

N° d'ordre:

**UNIVERSITE DE REIMS - CHAMPAGNE ARDENNE
ECOLE DOCTORALE : SCIENCES EXACTES ET BIOLOGIE**

THESE

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR

Discipline: Chimie des Matériaux

Présentée et soutenue publiquement par

Nugraha Edhi SUYATMA

**DEVELOPPEMENT DE FILMS BIODEGRADABLES A BASE DE
CHITOSANE: Etudes du Mélange Chitosane/PLA, de la Plastification et de
la Compatibilisation**

Soutenue le **16 juin 2006** devant le jury composé de:

Nathalie GONTARD	Professeur, Université de Montpellier II	Rapporteur
Alain DOMARD	Professeur, Université Claude Bernard, Lyon	Rapporteur
Jean-Luc AUDIC	Maître de Conférence, Université de Rennes I	Examineur
Serge BOURBIGOT	Professeur, ENSC Lille	Examineur
M.A. Wirakartakusuma	Professeur, Bogor University, Indonesia	Examineur
Alain COPINET	Maître de Conférence, ESIEC Reims	Co-directeur
Lan TIGHZERT	Professeur, ESIEC Reims	Directeur

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au sein du Centre d'Etudes et de Recherche en Matériaux et Emballage (CERME) et a été effectué sous la direction de Madame Lan Tighzert, Professeur à l'ESIEC, Directrice du CERME et Directrice de thèse et de Monsieur Alain Copinet, Maître de Conférence à l'ESIEC, Co-directeur de thèse. Je tiens à les remercier pour leur aide, leur disponibilité et leur encadrement au cours de ce travail.

Je remercie Madame le Professeur Nathalie Gontard de l'Université de Montpellier 1 et Monsieur le professeur Alain Domard de l'Université Claude Bernard Lyon d'avoir accepté de juger ce travail en tant que rapporteurs.

Je remercie le professeur Serge Bourbigot de l'ENSC Lille d'avoir accepté d'examiner ce travail et d'avoir également présidé mon jury de thèse.

Je remercie M. Aman Wirakartakusumah, Professeur de l'Institute Agronomique de Bogor - Indonésie et actuellement Ambassadeur de la République Indonésie pour l'UNESCO et M. Jean-Luc Audic, Maître de conférence de l'Université de Rennes 1 d'avoir accepté d'examiner ce travail.

J'adresse mes vifs remerciement au professeur Yves Couturier (l'ancien directeur du CERME) pour m'avoir permis de travailler au CERME-ESIEC et pour son aide précieuse depuis mon arrivée à Reims et ses corrections de mon manuscrit de thèse.

Je remercie l'Ambassade de France en Indonésie, Service de la coopération et la culturelle et le CROUS de Reims d'avoir soutenu financièrement mes études. Mes remerciements s'adressent également à Mesdames Sylvie Periquet et Agnes Copin-Bordereau.

Je tiens à remercier à Messieurs Patrice Dole, Philip Delloque, Jean-Baptiste Nollot et Sebastien Rondot et à Mesdames Florence Fricoteaux, Nathalie Choiselle, et Véronique Aigué pour leur aide technique.

Mes remerciements s'adressent également à tous les collègues (thésards et post-doctorants du CERME notamment Ahmed, Antoine, Manue, Fred, et Emmanuel), qui ont fait que ce travail se passe dans une bonne ambiance. Une pensée sincère pour Ahmed Tara et Boussad Abbas qui deviennent "mes frères" et sont toujours disponibles pour me donner un coup de main. Un grand merci aux messieurs Ayad et Hadjadj pour leur aide.

Je veux enfin remercier mon épouse Wiwik et mes enfants Afa et Zaki, avec qui je partage ma vie, et mes parents dont le soutien fut très important pendant des périodes difficiles.

SOMMAIRE

ABREVIATIONS	i
LISTE DES FIGURES	iii
LISTE DES TABLEAUX	vii
TRAVAUX RELATIFS A CETTE ETUDE	ix
INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I - SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	4
I. Les Bioemballages Comestibles et Biodégradables	4
I.1. Définition	6
I.2. Classification des biopolymères d'origine naturelle	7
I.2.1. Biopolymères issus d'agro-ressources.....	8
I.2.1.1. Les polysaccharides	8
I.2.1.1.a. La cellulose	8
I.2.1.1.b. L'amidon	9
I.2.1.2. Les protéines	11
I.2.1.3. Lipides/grasses	11
I.2.2. Les polysaccharides issus du déchet industriel des produits de la mer.....	12
I.2.3. Les polymères produits par les micro-organismes (PHA, PHB)	12
I.2.4. Poly(acide lactique) (PLA)	13
II. La Chitine et Le Chitosane	17
II.1. La Chitine	17
II.2. Le Chitosane	21
II.2.1. Production de chitosane à partir de la chitine (Processus de déacétylation)	23
II.2.2. Propriétés physico-chimiques.....	23
II.3. Applications générales de la chitine et du chitosane	24
II.4. Application du chitosane en tant que bioemballage	26
III. Chitosane en tant que bioemballage actif.....	28
III.1. Définition des emballages actifs	28
III. 2. Les films d'emballages anti-microbiens	29
III.3. Activité anti-microbienne du chitosane.....	31
III.3.1. Activité bactériostatiques du chitosane	32
III.3.2. Activités fongistatiques	33

III.4. Fabrication du film de chitosane par voie humide (casting)	35
III.4.1. Effet de la méthode de séchage	35
III.4.2. Effet des solvants utilisés	35
III.4.3. Effet du degré de déacétylation et de la masse molaire du chitosane	36
III.4.4. Effet des plastifiants	37
III.4.4.1. Généralités sur les plastifiants	37
III.4.4.2. Plastification du chitosane	39
IV. Les Mélanges Chitosane/Polymères Biodégradables	40
IV.1. Les Critères de miscibilité des mélanges de polymères	40
IV.1.1 – Comportement mécanique des mélanges	41
IV.1.2 – Déplacement des transitions thermiques	41
IV.1.3 – Observation microscopique des mélanges	43
IV.2 – Les mélanges chitosane/polymères biodégradables	43
CHAPITRE II - MATERIELS ET METHODES	45
1. Matières premières	45
1.1. Matériaux	45
1.2. Produits chimiques	45
2. METHODES EXPERIMENTALES	46
2.1. Fabrication des films de chitosane pur	47
2.2. Fabrication des films de PLA pur	48
2.3. Fabrication des films du mélange chitosane/PLA	48
2.4. Greffage du chitosane avec le PLA	49
2.4.1. Synthèse du chitosane-g-PLA par polymérisation d'ouverture de cycle (ROP) selon la méthode de Kim et al (2002)	49
2.4.2. Synthèse du chitosane-g-PLA par greffage direct selon la méthode de Qu et al (1999)	50
2.5. Plastification du chitosane	50
2.6. Compatibilisation du mélange chitosane/PLA	51
3. METHODES D'EVALUATIONS	52
3.1. Epaisseur des films obtenus	52
3.2. Teneur en eau	53
3.3. Propriétés mécaniques	53

3.4. Caractérisation des films par spectroscopie IRTF.....	54
3.5. Analyse thermique différentielle (DSC)	54
3.6. Mesure de perméabilité à la vapeur d'eau	55
3.7. Angle de contact par la goniométrie	56
3.8. Absorption d'humidité.....	57
3.9. Test de solubilité et rendement du greffage	58
3.10. Microscopie Electronique à Balayage (MEB)	58
3.11. Analyse des données	59
CHAPITRE III - RESULTATS ET DISCUSSION	60
PARTIE I - ETUDES DU MELANGE CHITOSANE/PLA	60
A. Effet des deux solvants du PLA sur les propriétés mécaniques et barrière à la vapeur d'eau: Etude Préliminaire	60
A-1. Propriétés thermiques et spectroscopie IR-TF	60
A-2. Propriétés mécaniques.....	67
A-3. Perméabilité à la vapeur d'eau.....	68
A-4. Conclusions	71
B. Etude de la compatibilité des mélanges chitosane/PLA.....	72
B-1. Analyse par spectroscopie IR-TF	72
B-2. Propriétés mécaniques.....	74
B-3. Propriétés thermiques	76
B-4. Perméabilité à la vapeur d'eau et sensibilité à l'humidité.....	78
B-5. Observation par microscopie électronique à balayage (MEB).....	80
B-6. Conclusion.....	83
PARTIE II - PLASTIFICATION DU CHITOSANE	84
1. Introduction	84
2. Propriétés mécaniques et teneur en humidité dans les films	84
2. Propriétés thermiques.....	90
3. Propriétés de surface et absorption d'humidité.....	92
4. Analyse par spectroscopie Infra Rouge à Transformée de Fourier.....	96

5. Conclusion.....	97
PARTIE III - CHITOSANE GREFFE PLA.....	99
1. Introduction	99
2. Essais de solubilité et rendement du greffage	100
3. Caractérisation par spectroscopie IR-TF.....	100
4. Propriétés thermiques.....	102
5. Conclusion.....	105
PARTIE IV - COMPATIBILISATION DES MELANGES CHITOSANE/PLA	106
1. Introduction	106
2. Analyse par spectroscopie Infra Rouge à Transformée de Fourier.....	108
3. Observation par microscopie électronique à balayage (MEB).....	111
4. Propriétés thermiques par analyse enthalpique différentielle (DSC)	114
5. Propriétés mécaniques.....	117
6. Conclusion.....	119
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVE	120
Conclusion.....	120
Perspectives	121
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	123

LISTE DES ABREVIATIONS

AA = Acide acétique
ACN = acétonitrile
AL = Acide lactique
BTP = bâtiments et travaux publics
CMC = Carboxyméthyl Cellulose
DA = degré d'acétylation
DCM = Dichlorométhane
DD = degré de déacétylation
DMSO = Diméthylsulfoxyde
DMTA = Analyse thermomécanique dynamique
DSC = Calorimétrie différentielle (Differential scanning calorimetry)
E = Module d'Young ou module d'élasticité
EG = Ethylène Glycol
EtOH = Ethanol
EVOH = Copolymère éthylène et alcool polyvinylique
GLY = Glycérol
HLB = Balance hydrophile-lipophile
HPMC = HydroxyPropyl MéthylCellulose
HR = Humidité Relative
IC = Indice de cristallinité
IR-TF = Infra Rouge à Transformée de Fourier
MC = Méthyl Cellulose
MDI = 4,4'-méthylènebis (phénylisocyanate)
MEB = Microscopie électronique à balayage
MEC = Méthyléthylcétone
OPP = Polypropylène Orienté
PA = PolyAmide
PCL = Poly(ϵ -caprolactone)
PEBD = Poly Ethylène de Basse Densité
PEG = Poly(Ethylène Glycol)
PEHD = Polyéthylène de Haute Densité
PET = PolyEthylène Téréphtalate

PG = Propylène Glycol
PHA = Poly(Hydroxy Alcanoate)
PHB = Poly(Hydroxy Butyrate)
PHB/V = Poly(3-hydroxybutyrate)-co-(3-hydroxyvalérate)
PHV = Poly(Hydroxy Valérate)
PLA = Poly(acide lactique)
PP = PolyPropylène
PS = PolyStyrène
PVC = Poly(Vinyl Chloride)
ROP = Polymérisation par ouverture de cycle
TDBL = Dibutyl laurate d'étain
THF = Tétrahydrofurane
WVP = Perméabilité à la vapeur d'eau
WVTR = vitesse de transmission de la vapeur d'eau

Unités et symboles:

θ = angle de contact
 ϕ = fraction volumique
 ε_r = allongement à la rupture
 σ_r = contrainte à la rupture
 a_w = activité d'eau
h = heure
j = jour
min = minutes
o = huile (oil)
o/w = l'huile dans l'eau (oil in water)
s = second
 T_b = température d'ébullition
 T_{deg} = Température de dégradation thermique
 T_g = Température de transition vitreuse
w = masse (weight)

LISTES DES FIGURES

Figures du Chapitre I:

Figure 1. Répartition de la consommation des plastiques en France par grands domaines d'utilisation (Duval, 2004).....	4
Figure 2. Modes d'élimination des déchets plastiques en France (Duval, 2004).....	5
Figure 3. Le cycle du carbone d'un polymère biodégradable (Taranathan, 2003)	5
Figure 4. Polymères biodégradables potentiellement utilisés pour l'emballage comestible ou biodégradable	8
Figure 5. Représentation schématique d'une chaîne de cellulose	9
Figure 6. Structure chimique de l'amylopectine et de l'amylose	10
Figure 7. Structure chimique du PHA, PHB et PHV	12
Figure 8. Synthèse d'acide lactique à partir d'amidon	14
Figure 9. Procédé de la fabrication de chitine et chitosane	20
Figure 10. Comparaison des structures de la chitine, du chitosane et de la cellulose	22
Figure 11. Développement de <i>S. aureus</i> (après 10 j); <i>L. monocytogenes</i> (après 4 j), <i>P. aeruginosa</i> (après 2 j) et <i>A. Niger</i> (après 10 j) sur un milieu de culture gélosé: A) avec l'enrobage du chitosane, B) sans l'enrobage du chitosane	35
Figure 12. Schématisation du mécanisme de plastification à l'échelle moléculaire	38
Figure 13. Sources de volume libre utilisées pour la plastification (Verrier, 2005).....	39

Figures du Chapitre II:

Figure 1. Préparation des films de chitosane pur (A), de PLA (B) et leur mélange (C) selon la méthode de Olabarieta <i>et al</i> (2001).....	48
Figure 2. (A) Synthèse du copolymères de chitosane-g-PLA par polymérisation par ouverture de cycle (ROP) et (B) par le greffage direct	50
Figure 3. Processus de la fabrication des films par casting. (A) chitosane plastifié, (B) compatibilisation du mélange chitosane/PLA, et (C) plastification et compatibilisation du mélange chitosane/PLA.....	52
Figure 4. Eprouvette des tests de traction de type H3	54

Figure 5. Schéma de mesure de la perméabilité à la vapeur d'eau	56
Figure 6. Schématisation de la mesure d'angle de contact.....	58

Figures Chapitre III:

Figure 1. Thermogrammes des films obtenus au premier balayage en DSC pour les mélanges chitosane/PLA : (1) 0/100 (avec Chlor), (2) 0/100 (avec ACN), (3) 90/10 (avec Chlor), (4) 95/5 (avec Chlor), (5) 90/10 (avec ACN), (6) 95/5 (avec ACN), et (7) 100/0	61
Figure 2. Spectres IR-TF du film PLA préparé avec l'acétonitrile (1) et le chloroforme (2)..	63
Figure 3. Spectres IR-TF des films du mélange chitosane/PLA: (1) 100/0 (chitosane pur), (2) 95/15 (avec ACN), (3) 90/10 (avec ACN), (4) 95/5 (avec chlor), (5) 90/10 (avec chlor).....	64
Figure 4. Température de transition vitreuse obtenue au deuxième balayage en DSC pour les mélanges de chitosane/PLA : (1) 0/100 (avec Chlor), (2) 0/100 (avec ACN), (3) 90/10 (avec Chlor), (4) 95/5 (avec Chlor), (5) 90/10 (avec ACN), (6) 95/5 (avec ACN), et (7) 100/0.....	66
Figure 5. Température de transition vitreuse du chitosane obtenue par l'analyse DSC (Sakurai <i>et al</i> , 2000).	67
Figure 6. Perméabilité à la vapeur d'eau (WVP) des films du mélange chitosane/PLA préparés avec l'acétonitrile (—) et le chloroforme (- - -) comme solvant pour le PLA.	70
Figure 7. Spectres IR des films de Chitosane pur (A); de mélange chit/PLA: 90/10 (B), 80/20 (C), 70/30 (D) et de PLA pur (E).	73
Figure 8. Propriétés mécaniques du mélange chitosane/PLA en fonction du pourcentage de PLA. (A) Contrainte à la rupture, (B) Allongement à la rupture et (C) Module d'Young.....	74
Figure 9. Comparaison des modules d'élasticités expérimentaux avec les prédictions théoriques (--) modèle parallèle, (---) modèle série, et (—) modèle de Davies	75
Figure 10. Température de transition vitreuse obtenue au deuxième balayage en DSC pour les mélanges de chitosane/PLA : (1) 100/0, (2) 90/10, (3) 80/20, (4) 70/30, (5) 0/100.....	76
Figure 11. Thermogrammes DSC obtenus lors du premier balayage pour les mélanges de chitosane/PLA : (1) 100/0, (2) 90/10, (3) 80/20, (4) 70/30, (5) 0/100.	78

Figure 12. Cinétique d'absorption et perméabilité à la vapeur d'eau (WVP) en fonction du contenu de PLA.	79
Figure 13. Courbes typiques de l'évolution de l'angle de contact entre une goutte d'eau distillée et la surface des films chitosane/PLA: 100/0 (●), 90/10 (Δ), 80/20 (◇), 70/30 (o) et 0/100 (+).	80
Figure 14. Micrographie MEB de la surface du film contenant 20% de PLA.	81
Figure 15. Cliché des gouttelettes de l'huile de colza dans la solution de chitosane (1%) dans HCl 0,1M avec le rapport de huile/solution de chitosane = 20/80 (w/w). Le chitosane utilisé possède du DD 95% (Rodriguez <i>et al.</i> , 2002).	82
Figure 16. Courbes contrainte-déformation des films de chitosane plastifié stockés pendant 3 semaines (23°C et 50% HR).	85
Figure 17. Courbes de contrainte-déformation des films de chitosane plastifié stockés pendant 20 semaines (23°C et 50% HR).	86
Figure 18. Thermogrammes des films contenant 20% de plastifiants, obtenus au deuxième balayage en DSC.	91
Figure 19. a) Température de la transition vitreuse (T_g) et b) Température de dégradation (T_{deg}) en fonction de la teneur des plastifiants: (1)GLY, (2)EG, (3)PEG et (4)PG. Les pentes sont calculées par le modèle de régression linéaire.	92
Figure 20. Thermogrammes des films contenant 20% de plastifiants, obtenus au premier balayage en DSC.	93
Figure 21. a) Angle de contact des films plastifiés avec GLY et EG; b) Angle de contact des films plastifiés avec PEG and PG. Les lignes continues et discontinues représentent respectivement le stockage pendant 3 et 20 semaines.	94
Figure 22. Absorption d'humidité des films non plastifiés et plastifiés avec 20% de plastifiants: a) GLY, EG; b) PEG, PG, en fonction de la durée d'exposition. Les lignes continues et discontinues représentent respectivement le stockage pendant 3 et 20 semaines.	95
Figure 23. Absorption d'humidité en équilibre des films exposés à 98% HR. Les lignes continues et discontinues représentent respectivement le stockage pendant 3 et 20 semaines.	96
Figure 24. Spectres IR-TF du film chitosane pur (a), du film chitosane plastifié avec 20% de EG (b), PG (c), GLY (d) et PEG (e), après le stockage pendant 20 semaines.	97
Figure 25. Spectres IR-TF de chitosane (A), de chit-g-PLA par le greffage direct (B) et de D,L-acide lactique (C).	101

Figure 26. Spectre IR de chitosane (A), de chit-g-PLA par ROP (B) et de L-lactide (C).....	102
Figure 27. Thermogrammes DSC lors du premier balayage du chitosane pur (1), du copolymère chit-g-PLA par greffage direct (2) et du copolymère chit-g-PLA par ROP (3).	103
Figure 28. Thermogrammes DSC lors du deuxième balayage du chitosane pur (1), du copolymère chit-g-PLA par greffage direct (2) et du copolymère chit-g-PLA par ROP (3).	104
Figure 29. A) Addition de 4,4'- méthylènebis(phénylisocyanate) (MDI) sur le PLA et B) les réactions possibles de la compatibilisation du mélange chitosane/PLA avec MDI.	107
Figure 30. Spectres IR-TF des films de chitosane pur (A); de mélange chit/PLA: 90/10 (B), 90/10 + 0,5% MDI (C), 90/10 + 2,5% MDI (D) et de PLA pur (E).	109
Figure 31. Spectres IR-TF des films de chitosane pur (A); de mélange chit/PLA: 80/20 (B), 80/20 + 0,5% MDI (C), 80/20 + 2,5% MDI (D) et de PLA pur (E).	109
Figure 32. Micrographies MEB sur la surface (face évaporation) des films contenant 20% de PLA: (A) sans MDI, (B) avec 0,5% MDI et (C) avec 2,5% MDI.....	112
Figure 33. Réaction parasite entre le MDI et l'eau (D'après Wang <i>et al.</i> , 2002b).....	113
Figure 34. Thermogrammes DSC obtenus au premier balayage pour les mélanges chit/PLA: (1)0/100 ou PLA pur, (2)90/10, (3)80/20, (4)90/10 + 0,5% MDI, (5)90/10 + 2,5% MDI, (6)80/20 + 0,5% MDI, (7)80/20 + 2,5% MDI, (8)100/0 ou chitosane pur.	114
Figure 35. Thermogrammes DSC obtenus au deuxième balayage pour les mélanges chit/PLA: (1)0/100 ou PLA pur, (2)90/10, (3)80/20, (4)90/10 + 0,5% MDI, (5)90/10 + 2,5% MDI, (6)80/20 + 0,5% MDI, (7)80/20 + 2,5% MDI, (8)100/0 ou chitosane pur.	116
Figure 36. Comparaison de l'allongement (A) et de la contrainte à la rupture (B) des mélanges chitosane/PLA sans MDI (a) et des mélanges compatibilisés avec 0,5% (b) et 2,5% (c) de MDI.	117
Figure 37. Modules d'élasticité des mélanges chitosane/PLA sans MDI (•) et des mélanges compatibilisés avec 0,5% (Δ) et 2,5% (◇) de MDI comparés avec des modules théoriques pour le mélange compatible.....	118

LISTE DES TABLEAUX

Tableaux du Chapitre I:

Tableau 1. Propriétés des emballages biodégradables et comestibles	7
Tableau 2. Propriétés mécaniques de quelques polymères	15
Tableau 3. Contenu approximatif de la chitine dans diverses espèces vivantes	18
Tableau 4. Propriétés du chitosane et ses principales applications.....	27
Tableau 5. Actions et types des emballages actifs	28
Tableau 6. Antimicrobiens incorporés directement dans le polymère pour les emballages agro-alimentaires.....	30
Tableau 7. Antimicrobiens immobilisés dans un support polymère.....	30
Tableau 8. Effet des acides dilués (1%, v/v) sur les propriétés des films de chitosane	36
Tableau 9. Mélanges : chitosane/polymères biodégradables	44

Tableaux du Chapitre II:

Tableau 1. Propriétés des plastifiants utilisés	46
Tableau 2. Solubilisation du PLA (0,5 g) dans des solvants organiques	47

Tableaux du Chapitre III:

Tableau 1. Propriétés thermiques du mélange chitosane/PLA.....	62
Tableau 2. Principales bandes d'absorption en infrarouge caractéristiques du PLA.....	62
Tableau 3. Calcul de l'indice de cristallinité des films de PLA à partir des spectres IR-TF...	63
Tableau 4. Calcul de l'indice de cristallinité des films du chitosane pur et du mélange chitosane/PLA à partir des spectres IR-TF	65
Tableau 5. Principales bandes d'absorption des films chitosane et composites.....	65
Tableau 6. Propriétés mécaniques du mélange chitosane/PLA.....	68
Tableau 7. Perméabilité à la vapeur d'eau (WVP) des films obtenus aux différentes humidités	69
Tableau 8. Effets de la plastification sur la teneur en humidité (H), la contrainte à la rupture (σ_r) et l'élongation à la rupture (ϵ_r) des films de chitosane.....	87
Tableau 9. Taux d'évaporation des plastifiants à différentes températures (écart type entre parenthèses).....	89

Tableau 10. Solubilité des copolymères chitosane-g-PLA obtenus par le greffage direct (GD) et par ROP.....	100
Tableau 11. Propriétés thermiques et indice de cristallinité du chitosane et des deux copolymères chit-g-PLA obtenus par greffage direct et par ROP	103
Tableau 12. Indice de cristallinité calculé à partir des spectres IR-TF	111
Tableau 13. Propriétés thermiques du mélange chitosane/PLA sans et avec MDI.....	115

Ce travail de thèse a donné lieu à diverses publications et communications:

Publications:

Nugraha E. Suyatma, Lan Tighzert, Alain Copinet, and Véronique Coma. **2005**. Effects of Hydrophilic Plasticizers on Mechanical and Surface Properties of Chitosan Films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (10), 3950-3957.

