétés des biosorbants en suspension aqueuse

**a) Fraction soluble**

La fraction soluble correspond aux substances libérées par un matériau en solution, lors du contact avec un solvant (généralement l'eau). Elle est un indicateur de la charge polluante des biosorbants et peut constituer une entrave à leur utilisation en traitement des eaux.

La fraction soluble des biosorbants est en générale majoritairement représentée par la concentration en carbone organique total (COT) **[91]**, ou par la teneur en carbone organique dissous.

**b) Gonflement**

Le gonflement est défini par l'accroissement (en %) du volume d'une masse connue de matériau, lors de son contact avec le solvant. Il est influencé à la fois par la composition chimique des biosorbants, la constante diélectrique, le pH et la force ionique du milieu **[92]**. Il est exprimé par le rapport du volume de biosorbant hydraté sur le volume de biosorbant sec. Le gonflement des biosorbants est de nature à entraver leur utilisation en lit fixe.

# CHAPITRE III

# RESULTATS ET DISCUSSION

## III.1. Introduction

Cette étude expérimentale, réalisée au sein du laboratoire biologie au niveau de la faculté des sciences (Université de Médéa), a été consacrée à l'élaboration des systèmes biosorbants à base de trois biopolymères (Chitosane, Pectine, Gomme Xanthane) seuls et sous forme de complexes.

Pour ce faire, notre étude expérimentale comporte deux grandes parties :

1) La première partie est consacrée à :
   - ❖ La caractérisation physico-chimique des biopolymères.
   - ❖ La préparation des systèmes biosorbants sous forme de :
     - ➢ Beads à base des biopolymères par la méthode de gélification de gouttes.
     - ➢ Membranes à base des biopolymères seuls et à base des complexes des biopolymères utilisés.
   - ❖ La caractérisation des systèmes biosorbants préparés.
2) La deuxième partie est dédiée à l'utilisation des membranes élaborées pour l'élimination d'un :
   - ❖ Principe actif qui est la nystatine (exemple d'un effluent pharmaceutique).
   - ❖ Métal lourd qui est les ions $Zn^{2+}$.

## III.2. Matériels et produits utilisés

### III.2.1. Matériels

L'ensemble du matériel utilisé pour la réalisation de cette étude est résumé dans le **tableau III.1**.

**TableauIII.1.** Appareillage utilisé

| Appareillage | Marque |
|---|---|
| Balance analytique | ALS 220-4N |
| Agitateur magnétique | AGIMATIC-N |
| Etuve | Memmert |
| Homogénéiseur | Ultraturrax IKA Instruments |
| Spectrophotomètre infrarouge | Bruker, Allemagne |
| Conductimètre | Mettler Toledo |
| pH-mètre | Methrom 827 pH Lab |
| Centrifugeuse | Hettich Zentrifugen. |

### III.2.2. Produits

Les différents produits utilisés au cours de cette étude sont regroupés dans le **tableau III.2**.

**Tableau III.2.** Produits utilisés dans la partie expérimentale

| Produit | Pureté (%) |
|---|---|
| Acidechlorhydrique | 36.5-38 |
| Acide citrique | 99.5-100.5 |
| Acide acétique | 99.9 |
| Hydroxyde de sodium | 99.9 |
| tripolyphosphate | 99.9 |
| Phosphate desodiumdi-sodique | 98.5-101 |
| Sulfate de zinc | 99.5 |
| Ethanol | 96 |
| Ammoniaque | 99.9 |
| Chlorure de calcium | 99.9 |
| Ethylen-diamin-tetra-acétique | 99.5 |

## III.3. Caractérisation physicochimique des biopolymères

### III.3.1. Aspect général

La **figure III.1**montre l'aspect macroscopique et une brève description des trois biopolymères utilisés.

|  Chitosane |  Xanthane |  Pectine |
|---|---|---|
| Le chitosane est une poudre moins fine de couleur jaune pâle, sans odeur caractéristique. | La gomme Xanthane est une poudre très fine de couleur beige clair sans odeur. | La pectine est une poudre fine de couleur marron sans odeur caractéristique. |

**Figure III.1 :** Aspect général des biopolymères utilisés

### III.3.2. Caractérisation par la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

#### A. Principe de FTIR

La technique spectroscopie FTIR est l'une des méthodes les plus utilisées pour l'analyse qualitative et quantitative des matières organiques. Le principe de la spectroscopie par transformée de Fourier est une façon moins intuitive d'obtenir la même information. Plutôt que d'illuminer l'échantillon avec un faisceau de lumière monochromatique, cette technique utilise un faisceau contenant une combinaison de multiples fréquences de la lumière, et on mesure l'absorption par l'échantillon. Le faisceau est ensuite modifié pour contenir une combinaison de fréquences différentes, on mesure de nouveau l'absorption par l'échantillon, et l'opération est répétée de nouveau, de multiples fois. Une fois toutes les données acquises, un ordinateur prend toutes ces données et calcule à rebours pour en déduire l'absorption à chaque longueur d'onde.

Les spectromètres infrarouges représentent, en fonction de la longueur d'onde, le rapport en chaque point des intensités transmises avec ou sans échantillon. Ce rapport, appelé transmittance T, peut être remplacé par son pourcentage (%T) ou par l'absorbance A = log (1/T). Enfin, dans le domaine du moyen infrarouge, il est très fréquent d'exprimer les longueurs d'ondes sous forme de nombre d'onde (en $cm^{-1}$) **[93]**.

La spectroscopie FTIR constitue donc, une méthode de choix pour déterminer les groupements chimiques caractéristiques du chitosane, de la gomme de xanthane et de la pectine. Chaque liaison présente des vibrations caractéristiques de fréquences bien déterminées.

**B. Protocole expérimentale**

Les biopolymères étudiés ont été analysés à l'aide d'un spectrophotomètre FTIR Bruker model Tensor II. Les spectres IR des trois biopolymères ont été enregistrés dans la gamme de nombres d'onde comprise entre 400 et 4000 $cm^{-1}$. L'appareil utilisé ne nécessite aucune préparation préalable des échantillons sauf que ces derniers doivent être bien séchés. L'échantillon à analyser est déposé directement sans aucun ajout sur une petite cuve puis analyser.

**C. Résultats et discussion**

Les spectres infrarouges du chitosane, pectine et xanthane sont présentés respectivement sur les **figures III.2, III.3 et III.4**.

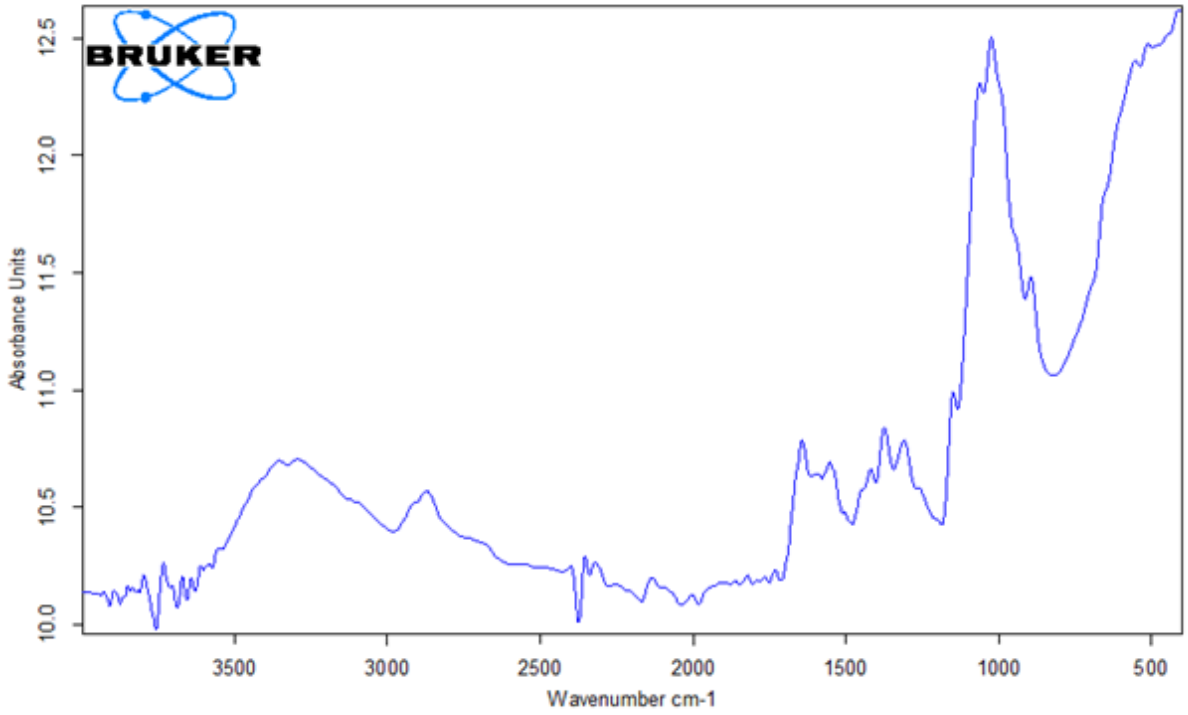



**Figure III.2:** Spectre FTIR du chitosane

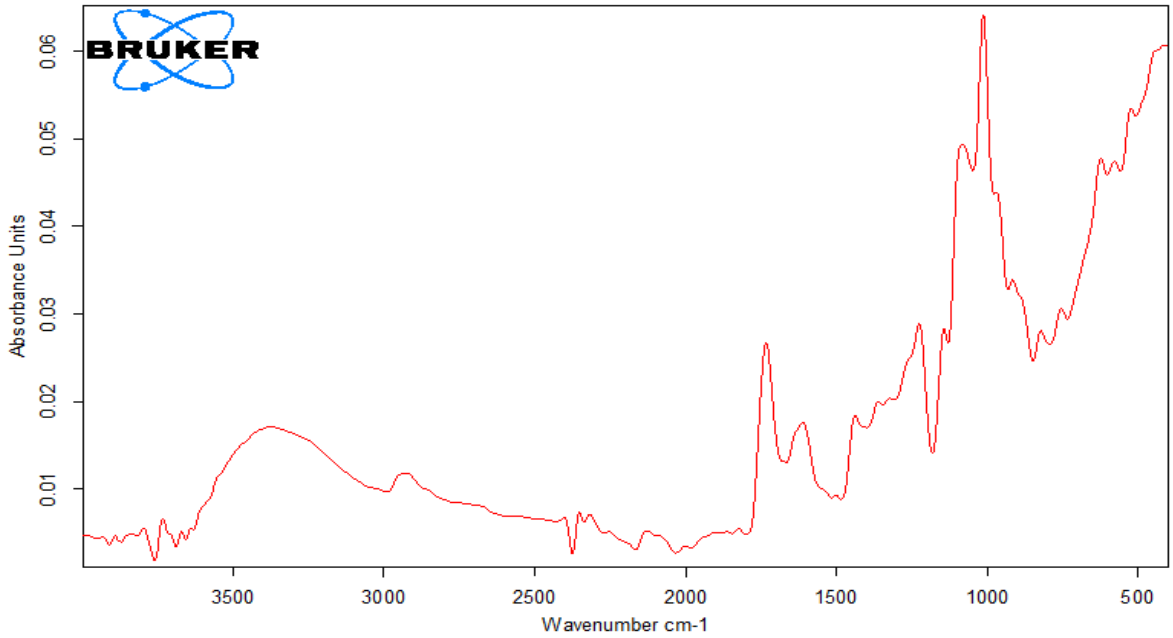



**Figure III.3 :** Spectre FTIR de la pectine

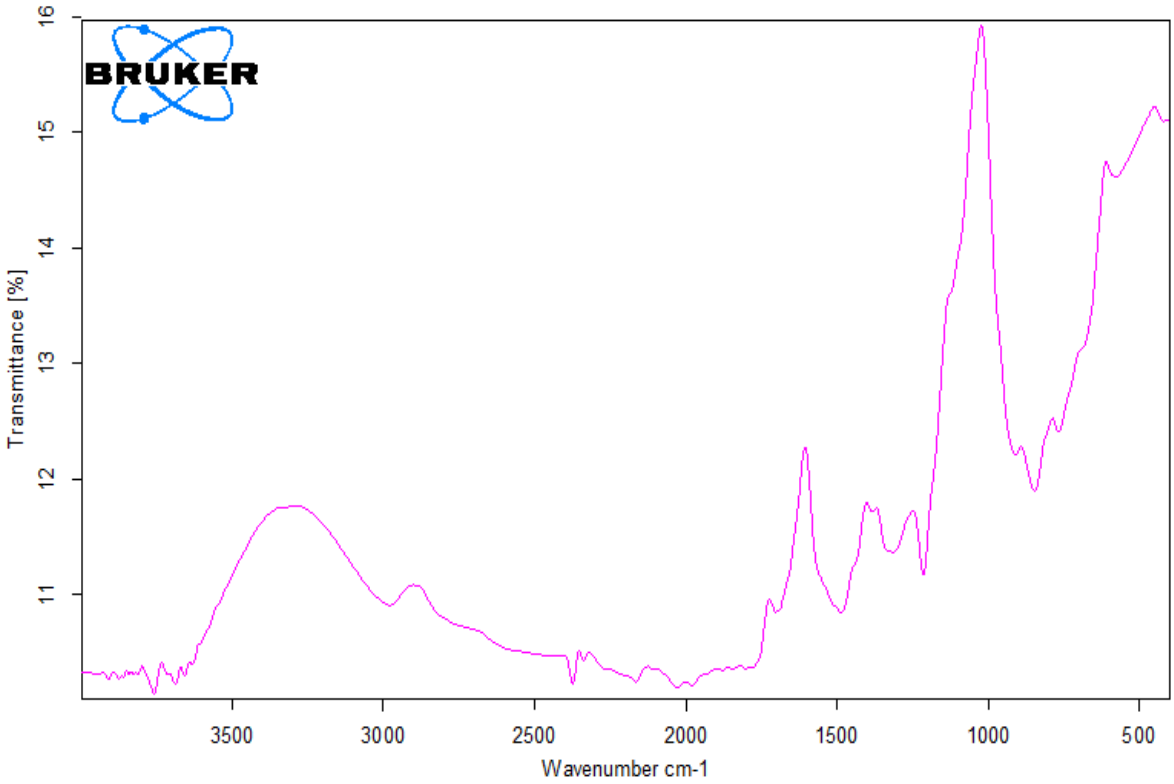



**Figure III.4 :** Spectre FTIR du Xanthane

Les principales bandes des spectres infrarouges du chitosane, de la pectine et de xanthane sont récapitulées dans le **tableau III.3**.

**Tableau III.3 :** Différentes bandes des spectres FTIR des biopolymères étudiés

| **Bandes d'absorption** | | | **Attribution** |
|---|---|---|---|
| **Chitosane** | **Pectine** | **Xanthane** | |
| 3292-3352 | 3414.12 | 3296 | Bande caractéristique des liaisons O-H des groupements alcool. |
| 2872 | 2800-2900 | 2894 | Bande caractéristique des liaisons C-H dans le groupement $CH_2$ ou $CH_3$. |
| // | 1750 | // | Bande caractéristique de groupement carbonyles esters $COOCH_3$. |
| 1647 | // | // | Bande caractéristique de groupement -NC=O (amide I). |
| 1554 | // | // | Bande caractéristique de groupement -NC=O (amide II). |
| // | 1600-1650 | // | Les ions carboxyles $COO^-$ |
| // | 1375 | 1600 | Bande caractéristique de groupement carboxylate $COO^-$ asymétrique. |
| 1400 | 1261,46 | 1400 | Bande caractéristique de groupement carboxylate $COO^-$ symétrique du xanthane et de la pectine ; et à l'élongation des liaisons C-O alcooliques et des groupements $–NH_2$ du chitosane. |
| 1000-800 | 1020.38-891.14 | 1000-800 | Bande caractéristique des groupements C-O-C des liaisons β-glucidique ; présence des composés cycliques. |
| 1261-1033.88 | // | // | Groupement amine primaire libre $-NH_2$ |

### III.3.3. Détermination du degré de désacétylation du chitosane (DD)

Le degré de désacétylation (DD) est le pourcentage de l'élimination des groupements acétyle. Ce paramètre influe sur toutes les propriétés physico-chimiques (masse moléculaire en poids, viscosité, solubilité, …) du chitosane et apparaît donc comme le plus important. La détermination du DD est l'une des analyses de routine lors de l'extraction de la chitine et la préparation du chitosane **[94]**.