Nugraha E. Suyatma, Alain Copinet, Lan Tighzert, Véronique Coma. **2004**. Mechanical and Barrier Properties of Biodegradable Films Made from Chitosan and Poly(acid lactic) Blends. *Journal of Polymers and the Environment*, Vol. 12, No. 1, 1-6.

Communications avec Comité de Lecture et Actes:

Nugraha E. Suyatma, Lan Tighzert, and Alain Copinet. **2005**. Improvement of Mechanical Properties of Chitosan Films through Plasticization with Glycerol, EG, PEG, and PG: Investigation on Efficiency and Stability (partially published at *J. Agric. Food. Chem*, 53 (10), 3950-3957). *Proceedings of the 10th International ISSM. Paris, France, 30 Septembre - 1 Octobre 2005*.

Nugraha E. Suyatma, Alain Copinet, and Lan Tighzert. **2003**. Mechanical and Barrier Properties of Chitosan blended with Poly(lactic acid) (PLA): effects of the used solvents for PLA. *EUROPEAN SYMPOSIUM - POLYMERIX 2003 : « Biopolymers : Health. Cosmetic and Food Applications », 21-22 mai 2003, Rennes, France. p. 163-172*.

Nugraha E. Suyatma, Alain Copinet, and Lan Tighzert. **2003**. Synthesis of Chitosan-graft-poly(lactic acid) copolymers by Direct Grafting and Ring Opening Polymerization. *Proceedings of the 8th International ISSM. Delft University of Technology, The Netherlands, 9-10 October 2003. p. 29-34*.

Prix Obtenu:

PRIX MAHAR SCHÜTZENBERGER 2004 délivré par l'AFIDES (Association Franco-Indonésienne pour le Développement des Sciences), à Paris, le 30 juin 2004.

- *Travaux relatifs à cette étude* -

Introduction Générale

INTRODUCTION

De par leurs bonnes propriétés mécaniques, leur faible coût, leurs grandes cadences de fabrication et leur grande souplesse d'emploi, l'utilisation des plastiques synthétiques d'origine pétrochimique a augmenté intensivement ces dernières années. Ainsi, au moins 50% des produits agro-alimentaires en Europe sont emballés dans un matériau plastique. Néanmoins, la grande stabilité physico-chimique des plastiques synthétiques pose un réel problème d'élimination en fin de vie. Aujourd'hui ces matières représentent environ 30% du volume des déchets solides municipaux, en raison de leur faible densité par rapport aux métaux ou au verre. Il existe plusieurs voies pour diminuer les déchets dus aux emballages plastiques. D'abord l'incinération, mais cela produit l'émission importante de CO₂ et certains matériaux peuvent conduire au dégagement de gaz toxiques comme le PVC; ensuite le recyclage mais il n'est malheureusement pas possible de recycler indéfiniment car les propriétés mécaniques diminuent à chaque recyclage. De plus, il y a des difficultés de collecte, de tri et de recombinaison à cause des sources de plastiques très variées. Enfin l'enfouissement mais ce n'est pas efficace car les plastiques pétrochimiques ne sont pas biodégradables. De ce fait, il faudrait alors créer et développer de nouveaux matériaux d'emballage respectueux de l'environnement, dits « éco-emballages ».

En ce qui nous concerne, nous nous intéresserons à valoriser les emballages biodégradables à base de chitosane. Le chitosane est un polymère naturel dérivé de la chitine. Commercialement, la chitine et le chitosane sont obtenus à partir des carapaces de crevettes, de crabes ou de homards présents dans les déchets de l'industrie de la pêche. Le chitosane a suscité beaucoup d'attention pour sa biodégradabilité en environnement, pour sa biocompatibilité et pour ses activités bactériostatiques et fongistatiques. Ce matériau est filmogène, on peut donc fabriquer un film sans utiliser des additifs. De plus, le film de chitosane possède de bonnes propriétés barrière aux gaz et de bonnes propriétés mécaniques (sauf l'élasticité). Grâce à ces qualités, de nombreuses études ont été effectuées sur les applications du chitosane pour conserver ou pour prolonger la durée de vie de certains produits agro-alimentaires, parmi lesquels nous pouvons citer: les fruits et légumes, la viande, et les fruits de mer. Ces études montrent qu'il est possible d'utiliser le chitosane comme matériau d'emballage actif.

Toutefois, il existe des limitations pour l'utilisation du chitosane dans l'emballage. En effet, il est sensible à la vapeur d'eau en raison de sa capacité de former un grand nombre de liaisons hydrogène (deux fonctions hydroxyles et une fonction amine par motif de répétition) et il est également dur ou cassant. Par ailleurs, du point de vue économique, le prix de ce matériau est relativement élevé malgré sa fabrication à partir de déchets industriels.

Pour pallier ces inconvénients, quelques stratégies ont été réalisées comme la modification chimique du chitosane ou l'association du chitosane avec d'autres polymères biodégradables issus des ressources renouvelables (pectine, cellulose, amidon) ou avec des polymères d'origine pétrochimique: poly (ϵ -caprolactone) (PCL), poly (hydroxy butyrate) (PHB) et poly (hydroxy butyrate-co-valérate) (PHBV),... . L'association du chitosane et d'un polyester biodégradable comme le PCL a montré une voie prometteuse pour améliorer la propriété barrière à la vapeur d'eau et l'élasticité du chitosane.

Dans cette étude, nous nous intéresserons à l'utilisation d'un polyester biodégradable qui n'a pas encore été étudié et exploité en association avec le chitosane. C'est le PLA, polyester naturel issu de ressources renouvelables. Ce matériau présente une bonne propriété barrière à la vapeur d'eau, des propriétés mécaniques assez voisines de celles des polymères d'origine pétrochimique comme le polystyrène, une grande disponibilité sur le marché, enfin un faible coût de son monomère l'acide lactique.

L'utilisation du PLA pourrait donc résoudre les problèmes rencontrés dans l'application du chitosane. D'une part, il pourrait améliorer les propriétés barrière et modifier les propriétés mécaniques du chitosane, d'autre part l'incorporation du PLA pourrait diminuer le prix du matériau final. De plus, nous pourrions réaliser un mélange des matériaux issus de ressources 100 % renouvelables.

Ce mémoire est structuré en trois chapitres:

Le **Premier Chapitre** sera consacré à l'étude bibliographique sur les bioemballages comestibles et biodégradables, le matériau du chitosane, sa capacité en tant que bioemballage actif et ses mélanges avec d'autres polymères biodégradables. Puis, le **Deuxième Chapitre** présentera les matériels et les méthodes expérimentales.

Le **Chapitre III - Partie 1** concernera la recherche des conditions optimales pour mélanger le chitosane et le PLA. Tout d'abord nous chercherons un système solvant pour solubiliser les deux polymères permettant une mise en forme dans des conditions optimales.

Le comportement thermique et mécanique des mélanges, à différentes compositions, permettra également d'appréhender la compatibilité entre les deux polymères et leur développement potentiel.

Dans le **Chapitre III - Partie 2**, nous allons discuter sur la plastification du chitosane pur. Selon l'étude bibliographique, il est nécessaire de déterminer les taux de plastifiants et la stabilité du matériau pendant l'utilisation ou le stockage afin de connaître l'efficacité d'un plastifiant. Ainsi, cette partie aura pour but d'identifier les plastifiants appropriés pour le chitosane. Puis dans le **Chapitre III-Partie 3**, nous présenterons le greffage du PLA sur la chaîne de chitosane. L'objectif de ce travail est de modifier la structure du chitosane entraînant une variation des propriétés physico-chimiques du chitosane, notamment de la sensibilité à l'humidité. Le produit obtenu, le chitosane-g-PLA, pourrait être utilisé comme un agent de compatibilisation. Enfin, dans le **Chapitre III - Partie 4**, nous montrerons les résultats du mélange chitosane/PLA comportant un agent de compatibilisation.

Chapitre I

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Les Bioemballages Comestibles et Biodégradables

Les matières plastiques synthétiques, dérivées de la chimie du pétrole, ont transformé notre quotidien. On les retrouve dans de nombreux produits de consommation courante tels que les emballages, les bâtiments et les travaux publics (BTP), l'ameublement, le transport, le médical,.... comme illustré dans la Figure 1. En France, l'emballage est le premier domaine qui utilise le plastique, environ 38 % de la consommation française annuelle (5,4 millions de tonnes).

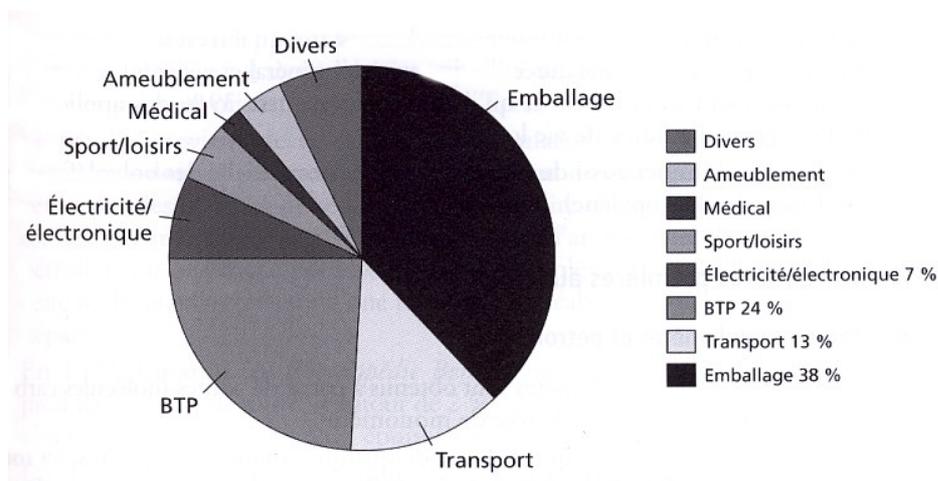


Figure 1. Répartition de la consommation des plastiques en France par grands domaines d'utilisation (Duval, 2004).

Cependant, la grande stabilité physique et chimique des emballages plastiques pose un réel problème de l'élimination de leurs déchets. D'après la Figure 2, la mise en décharge est majoritairement utilisée pour éliminer les déchets plastiques en France aujourd'hui, pourtant les plastiques ne sont pas biodégradables.

Dans ce contexte, l'élaboration de nouveaux emballages biodégradables ou comestibles constitue une alternative très intéressante afin de réduire le volume de déchets de matériaux d'emballage synthétiques. La caractéristique la plus intéressante des emballages à base de biopolymère est leur biodégradabilité. Le cycle du carbone d'un polymère biodégradable est présenté dans la Figure 3.

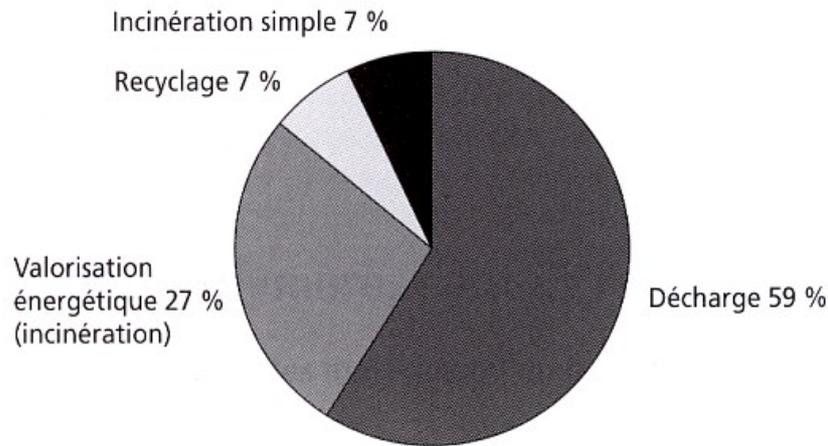


Figure 2. Modes d'élimination des déchets plastiques en France (Duval, 2004).

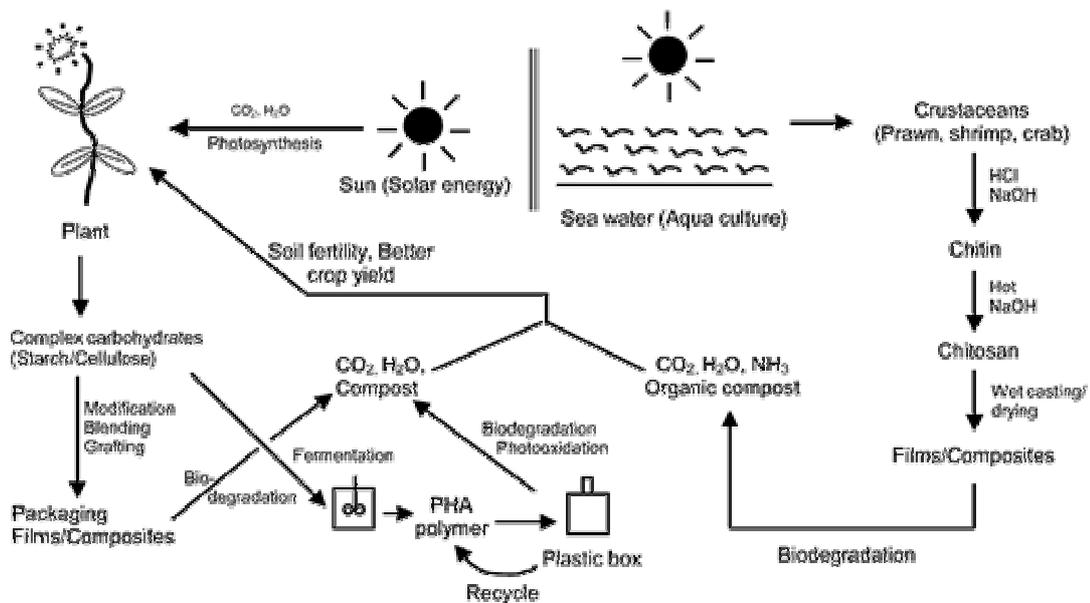


Figure 3. Le cycle du carbone d'un polymère biodégradable (d'après Tharanathan, 2003).

Le remplacement total du plastique synthétique par les bioemballages (films comestibles ou biodégradables) est presque impossible. Néanmoins, pour certaines applications spécifiques, un tel remplacement semble évident et utile. De plus, un tel remplacement par des biopolymères d'origine naturelle permet aussi de préserver la ressource pétrolière (Krochta et De Mulder-Johnston, 1997).

Le développement de l'emballage comestible et biodégradable n'est pas du tout nouveau. Les brevets sur les films comestibles pour prolonger la durée de conservation des

aliments remontent aux années 60 et portent sur les films pour la viande surgelée, la volaille et les fruits de mer en utilisant des alginates, des graisses, des gommes et des amidons (Bauer et al., 1968; Earle et Snyder, 1966; Earle, 1966). L'intérêt et l'activité de la recherche sur l'emballage biodégradable sont très intenses ces dernières années. Le film ou l'enrobage peut fournir un moyen supplémentaire et parfois un moyen essentiel de contrôler les changements physiologique, morphologique et physico-chimique des produits agro-alimentaires (Kittur, 1998). Le film de polyéthylène de haute densité (PEHD), matériau utilisé généralement pour conserver des aliments, a certains inconvénients : la fermentation due à la déplétion d'oxygène et la condensation de l'eau due à la fluctuation de la température de conditionnement. La condensation de l'eau provoque la croissance de champignons. L'utilisation d'un film ou d'un enrobage peut prolonger la durée de vie des produits agro-alimentaires. Les films comestibles, biodégradables et actifs peuvent contrôler l'échange de l'humidité entre le produit et le milieu environnant, la libération des agents chimiques tels que des antimicrobiens ou des antioxydants, la vitesse de respiration et la réduction de la pression partielle de l'oxygène dans un emballage qui va diminuer la vitesse de métabolisation. De plus, ils sont imperméables à certaines substances comme la graisse et l'huile et aussi peuvent contrôler la maturation des fruits (Krochta et Mulder-Hohnston, 1997).

I.1. Définition

D'une façon générale, un film comestible est défini comme une fine couche de matériau comestible déposée sur un aliment comme un enrobage ou disposée sur ou entre différents constituants alimentaires. Les principales fonctions du film ou de l'enrobage comestible sont de limiter les migrations de vapeur d'eau, de dioxygène, de dioxyde de carbone, d'arômes, *etc.*, d'améliorer l'intégrité mécanique de l'aliment et d'être éventuellement le porteur des ingrédients ou des additifs alimentaires comme l'antioxydant, l'antimicrobien et les saveurs (Gallo *et al.*, 1999). Dans le cas où le bioemballage ne fait pas partie intégrante de l'aliment et ne peut pas être consommé en même temps que l'aliment, mais élaboré à partir de biomolécules, il sera alors qualifié de film biodégradable dans la mesure où sa bioassimilation a été évaluée et confirmée.

Les performances des emballages à base de biopolymères restent cependant inférieures à celles des emballages synthétiques. Les principales propriétés barrière et

mécaniques des différents matériaux d'emballages biodégradables et comestibles sont présentées dans le Tableau 1.

Tableau 1. Propriétés des emballages biodégradables et comestibles (Krochta et De Mulder-Johnston, 1997).

Matériaux	Préparation des Films	Propriétés Barrière à		Propriétés Mécaniques ^c
		l'Humidité ^a	l'Oxygène ^b	
Films Biodégradables				
Cellophane	Suspension aqueuse	Modérées	Bonnes	Bonnes
Acétate de Cellulose	Extrusion	Modérées	Faibles	Modérées
Amidon/PVOH	Extrusion	Faibles	Bonnes	Bonnes
PHB/V	Extrusion	Bonnes	Bonnes	Modérées
PLA	Extrusion	Bonnes	Faibles	Bonnes
Films Comestibles				
Methyl Cellulose	H ₂ O-EtOH	Modérées	Modérées	Modérées
HPMC	H ₂ O -EtOH	Modérées	Modérées	Modérées
Amidon riche en amylose	H ₂ O	Faibles	Modérées	Modérées
Collagène	suspension aqueuse	Faibles	Bonnes	Modérées
Zein (Protéine de maïs)	EtOH 95%	Modérées	Modérées	Modérées
Gluten	H ₂ O -EtOH	Modérées	Bonnes	Modérées
Protéine de soja	H ₂ O	Faibles	Bonnes	Modérées
Caséine	H ₂ O	Faibles	Bonnes	NA
Whey	H ₂ O	Faibles	Bonnes	NA
Cire d'abeille	Emulsion aqueuse	Modérées	Faibles	Faibles
Shellac	EtOH	Modérées	Faibles	Faibles

Classification:

^aCondition d'essai: ~38°C,90/0%HR

^bCondition d'essai:~25°C, 0-50%HR

^cCondition d'essai: ~25°C, 50% HR

Faible = 10-100 g.mm/m².j.kPa

Faible = 100-1000 cm³ μm/m².j.kPa

Modérée σ_r = 10-100 MPa

Modérée = 0,1-10 g.mm/m².j.kPa

Modérée = 10-100 cm³ μm/m².j.kPa

Modérée ε_r = 10-50%

Bonne = 0,01-0,1 g.mm/mm².j.kPa

Bonne = 1-10 cm³ μm/m².j.kPa

(PEBD: σ_r = 13 MPa, E = 500%)

(PEBD: 0,08 g.mm/m².j.kPa)

(EVOH : 0,1 cm³ μm/m².j.kPa)

(OPP: σ_r = 165 MPa, E = 60%)

ε_r = allongement à la rupture (%)

σ_r = Contrainte à la rupture

NA = Non applicable

I.2. Classification des biopolymères d'origine naturelle

Les emballages comestibles ou biodégradables sont constitués de macromolécules renouvelables, appelées biopolymères, tels les polysaccharides (celluloses et dérivés, amidons et dérivés, chitine et chitosane, *etc.*), les protéines (gélatine, gluten, *etc.*), les composés lipidiques (cires, acides gras et dérivés, *etc.*) et les polyesters (poly-(3-hydroxybutyrate) (PHB) ou (poly-(3-hydroxyvalérate) (PHV), poly(acide lactique) (PLA),

etc. Les biopolymères d'origine naturelle potentiellement utilisés en tant que films comestibles ou biodégradables peuvent ainsi être classés comme le montre la Figure 4.

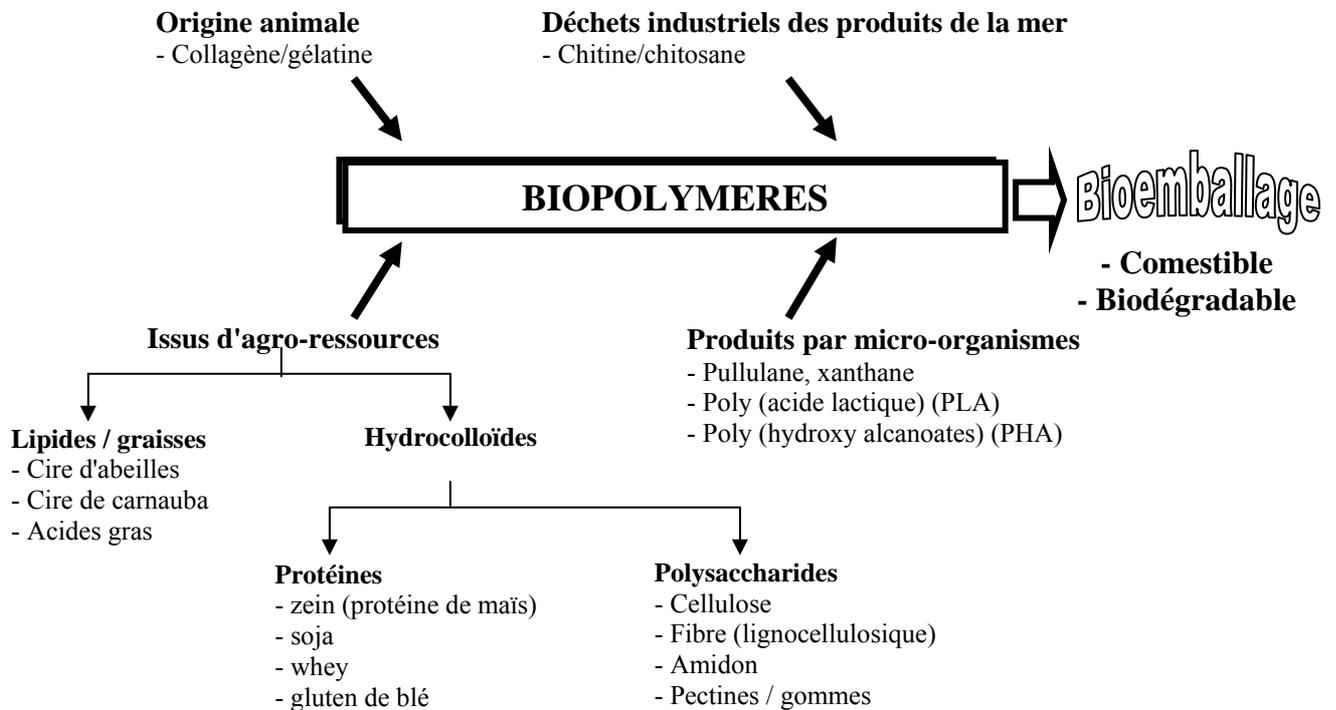


Figure 4. Polymères biodégradables potentiellement utilisés pour l'emballage comestible ou biodégradable (d'après Tharanathan, 2003).

I.2.1. Biopolymères issus d'agro-ressources

Ces biopolymères, aussi appelés agro-matériaux, sont des macromolécules naturelles renouvelables et compostables. Ils sont issus de plusieurs types d'agro-composés tels que les hydrocolloïdes (protéines et polysaccharides) et les lipides/acides gras. La plupart d'entre eux peuvent être mis en œuvre à l'état natif ou plastifié ou en association avec d'autres polymères. Ils sont utilisés en tant que film ou enrobage.

I.2.1.1. Les polysaccharides

I.2.1.1.a. La cellulose

La cellulose est le biopolymère le plus abondant dans la nature. Son prix est relativement faible (0,46 €/kg). Elle est principalement utilisée pour la production du papier mais aussi en tant que renfort dans les matrices polymères. La cellulose est l'élément

constitutif du bois et également un constituant majoritaire du coton et des fibres telles que le lin, le chanvre, le jute ou la ramie. En fonction de l'origine botanique, les quantités de cellulose contenues dans la plante peuvent varier de 40 à 95% par rapport à la matière première sèche. La cellulose est un homopolymère linéaire de résidus glucose de configuration D, connectés selon une liaison glycosidique β , (1 \rightarrow 4) (Figure I-5). La masse molaire de la chaîne de cellulose varie de 50000 à $2,5 \times 10^6 \text{ g.mol}^{-1}$, en fonction de son origine et du traitement d'extraction utilisé.

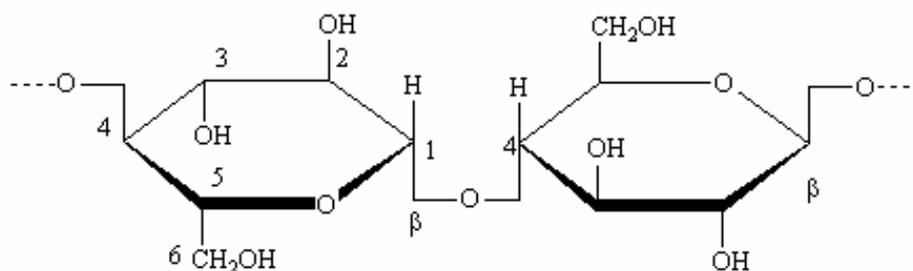


Figure 5. Représentation schématique d'une chaîne de cellulose

A cause des interactions très fortes entre les chaînes, la cellulose native est fortement cristalline et insoluble dans l'eau. Elle n'est soluble que dans les solvants qui peuvent former des complexes de coordination tels que la solution aqueuse de l'éthylène diamine et de l'hydroxyde de cuivre. Pour améliorer sa solubilité dans l'eau et lui conférer des propriétés filmogènes, la cellulose peut être estérifiée ou étherifiée au niveau des fonctions hydroxyles libres pour aboutir à certains dérivés cellulosiques comme méthyl cellulose (MC), hydroxypropyl cellulose (HPC), hydroxypropylméthyl cellulose (HPMC), Na⁺ - carboxyméthyl cellulose (CMC) (Nisperos-Carriedo, 1994).

I.2.1.1.b. L'amidon

L'amidon est le composé glucidique bio-synthétisé et la principale source d'énergie pour l'homme et pour la vie animale. Il représente une fraction pondérale importante dans un grand nombre de matières premières agricoles telles que les céréales (30-80% de la matière sèche), les légumineuses (25-50% de la matière sèche) et les tubercules (60-90% de la matière sèche). Son faible prix fait de l'amidon un matériau économiquement intéressant (0,5 €/kg).

L'amidon est un mélange d'amylose, unités glucose unies par des liaisons α , (1 \rightarrow 4), linéaire et souvent en configuration hélicoïdale et d'amylopectine très ramifiée. L'amylopectine contient une partie linéaire formée d'unités glucose liées en α , (1 \rightarrow 4), mais

également des ramifications faisant intervenir des liaisons α , (1 \rightarrow 6) toutes les 25 unités glucose en moyenne (Figure 6).

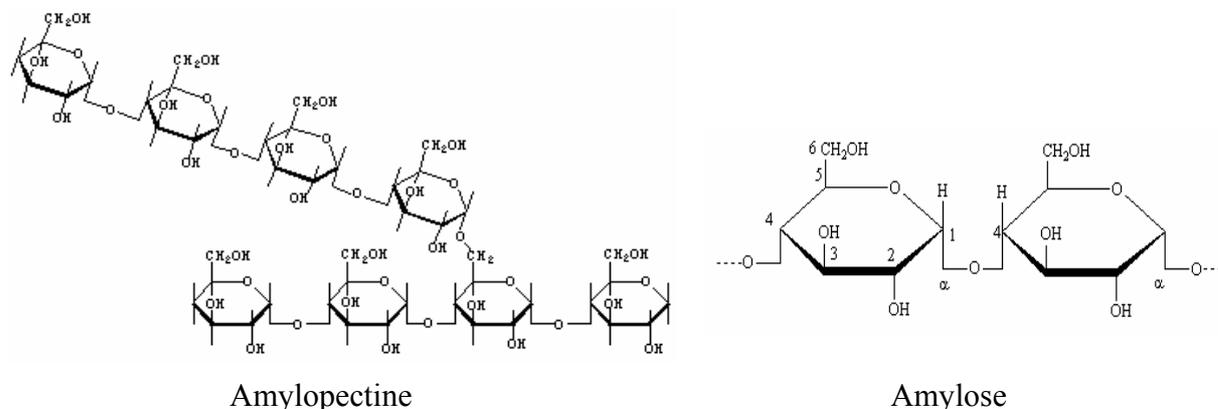


Figure 6. Structure chimique de l'amylopectine et de l'amylose

Les produits à base d'amidon sont tous très hydrophiles. Certaines propriétés telles que les propriétés mécaniques varient avec l'humidité relative. L'utilisation d'amidon modifié peut permettre de donner un caractère plus hydrophobe à ces matériaux. Parmi les différentes fonctions chimiques qui peuvent substituer les groupements hydroxyle de l'amidon, les plus importantes sont les esters et les éthers.

Les esters d'amidon (acétates, butyrates...) sont synthétisés par réaction d'un acide carboxylique, d'un chlorure d'acyle ou d'un anhydride d'acide avec les groupements hydroxyle des chaînes d'amylose et/ou d'amylopectine. L'amidon peut également être étherifié par réaction avec un halogénure d'alkyle ou un époxyde en milieu alcalin. En fonction de la nature du substituant, il est possible d'obtenir des produits anioniques, hydroxyalkylés et cationiques. Ces derniers sont largement utilisés dans l'industrie papetière.

Les propriétés filmogènes de l'amidon dépendent de la masse molaire moyenne, du rapport amylose/amylopectine et donc du ratio cristallin/amorphe (Maynard, 1999). La résistance mécanique et la propriété barrière aux gaz des films d'amidon sont modérées. L'amidon est surtout utilisé pour faire des emballages rigides et de courte durée de vie du fait de sa sensibilité à l'humidité. Les emballages à base d'amidon natif trouvent des applications en agroalimentaire (boîtes à oeufs, films de paillage agricole, colle, etc.).

Les films à base d'amidon sans plastifiant présentent des perméabilités aux gaz (CO_2 et O_2) élevées avec par exemple des valeurs supérieures à $30 \times 10^{-9} \text{ cm}^3 \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{sec}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$ dans le

cas du CO₂ à 20 °C et 64 % d'humidité relative. L'addition de plastifiants, en diminuant l'hétérogénéité du film (craquelures, pores, etc.) réduit de plus de 2/3 le coefficient de transfert aux gaz, tandis que l'addition de lipides n'induit aucun changement significatif. Pendant le stockage, les plastifiants peuvent interagir avec la matrice amidon et réorganiser l'ensemble entraînant ainsi une certaine recristallisation du film au bout de 60 jours, signe d'un début de rétrogradation, et donc de perte des propriétés filmogènes (Garcia *et al.* 2000).

I.2.1.2. Les protéines

Parmi les protéines, le gluten a été très étudié en raison de sa disponibilité et de son prix de revient très compétitif. Dispersé dans un solvant approprié, étalé et séché, le film de gluten est transparent, rigide et insoluble dans l'eau. La barrière à l'eau reste faible, supérieure à 1,05 g.mm.cm⁻².j⁻¹.mmHg à 30 °C et sous une différence de pression partielle de 32 - 0 mmHg. L'addition de composés tels que des cires végétales a permis d'approcher les valeurs de perméabilité du polyéthylène (Gontard et Guilbert, 1998). Les protéines de petit lait ou de lactosérum (Whey Protéines, WP) contenant plus de 75 % de lactoglobuline et environ 20 % en lactalbumine, les caséines (Mauer *et al.*, 2000; Siew *et al.*, 1999), et les gélatines sont également bien étudiés (Sobral et Habitante, 2001; Sobral *et al.*, 2001).

I.2.1.3. Lipides/graissses

L'utilisation des lipides pour enrober les produits alimentaires a été pratiquée en Angleterre depuis le 16^{ème} siècle (Kamper et Fennema, 1984). Autrefois, les cires et les huiles sont utilisées seules, mais maintenant, elles sont mélangées avec des solvants, des émulsifiants, des surfactants, des plastifiants, etc. Les composés lipidiques incluent les polyglycérides qui sont les esters du glycérol et d'acide gras et les cires qui sont les esters de longue chaîne d'alcool mono-fonctionnel et d'acide gras (Hernandez, 1994). Les lipides sont ajoutés dans un enrobage alimentaire pour améliorer les propriétés barrière à la vapeur d'eau. Cependant, le film à base de lipide pur est opaque avec des propriétés mécaniques médiocres. En plus, il est instable vis-à-vis du rancissement. Par conséquent, généralement, on utilise les lipides en tant qu'additif pour améliorer les propriétés barrière des films à base de polysaccharides et de protéines.

I.2.2. Les polysaccharides issus du déchet industriel des produits de la mer

Le chitosane est un dérivé de la chitine, obtenu par désacétylation. Autrement dit, le chitosane est la chitine suffisamment désacétylée. Bien que les sources potentielles de la chitine soient très nombreuses, elle est essentiellement produite à partir des carapaces des crustacés et notamment à partir de celles des crabes, des crevettes et des homards (Seng, 1988). Pendant longtemps, ces déchets n'étaient pas recyclés et étaient simplement rejetés à la mer après décorticage, créant de sérieux problèmes de pollution au voisinage des sites de production. Donc, la récupération de ces déchets pour fabriquer la chitine et le chitosane est économiquement faisable (Ravi Kumar, 2000). Ces deux polymères seront discutés plus amplement dans le chapitre 1, partie II.

I.2.3. Les polymères produits par les micro-organismes (PHA, PHB)

Les PolyHydroxyAlcanoates (PHA) sont produits par *Alcaligenes eutrophus* ou *Pseudomonas oleovorans* (Figure 7). En état de stress, ces bactéries produisent le monomère, créé par un excès en source de carbone et par un manque d'un des nutriments essentiels suivants : diazote, sulfate, phosphate, fer, magnésium ou potassium (Timm et Steinbüchel, 1990).

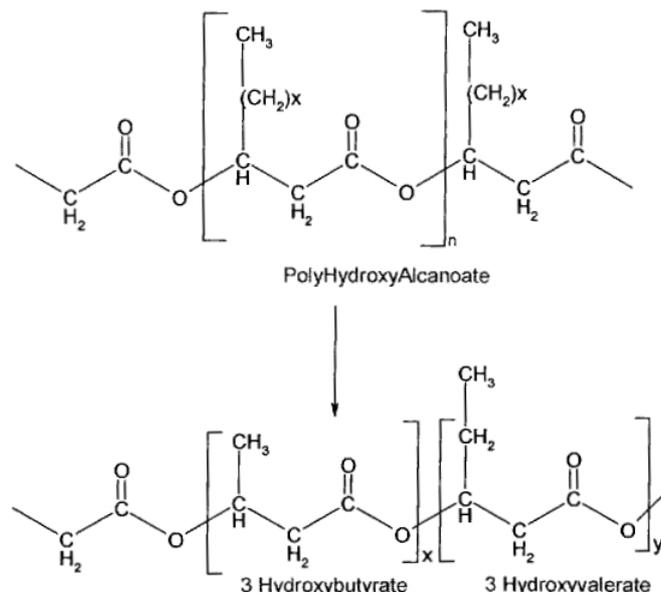


Figure 7. Structure chimique du PHA, PHB et PHV

Les films à base de PHA ont d'excellentes propriétés filmogènes. Ils ne sont pas hydrosolubles et peuvent être mis en œuvre/en forme par les procédés de fabrication similaires à ceux du polyéthylène ou du polypropylène. Le caractère hydrophobe des PHA, supérieur à celui des films osidiques ou protéiques, donne de bonnes propriétés barrière à la vapeur d'eau. Cependant, les PHA sont encore très coûteux par rapport aux plastiques conventionnels, ce qui limite leur utilisation.

Le PHB (polyhydroxybutyrate) a une masse molaire élevée. Les propriétés du PHB sont similaires à celles du polypropylène. Il est toutefois plus rigide et plus fragile. Il est également plus dense que le PP. Le caractère cassant du PHB a trouvé remède dans l'incorporation d'unité HV (hydroxyvalérate) dans le squelette du PHB. Les copolymères PHBV ainsi formés sont moins fragiles et leurs propriétés (flexibilité, résistance à la traction,...) dépendent du pourcentage relatif des deux types de monomères. Les PHBV peuvent être utilisés pour la fabrication de films, de bouteilles et de divers articles injectés. En ce qui concerne la biodégradabilité, les PHBV se dégradent plus vite que le PHB, certainement grâce à la diminution de la cristallinité. Commercialisé sous le nom de Biopol[®] par la firme britannique ICI (devenue ensuite Zeneca), le PHBV a ensuite été repris par Monsanto (USA) en 1996. Cependant, en raison d'un coût élevé d'extraction et de purification, la production a été stoppée en 1999. Aujourd'hui, Metabolix produit à nouveau du PHBV à partir des brevets de Monsanto (Clarival et Monfort-Windels, 2003).

I.2.4. Poly(acide lactique) (PLA)

Les PLA sont des polymères issus de ressources renouvelables, provenant de l'estérification de l'acide lactique obtenu par fermentation bactérienne de l'amidon ou synthèse chimique. La fermentation est très utilisée grâce à l'abondance de l'amidon. La cinétique de réaction de polymérisation (Figure 8) est favorisée par la formation d'un intermédiaire lactide en présence de l'oxyde de zinc et à une température élevée (135 °C, 6 h), suivie de l'ouverture du cycle et de la polymérisation (Vink et al., 2003). Le PLA est un polyester aliphatique ayant trois configurations stéréochimiques: le L-lactique, le D-lactique, et le meso-lactique (Figure 8). Le PLA constitué de l'acide L-lactique pur, est appelé aussi poly (L-lactique) ou PLLA (Drumright et coll., 2000). Selon Amass et coll., (1999), le PLLA correspond à un composé hautement cristallin alors que le mélange des isomères D et L conduit à un polymère amorphe, les unités D et L étant distribuées au hasard tout au long de la chaîne du polymère.

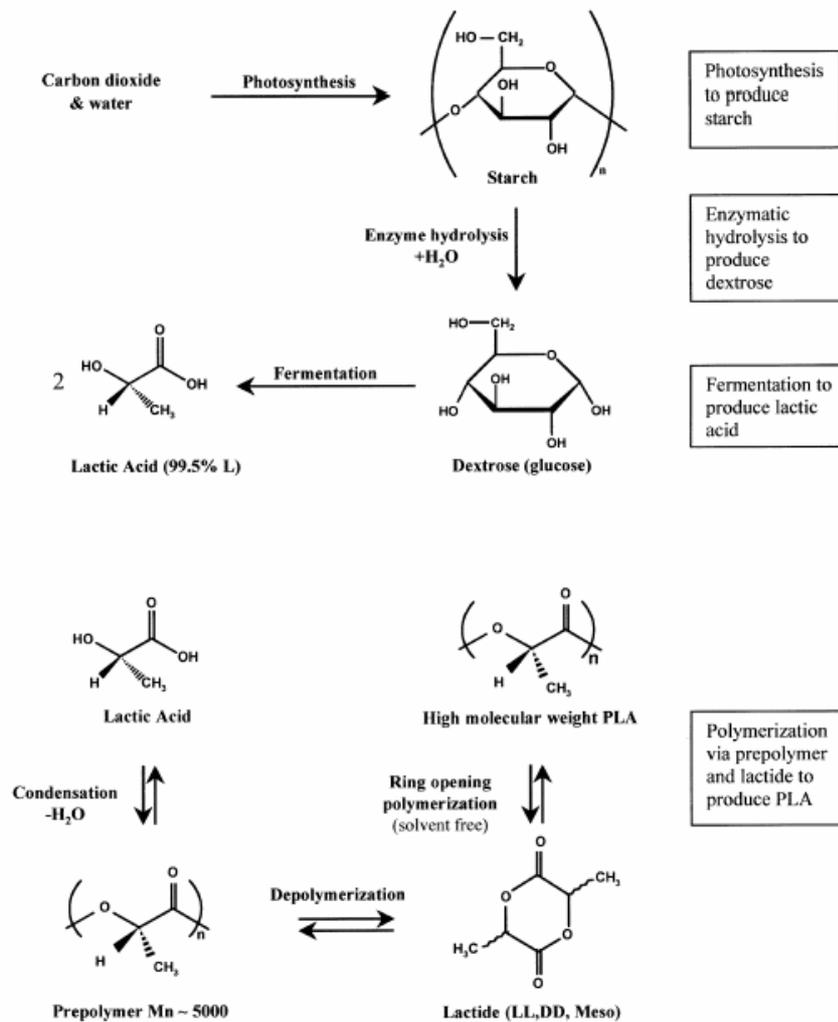


Figure 8. Synthèses d'acide lactique à partir d'amidon et du polyacide lactique (D'après Vink et al., 2003)

L'intérêt principal du PLA réside dans la disponibilité et le faible coût de l'acide lactique. Désormais disponible à l'échelle commerciale, le PLA NatureWorks® produit par Cargill Dow LLC est un polymère attractif car il est facilement transformable et issu de ressources renouvelables. Ses applications se sont donc élargies, principalement dans le domaine de l'emballage, car tous les procédés classiques de mise en forme peuvent être utilisés (Mac Carthy-Bates, 1993). Son prix de l'ordre de 3€/kg fait de lui le polyester biodégradable le moins cher du marché actuellement. Depuis octobre 2002, Cargill Dow produit 180 000 tonnes de PLA par an (Vink, 2003).

De plus, le PLA a des propriétés mécaniques semblables à celles du polystyrène (PS) (Södegård, 2000; Drumright *et al.*, 2000). La comparaison des propriétés mécaniques du PLA avec celles des autres polymères synthétiques est présentée dans le Tableau 2. En

outre, il présente une excellente résistance à la graisse, une scellabilité facile à basse température ainsi qu'une bonne barrière aux arômes. Comme le polystyrène, le PLA a un haut module d'Young et une haute contrainte à la rupture mais il manque de ténacité. La ténacité du PLA peut être améliorée par mélange avec un autre polymère, par copolymérisation ou par modification structurale.

Tableau 2. Propriétés mécaniques de quelques polymères (Södegard, 2000)

Polymer	Contrainte à la rupture (MPa)	Module d'Young (GPa)	Température Max d'utilisation (°C)
LDPE	6 - 17	0,1 - 0,2	65
HDPE	20 - 37	-	121
PET	69	2,8 - 4,1	204
PS	41 - 52	3,1	78
PA 6	62 - 83	1,2 - 2,8	-
PP	33 - 38	1,1 - 1,5	121
PLA	40 - 60	3,0 - 4,0	50-60

Dans un mélange de PLA de hautes et basses masses molaires, appelés respectivement HMM et BMM, les BMM jouent le rôle de plastifiant et diminuent la température de transition vitreuse. Les ratios HMM/BMM permettent de moduler les propriétés mécaniques et de contrôler la biodégradation qui augmente avec la part des BMM (Mauduit *et al.*, 1996). Généralement, la contrainte à la rupture et l'allongement à la rupture sont respectivement de 50 MPa et 2 %. Cependant, l'association PLA-caprolactone réduit la contrainte à la rupture à 20 MPa et améliore l'allongement d'un facteur 100, donnant des films très flexibles. La copolymérisation permet aussi de baisser la température de transition vitreuse en dessous de 7 °C, et même à -9 °C quand la masse molaire est réduite de 50 % (de 44700 à 21800 g.mol⁻¹) (Viljanmaa *et al.*, 2002).

Grâce à sa biocompatibilité, le PLA trouve de multiples applications dans le biomédical (Freier *et al.* 2002) telles que les fils de sutures bioabsorbables et les implants. Le PLA a une bonne résistance mécanique, une bonne plasticité thermique. Il peut être mis en œuvre par de très nombreux procédés: extrusion, thermoformage, injection, soufflage, filage, étirage. Il peut être imprimé et scellé à chaud. De plus, le PLA est transparent et brillant mais a tendance d'être fragile (Clarival et Monfort-Windels, 2003).

Dans le secteur agroalimentaire, Conn *et al.* (1994) ont étudié la sécurité alimentaire des films à base de PLA en analysant en particulier l'effet toxicologique des molécules du film qui peuvent migrer vers le produit alimentaire. L'acide lactique, l'acide lactoylactique

(dimère), le trimère et la lactide sont les seules molécules susceptibles de migrer du film vers l'aliment. Des valeurs inférieures à 0,018 ppm ont été obtenues avec les différents modèles alimentaires testés. L'extrapolation à l'homme a montré que l'on ne dépasse pas $0,054 \text{ mg.j}^{-1}$ par personne, qui correspond à 0,25 % des valeurs réglementaires de l'acide lactique en tant qu'additif alimentaire. Les auteurs ont conclu donc à la non toxicité des films à base de PLA.

Les applications possibles du PLA en emballages rigides alimentaires sont les pots pour produits frais et ultra frais, les emballages de charcuterie, les assiettes pique-nique, les barquettes salades, les barquettes pour fruits et légumes, les couvercles pour boissons,...(Thomas, 1999).

II. La Chitine et Le Chitosane

En 1811, le Pr. Henri Braconnot, Directeur du jardin biologique à Nancy (France) a isolé une substance fibreuse d'un certain type de champignon. De plus, il a observé que cette substance n'est pas soluble dans les solutions aqueuses d'acides. Une décennie plus tard, en 1823, la même substance a été trouvée dans certains insectes (coléoptère) et a été ensuite nommée chitine (provient du mot grec "kitos" qui signifie l'enveloppe). En 1859, le Pr. C. Rouget a soumis la chitine à un traitement alcalin et a observé les différentes solubilités de la chitine. La substance, résultat du traitement alcalin, a pu être dissoute dans les acides. Cependant, seulement en 1894 cette substance a été nommée chitosane par Hoppe-Seyler (Jaouen, 1994).

Entre 1930 et 1940, ces biopolymères ont suscité beaucoup d'intérêt dans le monde oriental, principalement pour l'application dans le domaine médical et la purification de l'eau. Aujourd'hui, nous savons que la chitine et le chitosane se trouvent abondamment dans la nature et sont des ressources renouvelables (Muzzarelli, 1977). La production annuelle de chitine dans la nature est estimée à 10^9 - 10^{10} tonnes et actuellement elle n'est pas très exploitée et commercialisée par rapport à la cellulose (Peter, 2002).

II.1. La Chitine

La chitine est le polysaccharide naturel largement répandu dans la nature. Dans le règne animal, la chitine est un élément structural important des téguments de certains invertébrés ; elle n'existe que sous la forme de complexes avec des protéines et des minéraux. Elle est présente principalement dans les coquilles de mollusques, dans les cuticules des insectes et dans la carapace des crustacés. Il est à noter que la carapace des krills des mers du nord représente à elle seule une source potentielle de chitine. La chitine associée à des protéines contribue à la cohésion des différentes couches qui constituent la coquille des mollusques ou la carapace des arthropodes.

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

Bien que les sources potentielles de chitine soient très nombreuses (Tableau 3), elle

est essentiellement produite aujourd'hui à partir des carapaces de crevettes. Pendant longtemps, ces déchets n'étaient pas récupérés et étaient simplement rejetés à la mer après décorticage. La production de chitine permet de valoriser les déchets de l'industrie agroalimentaire en évitant qu'ils soient rejetés à la mer, ce qui engendre des problèmes de pollution car les carcasses des arthropodes (crustacés, céphalopodes...) sont très résistantes à la biodégradation (Shahidi et Abuzaytoun, 2005; Shahidi *et al.*, 1999). Les carapaces de crustacés contiennent environ 30-40% de protéine, 30-50% de carbonate de calcium, et 20-30% de chitine par rapport au poids sec (Johnson et Peniston, 1982).

Tableau 3. Sources potentielles de chitine (Tolaimate *et al.*, 2003).

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

De nombreuses méthodes ont été développées afin de préparer la chitine à partir des exosquelettes. De manière générale, elles consistent à éliminer les éléments minéraux (démminéralisation), les protéines (déprotéinisation) et la couleur (blanchiment) (Figure 9).