Plusieurs méthodes sont proposées à savoir, le titrage potentiométrique (ou volumétrique), la spectrométrie infrarouge (IR), la spectrophotométrie ultraviolette-visible (UV-Vis), l'analyse élémentaire, et la résonance magnétique nucléaire (RMN).

Dans notre étude, nous avons choisis la spectrométrie infrarouge. En se basant sur le spectre IRTF du chitosane obtenu au paragraphe (III.3.2) et la méthode de BRUGNEROTTO, nous avons pu calculer le DD en utilisant l'équation suivante :

$$\mathbf{A}_{1320}/\mathbf{A}_{1420} = 0.3822+0.03133\ DA \quad \textbf{(III.1)}$$

avec :

$A_{1320}$ $cm^{-1}$ est l'absorbance au nombre d'onde 1320 $cm^{-1}$

$A_{1420}$ $cm^{-1}$ est l'absorbance au nombre d'onde 1420$cm^{-1}$

DA : degré d'acétylation. **DA=100-DD**.

La détermination du degré de désatylation nous a permis d'obtenir un DD= 73.9 %. Ceci montre que le chitosane utilisé possède plus de 70% des groupements amines sur ses chaines ce qui lui confère une bonne solubilité et donc une viscosité importante.

### III.3.4. Détermination du degré d'estérification de la pectine

#### A. Protocole expérimental

La détermination du degré d'estérification des pectines a été faite par la méthode titrimétrique. Un échantillon de pectine (0.20g) est mis dans un erlenmeyer (250ml), l'éthanol (1ml) et l'eau distillée (20ml) sont ajoutés successivement. Le mélange est maintenu sous agitation à 40°C pendant deux heures jusqu'à la dissolution complète. La solution obtenue est titrée par NaOH (0.1M) en présence de phénophtaléine. Le volume de NaOH ajouté est enregistré comme **le titre initial**. A la solution précédente, 10 ml de NaOH (0.1M) a été ajoutée, et le mélange est agité pendant 2 heures à la température ambiante, puis 10 ml d'HCl (0.1M) est ajouté puis agité jusqu'à la disparition de la couleur rose. La solution ainsi obtenue est titrée avec NaOH (0.1M) jusqu'au changement de la couleur (apparition d'une couleur rose). Ce volume de titrage est enregistré comme le **titre final**. Le degré d'estérification, exprimé en pourcentage, est calculé par la formule suivante **[95]** :

$$\mathrm{DE}\ (\%) = \frac{\text{titre final}}{\text{titre initial} + \text{titre final}} \times 100 \qquad (\mathbf{III.2})$$

**B. Résultats et discussion**

Le degré d'estérification de la pectine obtenu est de 79.38%. Cette valeur est supérieure à 50% ce qui nous a permis de conclure que la pectine utilisée est hautement méthylée. Il est à noter que le DE est un paramètre d'intérêt qui influence fortement la solubilité des pectines et leur tendance à former un gel.

## III.4. Préparation des systèmes biosorbants

Dans cette partie, nous nous sommes intéressés à la préparation des systèmes de biosorption sous deux formes : les beads et les membranes à base des trois biopolymères.

### III.4.1. Préparation des beads des biopolymères

**A. Principe**

Pour préparer les beads des biopolymères, nous avons choisis la méthode de gélification de gouttes. Le principe de cette méthode consiste à faire tomber goutte à goutte une solution de polymère à l'aide d'une seringue dans un bain de réticulant dans lequel s'effectue la gélification. La réaction rapide entre le polymère et le réticulant à la surface permet de figer la forme sphérique de la goutte au sein de la solution. Le volume interne de la goutte gélifie par la suite au fur et à mesure de la diffusion du réticulant au travers de la surface de la bead en formation.

**B. Préparation des beads de pectine**

Une solution aqueuse de pectine (2 % en poids) dans l'eau distillée a été égouttée, à l'aide d'une aiguille d'une seringue de diamètre de 0,5 mm dans une solution de $CaCl_2$ (1M) sous faible agitation. Les beads obtenus ont été laissés dans la solution de $CaCl_2$ pendant 45 min. Après la filtration, les beads ont été lavés plusieurs fois par l'eau distillée et enfin laissées sécher à l'air libre **[96]**.

**C. Préparation des beads de chitosane**

Les beads du chitosane ont été préparées de la même méthode utilisée pour la préparation des beads de pectine avec quelques modifications. Brièvement, une solution acide du chitosane (1%) dans l'acide acétique (1%) a été égouttée, à l'aide d'une aiguille d'une seringue de diamètre de 0,5 mm dans une solution de NaOH (5%) sous faible agitation. Les beads obtenus ont été laissées dans la solution de NaOH pendant 45 min. Après la filtration, les beads ont été lavées plusieurs fois par l'eau distillée et enfin laissées sécher à l'air libre **[96]**.

Dans cette partie, les beads du chitosane ont été aussi préparées en utilisant le TPP (10%) comme agent gélifiant **[97]**. Dans ce cas le milieu réactionnel est maintenu à une température de 5°C en utilisant un bain glacé comme le montre la **figure III.5**.




**Figure III.5** : Bain de glace utilisé pour la préparation des beads du chitosane dans TPP

**D. Préparation des beads de Xanthane**

Pour préparer les beads de xanthane, nous avons suivi le même protocole utilisé pour la préparation des beads de pectine en remplaçant la solution de pectine par une solution de xanthane à 1%.

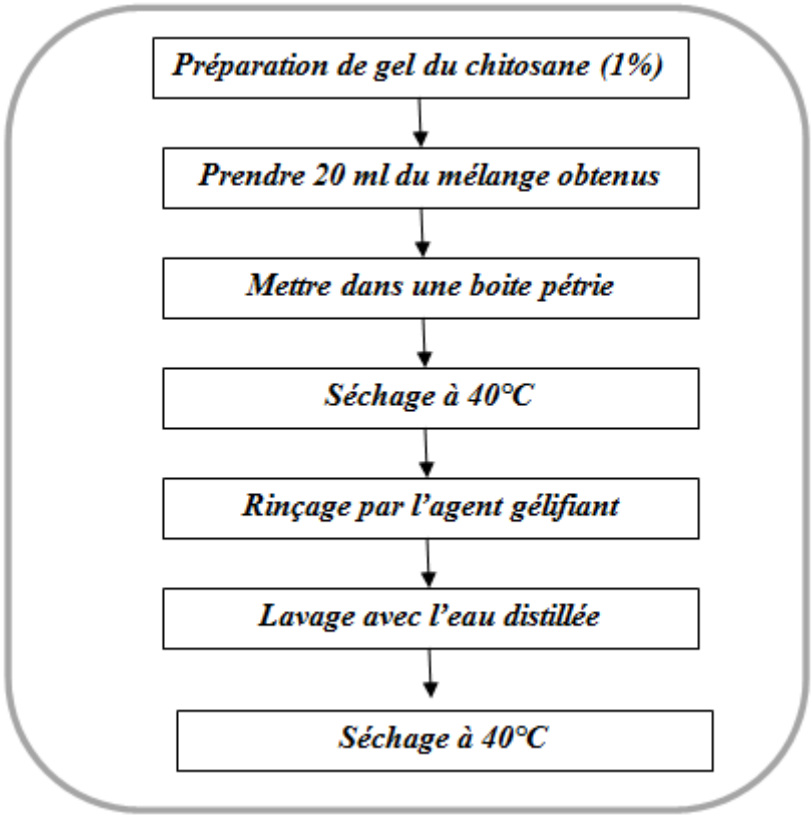
## III.4.2. Préparation des membranes

### III.4.2.1. Préparation des membranes des biopolymères seuls

**A. Préparation des membranes de chitosane seul**

La préparation des membranes a été également effectuée par la méthode de gélification **[30]**. Un volume de 20 ml d'une solution de chitosane à 1% dans l'acide acétique (1%) a été coulé dans une boite Pétri. Puis les échantillons ont été séchés dans l'étuve à 40°C jusqu'à l'obtention d'un film continu. Par la suite une solution de NaOH (1.5 M) a été ajoutée le long de la surface de la membrane. Après une heure de contact, les membranes obtenues sont démoulées, lavées à l'eau distillée plusieurs fois puis séchées à l'étuve à 40°C. Les membranes de chitosane obtenues sont notées M-Cs. **[98]**

Ce protocole est résumé par l'organigramme de la **figure III.6**.




**FigureIII.6** : Etapes de préparation des membranes de chitosane

**B. Préparation des membranes de Xanthane seul et de pectine seule**

Les membranes de xanthane et celles de pectine ont été préparées en utilisant le même principe de la préparation des membranes de chitosane. 20 ml d'une solution à 1 % de xanthane (2% de pectine) est coulée dans une boîte de Pétri et séchée dans une étuve à une température de 40°C. Après la formation des membranes, une solution de $CaCl_2$ (1M) est ajoutée le long de la surface de la membrane et laissée agir 1 h. Enfin, les membranes obtenues sont démoulées, lavées à l'eau distillée plusieurs fois puis séchées à 40°C.Les membranes de pectine sont notés M-Pec et celles de xanthane sont notées M-Xn. **[30]**

### III.4.2.2. Préparation des membranes complexes

Dans cette partie, nous nous sommes inspirés des travaux de MOKRANI Nadir **[99]** pour préparer des membranes à base des mélanges des biopolymères.

Pour ce faire, nous avons préparé d'abord :

- Une solution de chitosane à 1% dans l'acide acétique (1%) ;
- Une solution de pectine à 2% dans l'eau distillée ;
- Une solution de xanthane à 1% dans l'eau distillée ;

Par la suite, la solution de chitosane est mise dans un bêcher et homogénéisée à 3000tr/min en utilisant un homogénéiseur type IKA (voir **figure III.7)**.Après 1 mn, la solution de pectine ou celle du xanthane est ajoutée progressivement et la vitesse d'homogénéisation est augmentée à 7000 tr/min pendant 5 min. Les mélanges obtenus sont coulés dans des boites de Pétri et séchés à 40°C dans une étuve jusqu'à la formation d'un film continu. Après la formation des membranes, une solution de $CaCl_2$(1.5 M) est ajoutée le long de la surface des membranes et laissée agir pendant 1 h. L'excès de $CaCl_2$ est ensuite éliminé par lavage à l'eau distillée. Par la suite, une solution de NaOH (1.5M) est ajoutée le long de la surface des membranes et laissée agir pendant 1 h. Enfin, les membranes obtenues sont démoulées, lavées à l'eau distillée plusieurs fois puis séchées à 40°C.

Les membranes complexes pectine/chitosane sont notées Pec/Cs et celles de xanthane/chitosane sont notées Xn/Cs.

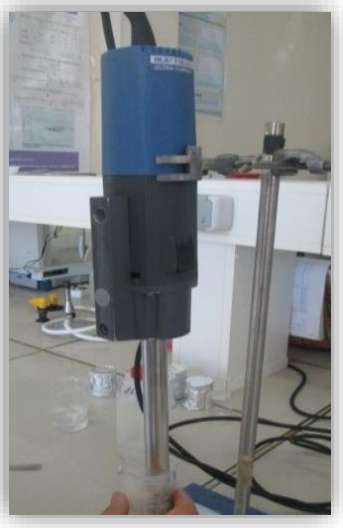


**Figure III.7** : Homogénéiseur utilisé

Les proportions volumiques des mélanges des bioplymères sont données dans **tableau III.4**.

**TableauIII.4 :** Compositions des mélanges de biopolymères préparés

| Mélange | Volume (ml) | | |
|---|---|---|---|
| | **Pec (2%)** | **Cs (1%)** | **Xn (1%)** |
| Pec/Cs | 16 | 4 | / |
| | 10 | 10 | / |
| | 4 | 16 | / |
| Xn/Cs | / | 16 | 4 |
| | / | 10 | 10 |
| | / | 4 | 16 |

## III.5. Caractérisation des systèmes biosorbants

### III.5.1. Aspect général

#### A. Beads de chitosane

Les Beads du chitosane obtenus, que se soit en utilisant le TPP ou NaOH comme gélifiant (**FigureIII.8.A,B**),sont de couleur blanche et sont sous forme sphérique ayant quelques micromètres de diamètre. A l'état humide (hydrogel), les beads du chitosane sont apparues très fragiles au toucher. Après séchage, leur taille a diminué suite à l'évaporation de l'eau (**Figure III.8.C, D**).

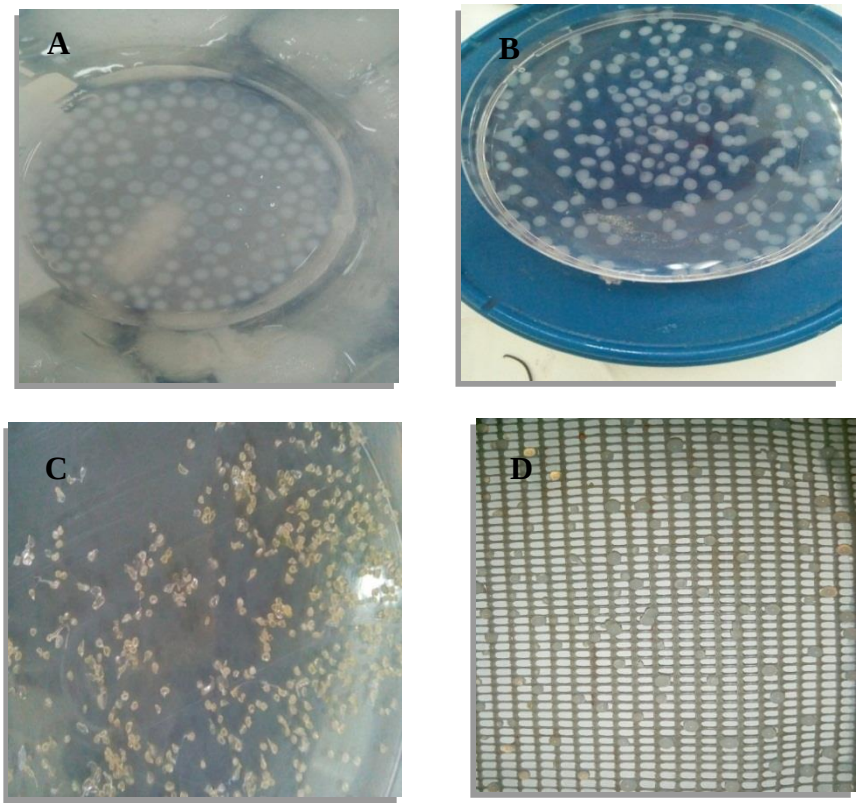



**Figure III.8** : Beads du chitosane après gélification par :

NaOH : **B** avant séchage, **C**: après séchage

TPP : **A** avant séchage, **D**: après séchage

**B. Beads de Xanthane et de pectine**

Les beads de Xanthane préparées (**Figure III.9. A**) ont une couleur blanche et elles n'ont pas gardé la forme sphérique des gouttes, elles sont aplaties.

Les beads de pectine (**Figure III.9. B**) obtenues sont aussi sous forme aplatis et allongées avec une couleur jaune pâle.

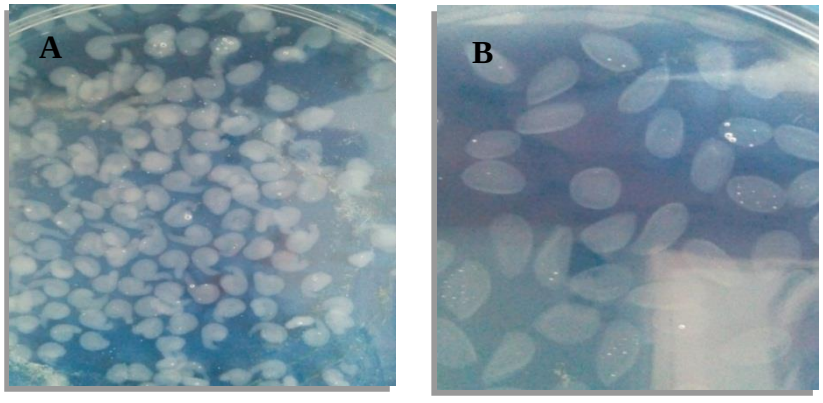



**Figure III.9:** Aspect des beads de Xanthane**(A)** et de pectine **(B).**

**Remarque**

Il faut signaler ici que le procédé envisagé pour la préparation des beads de xanthane et de pectine n'a pas permis d'obtenir des beads de bonne forme sphérique comme les beads de chitosane. Une fois les gouttes des biopolymères (xanthane ou pectine) sont en contact avec la solution de ($CaCl_2$) elles sont aplaties et devenues sous forme de disques. De plus, après séchage toutes les beads préparées (celles du chitosane, pectine et xanthane) sont déformées complètement et devenus très petites. À cette raison, ces systèmes beads ne seront pas utilisés dans la suite de ce travail.

**C. Membranes**

Toutes les membranes obtenues sont sous forme d'un film continu très fins (quelques micromètres d'épaisseur). Ce sont des films polymériques continus caractérisés par des surfaces lisses plus ou moins vrillées.

La membrane de chitosane est transparente, alors que celle de xanthane est apparue opaque avec une couleur blanche et la membrane de pectine est de couleur jaune pâle comme le montre la **figure III.10**.

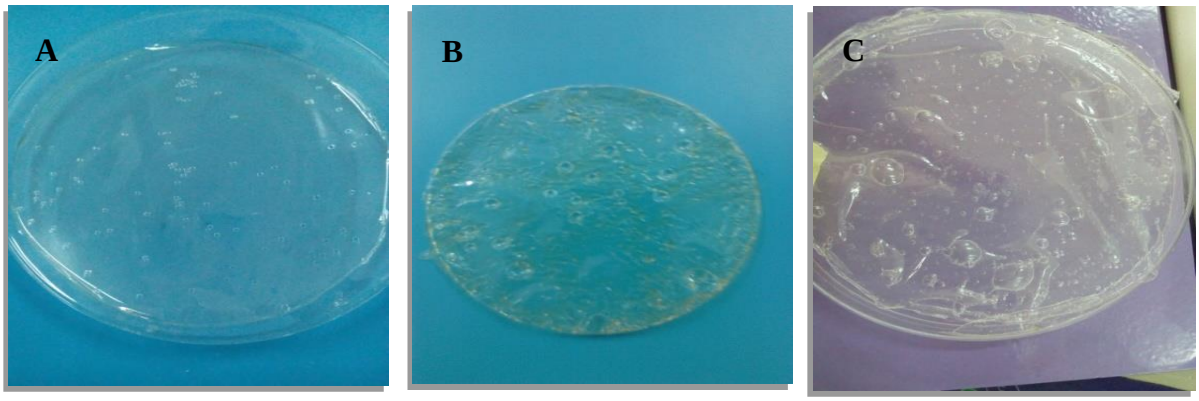



**Figure III.10**: Membranes de chitosane**(A),** de pectine **(B)** et de xanthane **(C)**

Concernant les membranes préparées par les mélanges des biopolymères sont aussi des films très fins homogènes et lisses. Les membranes des complexes Pec/Cs (**Figure III.11 A, B,C**) ont une couleur allant du jaune très pale au beige avec une prédominance de la couleur du biopolymère le plus abondant. Les membranes des complexes Xn/Cs (**Figure III.11 D, E, F**) prennent aussi la couleur du polymère le plus abondant, la couleur blanchâtre est accentuée avec l'augmentation du pourcentage du xanthane dans les membranes.

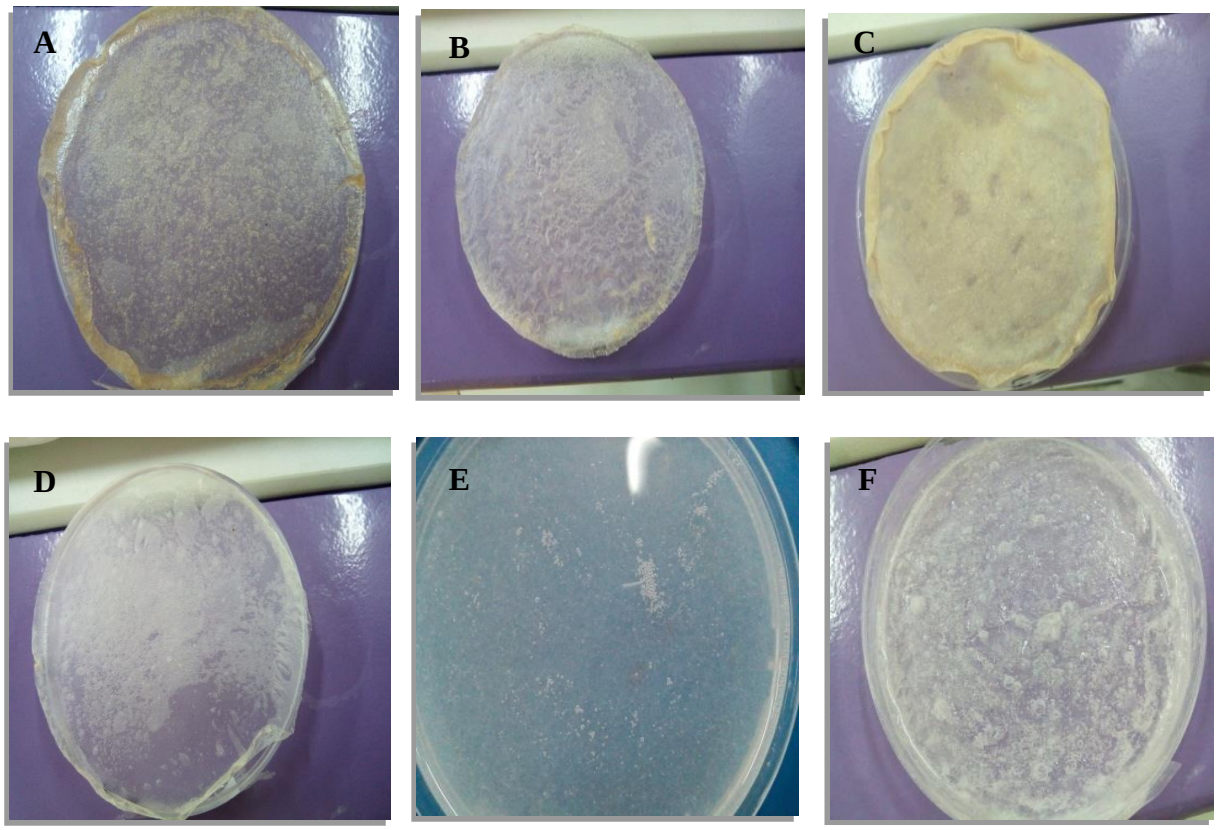



**Figure III.11 :** Membranes des complexes : Pec/Cs (**A** : 10/10, **B** : 4/16, **C** : 16/4)
Xn/Cs (**D** : 10/10, **E** : 4/16, **F** : 16/4)

### III.5.2. Conductivité et pH des solutions des mélanges des biopolymères

#### A. Mode opératoire

Les mesures conductimétriques et pH-métrique ont été effectués pour chaque mélange et pour les solutions des biopolymères purs à température ambiante, en utilisant un conductimètre numérique de type Mettler Toledo et un pH-mètre numérique de type Methrom 827 pH Lab respectivement.

#### B. Résultats et discussions

Les résultats obtenus sont regroupés dans le **tableau III.5**.

**Tableau III.5 :**pH et conductivité des mélanges des biopolymères

| Solutions | pH | Conductivité (µs/cm) |
|---|---|---|
| Chitosane 1% | 3.70 | 17.43 |
| Xanthane 1% | 7.39 | 20.9 |
| Pectine 2% | 4.02 | 3.94 |
| Pec/Cs (16/4) | 3.82 | 0.30 |
| Pec/Cs (10/10) | 3.51 | 0.13 |
| Xn/Cs (16/4) | 5.22 | 0.51 |
| Xn/Cs (10/10) | 4.79 | 0.14 |
| Xn/Cs (4/16) | 3.68 | 0.82 |

Nous remarquons que la solution de chitosane et celle de pectine ont un caractère acide, tandis que celle de xanthane est neutre. Les valeurs de pH des mélanges réactionnels restent toujours entre les valeurs de pH des solutions polymériques constituants les mélanges. Plus le pourcentage de chitosane augmente, plus le pH du mélange se rapproche de celui du chitosane. L'acidité des mélanges est avantageuse pour la formation du complexe. Le xanthane ou la pectine se combine au chitosane par la formation d'une liaison entre les groupements $-COO^-$ du xanthane ou de la pectine et les groupements $-NH_3^+$ du chitosane.

Concernant la conductivité d'une solution, elle est liée à la présence des ions dans la solution et aussi à leurs mobilités. Les résultats obtenus montrent que la solution de pectine est la moins conductrice avec une conductivité de 3.94 µs/cm. Alors que celles de xanthane et de chitosane sont élevées : 20.9 et 17.43 µs/cm respectivement.

La diminution de la conductivité des mélanges, par comparaison avec celles des polymères purs, indique bien l'implication des différents groupements ($-COO^-$ et $NH_3^+$) dans la formation des complexes polyélectrolytes.

## III.5.3. Test de gonflement

Le test de gonflement des différentes membranes élaborées a été réalisé dans trois solutions tampons de différents pH : 3, 6.8 et 8.

### A. Préparation des solutions tampons

Pour la préparation des solutions tampons(phosphate-citrate) aux différents pH, deux solutions principales ont été préparées :

→ Solution **A** : Solution de phosphate de sodium disodique ($Na_2HPO_4$, 2 $H_2O$) 0.50 M.

→ Solution **B** : Solution d'acide citrique ($C_6H_8O_7$, $H_2O$) 0.50 M.

Pour préparer 200 ml de solution tampon au pH désiré, des volumes précis **tableau III.6**des solutions **A** et **B** sont mis dans une fiole de 200 ml et le volume est ajusté au trait de jauge avec l'eau distillée.

**Tableau III.6 :** Solutions tampons **[100]**

| pH | Volume de la solution A (ml) | Volume de la solution B (ml) |
|---|---|---|
| 3 | 16.44 | 31.78 |
| 6.8 | 61.80 | 9.1 |
| 8 | 77.8 | 1.1 |

### B. Mode opératoire [100]

Une masse de 0.005 g de membrane (coupée en petit carrée) a été immergée dans un volume de 5 ml de solution tampon (pH = 3, 6.8 et 8) à la température ambiante. Par la suite, la masse de la membrane est pesée à nouveau à des intervalles de temps régulier de 5 min jusqu'au poids constant. Les membranes sont gardées pour le test de dégradation.

Le taux de gonflement est calculé par la formule suivante :

$$TG= (m_f-m_i)/m_i\times 100 \qquad \textbf{(III.3)}$$

Avec :

$m_i$ : masse initiale de la membrane avant immersion

$m_f$ : masse finale de la membrane après immersion

### C. Résultats et discussion

- **Membranes de biopolymères seuls**

  Les résultats du taux de gonflement des membranes de biopolymères seuls sont présentés dans la **figure III.12**.

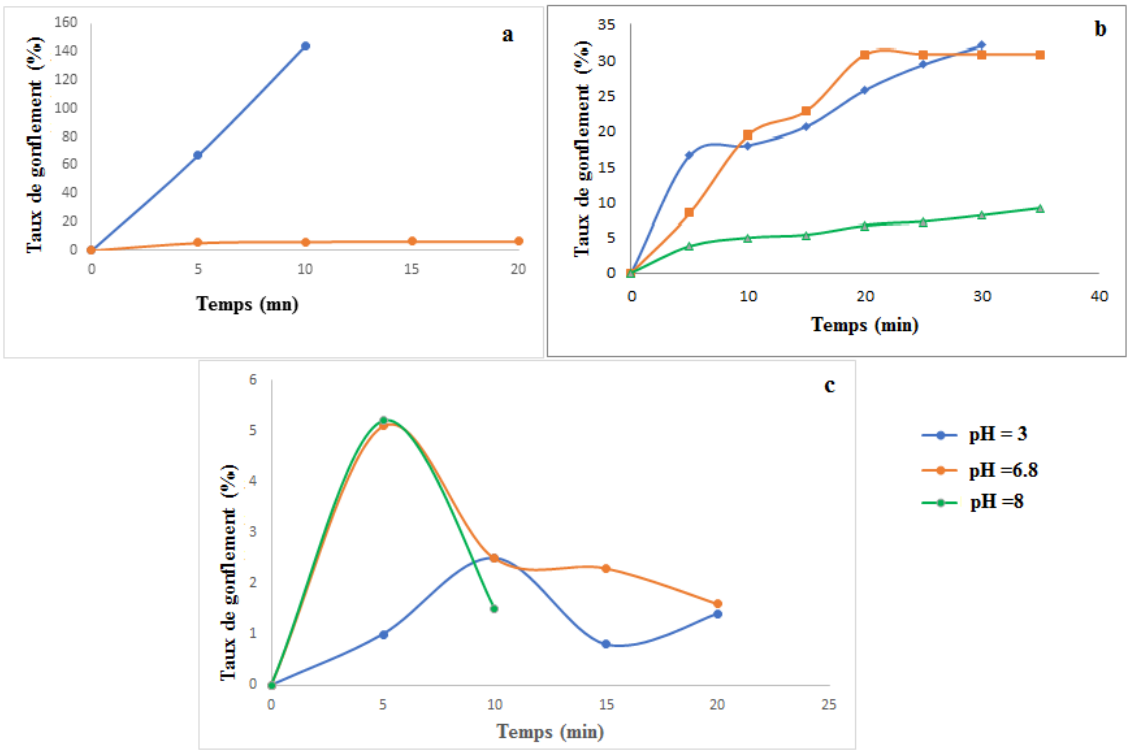



**Figure III.12:** Test de gonflement des membranes de biopolymères seuls **(a)** chitosane, **(b)** xanthane et **(c)** pectine

Le taux du gonflement des membranes des biopolymères est influencé par le pH du milieu environnant. Les résultats trouvés nous ont permis de tirer les points suivants :

- La membrane de chitosane se gonfle fortement dans le milieu acide avec un taux maximum de l'ordre de 143.8% obtenu après 10min d'immersion. Alors qu'en milieu neutre (pH= 6.8) le taux de gonflement enregistré est très faible (6.2%) après 20 min d'immersion. La M-Cs est complètement dégradée dès les premières minutes dans le milieu basique.
- Quant aux membranes de pectine, le meilleur taux de gonflement est enregistré dans les milieux neutre et basique (5.2%), dès les 5 premières minutes, comparé au milieu acide où le TG ne dépasse passe pas 2.5% après 10 min d'immersion.
- Concernant les membranes de xanthane, les meilleurs TG obtenus après 30 min d'immersion sont enregistrées dans les milieux acide (32%) et neutre (30.8%). Après 30 min d'immersion le TG obtenu dans le milieu basique est de 8.1%.