Démminéralisation

La déminéralisation est généralement réalisée par un traitement acide sous agitation pour solubiliser le carbonate de calcium et le chlorure de calcium. Les acides les plus fréquemment utilisés sont l'acide chlorhydrique et l'acide formique à des concentrations de 1 à 10 mol.L⁻¹. La durée du traitement acide est de l'ordre de 1 à 48 heures à la température ambiante. La condition optimale est obtenue par le traitement des carapaces sèches en

poudre avec HCl 1 mol.L⁻¹ pendant 30 minutes à la température ambiante et le rapport du solide au solvant est 1:15 (w/v), c'est-à-dire 1 g de carapaces en poudres pour 15 ml de solvant (No *et al.*, 1989). Pendant le processus de déminéralisation, des mousses indésirables peuvent se former dues à la production de dioxyde de carbone [$\text{CaCO}_3 + 2\text{HCl} \Rightarrow \text{CaCl}_2 + \text{CO}_2(\uparrow) + \text{H}_2\text{O}$]. No *et al.* (1998) ont recommandé d'utiliser une antimousse commerciale contenant 10% de solution de silicone active.

Déprotéinisation

A l'état naturel, la chitine se présente en association avec les protéines (Chitinoprotéine). Les protéines sont éliminées par un traitement basique en utilisant, en général, des solutions à base de NaOH, Na₂CO₃, NaHCO₃, KOH, K₂CO₃, Ca(OH)₂, Na₂SO₃, CaSO₃, ou Na₃PO₄, de concentrations de 0,1 à 5 mol.L⁻¹. La solution d'hydroxyde de sodium (~10 % massique) est la plus souvent utilisée pour dissoudre les protéines. La durée du traitement basique est de l'ordre de 0,5 à 72 heures à hautes températures (65-100°C). No et Meyers (1995) ont rapporté que la proportion du solide à la solution alcaline allant de 1:10 à 1:20 (w/v) est recommandée pour que l'élimination des protéines soit efficace.

Pendant le processus de déprotéinisation, la formation de mousse peut se produire mais la mousse n'est pas intense comme celle du processus de déminéralisation (Synowiecki et Al-Khateeb, 2003). Shahidi et Synowiecki (1991) ont suggéré que la déprotéinisation est optimale en utilisant une solution aqueuse d'hydroxyde de potassium dont le pH doit être plus bas que le point isoélectrique des protéines pour qu'elles précipitent.

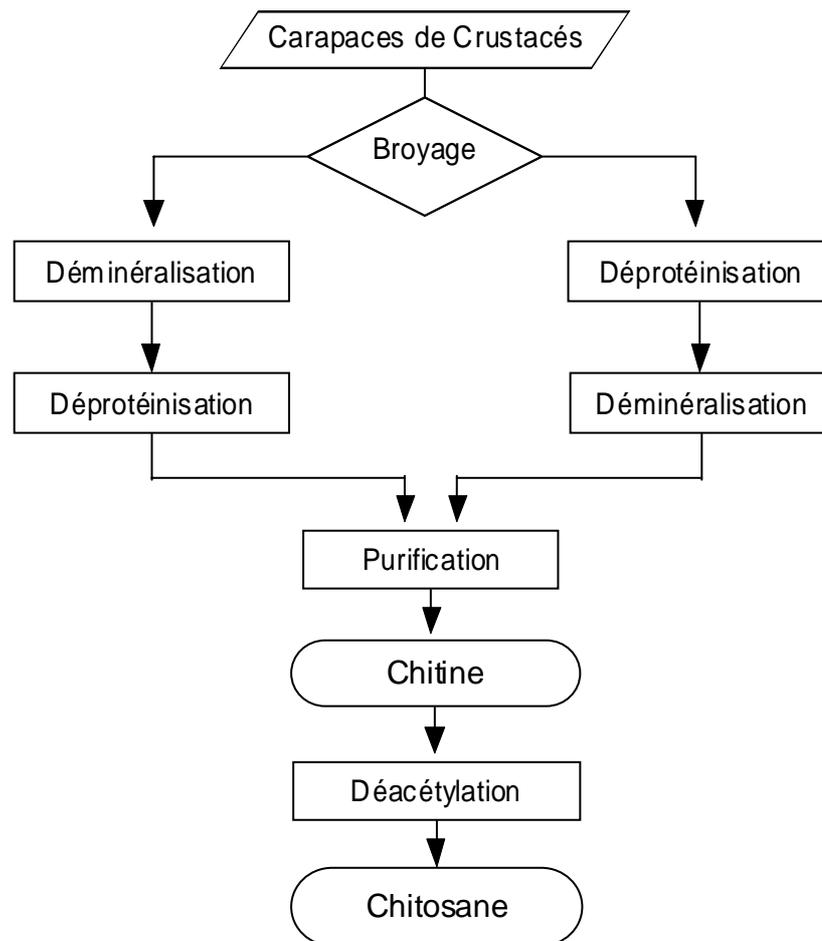


Figure 9. Procédé de la fabrication de chitine et chitosane

Blanchiment

Pour les application industrielles, la chitine obtenue à partir des ressources crustacées doit être décolorée après les traitements acide et alcalin (No *et al.*, 1989). Le pigment dans les carapaces de crustacées forme un complexe avec la chitine. Fox (1973) a détecté un dérivé de β -carotène solidement relié à la chitine de l'exosquelette des crabes rouges. Le blanchiment est souvent réalisé par un traitement avec des agents oxydants (KMnO_4 , NaOCl , SO_2 , NaHSO_3 , $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ou H_2O_2). Ce traitement peut éliminer des traces de pigments résiduels, comme les caroténoïdes.

Durant le processus de blanchiment, le réactif utilisé ne doit pas avoir un effet sur les propriétés physico-chimiques de la chitine et du chitosane. No *et al.* (1989) ont pu fabriquer la chitine quasiment blanche par l'extraction avec l'acétone et le séchage pendant 2 heures à la température ambiante, suivi par le blanchiment en utilisant une solution

0,315% d'hypochlorite de sodium pendant 5 minutes avec un rapport du solide au solvant (1:10, w/v). Sans l'extraction préalable par l'acétone, le blanchiment doit être effectué plus de 1 heure pour aboutir à un produit blanc acceptable commercialement.

Des études récentes ont montré que la déminéralisation pouvait être effectuée en 15 minutes à la température ambiante, avec un excès d'acide chlorhydrique $0,25 \text{ mol.L}^{-1}$ et la déprotéinisation réalisée avec une solution de NaOH 1 mol.L^{-1} pendant 24 heures à 70°C (Percot, Viton et Domard, 2003).

La chitine est biodégradable et non toxique ($DL_{50} = 17 \text{ g.kg}^{-1}.\text{jour}^{-1}$), elle est hydrolysée progressivement par des glycosidases, comme des lysozymes et des chitinases. Du fait de sa forte cristallinité, la chitine n'est soluble que dans des solvants peu communs, ce qui limite son utilisation et sa valorisation. En effet, elle n'est soluble que dans le 2-hexafluoropropanol, et dans des mélanges tels que le diméthylacétamide/chlorure de lithium, le diméthylformamide/chlorure de lithium ou l'acide trichloroacétique / dichloroéthane (Ravi Kumar, 2000). De nombreux dérivés de chitine ont été préparés dans le but d'améliorer la solubilité, le plus simple étant le chitosane obtenu par désacétylation.

II.2. LE CHITOSANE

Contrairement à la chitine, le chitosane est peu répandu dans la nature. Il se trouve dans certains champignons, les zygomycètes, et dans la paroi abdominale des reines de termites. Le chitosane est donc obtenu par N-désacétylation partielle de la molécule de chitine. Leur structure chimique, représentée sur la Figure 10, résulte de l'enchaînement d'unités de répétition N-acétyl-D-glucosamine et D-glucosamine liées en $\beta,(1\rightarrow4)$. La chitine et le chitosane se différencient par la proportion des unités acétylées présentes dans le copolymère, appelée aussi le degré d'acétylation (noté DA). Bien que le terme « chitosane » soit habituellement limité à toute chitine suffisamment N-déacétylée pour être soluble en milieu acide dilué, il n'existe pas de nomenclature officielle proposant la limite précise entre les deux termes. En conséquence, nous appellerons chitosane tout échantillon avec des degrés d'acétylation résiduels ($DA \leq 30\%$) (Seng, 1988).

Le chitosane a trois types de groupes fonctionnels réactifs, un groupement amine et deux groupements hydroxyles en positions C_2 , C_3 et C_6 respectivement (Figure 10). Grâce à ses groupements amines libres, ce composé possède des propriétés intéressantes très différentes de celles de la chitine. Le chitosane, soluble dans les acides faibles, possède une

charge positive alors que la plupart des polysaccharides sont chargés négativement (Shahidi *et al.*, 1999).

Le degré de désacétylation (DD) représente la proportion d'unités amine-D-glucosamine par rapport au nombre total d'unités glycosidiques. Dans le cas du chitosane, le DD est supérieur à 70% pour les produits commerciaux. Cette valeur détermine également la limite de solubilité de ce polymère dans les solutions acides diluées ($2 < \text{pH} < 6$). Le DD est un paramètre structural qui influence les propriétés physico-chimiques telles que la solubilité, la charge globale et la réactivité, les propriétés mécaniques comme l'élongation à la rupture, la résistance à la traction et les propriétés barrière. Il influence également les propriétés biologiques (Chatelet *et al.*, 2001) comme la biocompatibilité, la biodégradabilité et l'activité biostimulante et anticholestémiant.

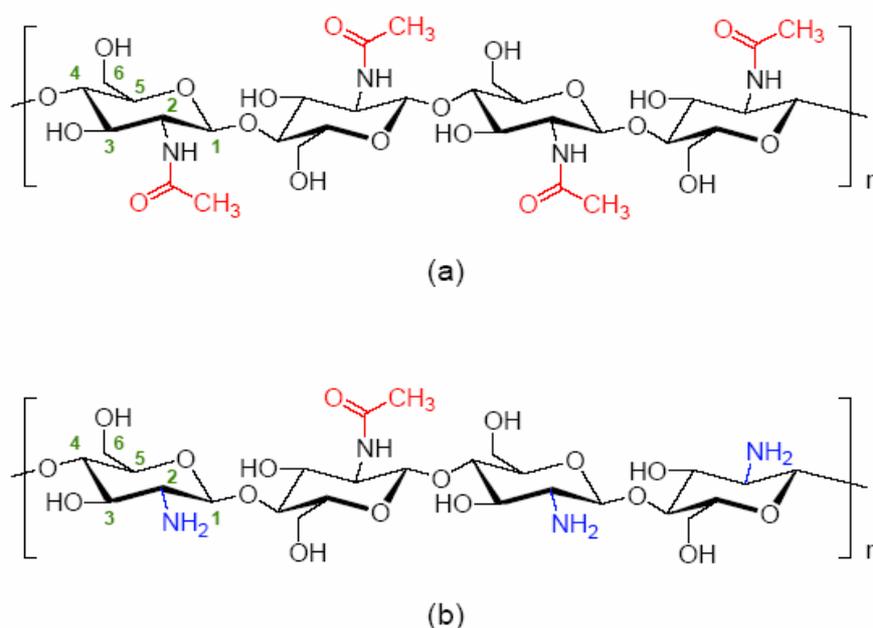


Figure 10. Comparaison des structures de la chitine (a) et du chitosane (b)

II.2.1. Production de chitosane à partir de la chitine (Processus de désacétylation)

Les techniques actuelles permettent, à partir des déchets, d'aboutir à une déminéralisation et à une déprotéinisation convenables de la carapace et donc à une chitine partiellement purifiée (Figure 10). On peut ensuite, en fonction des exigences, procéder à des purifications supplémentaires afin d'obtenir un produit ultra-pur débarrassé de toute protéine. En partant de la chitine, on peut également moduler à souhait le degré

d'acétylation et la masse molaire du polymère, pour obtenir des chitosanes variés grâce à des hydrolyses basiques contrôlées.

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

La désacétylation est généralement effectuée par le traitement avec l'hydroxyde de sodium ou potassium concentré (40-50 %) à une température ≥ 100 °C, pendant au moins 30 minutes pour enlever certains ou tous les groupements acétyles de la chitine (No et Meyers, 1995). La désacétylation ne peut pas être réalisée avec un réactif acide (Muzzarelli, 1977). Il y a plusieurs facteurs essentiels qui affectent le rendement de désacétylation comme la température, la durée, la concentration d'alcalin, les traitements préalables pour l'obtention de la chitine, l'atmosphère (air ou azote), la quantité de chitine par rapport à la solution alcaline, densité de la chitine et la taille des particules. Compte tenu de ces paramètres, l'objectif idéal de désacétylation est de préparer un chitosane qui est non dégradé et parfaitement soluble dans l'acide dilué (acides acétique, lactique, citrique,...).

II.2.2. Propriétés physico-chimiques

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

La chitine est soluble dans très peu de solvants. Sa masse molaire initiale est de l'ordre de 800 000 à 10^6 g.mol⁻¹ et elle est généralement fortement acétylée. Les chitosanes obtenus industriellement ont une masse molaire de l'ordre de 200 000 g.mol⁻¹ et un DA

allant de 2 à 25%. Pour le chitosane, la masse molaire et la répartition des motifs N-acétylés le long de la chaîne sont dépendantes de la méthode de désacétylation utilisée. De plus, un enchaînement successif de plusieurs motifs N-acétylés confère au polymère un caractère plus hydrophobe, et donc des propriétés autoassociatives (propriétés épaississantes et gélifiantes) et modifie sa solubilité.

En raison de sa solubilisation en solution acide, le chitosane se comporte comme un polyélectrolyte cationique de forte densité de charge. Ses propriétés dépendent du pH du milieu. Le chitosane est solubilisé et il devient cationique quand le pH est inférieur au pKa intrinsèque de la fonction amine du chitosane soit 6,3 (Peter, 1995). A un pH supérieur (>6,5), les groupements ne sont plus ionisés et le chitosane se précipite. Autour de pH 6, le nombre de fonctions amine libres devient suffisamment élevé pour induire une association des chaînes et la précipitation du polymère. La viscosité du chitosane en solution est influencée par différents facteurs, comme le DA, la masse molaire, la concentration, la force ionique, le pH et la température.

II.3. Applications générales de la chitine et du chitosane

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

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

La chitine est hydrolysée par les lysozymes ce qui n'est pas le cas du chitosane, celui

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

Le chitosane et la chitine, en faible quantité (quelques mg par m³ d'eau) sont capables de déclencher chez les plantes les mécanismes de défense contre les infections et les agressions parasitaires. Le mode d'action du chitosane est complexe et se situerait à plusieurs niveaux. Il renforce le système racinaire et l'épaississement de la tige, mais il est possible qu'il ait une action antifongique propre. Par ailleurs, le chitosane stimulerait la plante pour la synthèse d'agents protecteurs, et se comporterait comme un engrais en accélérant la germination et la croissance des plantes (Sandford, 1989; Hadwiger *et al.*, 1989). Le chitosane et la chitine ont montré une résistance à certains parasites, bactéries, virus ou mycoses. Ils entraînent une activation des polynucléaires et des macrophages, qui jouent un rôle important dans le mécanisme de défense de l'organisme.

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

II.4. Application du chitosane en tant que bioemballage

Le chitosane est filmogène (Tual et Domard, 2000), on peut donc l'utiliser sous forme de film pour l'emballage. De plus, le film de chitosane montre une bonne propriété barrière aux gaz (Hosokawa, *et al.* 1990), de bonnes propriétés mécaniques sauf l'élasticité (Cheung et coll., 2002), des activités bactériostatiques (Tsai et Su, 1999 ; Möller *et al.* 2004 ; Coma *et al.*, 2002), et des activités fongistatiques (Roller et Covill, 1999).

Jiang et Li (2001) ont rapporté que l'enrobage du chitosane pouvait réduire la vitesse de respiration et la perte de poids des fruits et légumes. Il retarde l'augmentation de l'activité du polyphénoloxidase, le changement de couleur et l'altération de la qualité nutritionnelle, par exemple il inhibe partiellement la pourriture des longanes pendant le stockage à la température de 2°C et l'humidité relative de 90%.

Le prolongement de la durée de vie et le contrôle efficace sur la pourriture des fruits (pêches, poires japonaises et kiwis) par l'application du film de chitosane ont été confirmés (Du *et al.*, 1997). De même, les concombres et poivrons (El Ghaouth *et al.*, 1991a), les fraises (El Ghaouth *et al.*, 1991b), les litchis (Zhang et Quantick, 1997) et les tomates (El Ghaouth *et al.*, 1992) peuvent être conservés pour une longue période après l'enrobage par le chitosane. Ces études montrent que le film ou l'enrobage du chitosane peut offrir un certain nombre d'avantages pour prolonger la durée de vie des fruits, des légumes et d'autres aliments et être utilisé comme matériau d'emballage actif antimicrobien.

La production industrielle et l'utilisation du chitosane sont en constante augmentation depuis 1970. Actuellement, la production de chitine et de chitosane à partir des carapaces de crabes et de crevettes, est économiquement rentable (Ravi Kumar, 2000). Surtout, si la récupération des caroténoïdes et des protéines peut être effectuée. Le Tableau 4 recense certaines applications du chitosane en fonction de ses propriétés. Parmi ces applications prometteuses du chitosane, nous nous intéressons à l'utilisation du chitosane pour l'emballage agro-alimentaire qui va être présentée amplement dans le Chapitre I - partie III.

Tableau 4. Propriétés du chitosane et ses principales applications (Desbrières, 2002).

PROPRIÉTÉS	DOMAINES D'APPLICATION	APPLICATIONS
Propriétés chimiques Polyamine linéaire Réactivité des groupements amino Réactivité des groupements hydroxyle	AGRICULTURE	Enrobage des semences Alimentation des volailles Fertilisant
	ALIMENTAIRE	Additifs alimentaires (liant, émulsifiant, stabilisant..) Clarification des boissons Anticoagulant
Propriétés polyélectrolytes (en milieu acide) <ul style="list-style-type: none"> • Polymère cationique • Forte densité de charge • Excellent floculant • Adhésion à des surfaces chargées négativement 	BIOMÉDICAL	<ul style="list-style-type: none"> • Agent hémostatique, • Bactériostatique, spermicide • Lentille cristalline (ophtalmologie) • Membrane pour dialyse • Capsules pour le relargage des médicaments • Réduction du taux de cholestérol • Peaux artificielles • Pansements • Accélération de la cicatrisation des blessures • Fils de suture chirurgicaux biorésorbables
Propriétés Biologiques <ul style="list-style-type: none"> • Biocompatibilité <ul style="list-style-type: none"> • non toxique • biodégradable • Bioactivité accélère la cicatrisation des plaies <ul style="list-style-type: none"> ▪ Réduit le niveau de cholestérol ▪ Stimule le système immunitaire 		AUTRES
Propriétés chélatantes	Acoustique	Membrane des hauts-parleurs
Propriétés filmogènes	Biotechnologie	Immobilisation des cellules et des enzymes
	Alimentaire	Enrobage ou film d'emballage
Propriétés de rétention d'eau	Industrie papetière	Additifs
Propriétés antifongiques	Textile Photographie Alimentaire	Additifs (impermeabilisant...) Films antimicrobiens

III. Chitosane en tant que bioemballage actif

III.1. Définition des emballages actifs

L'emballage actif a été développé dans le domaine de l'emballage agro-alimentaire en Europe depuis quelques années comme montre l'European FAIR-Project CT 98-4170 (Vermeiren *et al*, 1999; De Kruijf *et al*, 2002). L'emballage actif est défini comme « *un emballage qui offre plus qu'une simple protection. Il interagit avec l'aliment et dans certains cas répond à des changements du milieu environnant ou du produit lui-même* » (Gontard, 2000). Alors que d'après le règlement du parlement européen et du Conseil N° 1935/2004 du 27 octobre 2004, les emballages actifs sont définis comme « *les matériaux et objets actifs sont destinés à prolonger la durée de conservation ou à maintenir ou à améliorer l'état de denrées alimentaires emballées* ». Ils sont conçus de façon à incorporer délibérément des constituants qui libèrent ou absorbent des substances dans les denrées alimentaires emballées ou dans l'environnement des denrées alimentaires. En d'autres termes, les emballages actifs agissent sur l'aliment et son environnement (Roussel, 2005) et peuvent être classés comme le montre le Tableau 5.

Tableau 5. Actions et types des emballages actifs

Fonctions Actives	Substances actives utilisées	Formes d'emballage
<u>Absorber :</u>		
- Oxygène	Fer, acide ascorbique, glucose-oxydase, polymère insaturé, ...	Sachets, étiquettes adhésives, films, bouteilles, bouchons.....
- Vapeur d'eau	Gels de silice, argile, sels anhydrides,	Sachets, bouchons...
- Exsudats	Cellulose, polyacrylate de sodium,	Buvards – Pads, sachets, barquettes à double fond...
- Gaz carbonique	Carbonate de sodium, chaux	Sachets ...
- Ethylène	Permanganate de potassium, zéolite,	Sachets, feuilles, films d'emballage....
- Odeurs	Charbon actif, zéolite,....	Sachets, films....
- Energie		Emballage auto-refroidissant
<u>Emettre :</u>		
- Gaz carbonique	Carbonate de calcium, carbonate de fer, bicarbonate de soude/acide ascorbique...	Sachets, barquettes, ...
- Vapeur	Buvar, gel superabsorbant hydratés,....	Sachets (auto cuisiner), barquettes (thermipack)...
- Additifs	Acides organiques, enzymes,..	Papiers, films d'emballage, bouteilles,...
- Inhibiteurs, antimicrobiens	Acide organiques, enzymes, essences, ions métalliques (argent), composés chlorés...	Sachets, papiers imprégnés, films d'emballage...
<u>Contrôler les échanges :</u>		
- Oxygène, humidité, arôme, gaz carbonique, éthylène, pression....		<ul style="list-style-type: none"> ▪ Films perméables, micro-perforés (pour les produits qui respirent : fruits et légumes....) ▪ Valves (café, pâtes à tarte, pasteurisation dans l'emballage, cuisson micro-ondes)

III. 2. Les films d'emballages anti-microbiens

L'emballage antimicrobien est une forme de l'emballage actif qui sert à réduire, inhiber ou retarder la croissance des microorganismes présents éventuellement dans l'aliment emballé ou dans le matériau d'emballage lui-même (Appendini et Hotchkiss, 2002 ; Suppakul *et al.* 2003). Selon Vermeiren *et al.* (1999), les emballages antimicrobiens sont utilisés dans le domaine agro-alimentaire pour emballer la viande, le poisson, le poulet, le fromage, des fruits et des légumes. D'après Appendini et Hotchkiss (2002) les emballages antimicrobiens peuvent se présenter sous plusieurs formes :

1. Addition dans l'emballage de sachets/pads contenant des agents antimicrobiens. Il existe trois formes: absorbeurs de l'oxygène, absorbeurs de l'humidité et générateurs de la vapeur d'éthanol. Les absorbeurs de l'oxygène et de l'humidité sont utilisés principalement dans les emballages de la boulangerie, de la charcuterie et de la viande. Ils empêchent l'oxydation et la condensation d'eau. Ainsi, ils servent comme antimicrobiens indirects en inhibant la croissance des micro-organismes aérobies et en diminuant l'activité d'eau (a_w). Actuellement, la société Standa est la principale entreprise en France à produire des absorbeurs de l'oxygène « ATCO[®] » (Sebti, 2002). Le générateur de la vapeur d'éthanol contient l'éthanol absorbé ou encapsulé dans les matériaux porteurs et enfermé dans un sachet. Les vapeurs d'éthanol sont libérées progressivement pour atteindre une concentration avoisinant les 0,5 % suffisante pour bloquer toute croissance bactérienne ou fongique. Les produits commerciaux sont Ethicap[®], sachet contenant de l'éthanol microencapsulé dans les poudres de dioxyde de silicium et Fretek[®], multicouche/sandwich de papier dans lequel la couche centrale est imprégnée d'éthanol (Appendini et Hotchkiss, 2002).
2. Incorporation directe d'un agent antimicrobien volatil ou non volatil dans le polymère. L'incorporation des agents antimicrobiens dans les polymères a été appliquée commercialement dans le domaine agro-alimentaire comme le montre le Tableau 6.

Tableau 6. Antimicrobiens incorporés directement dans le polymère pour les emballages agro-alimentaires.

Antimicrobiens	Polymère / porteur	Microorganismes cibles	Références
<u>Acides organiques/anhydrides</u> : Propionique, benzoïque, sorbique, acétique, lactique, malique,	Films comestibles, EVA, LDPE PET, PS	Moisissures	Baron & Sumner (1993), Vermeiren <i>et al.</i> (2002), Weng & Hotchkiss (1993) Vartiainen <i>et al.</i> (2003)
<u>Gaz inorganiques</u> : Dioxyde de soufre, oxyde de chlore	diverses polyoléfinés	Moisissure, bactérie, levures	Wellingshoff (1995)
<u>Métaux</u> : argent	diverses polyoléfinés	Bactéries	Ishitani (1995)
<u>Fongicide</u> : Benomyl, imazalil	LDPE	Moisissure	Weng & Hotchkiss (1992)
<u>Bactériocides</u> : Nisine, pédiocine, lacticine	Films comestibles, cellulose, LDPE	Bactérie gram positive	Padgett <i>et al.</i> (1998) ; Siragusa <i>et al.</i> (1999) ; Scanell <i>et al.</i> (2000); Lee <i>et al.</i> (2004)
<u>Enzyme</u> : lysozyme, glucose oxidase	acétate de cellulose, Polystyrène, films comestibles	Bactérie gram positive	Appendini & Hotchkiss (1997), Padgett <i>et al.</i> (1998); Mecitoğlu <i>et al.</i> , 2006
<u>Agent chélatant</u> : EDTA	Films comestibles	Bactérie gram négative	Padgett <i>et al.</i> (1998)
<u>Epices</u> : Cinnamique, caféique	Nylon/PE, cellulose	Moisissure, levure, bactérie	Nielsen & Rios (2000)
<u>Huiles essentielles</u> : extrait des pépins de pamplemousse, hinokitiol, poudre de bambou	LDPE, cellulose	Moisissure, levure, bactérie	Lee <i>et al.</i> (1998), Hong <i>et al.</i> (2000)

3. Dépôt des antimicrobiens sur la surface du polymère. Les exemples de cette forme sont le dépôt de l'acide sorbique sur le papier ciré et sur le boyau cellulosique pour emballer les saucisses et les fromages (Labuza et Breene, 1989) et le dépôt du mélange nisine/méthylcellulose sur les films de polyéthylène (Cooksey, 2000).
4. Immobilisation des antimicrobiens sur le polymère par liaisons ioniques ou covalentes. Quelques exemples de cette forme ont été publiés et sont présentés dans le Tableau 7.

Tableau 7. Antimicrobiens immobilisés dans un support polymère

Support Fonctionnel	Antimicrobiens	Référence
Polystyrène	Lysozyme, Peptides Antimicrobiens synthétiques	Mermelstein (1998) ; Haynie <i>et al.</i> (1995)
Polyvinyle alcool	Lysozyme	Appendini & Hotchkiss (1997)
Polyamide 6,6	Lysozyme	Appendini & Hotchkiss (1997)

5. Utilisation d'un polymère ayant l'activité antimicrobienne intrinsèque. Des polymères cationiques comme le chitosane et le poly-L-lysine favorisent l'adhésion des cellules (Goldberg *et al.* 1990) puisque la charge positive des groupements amine agit sur la charge négative de la membrane des cellules, provoque ainsi la fuite des constituants intracellulaires. Il s'ensuit la mort des microbes. En ce qui nous concerne, nous allons discuter l'activité antimicrobienne du chitosane, le matériau principal de notre étude.

III.3. Activité anti-microbienne du chitosane

Le mécanisme exact de l'action antimicrobienne du chitosane est encore inconnu mais certains mécanismes ont été proposés. L'activité antibactérienne du chitosane serait due essentiellement à la charge positive du chitosane qui interagit avec les phospholipides membranaires chargés négativement (Chen *et al.*, 1996). L'interaction crée une perturbation au niveau de la membrane avec une diminution des échanges de nutriments entre la bactérie et le milieu extérieur qui entraîne la mort cellulaire (Shahidi *et al.*, 1999). Par ailleurs, Helander *et al.* (2001) ont prouvé que la clé de l'activité antimicrobienne du chitosane provient de la charge positive des groupements amine du carbone C₂ (structure polycationique à pH < 6,3). Le même résultat a été montré par Tsai et Su (1999) pour lesquels le mécanisme d'action antimicrobienne de chitosane est dû aux interactions entre les cations du chitosane et les anions à la surface des bactéries qui modifient la perméabilité de la membrane cellulaire. De plus, le chitosane semblerait interférer et perturber la synthèse des ARN messagers en interaction avec l'ADN (Shahidi *et al.*, 1999 ; Liu *et al.*, 2000).

En ce qui concerne l'activité antifongique, le chitosane peut interagir avec la membrane des cellules pour altérer leur perméabilité. Par exemple, la fermentation avec la levure boulangère est inhibée par certains cations, qui agissent sur la surface des cellules de la levure en empêchant l'entrée du glucose. L'analyse par absorption UV a indiqué que le chitosane provoque considérablement une perte de matériels protéiques de *Pythium oarocandrum* (Rabea *et al.*, 2003).

Le chitosane agit aussi comme un agent chélatant qui forme des complexes avec les traces de métaux et ainsi il inhibe la production des toxines et la croissance des champignons (Cuero *et al.*, 1991). Il assure aussi certains processus de la défense à

l'extérieur de la cellule, p.ex. il agit comme un agent absorbant d'eau et inhibe l'activité des différents enzymes (Bai *et al.*, 1988 ; El Ghouth *et al.*, 1992).

III.3.1. Activité Bactériostatiques du chitosane

Liu *et al.* (2000) ont rapporté que l'efficacité antibactérienne du chitosane augmente avec l'augmentation de sa masse molaire, de son degré de désacétylation et de sa concentration employée. En ce qui concerne l'influence du pH, l'activité antibactérienne du chitosane est plus efficace à pH faible. En plus, Sudharsan *et al.* (1992) ont également rapporté que le chitosane et ses dérivés n'ont pas d'effet bactéricide à pH 7, dû à la présence d'une proportion importante de groupements amine non chargés et à la faible solubilité du chitosane.

En outre, Ouattara *et al.* (2000) et No *et al.* (2002) ont montré que le chitosane pur a une activité antimicrobienne plus importante que le chitosane oligomère et ont montré que son effet bactéricide est plus fort contre les bactéries gram positif que les gram négatif. A propos des solvants pour solubiliser le chitosane, l'acide acétique 1% est plus efficace dans l'inhibition de la croissance des bactéries que l'acide lactique sauf pour les bactéries d'acide lactique.

Wang (1992) a observé que la concentration allant de 1 à 1,5 % de chitosane peut inhiber la croissance de *Staphylococcus aureus* après deux jours en incubation dans un milieu de pH 5,5 et 6,5. De plus, Chang *et al.*, (1989) ont trouvé que la concentration de chitosane $\geq 0,5\%$ était suffisante pour obtenir l'inactivation complète de *S. aureus*. Les mêmes conclusions sont obtenues par Darmadji et Izumoto (1994), qui ont étudié l'effet antimicrobien du chitosane sur la conservation de la viande.

Simpson *et al.* (1997) ont étudié, par ailleurs, l'effet antimicrobien des différentes cultures des bactéries présentes dans les crevettes brutes, avec différentes concentrations de chitosane. D'après leur étude, une quantité minimale de 0,02% de chitosane est nécessaire pour avoir l'effet bactéricide contre *Bacillus cereus*. Le même résultat a été obtenu par Chang *et al.* (1989).

De nombreuses études ont aussi montré l'effet du chitosane sur l'inhibition d'*Escherichia coli*. Wang (1992) a observé l'inactivation complète après deux jours en incubation avec 0,5 ou 1,0% (w/v) de chitosane dans un bouillon de viande à pH 5,5. Il a aussi rapporté que l'inactivation complète peut être atteinte après le premier jour avec une concentration de chitosane supérieure à 1% (w/v) en bouillon de viande. Alors que, Darmadji et Izumimoto (1994) et Simpson *et al.* (1997) ont rapporté qu'une concentration \geq

0,1 % doit être utilisée pour inhiber la croissance de *Escherichia coli*. Ces différents résultats seraient dus aux différents degrés d'acétylation du chitosane employé.

Il semble qu'il y ait une corrélation entre les propriétés physico-chimiques du chitosane et de ses dérivés avec l'activité antimicrobienne. Shin *et al.* (2001) ont trouvé que 0,5% du chitosane avec la masse molaire de 100 et 210 kg/mol inhibe effectivement *Staphylococcus aureus*, alors que 1,0 % est nécessaire avec le chitosane de masse molaire 1,8 kg/mol. Ce résultat est en accord avec Liu et al (2001) qui ont montré que l'activité antimicrobienne du chitosane augmente pour la gamme des masses molaires allant de 5 à 91,6 kg/mol. Cependant, pour la gamme des hautes masses molaires (de 91,6 à 1080 kg/mol), l'activité antimicrobienne diminue avec l'augmentation de la masse molaire. Par ailleurs, Ouattara *et al.* (2000) ont aussi rapporté que le chitosane ayant la masse molaire de 1671 – 1106 kg/mol est moins efficace que celui de 746 – 470 kg/mol. Normalement, l'activité antimicrobienne du chitosane est plus efficace avec l'augmentation de masse molaire d'où un nombre de groupements amine plus important. Par contre, il est possible que la solubilité du chitosane diminue avec l'augmentation de masse molaire. No *et al.* (2002) ont également noté que l'activité antimicrobienne du chitosane varie en fonction de ses masses molaires et des bactéries cibles.

III.3.2. Activités fongistatiques

L'effet antifongique du chitosane sur la croissance in vitro des champignons pathogènes dans les cerises a été examiné par El Ghouth *et al.* (1992). D'après cette étude, le chitosane (avec DA \leq 7,2%) peut diminuer la croissance radiale de *Botrytis cinerea* et *Rhizopus stolonifer* où l'effet d'inhibition est plus fort avec la plus grande concentration employée. En outre, ces auteurs ont confirmé l'efficacité du grand nombre de groupes de charge positive. Une baisse d'activité a été observée avec N,O-carboxyméthylchitosane comparée à celle du chitosane pur. Dans une étude in vivo, El Ghaouth *et al.* (1992) ont rapporté qu'un début de l'infection des fruits enrobés par le chitosane a lieu après 5 jours de conditionnement (T =13°C), alors qu'il se produit après 1 jour pour le témoin. Après 14 jours du conditionnement (T=13°C), l'enrobage du chitosane à 15 mg/mL empêche la pourriture des cerises provoquée par les champignons et la maturation est normale (aucune apparence de l'infection fongique).

Par ailleurs, Fang *et al* (1994) ont rapporté l'effet de conservation du chitosane pour les produits à base du sucre, comme le kumquat confit. La croissance de *Aspergillus niger* est inhibée par l'addition de chitosane (0,1 mg/mL) en milieu de pH 5,4. Alors que pour inhiber la croissance de *Aspergillus parasiticus* et sa production d'aflatoxine, il nécessite un minimum de 2 mg/mL de chitosane. Par ailleurs, Cuero *et al* (1991) ont observé que N-carboxyméthylchitosane réduit la production d'aflatoxine de *Aspergillus flavus* et *A. parasiticus* de plus de 90% et la croissance des champignons est réduite de moitié.

Geoffry P. Savage *et* Grace E. Savage (1994) ont rapporté que l'enrobage du chitosane peut réduire la putréfaction des pommes au delà de 12 semaines. Une étude sur l'enrobage de chitosane pour inhiber *Sclerotinia* dans les carottes (Cheah, 1997) a montré que la putréfaction est clairement réduite de 88% à 28% par l'enrobage de chitosane de concentration 2 - 4 % (w/v). De plus, Roller *et* Covill (1999) ont rapporté que la concentration du chitosane de 1 g/L peut diminuer la vitesse de croissance de *Mucor racemosus* et une solution 5g/L peut empêcher complètement le développement de trois souches de *Byssoschlamys sp*, dans un milieu agar à 25°C pendant 3 semaines. La présence du chitosane dans un jus de pomme (pH 3,4) de concentration allant de 0,1 à 5 g/L inhibe la croissance de huit levures à 25°C. Parmi les fongiques se trouvant dans les boissons gazeuses, la souche la plus sensible est *Zygosaccharomyces bailii* alors que la plus résistante est *Saccharomyces ludwigii*.

Activité anti-microbienne du chitosane utilisé dans notre étude

En ce qui concerne l'activité antimicrobienne du chitosane utilisé dans notre étude, elle a été testée avec les bactéries *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* *et* *Pseudomonas aeruginosa* (Coma *et al.*, 2002 *et* 2003). Par ailleurs, Sebti *et al* (2005) ont utilisé le chitosane, de même fournisseur mais le % DD un peu plus faible (~90%) que le nôtre (98%), pour inhiber le développement de champignon *Aspergillus niger*. Les illustrations de ces tests sont présentées dans la Figure 11. On peut noter que l'enrobage du chitosane a pu inhiber le développement des microbes testés.

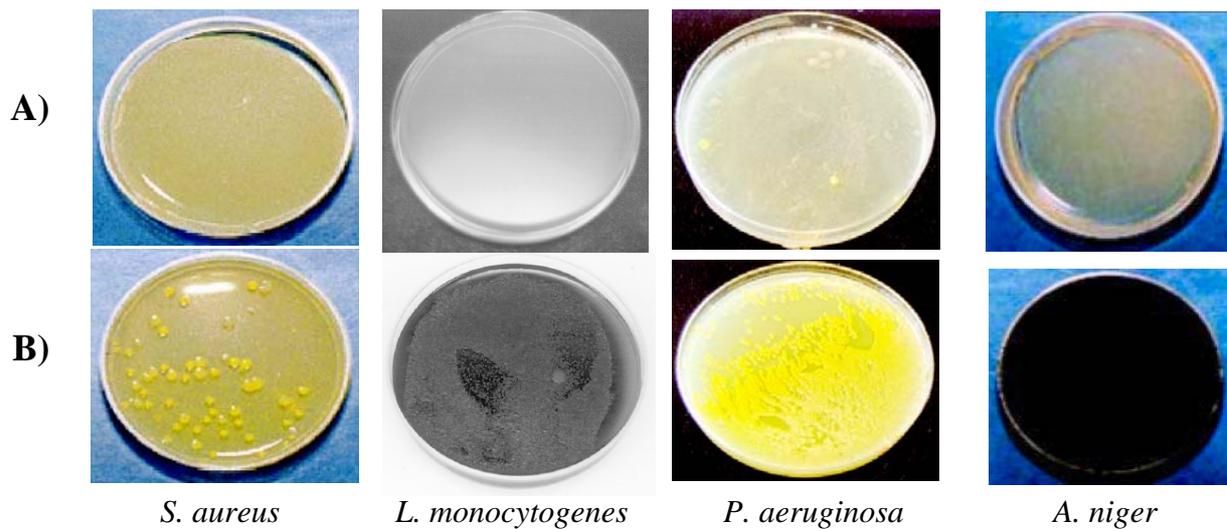


Figure 11. Développement de *S. aureus* (après 10 j); *L. monocytogenes* (après 4 j), *P. aeruginosa* (après 2 j) et *A. Niger* (après 10 j) sur un milieu de culture gélosé: **A)** avec l'enrobage du chitosane, **B)** sans l'enrobage du chitosane (D'après Coma *et al.*, 2002 et 2003; Sebti *et al.*, 2005).

III.4. Fabrication du film de chitosane par voie humide (casting)

La formation des films à base de chitosane par voie humide se fait par coacervation d'une solution filmogène. La coacervation repose sur la séparation du matériau filmogène de la phase solvant par précipitation ou par changement de phase sous l'effet du traitement thermique et de l'évaporation du solvant. La formation du film est le résultat de l'augmentation de la concentration en polymère, entraînant l'agrégation des molécules et la formation d'un réseau physique tridimensionnel. Ce procédé, parfaitement maîtrisé et appliqué en laboratoire, nécessite l'étalement de la solution filmogène en couche mince (casting). Les solvants utilisés pour le chitosane sont généralement les acides dilués (Caner *et al.*, 1998). Les propriétés des films de chitosane sont dépendantes des conditions de fabrication : solvant utilisé, température de séchage, plastifiant, conditionnement (humidité, température),....

III.4.1. Effet de la méthode de séchage

Srinivasa *et al* (2004) ont comparé les différentes méthodes de préparation des films de chitosane en utilisant l'étuve conventionnelle (oven drying), l'étuve infra rouge à 80, 90 et 100 °C, et sans l'étuve (à la température ambiante, 27 °C). Ils ont rapporté que les propriétés mécaniques (la contrainte et l'élongation à la rupture) des films du chitosane

préparés à la température ambiante sont plus performantes que celle des films préparés en étuves. Cependant, la perméabilité à la vapeur d'eau et à l'oxygène des films préparés à la température ambiante est plus importante que celles des films préparés en étuve (température plus élevée). En effet, la cristallinité des films de chitosane préparés en étuve est plus élevée que celle des films préparés à la température ambiante.

III.4.2. Effet des solvants utilisés

Le chitosane est soluble dans les milieux acides dilués par protonation des groupements amine. Les acides les plus fréquemment utilisés sont l'acide acétique, l'acide formique, l'acide lactique, l'acide propionique, l'acide malique.... Caner *et al* (1998) ont étudié l'effet des solvants (acide acétique, acide formique, acide lactique et acide propionique) sur les propriétés mécaniques et barrière du chitosane. Certaines propriétés, sont présentées dans le Tableau 8. D'après ce tableau, nous pouvons noter que l'acide acétique est le meilleur solvant pour obtenir des films de chitosane avec de bonnes propriétés mécaniques et barrière.

Tableau 8. Effet des acides dilués (1%, v/v) sur les propriétés des films de chitosane*

Type d'Acide	WVP x 10 ⁻¹ g/(m.24h.atm)	OP x 10 ⁻³ ml O ₂ /(m.24h.atm)	Elongation à la rupture (%)	Contrainte à la rupture (MPa)
Acide Acétique	8,31	7,18	32,2	22,7
Acide Formique	10,57	13,59	27,9	22,1
Acide Lactique	9,42	4,42	28,4	18,9
Acide Propionique	8,33	11,51	24,6	8,6

* WVP = perméabilité à la vapeur d'eau
OP = perméabilité à l'oxygène

Des résultats similaires ont été obtenus par Park *et al.* (2001) qui ont utilisé quatre acides différents : l'acide acétique, l'acide citrique, l'acide lactique et l'acide maléique. Par contre, ils ont rapporté que l'élongation du film de chitosane obtenu avec l'acide acétique comme solvant est beaucoup plus faible, 4,1 % seulement, au lieu de 32,2% obtenue par Caner *et al* (1998). Néanmoins, les films obtenus avec l'acide acétique possèdent les propriétés barrière à la vapeur d'eau et la contrainte à la rupture plus performantes. Ainsi, l'acide acétique est utilisé comme le solvant du chitosane pour la plupart des études (Kittur *et al.*, 1998; Butler *et al.*, 1996; Wiles *et al.*, 2000; Despond *et al.*, 2001; Kam *et al.*, 1999).

III.4.3. Effet du degré de désacétylation et de la masse molaire du chitosane

Chen et Hwa (1996) ont étudié l'effet des masses molaires du chitosane (240 ; 291 ; 340 ; 410 kg/mol) sur les propriétés mécaniques et barrière des films obtenus. Ils ont rapporté :

- plus la masse molaire du chitosane augmente, plus la contrainte à la rupture augmente,
- plus la masse molaire du chitosane augmente, plus la perméabilité à la vapeur d'eau diminue.

Autrement dit, le chitosane de haute masse molaire possède les meilleures propriétés mécaniques et barrière, comparé à celui de faible masse molaire. Ces résultats sont comparables à l'étude de Sarasam et Madihally (2005) qui ont comparé trois différentes gammes de masses molaires du chitosane (50-190 kg/mol ; 190-310 kg/mol ; > 310 kg/mol). Cette étude a montré que la résistance à la traction des films de chitosane augmente avec l'augmentation de la masse molaire.

Quant au degré de désacétylation du chitosane, Wiles et al (2000) ont étudié l'effet de trois degrés de désacétylation du chitosane (92 ; 84 ; 73 % DD) sur la perméabilité à la vapeur d'eau. Ils ont conclu qu'il n'y a pas d'effet significatif sur la perméabilité à la vapeur d'eau. Il paraît que le DD du chitosane affecte beaucoup plus les propriétés antimicrobiennes des films de chitosane que les propriétés mécaniques et barrière (c.f. III.3).

III.4.4. Effet des plastifiants

III.4.4.1. Généralités sur les plastifiants

Les plastifiants sont des additifs utilisés pour améliorer la flexibilité ou la plasticité des polymères et occasionnellement ils sont utilisés pour faciliter le processus de la mise en forme d'un polymère (Daniel, 1989).

Certaines théories ont été proposées pour expliquer les mécanismes de l'action des plastifiants (Verrier, 2005 ; Di Gioia et Guilbert, 1999):

1. La théorie de la lubrification postule que le plastifiant, par insertion entre deux chaînes de polymères, réduit les interactions intermoléculaires.
2. La théorie de gels postule que la rigidité d'un polymère provient d'une structure tridimensionnelle. Le plastifiant brise un certain nombre d'interactions

intermoléculaires en masquant les centres de forces attractives et en solvatant les chaînes de polymères en ces points (Figure 12).

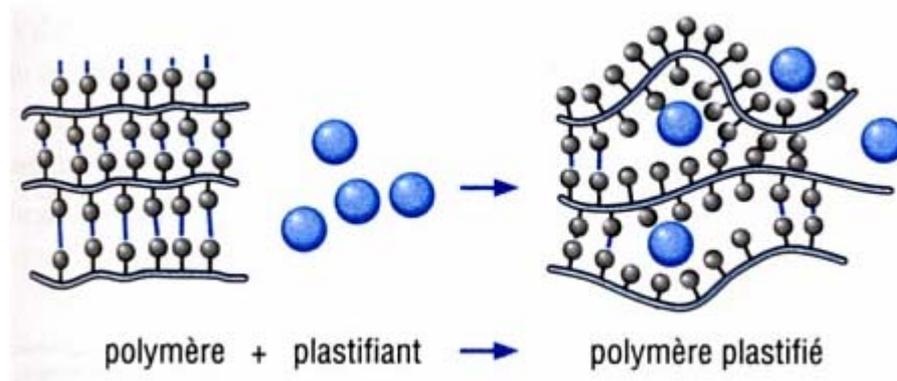


Figure 12. Schématisation du mécanisme de plastification à l'échelle moléculaire (d'après Trotignon *et al*, 1996)

3. La théorie du volume libre explicite le fait que, même à 0 K, le volume d'un cristal réel inclut des "trous" permettant des mouvements limités des éléments de la structure maillée. La plastification consiste alors à augmenter le volume libre en agissant sur les différentes sources (Figure 13): (a) augmenter le nombre de chaînes, donc de groupes terminaux (diminution de la masse moléculaire); (b) augmenter le nombre ou la longueur des chaînes latérales par réaction chimique avec le plastifiant (plastification interne); (c) faciliter les mouvements des chaînes principales en introduisant chimiquement dans ces chaînes des segments de faible empêchement stérique, donc de grande mobilité (plastification interne); (d) insérer entre les chaînes un composé ayant une bonne affinité pour le polymère et de relativement faible masse moléculaire (plastification externe). Cette théorie explique l'abaissement de la température de transition vitreuse d'un polymère avec l'addition d'un plastifiant.