- **Membranes de mélanges de biopolymères**
  - ✓ **Cas du complexe Xn/Cs**

Les résultats obtenus sont présentés dans la **figure III.13**. L'analyse des résultats a permis de tirer les conclusions suivantes :

- L'alcalinité du milieu a une influence sur la capacité de gonflement de la membrane composite Xn/Cs : 16/4. Cette dernière montre une meilleure capacité de gonflement après 30 min de l'ordre de 28 %.
- Pour les membranes de Xn/Cs : 10/10 et 4/16, les meilleures capacités de gonflement sont enregistrées dans le milieu acide après 20 min d'immersion avec un maximum de 86.7% pour la membrane 4/16 (**Figure III.13.c**) et 41.6% après 35 min d'immersion pour la membrane 10/10 (**figure III.13.b**).

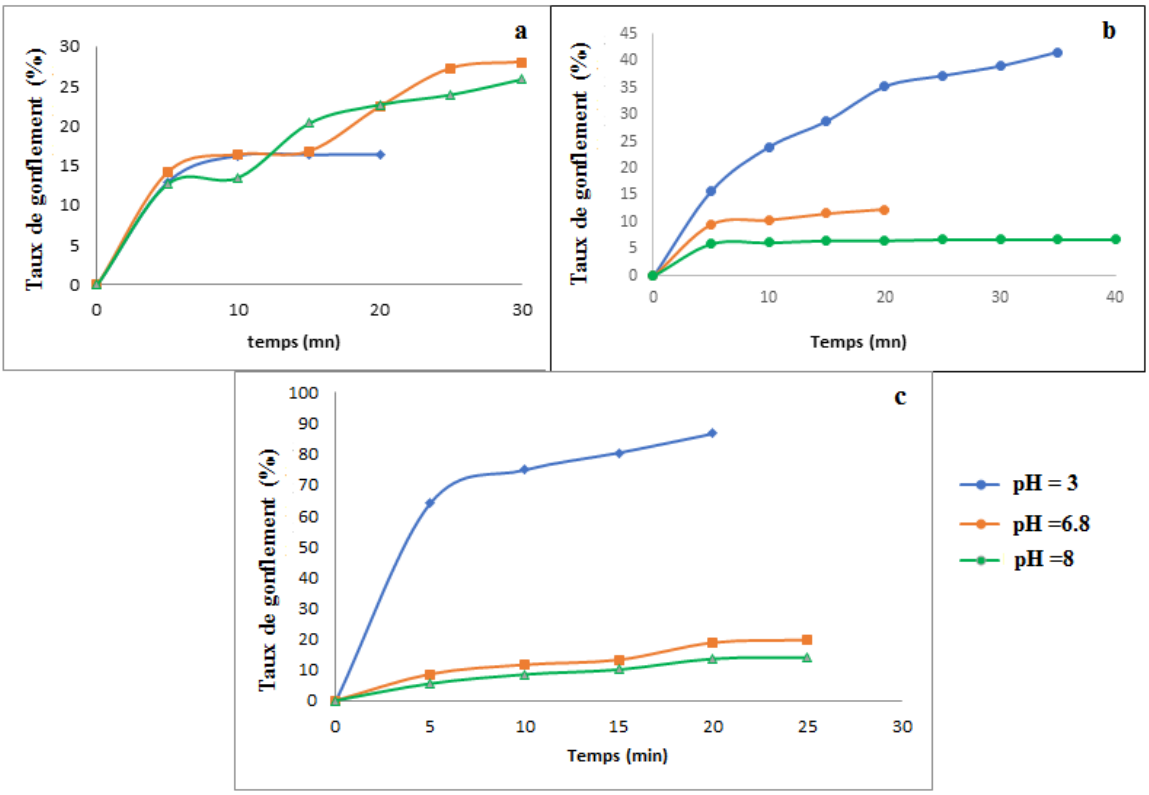



**Figure III.13:** Test de gonflement des membranes de Xn/Cs : **(a)** 16/4, **(b)** 10/10 et **(c)** 4/16

✓ **Cas du complexe Pec/Cs**

Les résultats obtenus sont regroupés dans la Figure III.14. Les principales conclusions tirées sont données comme suit :

- La membrane de Pec/Cs (16/4) (**figure III.14. a**) se gonfle fortement dans le milieu basique avec un taux maximum de l'ordre de 13.6% obtenu après 30min d'immersion. Alors qu'en milieu neutre (pH= 6,8) le taux de gonflement enregistré est faible (7.3%) après 30 min d'immersion. Le TG enregistré dans le milieu acide après 15 min est de 10,4%.
- Par contre, pour la membrane de Pec/Cs (10/10) (**Figure III.14.b**), le meilleur taux de gonflement est enregistré dans le milieu acide (13%) obtenu après 20min d'immersion. Alors qu'en milieux neutre et basique les taux de gonflement enregistrés ne dépassent pas 8% : TG= 6.6% pour le milieu neutre et TG =8% pour le milieu basique.
- Concernant la membrane du Pec/Cs (4/16) (**Figure III.14. c**), le meilleur TG obtenu après 20 min d'immersion est enregistré dans le milieu acide (23.3%) suivi par le milieu neutre (17.6%) et enfin le milieu basique avec un TG de 10.4% enregistré après 20 min d'immersion.

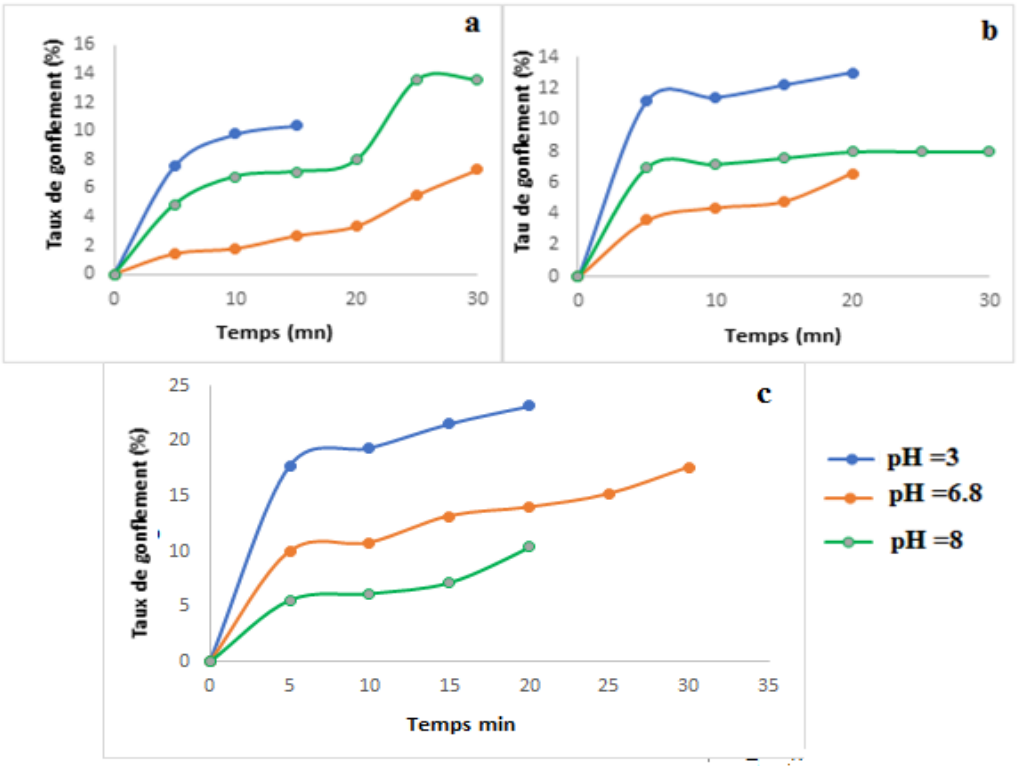



**Figure III.14 :** Test de gonflement des membranes de Pec/Cs:

**(a)** 16/4, 10/10 et **(c)** 4/16

- **Relation complexe/taux de gonflement**

Les principaux résultats relatifs à l'influence des mélanges des biopolymères sur le taux de gonflement des biopolymères seuls aux différents milieux sont donnés sur la **figure III.15**.

L'analyse des résultats montent que :

- Dans le milieu acide (pH=3) : le mélange des biopolymères mène à :

→ Une diminution du TG de la membrane du Cs seul et ceci pour toutes les proportions choisies.

→ Une augmentation du TG des membranes Pec et Xn seuls et ceci pour toutes les proportions choisies à l'exception du complexe Xn/Cs : 16/4.

- Dans le milieu neutre (pH=6.8) : le mélange des biopolymères mène à une diminution du TG de la membrane de Xn seul et une amélioration du TG des membranes de pectine et de chitosane seuls.

- Dans le milieu basique (pH=8) : le mélange des biopolymères mène à une diminution du TG des membranes de chitosane seul et a augmenté le TG des membranes de pectine et de xanthane seuls.

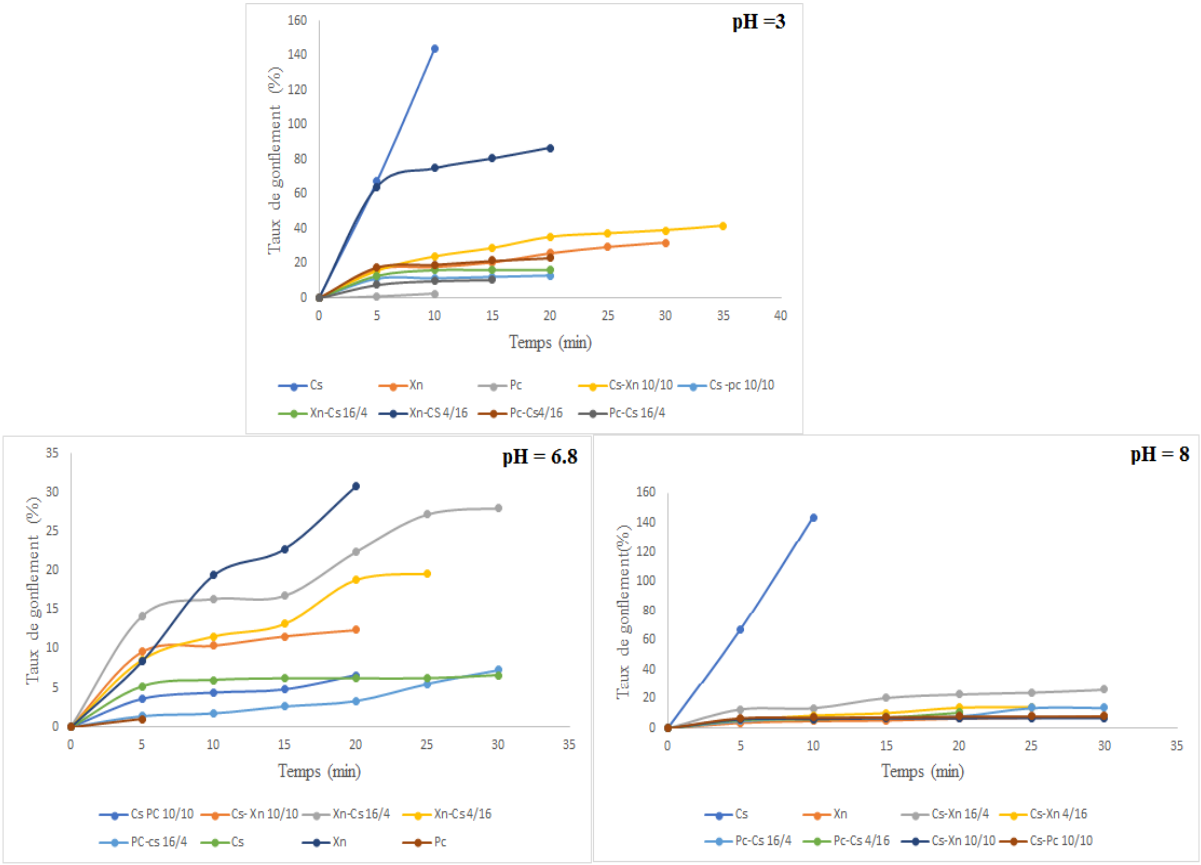



**Figure III.15 :** Tests de gonflement des différentes membranes aux différents pH

## III.5.4. Test de perte en poids

### A. Mode opératoire

Le test de perte en poids noté : TD (taux de dégradation) nous renseigne sur la dégradation des membranes au cours du contact avec les solutions tampons. Pour le déterminer, les membranes obtenues après le test de gonflement sont séchées dans l'étuve à 40°C jusqu'à poids constant. Le TD est calculé en utilisant la formule suivante :

$$TD\ (\%) = \frac{(m_i - m_f)}{m_i} \times 100 \quad \textbf{(III.4)}$$

Avec :

$m_i$ : masse initiale de la membrane étudiée(0.005 g).

$m_f$ :masse finale de la membrane étudiée (après test de gonflement).

**B. Résultats et discussions**

Les résultats obtenus sont groupés dans le **tableau III.7**.

**Tableau III.7**: Résultats du test de dégradation des membranes étudiées

| | **Temps (min )** | **Taux de dégradation (%)** | | |
|---|---|---|---|---|
| | | **pH=3** | **pH=6.8** | **pH=8** |
| Pectine | 05 | 100 | 100 | 100 |
| Chitosane | 10 | 2 | 0 | 4 |
| Xanthane | 20 | / | 2 | 0 |
| Pec/Cs (10/10) | 10 | 12 | 36 | 14 |
| Pec/Cs (4/16) | 20 | 16 | 8 | 0 |
| Pec/Cs (16/4) | 15 | 16 | 0 | / |
| Xan/Cs (10/10) | 20 | 0 | 2 | 8 |
| Xan/Cs (4/16) | 15 | 40 | 10 | 0 |
| Xan/Cs (16/4) | 15 | / | 16 | 2 |

Les résultats du test de dégradation des différentes membranes ont permis de tirer les points suivants :

- La membrane de pectine est complètement dégradée dans les trois milieux testés. Ceci peut être attribué au type de pectine qui est hautement méthylée.
- La membrane de chitosane est stable dans le milieu neutre et légèrement dégradée dans les milieux acide et base avec des TD de l'ordre de 2% et 4% respectivement.
- La membrane de xanthane est stable dans le milieu basique et légèrement dégradée dans le milieu neutre.
- Les membranes du complexe Pec/Cs sont pratiquement instables dans tous les milieux testés à l'exception des membranes du mélange Pec/Cs : 4/16 et 16/4 qui marquent une bonne résistance dans les milieux neutre et basique avec un TD de 0%.

- Quant aux membranes du complexe Xn/Cs, une bonne résistance est enregistrée en milieu acide pour la membrane Xn/Cs :10/10 et en milieu basique pour la membrane Xn/Cs : 4/16.

### III.5.5. Analyse par FTIR des membranes des mélanges de biopolymères

La spectroscopie FTIR constitue une méthode de choix pour mettre en évidence l'apparition ou la disparition de certaines bandes lors de la formation des membranes de complexes des biopolymères. Les spectres FTIR des membranes élaborées à base des mélanges des trois biopolymères sont illustrés dans les **figures III.16 et III.17**.

Concernant les spectres des membranes complexes Pec/Cs (10/10) et Xn/Cs (10/10) par comparaison avec les spectres des biopolymères de base (chitosane, pectine et xanthane), nous constatons que ces spectres présentent aussi les pics caractéristiques du chitosane, de la pectine et du xanthane avec une certaine modification. Nous remarquons la modification des deux pics des amines (chitosane) et la disparition du pic caractéristique du groupement carbonyle ester de la pectine ainsi qu'une diminution des groupements carboxylates du xanthane. Ce changement peut être vraisemblablement attribué à la formation des complexes par interaction entres les groupements amines du chitosane et les groupements carboxyliques de la pectine et de xanthane.