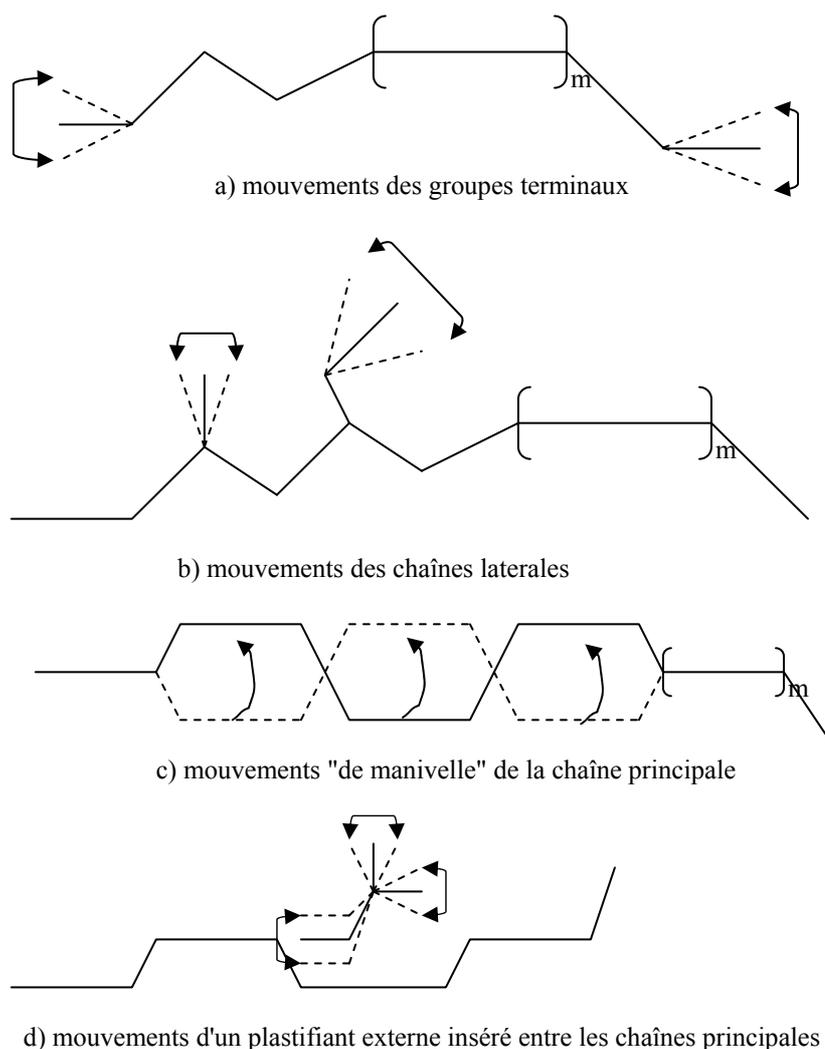


Figure 13. Sources de volume libre utilisées pour la plastification (d'après Verrier, 2005)

Les plastifiants idéaux sont miscibles et compatibles en n'importe quelle proportion avec les composants plastiques et ils peuvent être rajoutés dans la solution des polymères (technique de dispersion) ou après l'évaporation des solvants (technique d'absorption) (Santosa et Padua, 1999).

III.4.4.2. Plastification du chitosane

La plastification du chitosane n'est pas encore largement étudiée comme celles de l'amidon ou des protéines. Néanmoins, certains auteurs ont démontré l'efficacité de quelques plastifiants pour les films de chitosane:

- des plastifiants hydrophiles: polyéthylèneglycol (PEG) (Alexeev *et al*, 2000; Zhang *et al*, 2002; Kolhe et Kannan, 2003; Caner *et al*, 1998), glycérol (Butler *et al*, 1996).
- des sucres: sorbitol et sucrose (Arvanitoyannis *et al*, 1997).

Butler *et al* (1996) ont rapporté que l'élasticité des films de chitosane plastifié avec le glycérol diminue après 12 semaines de stockage, alors que Caner *et al* (1998) ont trouvé que les films de chitosane plastifié avec le PEG sont stables jusqu'à 9 semaines. De ce fait, il est nécessaire de déterminer les taux de plastifiants et la stabilité pendant l'utilisation ou le stockage afin de connaître l'efficacité d'un plastifiant.

IV. Les Mélanges Chitosane/Polymères Biodégradables

La réalisation des mélanges de polymères a pour objectif d'élaborer de nouveaux matériaux à propriétés améliorées (Utracki, 1989). De plus, élaborer un nouveau matériau à partir d'un mélange de polymères est moins coûteux et moins aléatoire que synthétiser un polymère dont les propriétés sont inconnues, à partir d'un nouveau monomère. Les mélanges sont aussi réalisés pour générer rapidement et économiquement une gamme de matériaux de différentes propriétés chimiques, mécaniques ou autres (Belhaneche-Bensemra et Bedda, 2001). D'un point de vue écologique, les mélanges de polymères permettent d'augmenter la vitesse de biodégradation des films composites comparée à celle des polymères parents (Ikejima et Inoue, 2000). Cependant, il faut étudier les critères de miscibilité des mélanges de polymères pour éviter la séparation de phase.

IV.1. Les Critères de miscibilité des mélanges de polymères

Les degrés de compatibilité d'un mélange de deux polymères se présentent sous trois différents niveaux (Hallary et Monnerie, 1986):

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

Il existe quelques critères simples pour discuter de la compatibilité ou de l'incompatibilité des mélanges (Hallary et Monnerie, 1986). L'observation visuelle simple de l'opacité d'un film peut être révélatrice de la présence d'hétérogénéité. Toutefois, la

transparence du film ne peut pas être une preuve de compatibilité puisque le phénomène de diffusion du rayonnement visible n'est perceptible que si la taille des domaines est proche de 100 nm et les indices de réfraction des deux polymères sont très différents. Ainsi, pour caractériser un mélange de polymères, il convient d'utiliser d'autres techniques qui permettent de déterminer le degré de compatibilité. Les différentes techniques qui vont être détaillées ci-dessous comportent de véritables critères de compatibilité.

IV.1.1 – Comportement mécanique des mélanges

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

$$\text{- le modèle en parallèle : } E_p = \phi_1 E_1 + \phi_2 E_2 \quad (1)$$

$$\text{- le modèle en série : } \frac{1}{E_s} = \frac{\phi_1}{E_1} + \frac{\phi_2}{E_2} \quad (2)$$

où E_i représente le module d'Young du polymère i , et ϕ_i la fraction volumique de la phase i .

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

Un autre modèle fréquemment utilisé est le modèle de Davies (Davies, 1971). Il s'applique plus particulièrement aux mélanges de polymères co-continus, homogènes et isotropes (Equation 4).

$$E^{1/5} = E_1^{1/5} \phi_1 + E_2^{1/5} \phi_2 \quad (3)$$

IV.1.2 – Déplacement des transitions thermiques

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

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

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

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

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

$$\frac{1}{T_g} = \frac{w_1}{T_{g1}} + \frac{w_2}{T_{g2}} \quad (5)$$

Enfin, d'autres modèles basés sur la théorie des volumes libres et sur des considérations thermodynamiques ont été décrits. Le plus couramment utilisé est le modèle de Couchman et Karasz (1978):

$$T_g = \frac{w_1 \Delta C p_1 T_{g1} + w_2 \Delta C p_2 T_{g2}}{w_1 \Delta C p_1 + w_2 \Delta C p_2} \quad (6)$$

où w_i est la fraction massique du polymère i et $\Delta C p_i$ est la variation de la capacité calorifique molaire (ou massique) à T_{gi} . Cette équation nécessite la détermination par AED

des valeurs de chaleur spécifique des polymères constituant le mélange, et a été très largement utilisée pour prédire l'évolution de la T_g des mélanges de polymères.

Ainsi la détermination expérimentale de la T_g d'un mélange de polymères et la comparaison avec un des modèles (Gordon-Taylor ou Couchman-Karasz) permet d'évaluer leur compatibilité. L'abaissement de la température de fusion (T_f) d'un des constituants peut également être le signe d'une certaine compatibilité entre les polymères du mélange et donc servir de critère de compatibilité. Toutefois, la fiabilité de ce critère est souvent mise en question car des modifications de morphologie des constituants après mélange peuvent également provoquer l'abaissement du point de fusion. Il peut y avoir compétition entre les effets thermodynamiques (dont dépend la compatibilité) et certains effets morphologiques.

IV.1.3 – Observation microscopique des mélanges

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

IV.2 – Les mélanges chitosane/polymères biodégradables

Le film de chitosane, comme la plupart des films à base de polysaccharides, possède une bonne imperméabilité aux gaz mais est peu barrière à la vapeur d'eau, dû à la présence de nombreux groupes pouvant former des liaisons hydrogène dans sa structure (Olabarrieta *et al*, 2001). De plus, le film de chitosane est cassant. Ces deux points faibles du film de chitosane empêchent ses applications dans le domaine de l'emballage. Il est nécessaire donc d'améliorer l'hydrophobie et l'élasticité du chitosane sans perdre sa biodégradabilité. Pour cela, nous nous intéresserons à l'association du chitosane avec d'autres polymères biodégradables.

Le Tableau 9 présente les mélanges de chitosane/polymères biodégradables. L'objectif de ces mélanges est soit d'améliorer la résistance à la vapeur d'eau, soit d'augmenter l'élasticité du chitosane. Aucun mélange ne peut résoudre directement les deux points faibles du chitosane. Dans le mélange chitosane/polymère hydrophobe, on peut

améliorer la résistance à la vapeur d'eau mais pas l'élasticité du chitosane. Pour le mélange avec les polymères hydrophiles, on peut augmenter l'élasticité du chitosane car ils jouent le rôle de plastifiants pour le chitosane, comme le PVA et le PEG. Pourtant, ils diminuent la performance de la barrière à la vapeur d'eau. Dans le mélange avec d'autres polysaccharides, le chitosane est employé généralement pour augmenter la performance des polymères associés ou pour conférer les propriétés antimicrobiennes. Dans le cas du mélange chitosane/amidon, la présence de l'amidon peut servir à diminuer le prix des films à base de chitosane.

Tableau 9. Les mélanges : chitosane/polymères biodégradables

Polymères associés	Domaine d'application	Références
<u>1. Polymères hydrophobes:</u>		
▪ Poly(ϵ -caprolactone)	Film d'emballage Médical	Olabarriete <i>et al</i> , 2001; Olabarriete <i>et al</i> , 2002. Senda <i>et al</i> 2001; Sarasam et Madihally, 2005.
▪ Poly(acide lactique)	Film d'emballage Médical	Suyatma <i>et al.</i> , 2004. Li <i>et al</i> , 2004; Ding <i>et al</i> , 2004
▪ Poly(hydroxy butyrate)	Médical	Ikejima et Inou, 2000; Chen <i>et al</i> , 2005
<u>2. Polymères hydrophiles:</u>		
▪ Poly(vinyl d'alcool)	Film d'emballage	Park <i>et al</i> , 2001a; Srinivasa <i>et al</i> , 2003; Pawlak et Mucha, 2003
▪ Poly(N-vinyl pyrrolidone)	Film d'emballage	Sakurai <i>et al</i> . 2000
▪ Poly(amide 6)	Film d'emballage	Dufrense <i>et al</i> . 1999
▪ Poly(oxyde d'éthylène)	Médical	Amiji, 1995; Khoo <i>et al</i> . 2003
<u>3. Polysaccharides:</u>		
▪ Cellulose	Film d'emballage	Hosokawa <i>et al</i> . 1990; Makino et Hirata, 1997; Yin <i>et al</i> , 2005.
▪ Méthyle cellulose	Film d'emballage	Garcia <i>et al</i> , 2004.
▪ HPMC	Film antimicrobien	Pawlak et Mucha, 2003; Möller <i>et al</i> , 2004
▪ HEC	Membrane	Jiratananon <i>et al</i> , 2002; Wali <i>et al</i> , 2005
▪ Amidon	Film d'emballage	Lazaridou et Biliaderis, 2002; Tang <i>et al</i> , 2003; Zhai <i>et al</i> , 2004; Xu <i>et al</i> , 2005; Mathew <i>et al</i> , 2006; Bangyekan <i>et al</i> , 2006; Durango <i>et al</i> , 2006.
▪ Alginate	Médical	Yan <i>et al</i> , 2001
▪ Pectine	Film multicouche d'emballage	Hoagland et Parris (1996)
▪ κ -Carragénan	Film d'emballage	Park <i>et al</i> , 2001b.
<u>4. Protéine:</u>		
▪ Gélatine	Médical	Remunan-Lopez et Bodmeier, 1996; Arvanitoyannis <i>et al</i> , 1998; Mao <i>et al</i> , 2003; Lopez-Caballero <i>et al</i> , 2005
▪ Keratine	Film d'emballage	Tanabe <i>et al</i> , 2002
▪ Collagène	Médical	Machado <i>et al</i> , 2002
▪ Protéines de petit lait (Whey protéine)	Film d'emballage	Gälldtedt, Törnqvist et Hedenqvist, 2001; Gälldtedt et Hedenqvist, 2002

Chapitre II

MATERIELS ET METHODES

1. Matières premières

1.1. Matériaux

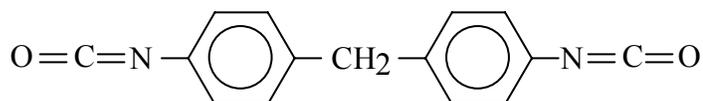
- Chitosane provenant des Pêcheries Marinard Ltd (Québec, Canada), sous forme granules, haute viscosité et présentant un degré de désacétylation (DD) de 80-85%, a été utilisé seulement pour l'étude préliminaire.
- Chitosane (N° 234 - France Chitine), provenant des carapaces de crevettes a été utilisé pour la suite des études. Les caractéristiques données par le fournisseur sont les suivantes: la viscosité est de 125 cP mesurée pour 1 g du chitosane dans 99 g d'une solution d'acide acétique (1%). Le degré de désacétylation est de 98% (mesuré par titrage colloïdal).
- PLA (Cargill Dow) contient 92% de L-lactide et 8% de meso-lactide, masse molaire 49 000 g/mol (déterminée par viscosité intrinsèque avec le chloroforme comme solvant et à 58°C).

1.2. Produits chimiques

- Plastifiants (Sigma Aldrich, USA): Glycérol (Gly), éthylène glycol (EG), propylène glycol (PG), poly(éthylène glycol) (PEG) avec les caractéristiques reportées dans le Tableau 1.
- Solvants: acide acétique, acide lactique, chloroforme, acétonitrile, tétrahydrofurane (THF), dichlorométhane (DCM), méthyléthylcétone (MEC), triéthylène glycol (TEG), diméthylsulfoxyde (DMSO).

Réactifs:

- Le 4,4'-méthylènebis (phénylisocyanate) (MDI) est utilisé comme agent compatibilisant, fourni par la société Sigma Aldrich (USA).



- Acide para toluène sulfonique et dibutyl laurate d'étain (TDBL) utilisés comme catalyseurs.
- Monomères du PLA: D,L-acide lactique; L-Lactide provenant de Sigma Aldrich (USA).

Tableau 1. Propriétés des plastifiants utilisés

Caractéristiques	GLY	EG	PEG	PG
Structure chimique	HOCH ₂ CH(OH)CH ₂ OH	HOCH ₂ CH ₂ OH	CH ₃ (OCH ₂ CH ₂) _n OH	HOCH(CH ₃)CH ₂ OH
Masse molaire (g/mol)	92	62	200	76
T d'ébullition (°C)	290	196-198	-	185
Teneur en eau (%)	0.5	0.3	0.5	0.2
Solubilité dans l'eau	Complète	Complète	Complète	Complète

2. Méthodes expérimentales

L'élaboration de matériaux à base de chitosane pur et de mélange chitosane/PLA sous forme de films s'effectue par casting. L'étude bibliographique a montré que la solution aqueuse de l'acide acétique est le solvant le plus approprié pour solubiliser le chitosane. En effet, le film de chitosane avec l'acide acétique comme solvant a de bonnes propriétés mécaniques et barrière à la vapeur d'eau. Cependant, pour le PLA, nous devons effectuer un test de solubilisation en utilisant plusieurs solvants (chloroforme (CHL), acétonitrile (ACN), tétra hydrofurane (THF), dichlorométhane (DCM), diméthylsulfoxyde (DMSO), méthyléthylcétone (MEC), et triéthylèneglycol (TEG)). Ce travail a pour but de trouver les solvants appropriés pour solubiliser le PLA. Le Tableau 2 résume les résultats obtenus.

Tableau 2. Solubilisation du PLA (0,5 g) dans des solvants organiques

Solvant (volume en ml)	Solubilisation (durée en heure)		Film obtenu
	T ambiante	T 80 °C	
CHL (15)	Soluble (4 h)	-	souple*, transparent
THF (15)	Soluble(18 h)	-	rigide, opaque
ACN (30)	Soluble (18 h)	-	rigide, assez transparent
DCM (15)	Soluble (12 h)	-	rigide, opaque
MEC (60)	Non soluble (72 h)	Non soluble (24 h)	-
TEG (60)	Non soluble (72 h)	Non soluble (24 h)	-
DMSO (60)	Non soluble (72 h)	Non soluble (24 h)	-

* rigide après vieillissement pendant plus de 3 semaines à 23°C et 58% HR.

Les films de PLA sont ensuite préparés avec le chloroforme et l'acétonitrile en raison des caractéristiques sensorielles intéressantes des films obtenus. De plus, l'utilisation de THF et DCM a provoqué la précipitation du PLA lorsque le mélange de chitosane/PLA a été effectué, quelque soit la quantité de PLA. Par conséquent, dans l'étude préliminaire le chloroforme et l'acétonitrile ont été utilisés avec une faible teneur de PLA (5 et 10 %, w/w). En fait, une teneur en PLA supérieur à 15% provoque la précipitation du PLA solubilisé dans l'acétonitrile.

2.1. Fabrication des films de chitosane pur

Le processus de la fabrication des films est schématisé dans la Figure 1. Les films de chitosane pur sont fabriqués selon la procédure suivante: une solution 2 % (w/w) de chitosane est préparée en solubilisant 5 g de chitosane en poudre dans 250 ml d'acide acétique 1% (v/v) sous agitation magnétique (300 rpm). La solution obtenue est filtrée pour éliminer des impuretés à l'aide d'un système de filtrage équipé d'une pompe à vide. Ensuite, la solution est coulée dans une boîte de Pétri et séchée à la température ambiante. Les films formés sont démoulés puis stockés à 23 ± 2 °C et 50 ± 5 % en HR.

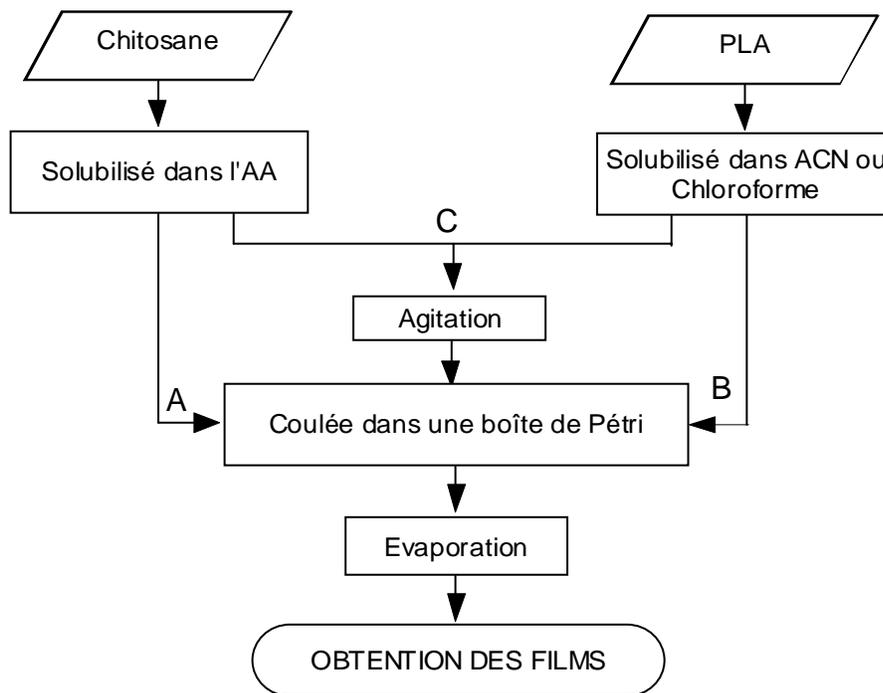


Figure 1. Préparation des films de chitosane pur (A), de PLA (B) et leur mélange (C) selon la méthode de Olabarrieta *et al* (2001). AA = Acide acétique, ACN = Acétonitrile.

2.2. Fabrication des films de PLA pur

Les films de PLA pur sont fabriqués en utilisant la méthode de Olabarrieta et al (2001). Nous avons utilisé le chloroforme et l'acétonitrile, qui donnent des films de PLA pur plus transparents que ceux préparés avec d'autres solvants.

2.3. Fabrication des films du mélange chitosane/PLA

Pour réaliser les mélanges de chitosane/PLA, nous avons effectué une étude préliminaire en utilisant deux solvants différents pour solubiliser le PLA. Les différentes compositions sont: chitosan/PLA (w/w) = 100/0; 95/5; 90/10; et 0/100. Le processus de mélange est présenté dans la Figure 1. Le mélange de deux solutions de chitosane et de PLA

est effectué sous agitation magnétique (300 rpm), puis homogénéisé avec Ultra Turrax (max. 20000 rpm, Janke & Kunkel - Staufen, Allemagne).

Dans la deuxième étape, nous avons effectué les mélanges de chitosane/PLA en utilisant le chloroforme. Différentes formulations chitosane/PLA (w/w) ont été préparées = 100/0; 95/5; 90/10; 80/20; 70/30; 60/40; 50/50; 30/70; 10/90 et 0/100. Au delà de 40% du PLA, il y a une séparation de phase provoquant la précipitation du PLA et les films obtenus sont opaques. Pour cette raison, nous avons utilisé seulement 10, 20 et 30 % de PLA.

2.4. Greffage du chitosane avec le PLA

Nous avons utilisé deux méthodes différentes: méthode directe en utilisant le monomère D,L-acide lactique et méthode par polymérisation d'ouverture de cycle (ROP) de L-lactide, pour greffer le PLA sur la chaîne de chitosane. Le chitosane-g-PLA peut être utilisé comme film d'emballage ou comme agent compatibilisant pour le mélange de chitosane/PLA.

2.4.1. Synthèse du chitosane-g-PLA par polymérisation d'ouverture de cycle (ROP) selon la méthode de Kim *et al* (2002).

La Figure 2A montre le processus du greffage de PLA sur la chaîne de chitosane par polymérisation par ouverture de cycle. Le chitosane (1.0 g) a été ajouté dans 300 ml d'acide acétique 1%. Cette solution a été filtrée et mise dans un réacteur (500 ml) et purgée avec de l'azote pendant 30 minutes. Ensuite, le L-lactide (4.0 g) a été ajouté et le mélange des réactants a été chauffé à 80 °C. Puis, 0,5 ml de la triéthanolamine (TEA) a été ajouté au mélange. Ce dernier est ensuite maintenu sous agitation pendant 24h. Le produit obtenu a été précipité dans une grande quantité d'acétone et séché sous vide à température ambiante. Puis, on extrait les homopolymères à l'aide d'un Soxhlet avec le méthanol pendant 24h.

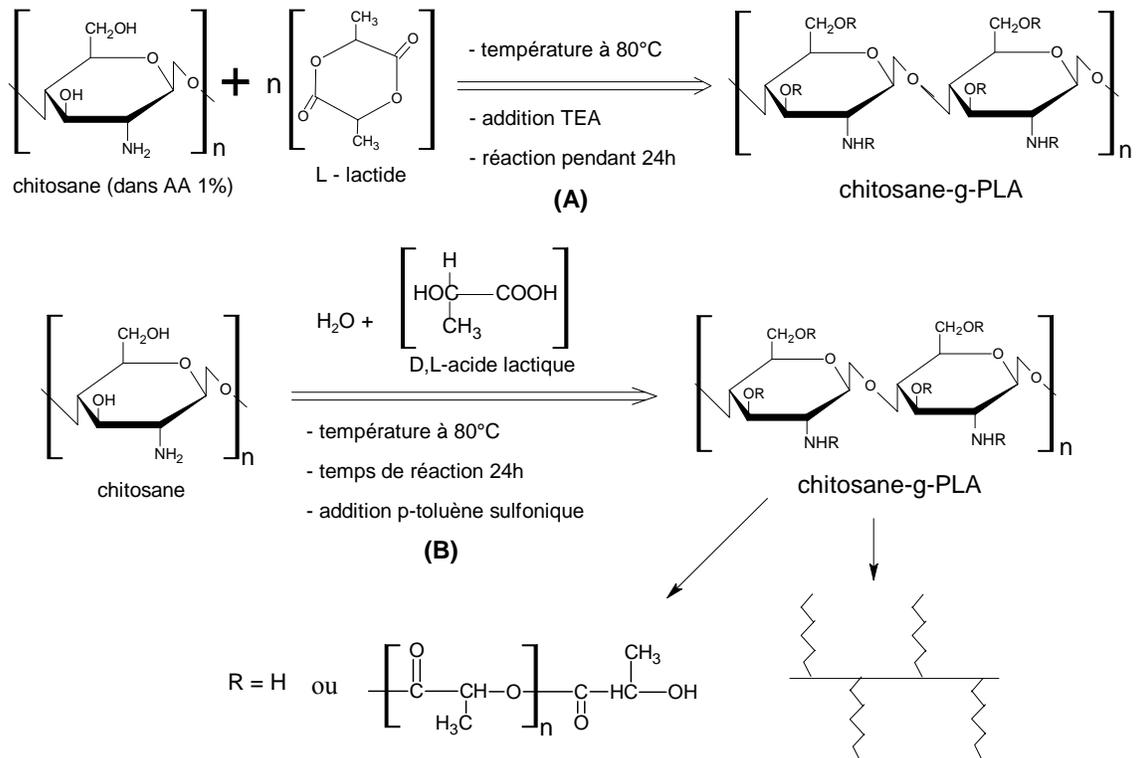


Figure 2. (A) Synthèse du copolymères de chitosane-g-PLA par polymérisation par ouverture de cycle (ROP) et (B) par greffage direct.