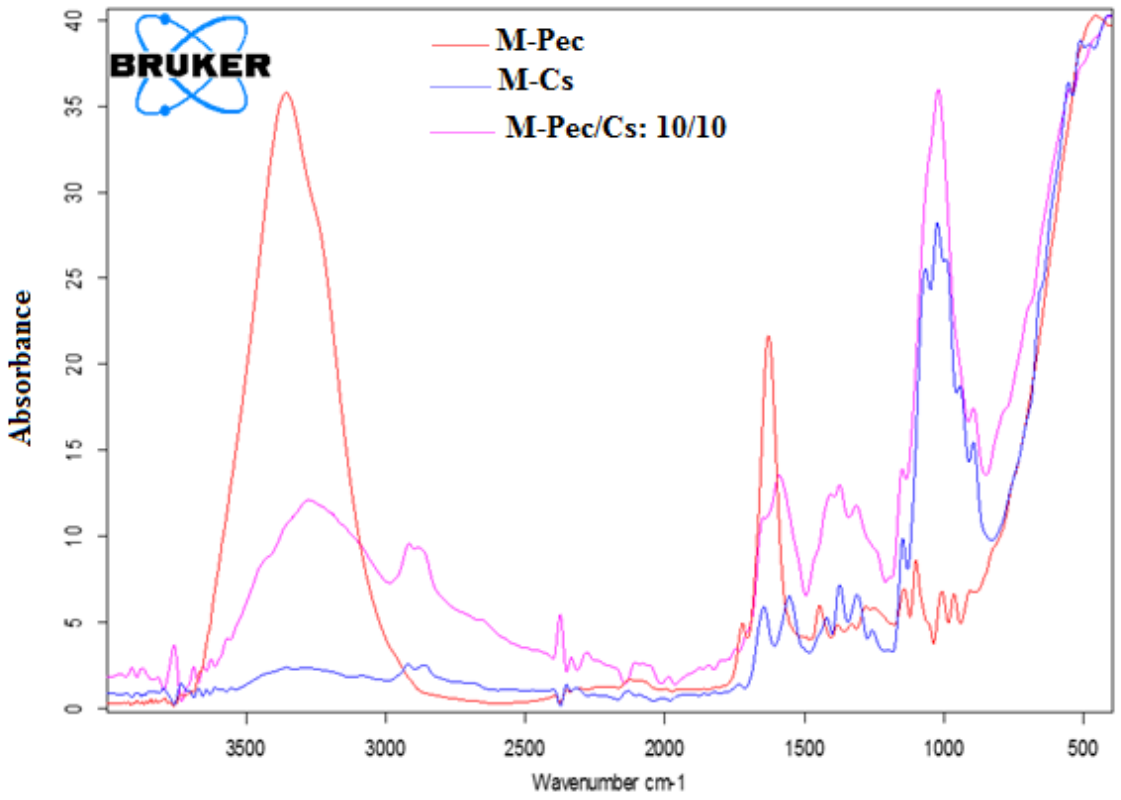



**Figure III.16** : Spectre FTIR des membranes du M-Pect, M-CsetM-Pect/Cs (10/10)

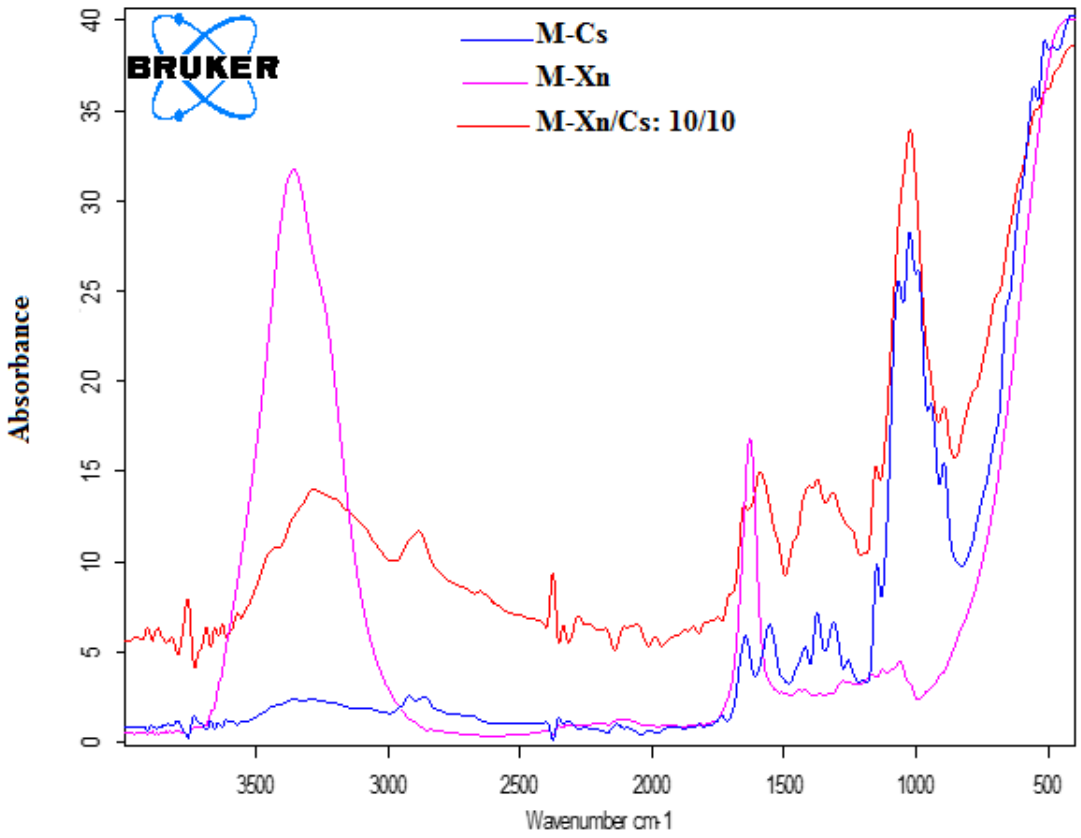



**Figure III.17** : Spectres FTIR des membranes du chitosane , xanthane et du complexe Cs/Xn (10/10)

## III.6. Application à la biosorption

Dans cette partie, nous avons procédé à l'utilisation des membranes élaborées dans le domaine de la biosorption et ceci par l'élimination des antibiotiques à partir des effluents pharmaceutiques et les métaux lourds à partir des effluents d'industries chimiques. Dans cette optique nous avons choisi :

- Nystatine comme antibiotique et la spectroscopie UV-Visible comme méthode de dosage.
- Les ions de zinc ($Zn^{2+}$) comme métal lourd et la complexation avec EDTA comme méthode de dosage.

## III.6.1. Biosorption de nystatine par les membranes

### III.6.1.1. Principe actif utilisé

La nystatine est un médicament polyène antimycosique réservé à l'usage topique à cause de sa toxicité, elle est sensible à la lumière. Les Candida sont sensibles à la nystatine **[101]**. La **figure III.18**donne la structure du Nystatine.

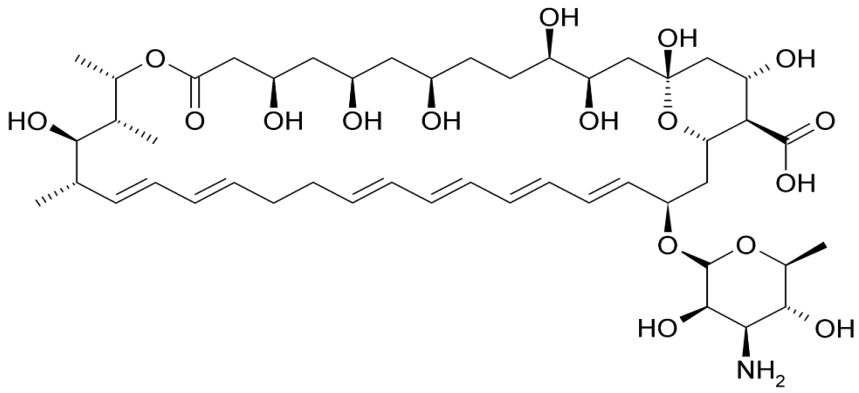



**Figure III. 18** : Structure de nystatine **[101]**

### III.6.1.2. Protocol de la biosorption

Toutes les expériences de biosorption en mode batch ont consisté de mettre en contact dans un erlenmeyer, sous faible agitation continue, à température ambiante et pH indiqué, une quantité précise de biosorbant avec une solution nystatine de volume et de concentration bien déterminés.

La détermination de la cinétique de biosorption se fait par l'évaluation de la concentration résiduelle de nystatine à différents intervalles de temps en utilisant la spectroscopie UV-visible. La capacité de fixation, exprimée en mg de nystatine par gramme de biosorbant, est calculée par la formule suivante **[30]**:

$$q = \frac{[(C_0 - C_e)V]}{m} \quad (\mathbf{III.5})$$

Où :

$C_0$ : concentration de la nystatine dans la solution à t = 0 (g/l),

$C_e$ : concentration de la nystatine dans la solution à l'instant t (g/l),

V : volume de la solution d'adsorbat (l),

m : masse d'adsorbant introduite (g).

La cinétique de la biosorption de la nystatine par les membranes a été étudiée sous les conditions suivantes :

- Température ambiante ;
- pH : libre (varié selon la nature de la membrane utilisée) ;
- Concentration de la solution de nystatine de 0.02 g/l (solvant eau/éthanol : 30/70) ;
- Teneur en biosorbant de 4 g/l.

### III.6.1.3. Etablissement de la courbe d'étalonnage de nystatine

#### A. Principe de la spectroscopique UV-Visible

La spectroscopie ultraviolet-visible est une technique de spectroscopie mettant en jeu les photons dont les longueurs d'onde sont dans le domaine de l'ultraviolet (100 nm-400 nm), du visible (400 nm-750 nm) ou du proche infrarouge (750 nm-1400 nm). Soumis à un rayonnement dans cette gamme de longueurs d'onde, les molécules, les ions ou les complexes sont susceptibles de subir une ou plusieurs transitions électroniques. Cette spectroscopie fait partie des méthodes de spectroscopie électronique. Les substrats analysés sont le plus souvent en solution, mais peuvent également être en phase gazeuse et plus rarement à l'état solide.

Le spectre électronique est la fonction qui relie l'intensité lumineuse absorbée par l'échantillon analysé en fonction de la longueur d'onde. Le spectre est le plus souvent présenté comme une fonction de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde. Il peut aussi être présenté comme le coefficient d'extinction molaire en fonction de la longueur d'onde.

Cette technique est complémentaire de la spectroscopie de fluorescence qui mesure l'intensité lumineuse émise par un échantillon quand il est éclairé à une longueur d'onde où il absorbe. La fluorescence met en jeu des transitions depuis l'état excité jusqu'à l'état fondamental alors que la spectroscopie d'absorption traite des transitions entre état fondamental et état excité **[102]**.

L'absorbance (A) d'un échantillon est une grandeur sans unité qui est d'autant plus grande que le rayonnement est absorbé. Elle est donnée par la formule suivante :

$$A = \log (I_0/I) \qquad \textbf{(III.6)}$$

Avec :

$I_0$ : intensité de la lumière incidente

I : intensité de la lumière réfléchit

La technique d'analyse est souvent utilisée dans un mode quantitatif pour déterminer la concentration d'une entité chimique en solution, en utilisant la Loi de Beer-Lambert :

$$A = \varepsilon.C.L \qquad \textbf{(III.7)}$$

Avec :

L : Largeur de cuve de spectroscopie, en cm

C : Concentration de la substance dissoute, en $mol.L^{-1}$

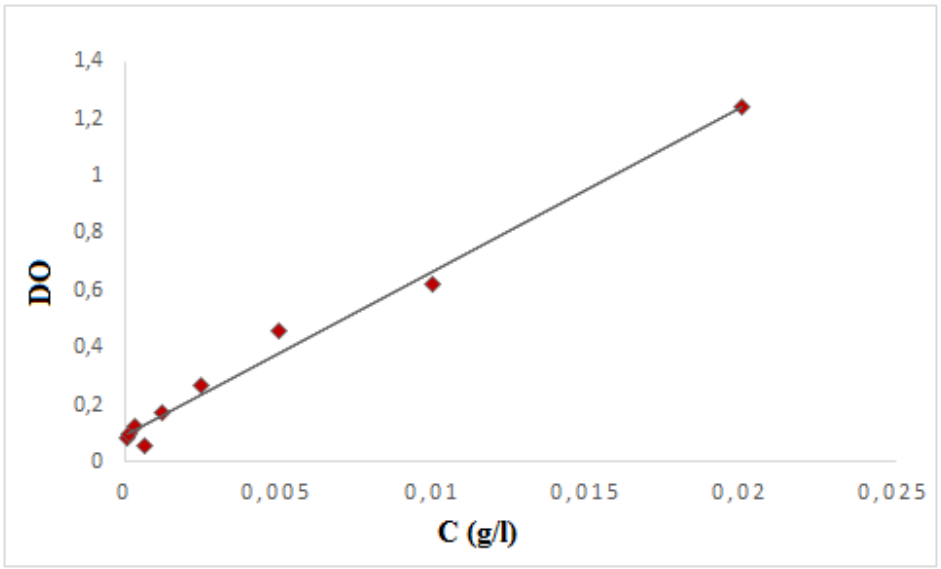
ε : Coefficient d'absorption molaire (d'extinction molaire), en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$.

### B. Détermination de la longueur d'onde maximale

Avant d'établir la courbe d'étalonnage de la nystatine, on avait besoin d'effectuer un balayage en longueur d'onde entre 200 et 600 nm pour déterminer λmax, longueur d'onde où l'absorption est maximale. Pour ce faire, nous avons analysé une solution assez concentrée de nystatine et le pic d'absorption est mieux défini à une longueur d'onde λmax= 305 nm.

### C. Courbe étalonnage

Pour établir la courbe d'étalonnage, plusieurs solutions de nystatine de concentrations variant entre 0.0156 g/l et 0.4g/l ont été préparées par dilution à partir d'une solution mère. La densité optique (DO) de chaque solution a été mesurée. La courbe d'étalonnage représente la variation de l'absorbance en fonction de la concentration **figure III.19**.




**FigureIII.19** :Courbe d'étalonnage de la nystatine

La courbe d'étalonnage est une droite qui passe par l'origine avec un coefficient de corrélation $R^2$ = 0.98. Cette courbe sera utilisée pour la détermination des concentrations résiduelles de Nystatine.

### III.6.1.4. Résultats et discussion

Les résultats de la biosorption de nystatine sont illustrés sur les **figures III 20, 21 et 22**. L'analyse des résultats obtenus a permis de tirer les points suivants :

- Pour les membranes Xn et Pec/Cs, l'équilibre d'adsorption est observé dès les premières minutes : 20 minutes pour la membrane Xn (**figure III.20.a**) et 5 minutes pour la membrane Pec/Cs (**figure III.22.a**). Ce temps correspond au temps nécessaire pour fixer la nystatine sur les sites de la surface des membranes impliqués dans le phénomène de la biosorption.
- Pour la membrane Xn/Cs, nous remarquons que la concentration résiduelle de la nystatine diminue dès les 5 premières minutes jusqu'à un minimum de l'ordre de 0.021 g/l à la $15^{ième}$ minute puis elle remonte. Cette augmentation peut être attribuée à un phénomène de désorption dû à l'agitation du milieu réactionnel.
- La quantité de nystatine fixée par gramme de biosorbant en fonction du temps augmente rapidement dès les premières minutes puis elle devient presque constante et ceci pour toutes les membranes étudiées à l'exception de la membrane Xn/Cs pour laquelle nous avons noté une désorption comme le montrent les **figures III.20.b, III.21.b et III.22.b**.
- Les cinétiques de la biosorption enregistrées pour les deux membranes Xn et Pec/Cs (10/10) sont identiques. Cependant les capacités obtenues à l'équilibre sont différentes (**figure III.20.b** et**III.22.b**). Nous avons une meilleure capacité de biosorption enregistrée pour la membrane Pec/Cs avec une moyenne de0.01 g/g, par rapport à celle enregistrée pour la membrane de Xn avec une capacité de l'ordre de 0.002 g/g.
- Quant à la membrane de Xn-Cs la meilleure capacité de fixation est de l'ordre de 0.0005 g/g.
- La complexation des biopolymères xanthane /chitosane n'a pas abouti à l'amélioration de la capacité de fixation de la nystatine. La capacité de fixation de nystatine est meilleure dans le cas de la membrane de xanthane seul (0.002 g/g) par rapport à celle enregistrée pour la membrane du complexe Xn/Cs qui est de l'ordre de 0.0005 g/g (4 fois moins).

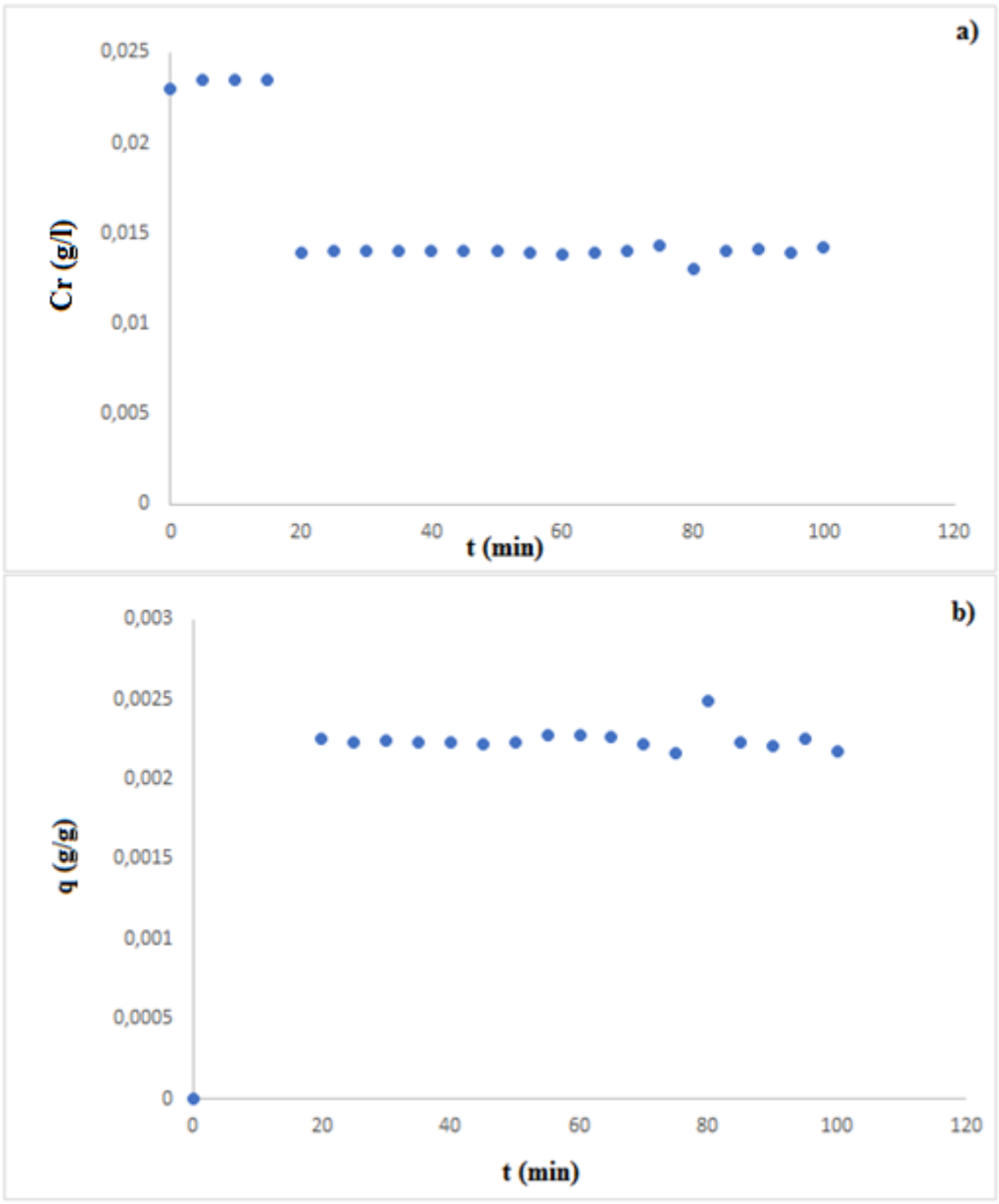



**Figure III.20** : Cinétique de biosorption de la nystatine sur la membrane de xanthane

**(a)** *Concentration résiduelle de la nystatine en fonction du temps*

**(b)** *Capacité d'élimination de la nystatine en fonction du temps*

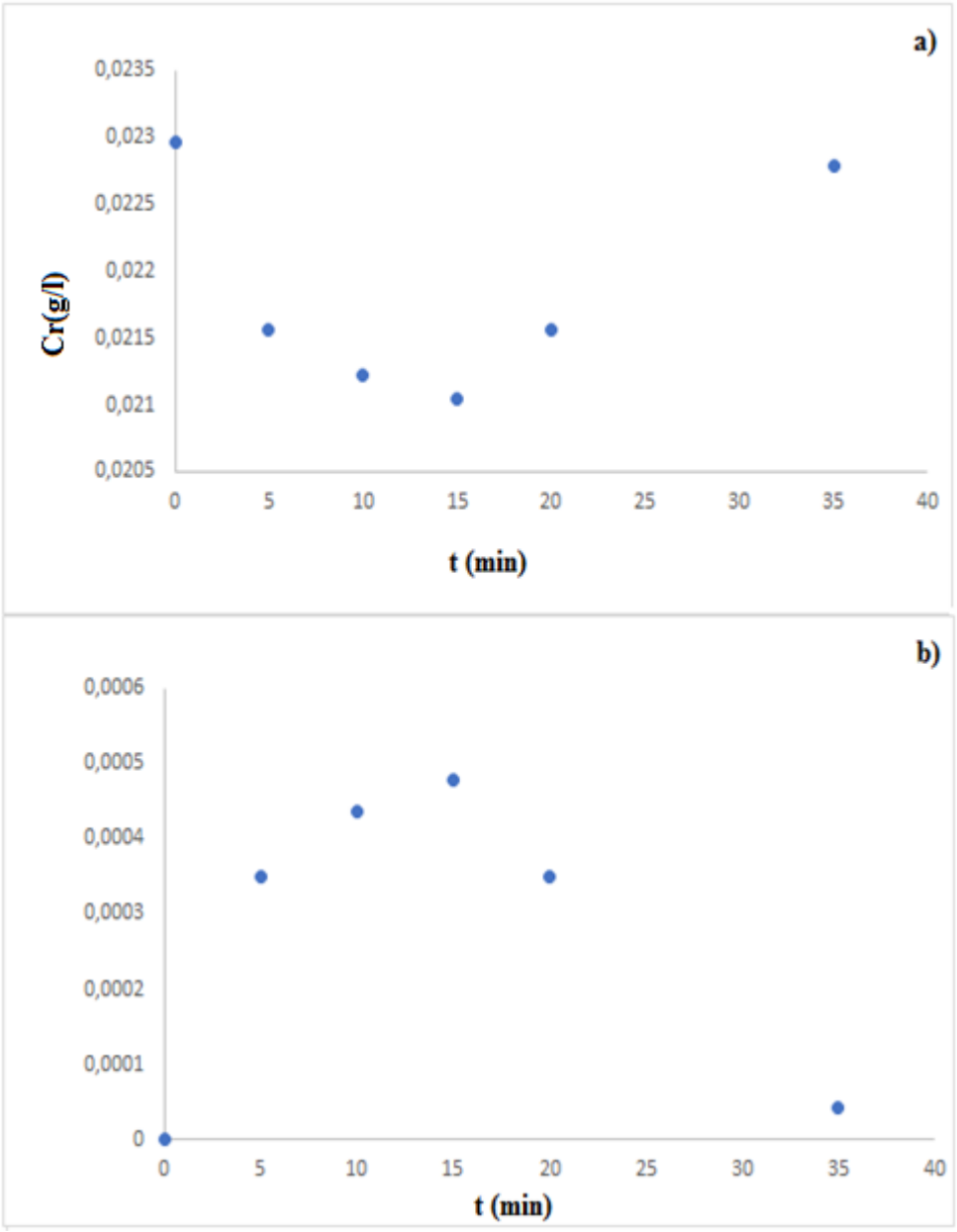



**Figure III.21:** Cinétique de biosorption de la nystatine sur la membrane de Xn/Cs : 10/10

**(a)** *Concentration résiduelle de la nystatine en fonction du temps*

**(b)** *Capacité d'élimination de la nystatine en fonction du temps*

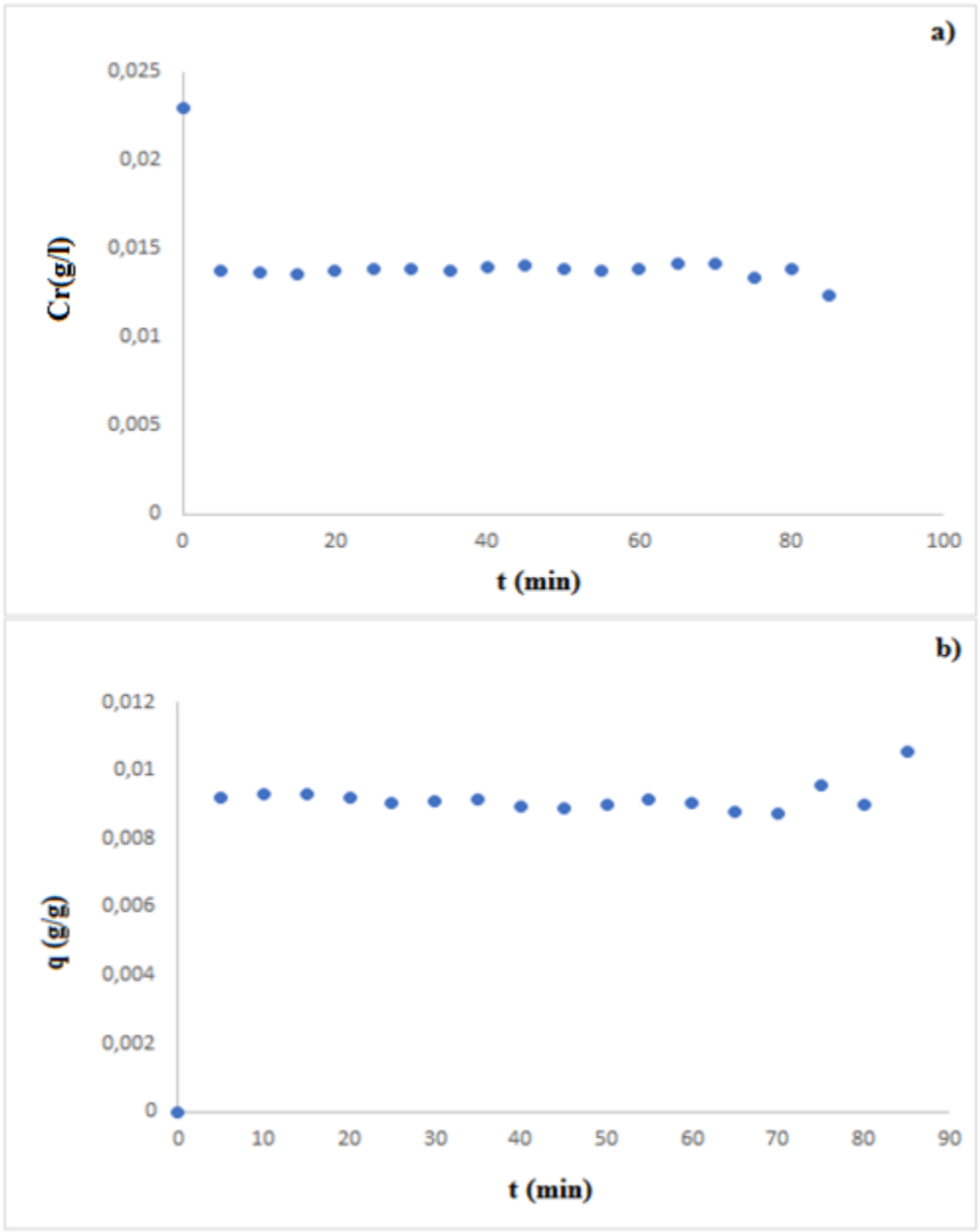



**Figure III.22 :** Cinétique de biosorption de la nystatine sur la membrane de Pec/Cs : 10/10

**(a)** *Concentration résiduelle de la nystatine en fonction du temps*

**(b)** *Capacité d'élimination de la nystatine en fonction du temps*

## III.6.2. Biosorption du Zinc par les membranes formulées

Dans cette partie, nous avons procédé à l'utilisation des différentes membranes préparées pour l'élimination des ions du zinc, Zn(II) à partir des solutions synthétiques de sulfate de zinc ($ZnSO_4.7H_2O$).

### III.6.2.1. Mode opératoire

Pour toutes les expériences réalisées, le protocole de la biosorption des ions Zn(II) par les membranes a été effectué par immersion des membranes (carré de 0.1 g) dans 50 ml d'une solution de sulfate de zinc (0.007 M) sous une faible agitation en utilisant un secoueur et à une température ambiante. A des intervalles de temps réguliers, un volume de 1 ml de la solution d'immersion est prélevé, à lequel 1 ml de solution tampon de chlorure d'ammonium ($NH_4Cl$) (0.1M) et quelques grains de la trituration de NET sont ajoutés. Ce mélange est titré par l'EDTA (0.0011M) jusqu'au virage de la couleur. La concentration de Zn(II) est calculée en utilisant la formule suivante :

$$C_1V_1=C_2V_2 \quad \textbf{(III.8)}$$

avec :

$C_1$ : concentration de l'EDTA (M)

$V_1$ : volume de l'EDTA utilisé pour le titrage (ml)

$C_2$ : concentration de la solution d'immersion (M)

$V_2$ : volume prélevé de la solution (ml)

### III.6.2.2. Résultats et discussion

Les résultats sont présentés sous forme de graphiques comme le montrent les **figures III 23, 24, 25et 26**. L'analyse de ces résultats permet de soulever les points suivants :

- Concernant la membrane de chitosane seul **figure III.23** et la membrane Pec/Cs f**igure III.25**, nous remarquons une diminution de la concentration résiduelle en fonction du temps. Ceci est observé dès les premières minutes de contact. La capacité maximale de biosorption est de l'ordre de 0.05 g/g pour la membrane de chitosane et de l'ordre de 0.16 g/g pour la membrane Pec/Cs.
- Pour la membrane de xanthane seul **figure III.24**, le graphique est divisé en deux zones : la première entre zéro et trente minutes et la deuxième au-delà de trente minutes. La première zone montre une augmentation de la concentration résiduelle qui peut être expliquée par une absorption de l'eau par la membrane (ceci est déjà mentionné dans le paragraphe III.5.3, taux de gonflement) ce qui concentre la solution du biosorbat. Après trente minutes, la concentration résiduelle diminue suite à la fixation des ions Zn(II) par la membrane. En termes de capacité de biosorption, la valeur maximale (0.05 g/g) est atteinte après 50 mn de contact.
- A propos de la membrane Xn/Cs **figure III.26**, nous remarquons une fluctuation des résultats entre biosorption et désorption.

- Par comparaison entre les membranes utilisées, nous constatons que la meilleure capacité de biosorption est obtenue pour la membrane Pec/Cs (0.16 g/g) ce qui montre que la complexation a amélioré la capacité de biosorption de la membrane de Cs seul (0.05 g/g) tandis que les résultats de la membrane Xn/Cs ne sont pas exploitables.