2.4.2. Synthèse du chitosane-g-PLA par greffage direct selon la méthode de Qu *et al* (1999).

La synthèse du chitosane-g-PLA par greffage direct est illustrée dans la Figure 2B. Le chitosane (3.0 g) a été solubilisé dans 300 ml d'acide lactique 2 %. La solution obtenue a été mise dans un réacteur (500 ml), agitée avec Ultra-Turrax et puis purgée avec de l'azote pendant 2h. Ensuite, 9 ml de D,L-acide lactique 85% (~7 g) ont été ajoutés, suivis de l'addition de 1×10^{-2} mol d'acide p-toluène sulfonique (p-TSA). La réaction s'est déroulée à 80°C pendant 24h, puis le contenu du réacteur a été versé dans une boîte de Pétri, et séché à 50°C . Les homopolymères ou les sels formés pendant la réaction de greffage ont été extraits des films obtenus par extraction au Soxhlet avec du méthanol.

2.5. Plastification du chitosane

Nous avons utilisé quatre plastifiants hydrophiles (glycérol (GLY), polyéthylène glycol (PEG), éthylène glycol (EG) et propylène glycol (PG)) pour plastifier les films de chitosane.

Le chitosane a été plastifié en utilisant la méthode de Kolhe et Kannan (2003). Le processus de fabrication des films est illustré dans la Figure 3. La solution de 2 % de chitosane ou de chitosane/plastifiant a été préparée en ajoutant 10 g de chitosane en poudre ou (10-x) g de chitosane + x g de plastifiant, où x est la quantité massique de plastifiant, dans 500 ml de l'acide acétique 1%, puis mélangée à l'aide d'une agitation magnétique jusqu'à l'obtention d'une solution homogène. Les compositions de chitosane/plastifiant sont 100/0; 95/5; 80/20 et 60/40 (w/w). Puis, les films sont moulés dans une boîte de Pétri en poly (méthacrylate de méthyle) suivi par l'évaporation du solvant à la température ambiante. Les films obtenus sont stockés dans une enceinte climatique (CIAT, France) à 50 ± 5 % HR et 23 ± 2 °C.

2.6. Compatibilisation du mélange chitosane/PLA

Nous avons utilisé le MDI comme agent de compatibilisant parce qu'il a déjà été utilisé comme tel dans le mélange PLA/amidon (Wang et al, 2002; Jun et al. 2001) et également employé dans notre laboratoire (Schwach, 2004). Dans une étude préliminaire, nous avons aussi utilisé le TDI mais il provoque une coloration marron foncé des films obtenus. Quant aux copolymères chit-g-PLA (synthétisés avec la méthode directe et ROP), ils ne peuvent pas être utilisés comme agents compatibilisants dans notre étude parce qu'ils sont insolubles. Par suite, la compatibilisation du mélange chitosane/PLA est réalisée comme le montre la Figure 3:

- les isocyanates réagissent avec le PLA (solubilisé dans le chloroforme) à 60°C pendant 1 heure.
- le PLA en solution, lié avec les groupements isocyanates, est rajouté goutte par goutte dans la solution de chitosane (1% w/w). Le mélange chitosane/PLA est chauffé à 80°C pendant 30 minutes, puis mixé pendant environ 2 heures jusqu'à l'obtention d'une solution homogène.

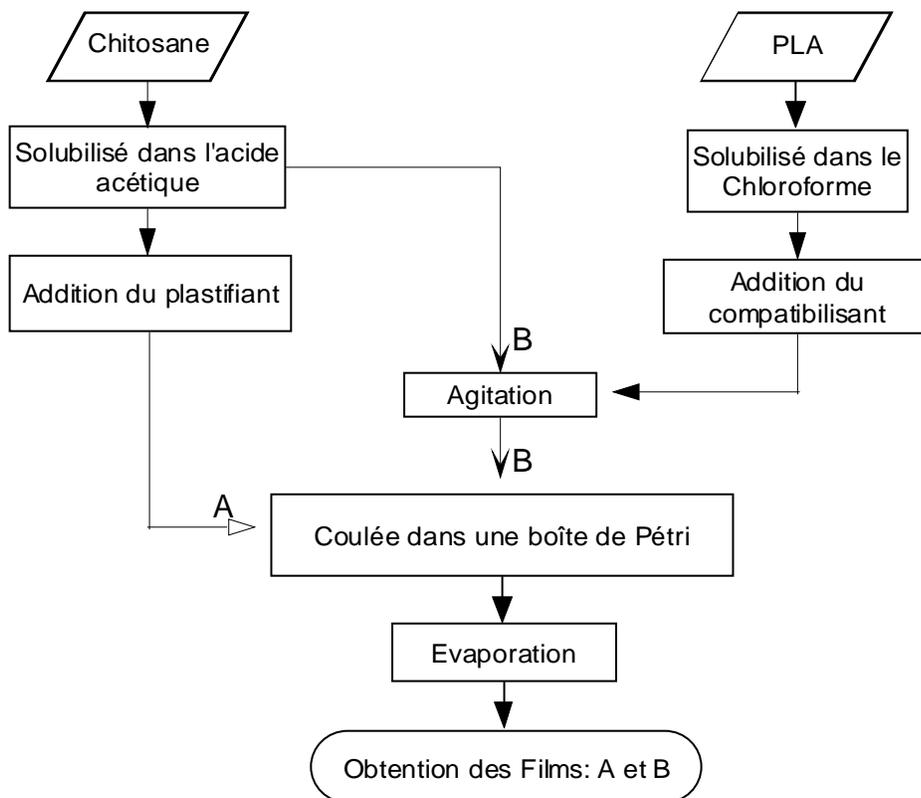


Figure 3. Processus de la fabrication des films par casting. (A) chitosane plastifié, (B) compatibilisation du mélange chitosane/PLA.

3. Méthodes d'évaluation

3.1. Epaisseur des films obtenus

L'épaisseur des films a été mesurée à l'aide d'un micromètre (Twing-Albert Instrument Co., Philadelphia, USA) en 5 points différents sur chaque film avec une précision de 0,1 μm .

3.2. Teneur en eau

Pour déterminer la teneur en eau des films plastifiés, des échantillons (environ 100 mg) ont été séchés dans une étuve sous vide à 60°C jusqu'à l'obtention d'une masse constante. Cette méthode est inspirée de celle de Hulleman *et al.* (1998). Dans ces conditions, l'évaporation des plastifiants dans les films est négligeable. La perte de masse de chaque échantillon a été déterminée, ensuite la teneur en eau a été calculée en utilisant l'équation:

$TE = (M_i - M_f) / M_f \times 100$; où M_i et M_f sont respectivement la masse initiale et la masse finale (après séchage) des échantillons.

3.3. Propriétés mécaniques

La caractérisation mécanique des films est effectuée en traction sur des éprouvettes en forme d'haltère de type H3 (Figure 4). L'éprouvette a une géométrie utile de 17 x 4 x 0.05 mm (longueur x largeur x épaisseur). Les films sont conditionnés à humidité relative et température contrôlées (23°C; 58% HR) avant les tests. Ils sont testés à l'aide d'une machine de traction TEST 108, 2kN (GT-TEST) équipée d'un capteur de force 500 N et pilotée par le logiciel TESTWinner 920 (sauf pour les essais préliminaires pour lesquels nous avons utilisé une machine de traction ADAMEI-LHOMARGY modèle DY25). La vitesse de traction est fixée à 10 mm/minute.

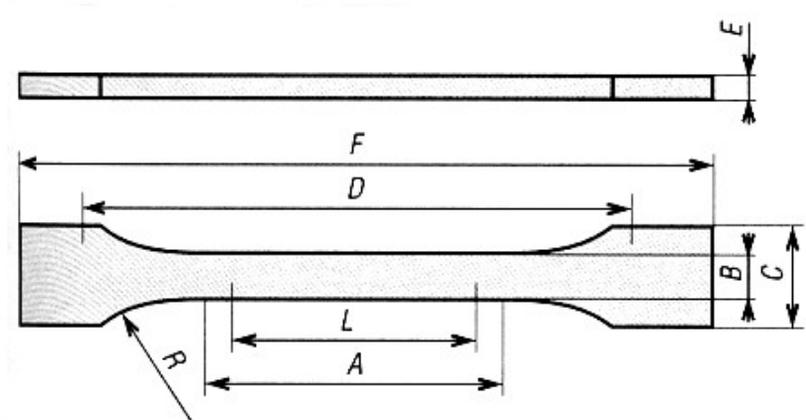


Figure 4. L'éprouvette des tests de traction de type H3 avec les dimensions: A: 17 mm, B: 4 mm; C: 8,5 mm; E: épaisseur en mm; F: 50 mm; D: 40 mm; L:10mm; R:7,5mm.

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

- la contrainte à la rupture (σ_r): quotient de la force appliquée au moment de la rupture de l'éprouvette à la section initiale,
- le module d'élasticité (E_m): la tangente à l'origine de la courbe contrainte-déformation
- l'élongation à la rupture ($\varepsilon \%$) = $\Delta L/L_o \times 100$.

3.4. Caractérisation des films par spectroscopie IRTF

Les interactions entre les différents composants du film peuvent être caractérisées par IRTF selon l'intensité et la fréquence de vibration des liaisons qui unissent les différents atomes de chaque composant. Nous avons utilisé le spectromètre infrarouge à transformée de Fourier Nicolet 460 (Madison, USA), sauf pour les essais préliminaires où nous avons utilisé l'appareil BOMEM MB-100 (Canada).

L'analyse par spectroscopie IRTF s'effectue sur des pastilles de KBr obtenues en ajoutant 3-5 mg du film réduit en poudre dans 200 mg de KBr. L'épaisseur des pastilles est inférieure à 0,50 mm. Le spectre IRTF de chaque échantillon est enregistré à la température ambiante dans la plage de 500-4000 cm^{-1} , en utilisant 16 scans et une résolution de 4 cm^{-1} .

3.5. Analyse thermique différentielle (DSC)

L'analyse thermique différentielle permet de déterminer les températures de transition vitreuse (T_g), de fusion et de dégradation thermique des différentes catégories de matériaux. L'appareil de DSC (M-DSC 2920, TA Instruments, USA) a été utilisé. Les échantillons (9-10 mg) contenus dans des creusets en aluminium sont analysés. Nous avons effectué deux balayages pour chaque échantillon avec des vitesses de chauffage de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ et de refroidissement de 30 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Les cycles de température suivants ont été programmés:

- dans l'étude préliminaire, l'échantillon a été chauffé jusqu'à 190 $^{\circ}\text{C}$, refroidi jusqu'à -50 $^{\circ}\text{C}$ puis chauffé une deuxième fois à 200 $^{\circ}\text{C}$.
- pour l'étude principale, selon le même principe, les limites de température étaient: -30 $^{\circ}\text{C}$ et 190 $^{\circ}\text{C}$ pour le premier chauffage; -30 $^{\circ}\text{C}$ et 300 $^{\circ}\text{C}$ pour le deuxième balayage.

Cette méthode a été proposée par Sakurai *et al* (2001) pour bien détecter et déterminer la T_g du chitosane.

Le premier balayage permet de connaître la température de fusion T_f du matériau (pic endothermique) et l'enthalpie de fusion (ΔH_f), énergie absorbée par le matériau à la température de fusion. Ce dernier paramètre permet d'obtenir le taux de cristallinité des films. Le pourcentage de cristallinité a été obtenu via l'équation :

$$\%Cristallinité = \frac{\Delta H_m}{\Delta H_c} \times 100$$

où: ΔH_m = enthalpie de fusion du polymère étudié

ΔH_c = enthalpie de fusion du polymère homologue 100% cristallin.

3.6. Mesure de perméabilité à la vapeur d'eau

Nous avons utilisé le MOCON PERMATRAN W3/31 suivant la norme ASTM F1249-90. C'est un système de mesure relative de la WVTR (water vapour transmission rate = vitesse de transmission de la vapeur d'eau). La cellule est divisée en deux compartiments séparés par le film à tester. L'un des compartiments contient l'atmosphère humide obtenue grâce à un balayage d'azote humide ($40\% \leq HR \leq 90\%$) et l'autre compartiment est balayé par de l'azote préalablement séché. (Figure 5).

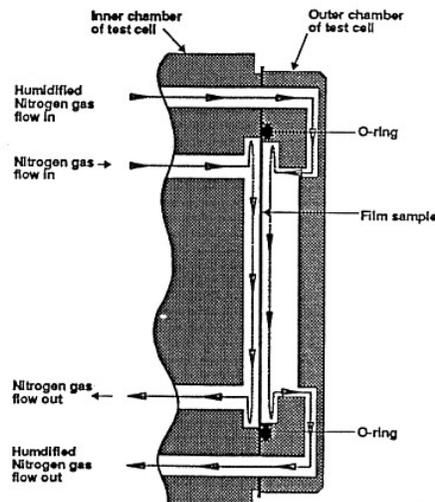


Figure 5. Schéma de mesure de la perméabilité à la vapeur d'eau

Lorsque la vapeur d'eau traverse le film, elle est emportée par le gaz sec à un débit déterminé vers le détecteur infrarouge. Ce dernier émet un signal directement proportionnel à la quantité de vapeur d'eau arrivant au détecteur.

Nous avons travaillé à trois valeurs d'humidité relative: 40, 65 et 90 % à 23 °C. Pour une détection optimale le débit d'azote est de 50 cm³/min et la surface de mesure est de 5 cm². La mesure est effectuée lorsque l'état stationnaire est atteint (la quantité d'eau traversant le film est constante). La perméabilité à la vapeur d'eau (WVP) est obtenue par l'équation:

$$WVP \text{ (g.m}^{-1} \cdot (24\text{h})^{-1} \cdot \text{atm}^{-1}) = \frac{WVTR}{P_1 - P_2} \times L \quad (2.5)$$

où:

- WVTR = Q/(A.t) = quantité d'eau (Q) traversant le matériau de surface (A) pendant un temps (t) en g.m².(24h)⁻¹.
- L = épaisseur du film testé (m).
- P₁-P₂ = différence de pression de vapeur d'eau (en atm) à température T de part et d'autre du film à tester (c.f. figure 4).

3.7. Angle de contact par la goniométrie

La mesure d'angle de contact (θ) rend compte de l'aptitude d'un liquide à s'étaler sur une surface par mouillabilité. La méthode consiste à mesurer l'angle formé entre la tangente du profil d'une goutte déposée sur le substrat et la surface du substrat. Elle permet de mesurer **l'énergie de surface** du liquide ou du solide. La mesure de l'angle de contact permet d'accéder à l'énergie libre d'une surface. Elle permet aussi la distinction entre la nature polaire ou apolaire des interactions à l'interface liquide-solide. On peut ainsi déduire le caractère hydrophile ou hydrophobe d'une surface.

On mesure les énergies de surface du solide γ_s , du liquide γ_l , et l'énergie interfaciale solide liquide γ_{sl} . Ces énergies tiennent compte de la texture de la surface du film (porosité et aspérité) et des interactions chimiques entre le film et le liquide. L'énergie de surface du liquide correspond à sa tension superficielle. L'énergie de surface du solide γ_s est plus difficile à déterminer. Elle passe par l'énergie de surface critique γ_c (approche de Zisman) qui est définie

comme étant la limite au delà de laquelle tout liquide de tension superficielle γ_l , inférieure à γ_c , peut s'étaler parfaitement sur le film. La relation $\cos(\theta)=f(\gamma_l)$ pour les différents liquides, induisant les différents angles de contact θ à l'interface liquide-film permet de calculer cette valeur d'énergie de surface critique. Au final, γ_{sl} peut être alors déterminé comme suit :

$$\gamma_s = \gamma_l \cos(\theta) + \gamma_{sl}$$

γ_{sl} est un coefficient de mouillabilité. Le mouillage qui se produit lorsqu'une goutte d'un liquide s'étale à la surface d'un solide dépend des tensions interfaciales liquide/air, liquide/solide et air/solide, qui sont elles-mêmes liées aux variations de l'angle de contact θ (Figure 6).

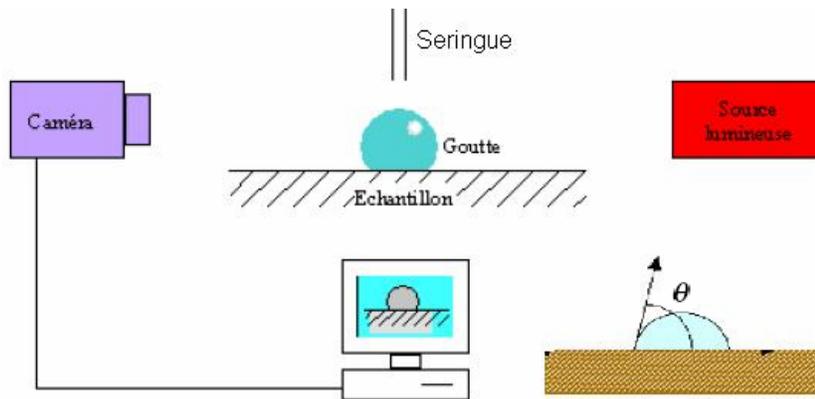


Figure 6. Schématisation de la mesure d'angle de contact.

Une gouttelette d'eau est ainsi déposée à la surface de films totalement lisses. L'angle de contact (θ) à l'interface eau / film est mesuré avec une précision de 1° dès le dépôt de la gouttelette au moyen du goniomètre Kruss G23 (Allemagne) muni d'une micro-seringue. L'angle de contact, variant de 0° pour des films hydrophiles à 90° pour des films hydrophobes, est mesuré après dépôt de la goutte d'eau en 7 points différents sur chaque film. Les angles de contact ont été mesurés sur les deux côtés de la goutte avec calcul de la valeur moyenne.

3.8. Absorption d'humidité

L'absorption de l'humidité a été mesurée en suivant la méthode d'Anglès et Dufresne (2000) au lieu de la méthode classique (immersion dans l'eau), parce que le chitosane est très

sensible à l'eau, donc peut se dissoudre partiellement pendant une longue durée d'immersion. Les films séchés de 20 mm x 20 mm ont été conditionnés à 0 %RH (P₂O₅) pendant 1 semaine avant le test d'absorption. Après pesée, ils ont été conditionnés à 20-25°C dans un dessiccateur contenant une solution saturée de CuSO₄.5H₂O pour assurer une humidité relative de 98%. Les échantillons ont été enlevés à intervalles désirés et pesés jusqu'à ce que l'état d'équilibre soit atteint. L'absorption de l'humidité des échantillons a été calculée comme suit:

$$\text{Absorption de l'humidité (\%)} = \frac{M_t - M_0}{M_0} \times 100$$

où M_t et M_0 sont respectivement la masse des échantillons après un temps t (heures) à 98% HR et la masse initiale des échantillons.

3.9. Test de solubilité et rendement du greffage

Le rendement du greffage est calculé par l'équation (Kim *et al*, 2000):

$$\text{Rendement du greffage (\%)} = (m_2 - m_1) / m_3$$

m_2 , m_1 et m_3 représentent respectivement la masse de chitosane-g-PLA, de chitosane initial et du monomère du départ. Pour les tests de solubilité, environ 10-20 mg du chitosane-g-PLA sont dissous dans différents solvants à l'aide d'une agitation magnétique.

3.10. Microscopie Electronique à Balayage (MEB)

C'est la méthode la plus directe pour observer des domaines démixés, celle qui permet la mesure précise des dimensions des différentes phases. Cependant, elle n'est efficace que s'il y a un contraste nécessaire à l'observation et donc à l'interprétation. Son principe ressemble à celui de la microscopie optique en lumière directe. Lorsque le faisceau d'électrons est focalisé sur l'échantillon, une partie des électrons le traverse et le reste est réémis. Le résultat est une représentation en pseudo tridimensionnel de la surface de l'objet étudié. Cette technique a été utilisée pour observer la compatibilité chitosane-PLA dans les films composites.

L'appareillage utilisé est le microscope électronique à balayage JEOL JSM 5400 LV (Japon). Les micrographies ont été obtenues en appliquant un courant de 3 kV en suivant la méthode de Olabarrieta *et al.* (2001).

3.11. Analyse des données

Nous avons effectué l'analyse de variance à l'aide d'un logiciel de l'analyse des données: STATGRAPHICS 3.0 plus for Windows. La différence significative est défini à $p \leq 0,05$.

Chapitre III-1

RESULTATS ET DISCUSSION

ETUDES DU MELANGE CHITOSANE/PLA:

Partie A. Effet des deux solvants du PLA sur les propriétés mécaniques et barrière à la vapeur d'eau: Etude Préliminaire.

Partie B. Etude de la compatibilité des mélanges chitosane/PLA

A. Effet des deux solvants du PLA sur les propriétés mécaniques et barrière à la vapeur d'eau: Etude Préliminaire.

Les tests de solubilité du PLA ont montré que le chloroforme (Chlor) et l'acétonitrile (ACN) sont deux solvants les plus appropriés pour le PLA. En effet, les films de PLA obtenus possèdent de bonnes propriétés. Dans cette étude, nous allons comparer l'effet des deux solvants employés pour solubiliser le PLA avant d'être associé avec le chitosane. Ainsi, les propriétés mécaniques, thermiques et barrière à la vapeur d'eau ont été mesurées.

A-1. Propriétés thermiques et spectroscopie IR-TF

Les propriétés thermiques des films chitosane/PLA ont été déterminées par l'analyse thermique différentielle (DSC). L'analyse DSC pour le chitosane doit être effectuée avec précaution étant donné qu'il a tendance à absorber l'humidité qui peut affecter fortement l'allure des thermogrammes. Pour éliminer l'effet de l'humidité, deux cycles de chauffage et de refroidissement ont été adoptés.

La Figure 1 présente les thermogrammes DSC qui ont été obtenus au premier balayage. Elle montre un pic endothermique très large pour le chitosane pur et les mélanges. Ces pics endothermiques sont dus à l'évaporation de l'eau liée aux chaînes de chitosane (Gonzalez *et al*, 2000; Cheung *et al*, 2002; Rueda *et al*, 1999) et non pas à la fusion du chitosane. Le pic de fusion du PLA étant assez faible pourrait ne pas apparaître et/ou être détecté dans les mélanges étudiés qui contiennent de faibles quantités de PLA. En ce qui concerne le PLA pur, celui préparé avec l'acétonitrile montre un pic de fusion plus grand que celui préparé avec le chloroforme. Ce résultat correspond à la différence du taux de cristallinité des films PLA: le film fabriqué avec l'acétonitrile est plus cristallin que celui avec chloroforme.

Le degré de cristallinité du film PLA, présenté dans le Tableau 1, a été calculé en prenant l'enthalpie de fusion du PLA 100% cristallin égale à 93 J/g (Fischer *et al.*, 1973). Le degré de cristallinité du film PLA préparé avec l'ACN (42 %) est beaucoup plus grand que celui du film préparé avec le chloroforme (1,5 %). Cette différence pourrait être attribuée à la différence de la température d'ébullition (T_b) des deux solvants utilisés (la T_b du chloroforme et de l'ACN est de 81 et 61 °C, respectivement). En conséquence, lors de la formation du

film, l'évaporation du chloroforme est plus rapide que celle de l'acétonitrile, donc les chaînes moléculaires du film PLA préparé avec le chloroforme ont moins de temps pour leur réarrangement spatial d'où un pourcentage de cristallinité beaucoup plus faible. Une autre hypothèse plus plausible est que le chloroforme résiduel (encore présent dans la matrice des films) peut jouer le rôle de plastifiant pour abaisser le degré de cristallinité du PLA.