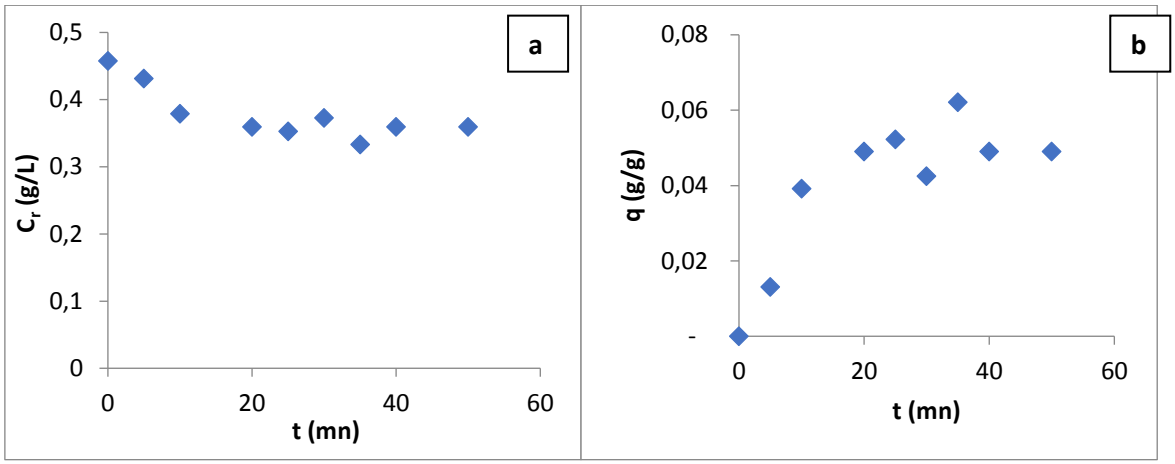



**Figure III.23** : Cinétique de biosorption des ions Zn(II) sur la membrane de chitosane

**(c)** *Concentration résiduelle des ions Zn(II) en fonction du temps*

**(d)** *Capacité d'élimination des ions Zn(II) en fonction du temps*

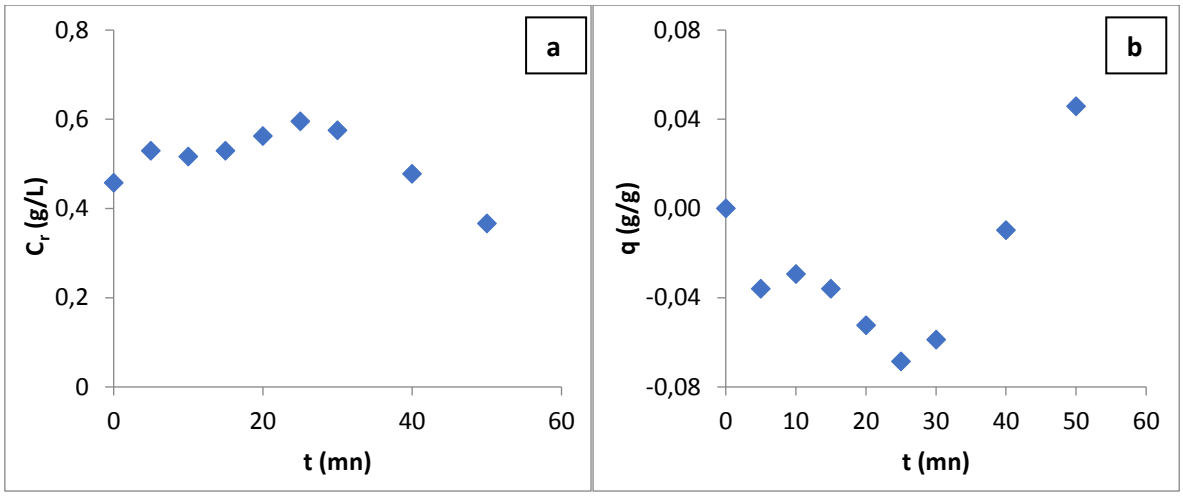



**Figure III.24** : Cinétique de biosorption des ions Zn(II) sur la membrane de xanthane

**(a)** *Concentration résiduelle des ions Zn(II) en fonction du temps*

**(b)** *Capacité d'élimination des ions Zn(II) en fonction du temps*

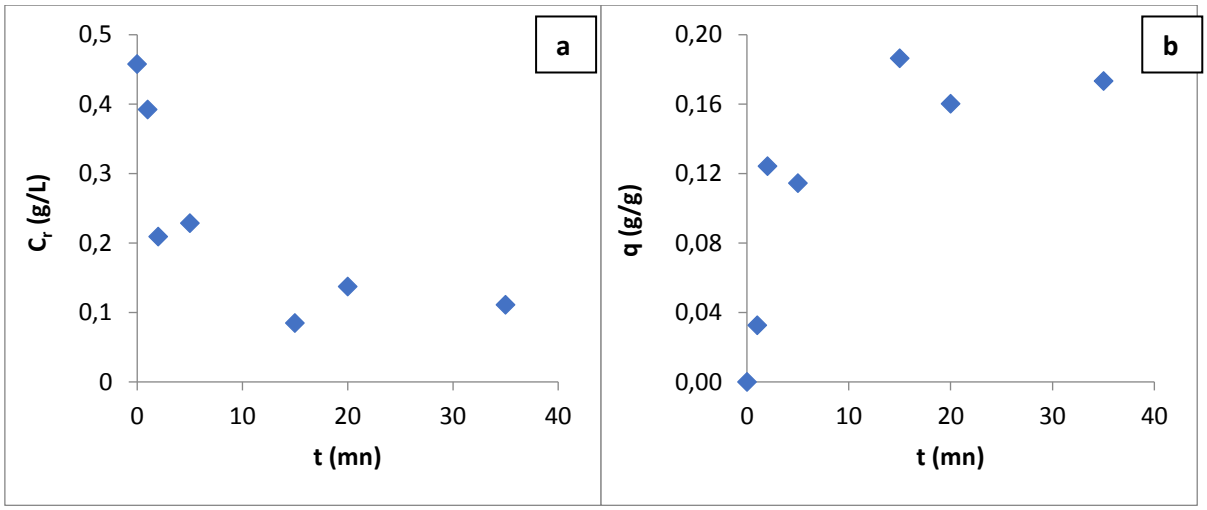



**Figure III.25** : Cinétique de biosorption des ions Zn(II) sur la membrane de Pect/Cs

**(a)** *Concentration résiduelle des ions Zn(II) en fonction du temps*

**(b)** *Capacité d'élimination des ions Zn(II) en fonction du temps*

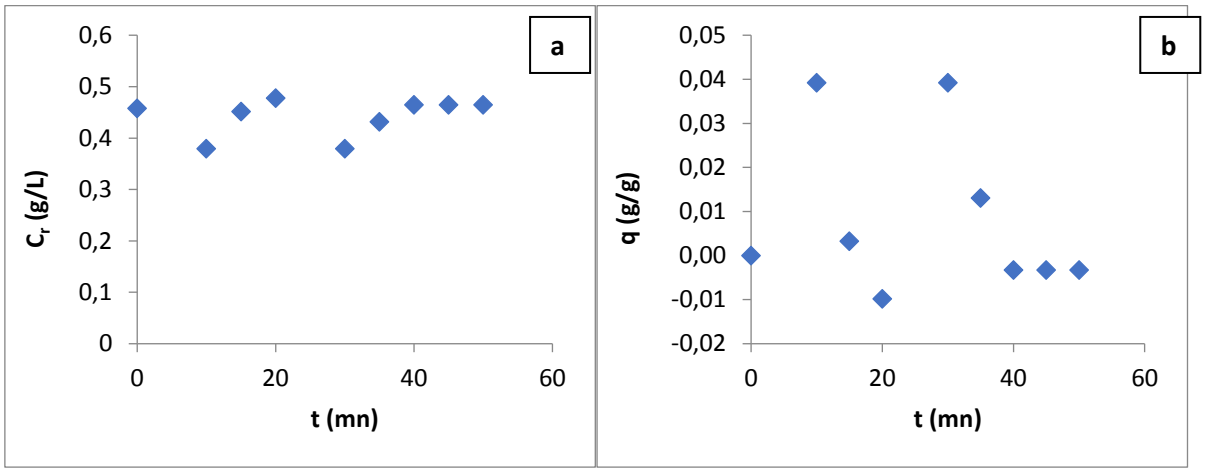



**Figure III.26**: Cinétique de biosorption des ions Zn(II) sur la membrane de Xn/Cs

**(a)** *Concentration résiduelle des ions Zn(II) en fonction du temps*

**(b)** *Capacité d'élimination des ions Zn(II) en fonction du temps*

# Conclusion

# Conclusion générale

L'objectif principal de ce travail est l'élaboration des systèmes biosorbants à base de trois biopolymères chitosane, pectine et xanthane seuls et sous forme de complexes polyélectrolytes. Les systèmes élaborés ont été appliqués pour la biosorption de deux polluants à savoir la nystatine (antibiotique) et les ions de zinc (métal lourd).

Pour ce faire, la première partie de cette étude a été consacré à :

- La caractérisation physicochimique des trois biopolyméres étudiés (degré d'estérification de pectine, degré désacétylation de chitosane, FTIR). Les résultats obtenus ont montré que la pectine a un degré d'estérification de 79.38 %, ceci indique que la pectine utilisée est hautement méthylée. Le degré de désacétylation du chitosane est de 73.9 % ce qui indique que le chitosane utilisé n'est pas entièrement désacétylé. La caractérisation par spectroscopie FTIR a permis de cerner l'empreinte de chaque biopolymère en groupements fonctionnels.

- La préparation de nouvelle forme de biosorbants à base des trois biopolymères et leurs caractérisations. Les deux formes choisies sont les beads et les membranes qui ont été préparés par la méthode de gélification. Les principaux résultats montrent que :

  - Les beads préparés ont dans l'ensemble une forme sphérique et que les membranes sont des films lisses et transparents avec des couleurs qui s'étendent du blanc au jaune pâle.
  - L'analyse par spectroscopie FTIR a confirmé la formation du complexe Pec/Cs et Xn/Cs par liaison entre les groupements carboxylates $-COO^-$ de pectine et de xanthane et les groupements amines protonés $-NH_3^+$ du chitosane.
  - Les tests de gonflement réalisés dans des solutions tampons de différents pH (3, 6.8 et 8) ont montrés que les meilleures valeurs du TG de la membrane chitosane est obtenu dans un milieu acide (143.8%) et celui de la membrane de xanthane est obtenu dans les milieux acide et neutre (32% et 30.8% respectivement). Tandis que les membranes de pectine présentent des TG très faibles (5.2%) par comparaison aux deux précédentes. Concernant les complexes, les membranes de Xn/Cs : 10/10 et 4/16 présentent les meilleures TG dans le milieu acide (41.6% et 86.7% respectivement) et les membranes de Pec/Cs (4/16) ont le meilleur TG dans le milieu acide (23.3%).
  - Les tests de dégradation ont montré que la membrane de pectine est complètement dégradée dans les trois milieux testés. La membrane de chitosane est stable dans le milieu neutre et légèrement dégradée dans les milieux acide et base. La membrane de

xanthane est stable dans le milieu basique et légèrement dégradée dans le milieu neutre. Concernant les membranes complexes, les membranes Pec/Cs sont pratiquement instables dans tous les milieux testés. Quant aux membranes Xn/Cs, une bonne résistance est enregistrée en milieu acide pour la membrane Xn/Cs :10/10 et en milieu basique pour la membrane Xn/Cs : 4/16.

Pour la deuxième partie de cette étude, une étude de biosorption en utilisant les membranes élaborées a été réalisée. Pour ce faire, deux types de polluants ont été choisis : la nystatine comme antibiotique et les ions $Zn^{2+}$ comme métal lourd. Les principaux résultats de cette partie se résument comme suit :

- L'étude de la cinétique de la biosorption de la nystatine sur la membrane de Xn a permis d'enregistrer une capacité de fixation maximale de l'ordre de 0.002 g/g.
- Concernant les membranes préparées à base des mélanges des biopolymères, les résultats enregistrés révèlent que le mélange Xn/Cs n'a pas abouti à une amélioration de la capacité de fixation de la nystatine où la capacité maximale obtenue est faible ; de l'ordre de 0.0005 g/g.
- La meilleure capacité de biosorption est enregistrée pour la membrane Pec/Cs avec une moyenne de 0.01 g/g.
- Concernant la biosorption de Zn(II), la meilleure capacité de biosorption est obtenu pour la membrane Pect/Cs (0.16 g/g) ce qui montre que la complexation par la pectine a amélioré la capacité de biosorption de la membrane de Cs seul (0.05 g/g) tandis que le mélange Xn/Cs n'a pas abouti à une amélioration de la capacité de fixation de Zn(II).

Enfin, et comme perspectives, nous proposons de poursuivre cette étude en :

- Etudiant profondément les phénomènes des mélanges des biopolymères ;
- Utilisant les moyens les plus adéquats pour le dosage surtout des métaux comme la spectroscopie d'absorption atomique.

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES


**[1]** A.Mitidji. H. Titraoui. Modification et caractérisation d'un biopolymère à usage pharmaceutique. Mémoire de Master en bioprocédés pharmaceutiques. (Université de Médéa, 2012).

**[2]** Charlotte JACQUOT. Vieillissement des biopolymères : étude structurale et fonctionnelle Biopolymer Sagaing : structural and functional study. (2013).

**[3]** http://campus.cerimes.fr/odontologie/enseignement/chap3/site/html/1.html

**[4]** Badaoui Fouzia. Comportement rhéologique de solution de biopolymères. Application au chitosane, au poly (vinyle alcool) et à leurs mélanges. (Université M'HAMED BOUGARA-BOUMERDES, 2012).

**[5]** Fr wikipedia .org/wiki/wiki/biopolymère

**[6]** François stander. Fiche technique agro-industrie : biopolymère et bioplastique fiche N°17.ed Mai. (2006).

**[7]** D. Rutot. P. Dubois. Les (bio) polymères biodégradables : l'enjeu de demain. Chim.nouv.86,P. 66-75.(2004).

**[8]** N.Jarroux. Les biopolymères : différentes familles, propriétés et applications, Techniques de l'ingénieur, Traité AM3580. (2012).

**[9]** Betancourt, A. the rjito. Analyse, extraction et récupération de pol-3-hydroxybutyrate présent dans la biomasse. (Université de Québec à Montréal). (Janvier 2008).

**[10]** JD. Microbiological deterioration and degradation of synthetic polymeric materials : récent research advances, Int.Biodegr. (2003).

**[11]** Houria, B. Contribution à l'élaboration de nouveaux systèmes de libération des médicaments à base de composites pectine-chitosane P. (Université de MÉDÉA, 2016).

**[12]** NINA Quelenis. Les bioplastiques, caractéristiques et réglementation, fiche technique. (Mars 2013).

**[13]** R. Auras, B. Harte, S. Selke, An overview of polylactides Packaging. Macromol. Biosci. 4,p.835-864.(2004)

**[14]** Holy Nadia , Rabtafika , MichelPaquot, P. D. Les polymères issus du végétal : Matériaux à propriétés spécifiques pour des applications ciblées en industrie plastique. Biotechnol.Environ-1053,185-196. (2006).

**[15]** M.Okada, Chemical syntheses of biodegradable polymers , prog.polym.Sci,27,p.87-133.(2002).

**[16**] M.Vert , polymères de fermentation, les polacides lactiques et leurs précurseurs, les acides lactiques,Actual.Chimm,11-12,P.79-82. (2002).

**[17]** Lhamid, B. H. L. Effet d'un Renfort Biodégradable sur les Propriétés Physico-mécaniques d'un Biopolymère PHBV. (Université A. MIRA – Bejaia, 2015).

**[18]** Jarroux, N. Les biopolymères différentes familles, propriétés et applications date de publication. (10 Octobre 2008).

**[19]** www.developpement durable.com.

**[20]** Rioux, L. Caractérisation structurale et évaluation de l'activité biologique de polysaccharides extraits de saccharina longicruris Thèse de doctorat présentée à la Faculté des études supérieures. (Université Laval, 2010).

**[21]** GO. Philips. PA. Wiliams. Hand Books of Hydrocolloids. CR CPress. Boca Raton.p450, 04,2000

**[22]** Moussard C. Biochimie structurale et métabolique 3 éd de Boeck. P 57–60 (2006).

**[23]** Délattre, C. Stratégie d'obtention d'oligosaccharides anioniques par dégradation enzymatique de gluconate PDF.P 4-11 (2005).

**[24]** Margham, R. Chapitre 1 : Les glucides des végétaux. Élément de la biochimie végétale. Ed, Bahaeddine. (Constantine. Algérie, 2009).

**[25]** Delattre, Cedric. Stratégie d'obtention d'oligosaccharides anioniques par dégradation enzymatique de gluconate. Thèse de doctorat. Science Biochimie Génie Enzymatique. Université de Picardie Jules Verne. France P4-11 (2005).

**[26]** Yves, R. Biopolymères dynamiques : Oligo et polysaccharides thèse de doctorat. Université louis pasteur de stars bourg (2008).

**[27]** Thang, X. Étude du mécanisme de gélification du gel couplé β - lactoglobuline / gomme xanthane et des propriétés du gel. (2014).

**[28]** F. GarcoAa-Ochoaa, V. E. Santosa, J.A. Casasb, E. G. Biotechnology Advances 18549+579. (Université de Madrid-Espagne, 2000).

**[29]** Toumi, S. Boukhekhal, M. Synthèse et caractérisation physicochimique d'un biopolymère. Mémoire de master en chimie pharmaceutique (Université de Médéa, 2018).

**[30]** Ben Bounaadja, A. Boualili, C. Contribution à l'élaboration des systèmes de Biosorption des Métaux lords à base des Biomasses végétales. Mémoire de Master en Normes et contrôle de qualité (Université de Médéa 2017).

**[31]** SKENDER, A. Etude physicochimique et rhéologique de la solution de biopolymère combinées avec des biotensioactifs. Mémoire de magister, (Université de Médéa 2015).

**[32]** http://www.aditivosalimentarios.es/phpback/document2/archive/Xanthane(15/05/2018).

**[33]** Junyaprasert, V.B, &Manwiwattanakul. Release profile comparison andstability of diltiazem-resim microcapsules in sustained release suspension. Int. J. Pharm. 352(1-2),81-91. (2008).

**[34]** Billa, N. Kah-Hay, Y. Mohamed Ali , A.K. ,&Alias, O. Gamma scinti graphic study of the gastrointestinal transit and in vivo dissolution of a controlles release diclofenac sodium formulation in xanthan gum matrices. *Int. J. Pharm.* 201,109–120 (2000).

**[35]** Hoepfner, E.M, Herbert, H.P, Reng, A.&Schhmidt, P. C. Encyclopedia of excipients for pharmaceuticals ,cosmetics and related areas(5th ed).Aulendorf: Edito Cantor Verlag. (2002).

**[36]** Ceulemans, J., Vinckier, I., &Ludwig, A. The use of xanthan gum in anophthalimic liquid dosage form : rheological characterization of the interaction with mucin. *J. Pharm. Sci.* 91(4),1117-1127. (2002).

**[37]** Vermani, K., Garg,S., &Zaneveld , L.J. Assemblies for in vitro measure mentofbioadhesive Strength and retention characteristics in simulated Vaginal environment. Drug Development and IndustrialPharmacy,28(9),1133-1146 (2002).

**[38]** Chen, H., Chang ,X., Du, D., Li, Xu, H, &Yang, X .Microemulsion-based hydrogel formulation of ibuprofen for topical delivery .Internationa Journal of Pharmaceutics,315(1-2),(52-58).(2006).

**[39]** Patel, N., Craddock, B.L., Staniforth, J.N., Tobyn, M.,&Welham, M. Spray-dried insulim particles retain biological activity in rapid in-vitro assay. J. Pharm. Pharmacol. 53(10),1415-1418 (2001).

**[40]** MC. Realet. E. Bonnin. JF. Thybault. Pectins in Biopolymers vol 8, Polysaccharides II., Stein biichel A. (Ed). Wiley –VCH Verlag Gmbh. Weinheim. Chap. 12. 345-380. (2002)

**[41]** Boual, Z. Contribution à l'étude des polysaccharides de quelques plantes spontanées à caractère médicinal de la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Est algérien) : Biochimie et analyse des sous-produits. (Université Kasdi Merbah Ourgla, 2009).

**[42]** Donato, L. Gélification et séparation de phase dans les mélanges protéines globulaires/pectines faiblement méthylées selon les conditions ioniques. Thèse Doctorat de l'École Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires, (2004).

**[43** ] Michel, B. Conservation par les sucres : confitures, gelées, fruits sur sucre. In : Technologies de transformation des fruits. Technique et documentation-Lavoisier (Ed). Paris, pp 421-425, (2002).

**[44]** Manfred M. & Nicole M. Précis des risques alimentaires. Partie II : lexique. Technique et documentation (Ed). Paris, 321p. (2002).

**[45]** Christensen, SH. Glicksman, M. Pectins in Food Hydrocolloids vol III ». Chap. 9,205-229

**[46]** JF. Thibault. Les polymères végétaux, polymères pariétaux et alimentaires non azotés. ed. Gauthier-Villars. Bordas. Paris. P 232-251 (1980).

**[47]** Shuryo N., Pectins and their Manipulation - Book review - Food Research International, 36 (6): 643. (2003).

**[48]** Schols H.A. &Voragen A.G.J. The chemical structure of pectins. In: Pectin sand their Manipulation. Blackwell Publishing Ltd (Ed). UK. Chapter 1 : pp 1-29. (2002).

**[49]** Leroux H. & Schubert E. Actualités des industries alimentaires et agro-alimentaires : Les applications des pectines HM dans les industries agro-alimentaires. Revues des I.A.A : 615-618. (1983).

**[50]** Hwang J.K., Kim C.J. & Kim C. TExtrusion of apple pomace facilitates pectin extraction. Journal of Food Science, 63 (5): 841-844, (1998).

**[51]** Y. Zouambia. Extraction, caractérisation et modification des propriétés émulsifiantes d'un biopolymère naturel. Mémoire de Magister en Génie des Procédés. (Université de Médéa 2006).

**[52]** JF.Thibault. Les polymères végétaux, polymères pariétaux et alimentaires non azotés.. ed. Gauthier-Villars. Bordas. Paris. P : 232-251. (1980).

**[53]** MC. Realet. E. Bonnin. JF. Thybault. Pectins in Biopolymers vol 8, Polysaccharides II., SteinbiichelA. (Ed). Wiley –VCH Verlag Gmbh. Weinheim. Chap 12. 345-380. (2002).

**[54]** A. Voragen. JF. Thibault. W. Pilnik. Axelos M.A.V, Renerd, C.M.G.C. Pectins: in Food polysaccharides and their applications. Ed: Stephen, A.M, New York. Marcel Dekker. P : 287-339. (1995).

**[55]** http://www.boulangerie.net/pat BN/recette pat/technologie de base/les pectines .htm. (Consultéen janvier 2016).

**[56]** BR. Thakur. KS. Rakesh. HK. Handa. Chemistry and uses of pectin, A review, Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 37(1): 47-73. (1997).

**[57]** LEKBIR Adel. Extraction et appréciation des pectines à partir des écorces d'oranges et dedattes. Mémoire de Magister en Sciences Agronomiques. (Université El Hadj Lakhder - Batna. 2008).

**[58]** L. Matia-Merino. K. Lau & E. Dickinson. Effects of low-methoxyl amidated pectin and ionic calcium on rheology and microstructure of acid-induced sodium caseinate gels. Food Hydrocolloids, 18 (2): 271–281. (2004).

**[59]** Voragen, F. Schols, H. Visser R. Advances in Pectin and Pectinase Research». Kluwer.

**[60]** Hasnaoui, H. formation d'un système de libération des médicaments à based'un biopolymère végétal, mémoire de fin d'étude. (2008)

**[61]** direction de la radio protection de l'homme. Evaluation de l'emploi de la pectine chez les enfants vivants sur les territoires contaminés par le césium. IRNS rapport

**[62]** L. Payet,F .Ponton ;P. Agenly, J. colinart ;L. Grpossiord. Payet et al ; Rhéologie caractérisation rhéologique de la gélification de l'alginate et de chitosane :effet de la température Vol,2, 46-51 (2002).

**[63]** Le vinson,H,J,in principles of lithography .(ed, Levinson,H,J)7-50(Society of Photo-Optical Instrumentation Engineers (SPIE),(2010).

**[64]** Amiali, Malek. Caractérisation des films de chitosane par la perméabilité à la vapeur d'eau et aux gaz (CO2, O2) thèse en sciences des aliments, (Université Laval Canada1999).

**[65]** Zubair, A. Bhatti, H N. Hanif, M.A. Shafqat, F. Waste Biomass. Water Air Soil Pollut 191:305-318 (2008).

**[66]** E. A. Pavlaath. D.W. S-Wong G.H. Robertson, chitosane (preparation. structure and proprieties.

**[67]** CG. Gini. PM. Badot et E. Guibal. chitine et chitosane :Du biopolymère à l'application .préface de George A,F. Roberts presses (Universitaires de frouche-comité.2007).

**[68]** ALJAWISHA., Fonctionnalisation enzymatique du chitosane par des composés phénoliques : évaluation des propriétés biologiques et Physico-chimiques de ces nouveaux biopolymères, thèse de doctorat (Université de Lorraine,2013).

**[69]** ARAREM, F. Synthèse et caractérisation de biopolymères. Application au piégeage de colorants. Mémoire de magister (Université d'oran,2010).

**[70]** H. Maachou. Synthèse et caractérisation d'un échafaudage biocomposite d'hydroxyapatite/chitosane par vioe biomimétique : usage orthopédique. Mémoire de Magister en Génie des procédés. (Université de Médéa.2005).

**[71]** CG. Gini .PM. Badot et E. Guibal. Chitine et chitosane : Du biopolymère à L'application. Préface de George A. F. Roberts Presses (Universitaires de Frouche-comité.2007).

**[72]** Kumar (2000).

**[73]** OBEID, L. Synthèse et caractérisation de matériaux magnétiques pour l'adsorption de polluants présents dans les eaux. Thèse de doctorat (Université pierre et marie curie,2014)

**[74]** Kim I-Y., Seo S-J, Moon H-S.,Yoo M-K., Park I-Y., K Kim B-C., et Cho C-S..biotechnol. Advances .26, (2007).

**[75]** Chen S., Liu M., JinS., Wang B. Inter.J.Pharm.,349 (2007).

**[76]** Guo B-L, et Gao Q-YCarbohydr.Res.,342,(2007).

**[77]** DuttaP.K. Ravikumar M.N.V.et Dutta J.J.Macromol.Sci.PaC.polym.Rev.42,307,(2002).

**[78]** Li, Q., E.T. Dunn, E. W. Grandmaison and M.F. A. Goosen, Goosen,M.F.A(ed), Technomic publishing Co., Lancaster,(1997).

**[79]** Y.J.M. Montgomery, Consulting engineers, INS: Water traitement principals and designs, Ed. J. Wiley & Sons, New York, (1985).

**[80]** W.J. Jr. Weber, P.M. Mc Ginley, L.E. Katz, Water Res, p. 499-528, (1991)

**[81]** R. Calvet, M. Terce, J.C. Arvieu, Ann. Agron, p. 385-427, (1980)

**[82]** M.A. Ferro-Garcia, J. Rivera-Utrilla, I. Bantista-Toledd, A.C. Moreno-Castilla, Langmuir 14 (1998), (1880-1886).

**[83]** R. Calvet, M. Terce, J.C. Arvieu, Ann. Agron, p. 33-62, (1980).

**[84]** W.J. Weber, B.M. Vanvliet, In: Activated carbon adsorption of organic from the aqueous phase, Ed. I.H. Suffet, M.J. Mc Guire1

**[85]** N. Yahiaoui, Thèse Etude de l'adsorption des composés phénoliques des margines d'olive sur carbonate de calcium, hydroxyapatite et charbon actif, (Université Mouloud Hammeri, Tizi Ouzou, 2012).

**[86]** Ayhan Damirbas, heavy metal adsorption onto agro-based waste materials: A review, Journal of Hazardous Materials 157,220-229 (2008).

**[87]** K. Kadirvelu, J.Goel, C. Rajagopal, Sorption of lead, mercury and cadmium ions in multi-component system using carbon aerogel as adsorbent JHazard.Mater.153,502-507. (2008).

**[88]** Elmyre Clervil Projet de Fin d'Etudes Synthèse de littérature sur l'utilisation de biosorbants pour l'épuration des effluents liquides chargés en polluants organiques et minéraux.

**[89]** Mme Khalfaoui Amel épouse derbal. Etude expérimentale de l'élimination de polluants organiques et inorganiques par adsorption sur des matériaux naturels :application aux peaux d'origine et de banane. Thèse du doctorat en science sengenie des procèdes.

**[90]** Kahina, B. & LEHLLALI, S. Etude de phénomène d'adsorption de bleu de méthylène sur les coquilles des amandes. (2017).

**[91]** Swiatkowski A., Pakula M.,Biniak S.,Walczk M., Influence of the surface chemistry of modified activated carbon on its electrochemical behavior in the presence of lead(II) ions,carbon,Vol.42,pp.3057-3069(2004).

**[92]** MatheickalJ.T.,YuQ.,WoodburnG.M.,"Biosorption of cadmium(II)from aqueous solutions by pre-treated biomass of marine alga Durvillaaeapotatorum"Water Research,Vol.33,pp.335-342(1998).

**[93]** https://fr.wikipedia.org/wiki/Spectroscopie_infrarouge_%C3%A0_transform%C3%A9e_de_Fourier.

**[94]** Onesippe C. Etude des systèmes polyélectrolytes/Tensioactif en phase aqueuse et l'interface liquide/gaz. Application à l'élaboration de micro – capsules. Thèse de doctorat, Ecole Doctorale : Science chimiques et physique,Université de Montpellier II, France (2005).

**[95]** Singthonga, J., Cuib, S.W. Ningsanonda,, S. Goff, H.D. Structural characterization, degree of esterification and some geeling properties of Krueo Ma Noy (Cissampelospareira) pectin», Carbohydrate Polymers, page 391-400 (2004).

**[96]** J. de Souza, J. R. R. et al. Chitosan-coated pectin beads: Characterization and in vitro release of mangifer in. Food Hydrocoll. 23, 2278–2286 (2009).

**[97]** N. Merpiseldin, M.Armida , H. Lukman et A. Sabarudin. Preparation of chitosan beads using Tripolyphosphate and ethylene glycol diglycydyl ether as crosslinker for cr (VI) adsorption. Chemistry and chemical technology, vol:10, No:1, (2016).

**[98]** BEN MAHIEDDINE; A ; KADDOUR ;H ; Elimination des métaux lourds par de nouvelles formes de biosorbants à base de biopolymères (2016).

**[99]** N. MOKRANI Préparation et étude du comportement de membranes biopolymères alginate de sodium/chitosane, Mémoire de Magister. ( Université de Boumerdes.2013).

**[100]** AMMOUR A « préparation d'une solution tampon ». Conception, réalisation et mise à jour du site: Conseiller National "Communication" 18 rue Chevreul, 94600 Choisy Le Roi. Amar.ammour@snptes.org. (janvier 2016).

**[101]** https://fr.wikipedia.org/wiki/Nystatine

**[102]** https://fr.wikipedia.org/wiki/Spectroscopie_ultraviolet-visible