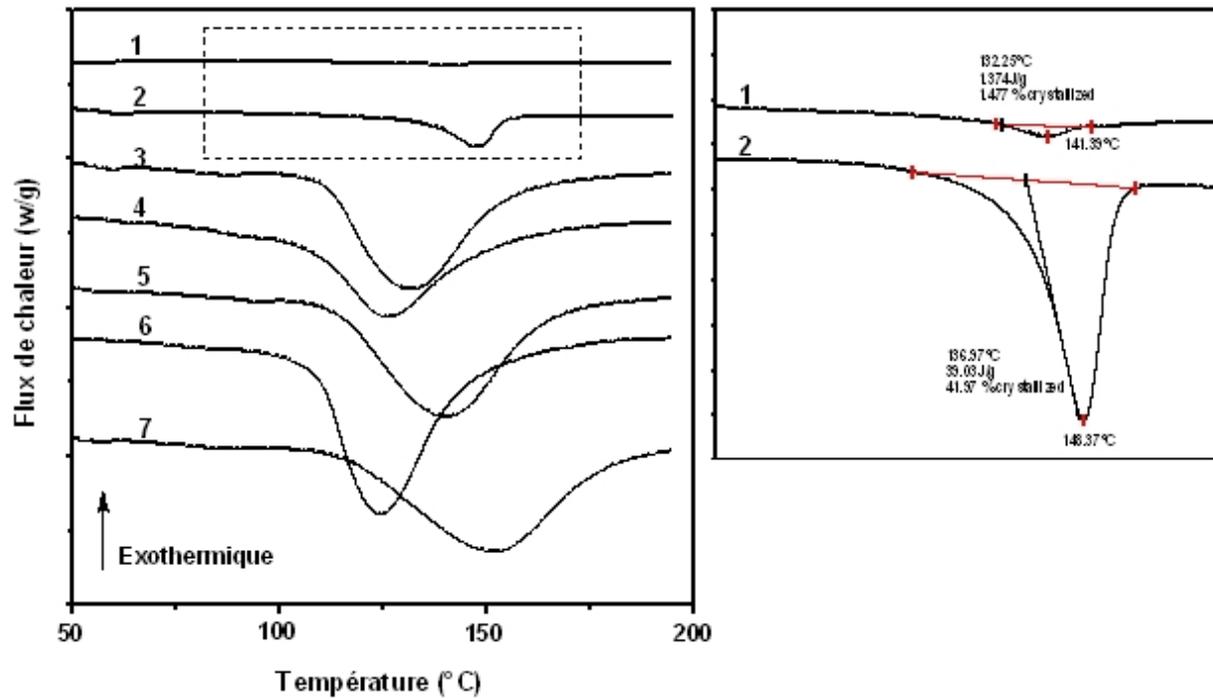


Figure 1. Thermogrammes des films obtenus au premier balayage en DSC pour les mélanges chitosane/PLA : (1) 0/100 (avec Chlor), (2) 0/100 (avec ACN), (3) 90/10 (avec Chlor), (4) 95/5 (avec Chlor), (5) 90/10 (avec ACN), (6) 95/5 (avec ACN), et (7) 100/0.

Cohn et Younes (1988) ont rapporté que les pics à 756 et 870 cm^{-1} dans un spectre IR du PLA sont attribués à la phase cristalline et amorphe du PLA, respectivement. Ainsi, nous calculons ici un indice de cristallinité (IC) du PLA à partir d'un spectre IRTF en comparant l'absorbance de la phase cristalline (A_{756}) et l'absorbance de la phase amorphe (A_{870}). Plus l'indice de cristallinité est grand, plus le matériau est cristallin.

Tableau 1. Propriétés thermiques du mélange chitosane/PLA.

Chit/PLA (w/w) et solvant utilisé	T_g (°C)	T endothermique (°C)	Enthalpie ΔH (J/g)	% Cristallinité
100/0	-	152	298,4	-
95/5 (ACN)	-	138	277,3	-
90/10 (ACN)	-	140	277,0	-
0/100 (ACN)	60	148	39,03	42
95/5 (Chlor)	-	126	251,4	-
90/10 (Chlor)	-	125	258,5	-
0/100 (Chlor)	55	141	1,374	1,5

La Figure 2 présente les spectres IR des deux films PLA préparés avec l'acétonitrile et le chloroforme. L'attribution des principales bandes d'absorption pour le PLA figure Tableau 2. Enfin, le calcul de l'indice de cristallinité (IC) du film PLA à partir du spectre IR est présenté dans le Tableau 3. L'IC du film PLA préparé avec l'ACN (1,42) est beaucoup plus grand que celui du film PLA préparé avec le chloroforme (0,65). Ce résultat est en accord avec l'analyse DSC et confirme que les films PLA préparés avec l'ACN sont plus cristallins que ceux préparés avec le chloroforme.

Tableau 2. Principales bandes caractéristiques du PLA

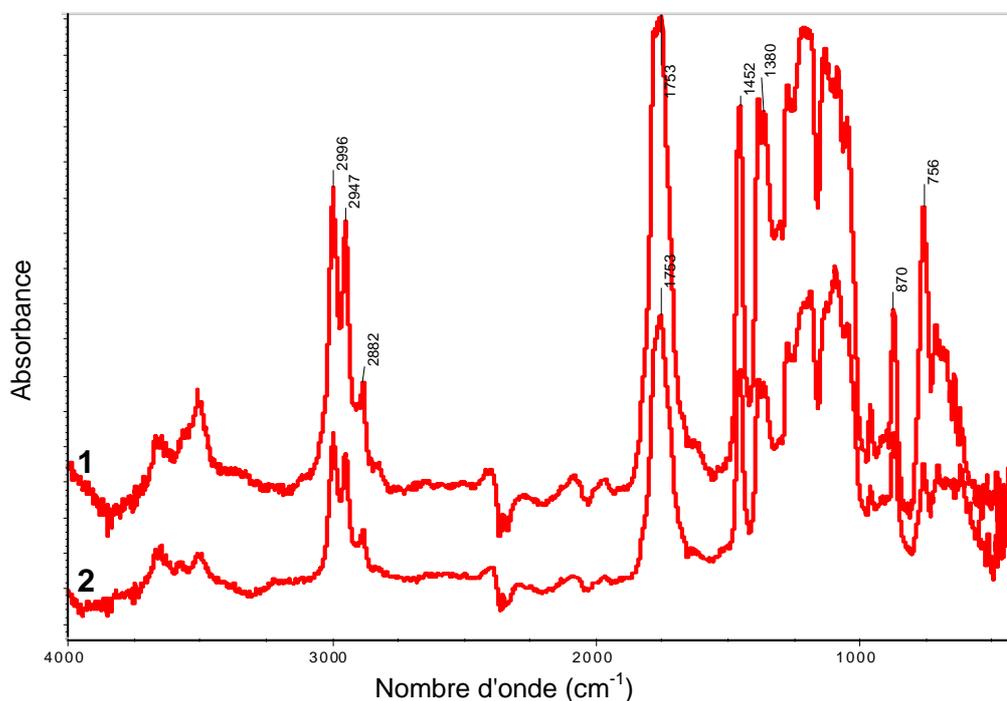
Fréquence (cm⁻¹)	Attribution
2996	ν_{as} CH ₃
2946	ν_s CH ₃
2880	ν CH ₃
1753	ν C=O
1452	δ_{as} CH ₃
1383	δ_s CH ₃
1366	δ_1 CH + δ_s CH ₃
1300	δ_2 CH
1269	δ CH + ν COC
1192	ν COC + ν_{as} CH ₃
1130	ν_{as} CH ₃
1100	ν_s COC
1047	ν C-CH ₃
964	ν CH ₃ + ν CC
870	ν C-COO
756	δ_2 CH
704	δ C=O

s= symétrique; as = asymétrique; ν = vibration de valence; δ = vibration de déformations

Tableau 3. Calcul de l'indice de cristallinité des films de PLA à partir des spectres IR

Film PLA préparé	A ₇₅₆	A ₈₇₀	Cristallinité (A ₇₅₆ /A ₈₇₀)
avec ACN	0,155	0,109	1,42
avec Chlor	0,043	0,066	0,65

En ce qui concerne le degré de cristallinité du chitosane, on ne peut pas le déterminer par l'analyse DSC car on ne connaît pas l'enthalpie de fusion du chitosane 100% cristallin. De plus, nous n'avons pas pu déterminer l'enthalpie de fusion du chitosane. Par ailleurs, Foher *et al.* (1990) ont rapporté que la cristallinité de la chitine et du chitosane peut être estimée à partir de leurs spectres IR en comparant l'intensité des bandes à 1379 cm⁻¹ (phase cristalline) et 2900 cm⁻¹ (phase amorphe). Wu *et al.* (2005) ont appliqué avec succès le rapport de A₁₃₇₉/A₂₉₀₀ pour comparer la cristallinité du chitosane et de la chitine d'origine fongique (*Aspergillus niger* et *Mucor rouxii*) et issue des carapaces de crevettes. Ainsi, nous pouvons déterminer l'indice de cristallinité du chitosane à partir de son spectre IR.

**Figure 2.** Spectres IR-TF du film PLA préparé avec l'acétonitrile (1) et le chloroforme (2).

La Figure 3 montre les spectres IR du chitosane et des mélanges chitosane/PLA. Nous avons calculé le rapport de l'intensité des bandes à 1379 et à 2900 cm⁻¹ (Tableau 4). L'indice

de cristallinité du film de chitosane est de 0,76. Le mélange avec le PLA diminue légèrement la cristallinité du chitosane quelque soit le solvant utilisé (Tableau 4). En comparant l'indice de cristallinité des films du mélange chitosane/PLA, les films fabriqués avec l'ACN montrent des valeurs un peu plus grandes que celles des films préparés avec le chloroforme.

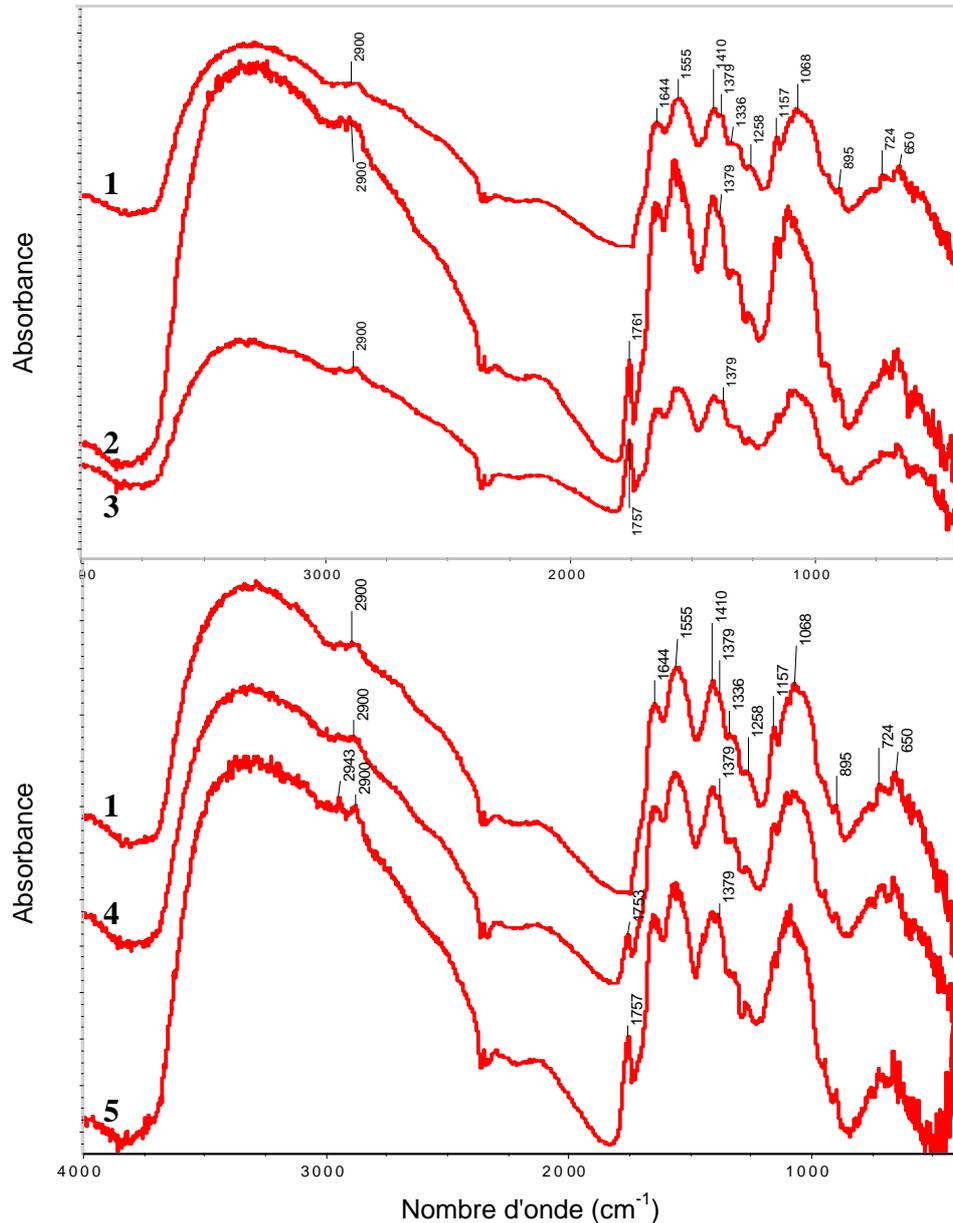


Figure 3. Spectres IR-TF des films du mélange chitosane/PLA: (1) 100/0 (chitosane pur), (2) 95/15 (avec ACN), (3) 90/10 (avec ACN), (4) 95/5 (avec chlor), (5) 90/10 (avec chlor).

Tableau 4. Calcul de l'indice de cristallinité des films du chitosane pur et du mélange chitosane/PLA à partir des spectres IR-TF

Composition du film	A ₁₃₇₉	A ₂₉₀₀	IC (A ₁₃₇₉ / A ₂₉₀₀)
Chitosane pur	0,152	0,201	0,76
<u>Préparé avec ACN:</u>			
Chit/PLA : 95/5	0,296	0,406	0,72
Chit/PLA : 90/10	0,102	0,162	0,62
<u>Préparé avec Chlor:</u>			
Chit/PLA : 95/5	0,129	0,185	0,70
Chit/PLA : 90/10	0,150	0,257	0,58

Dans la Figure 3, le chitosane présente de nombreuses bandes dont l'attribution aux liaisons est reportée dans le Tableau 5. Dans le cas des films composites (Figure 3), on trouve les différents pics d'absorption cités ci-dessous, auxquels s'ajoute une bande caractéristique de la liaison C=O du groupement carbonyle ($\nu = 1757 \text{ cm}^{-1}$) due à la présence de PLA. On peut noter dans la Figure 3 que plus le pourcentage du PLA augmente, plus l'intensité du pic du groupement carbonyle est forte. De plus, l'emploi d'acétonitrile donne un pic du groupement carbonyle plus grand que l'emploi de chloroforme. Par contre, les pics à 756 cm^{-1} et 870 cm^{-1} correspondant respectivement à la phase cristalline et amorphe du PLA n'apparaissent pas dans le mélange, probablement dû à sa faible quantité dans le mélange.

Tableau 5. Principales bandes d'absorption des films chitosane et composites

Fréquence (cm^{-1})	Attribution aux liaisons:
3100-3600	ν_{OH} et ν_{NH}
2850-2960	ν_{CH}
1644	ν_{CO} (amide I)
1555	δ_{NH} (amide II)
1406	δ_{OH} et δ_{CH}
1379	δ_{CH_3}
1325	δ_{OH} et δ_{CH}
1310	δ_{NH} (amide III)
1265	ν_{CH}
1167-1033	Liaisons cycle pyranose
1070-1030	ν_{CO} et δ_{OH}

s= symétrique; as = asymétrique; ν = vibration de valence; δ = vibration de déformations

Les thermogrammes DSC obtenus au deuxième balayage sont présentés dans la Figure 4. Les températures de transition vitreuse des films PLA pur, préparés avec l'acétonitrile et le chloroforme comme solvants se trouvent respectivement à 60 et 55 °C. Ce résultat est comparable avec les résultats de Fang et Hanna (1999) qui ont rapporté que la T_g du PLA amorphe est de 58 °C et celle du PLA semi cristallin de 62 °C. Dans notre cas, la différence en T_g peut s'expliquer par la présence de chloroforme résiduel qui peut jouer le rôle de plastifiant pour abaisser la T_g et le degré de cristallinité du PLA.

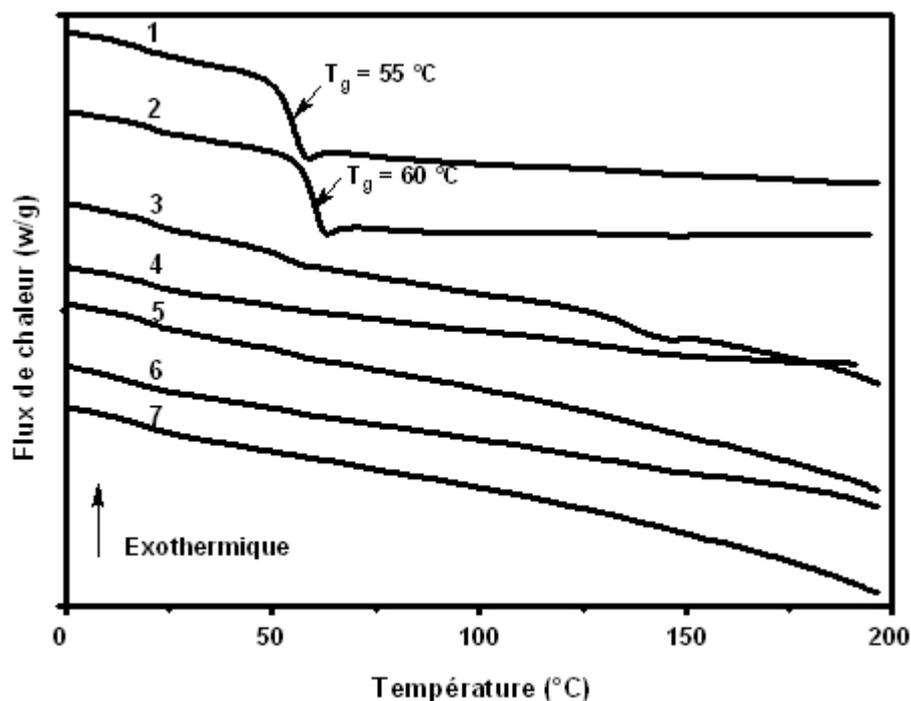


Figure 4. Température de transition vitreuse obtenue au deuxième balayage en DSC pour les mélanges de chitosane/PLA : (1) 0/100 (avec Chlor), (2) 0/100 (avec ACN), (3) 90/10 (avec Chlor), (4) 95/5 (avec Chlor), (5) 90/10 (avec ACN), (6) 95/5 (avec ACN), et (7) 100/0.

En ce qui concerne la température de transition vitreuse (T_g) du chitosane, Sakurai *et al.* (2000) ont rapporté que la T_g du chitosane, déterminée par DSC et confirmée par des mesures de DMA, se trouve à 203 °C (Figure 5). La T_g du chitosane pur et des mélanges quel que soit leur composition n'a pas pu être détectée dans cette étude préliminaire car nous avons limité le chauffage à la température inférieure ou très proche de la T_g du chitosane (200 °C).

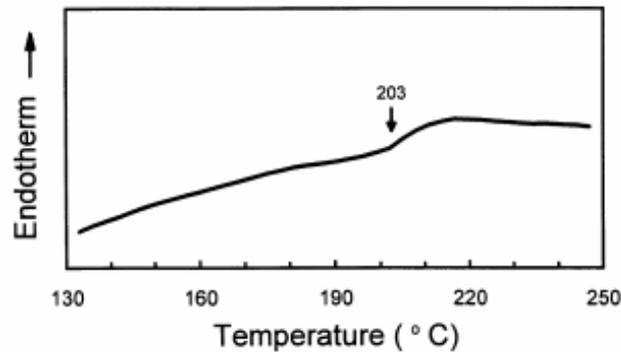


Figure 5. T_g du chitosane obtenue par l'analyse DSC (Sakurai *et al.*, 2000).

A-2. Propriétés mécaniques

Les propriétés mécaniques des films de chitosane, de PLA et de leur mélanges sont présentées dans le Tableau 6. Les films de chitosane et de PLA purs sont cassants, indiqués par un haut module d'élasticité (E), une forte contrainte à la rupture (σ_r) et une très faible elongation à la rupture (ε_r). Les films du PLA pur préparés avec le chloroforme comme solvant ont un allongement plus important que ceux préparés avec l'acétonitrile. En effet, ε_r est de 1,9 et 6,7 % pour le film PLA préparé avec l'acétonitrile et le chloroforme, respectivement. Ce résultat est donc en accord avec notre hypothèse antérieure à savoir que le chloroforme joue le rôle de plastifiant pour le PLA. Toutefois, pour ε_r des mélanges chitosane/PLA, il n'y a pas d'influence significative des deux solvants utilisés même s'il y a une tendance de diminution de ε_r avec l'augmentation de la teneur du PLA.

D'après le Tableau 6, nous pouvons constater, quel que soit le solvant utilisé, qu'une diminution significative σ_r se produit lorsque le pourcentage du PLA augmente. Pour σ_r du film PLA pur, les solvants utilisés ne donnent pas une différence significative. Dans le cas des films PLA pur, les valeurs des propriétés mécaniques sont inférieures à celles trouvées par Sodegard (2000), Drumright *et al.* (2000) et Martin et Averous (2001) sauf pour l'élongation à la rupture: $E = 2050 - 3500$ MPa, $\sigma_r = 40 - 68$ MPa et $\varepsilon_r = 6 - 9$ %. Cependant, les valeurs des précédents auteurs sont obtenues avec des films extrudés, ce qui explique la différence avec les nôtres. Par contre, des valeurs proches de nos résultats sont rapportées par Peesan *et al.*

(2005) qui ont utilisé la même méthode de fabrication du film PLA, par casting en utilisant le chloroforme comme solvant.

En ce qui concerne les propriétés mécaniques du chitosane pur, la contrainte à la rupture (σ_r) est plus grande que celles de Caner *et al.* (1998), Bégin *et al.* (1999) et Hwang *et al.* (2003) qui indiquent des valeurs comprises entre 2,9 et 57,1 MPa. Par contre, elle est très proche de celle de Kittur *et al.* (1998): 43,7-70,2 MPa. Le Tableau 6 montre que l'incorporation du PLA diminue les propriétés mécaniques de chitosane notamment pour la contrainte à la rupture (σ_r).

Tableau 6. Propriétés mécaniques du mélange chitosane/PLA.

Chit/PLA (w/w) et solvant utilisé	E (MPa)	σ_r (MPa)	ε_r (%)
<u>100/0</u>	510.7 ^a (54.7)	70.3 ^a (4.5)	11.5 ^a (2.1)
95/5 (ACN)	451.1 ^a (12.3)	54.7 ^b (0.6)	9.5 ^a (3.2)
90/10 (ACN)	426.3 ^a (17.4)	57.0 ^b (1.6)	9.7 ^a (3.8)
<u>0/100 (ACN)</u>	372.1 ^b (33.5)	32.1 ^c (1.1)	1.9 ^b (0.5)
95/5 (Chlor)	445.5 ^a (47.2)	57.1 ^b (2.6)	9.4 ^a (0.1)
90/10 (Chlor)	443.3 ^a (8.8)	54.8 ^b (10.3)	9.9 ^a (1.3)
<u>0/100 (Chlor)</u>	357.3 ^b (36.1)	34.9 ^c (1.7)	6.7 ^b (1.9)

- E = Module d'élasticité; σ_r = contrainte à la rupture; et % ε_r = % allongement à la rupture
- ^{a-c} Les différentes lettres dans la même colonne indiquent une différence significative ($p \leq 0,05$).
- Les valeurs entre parenthèses représentent les écarts-types calculés sur sept mesures pour chaque échantillon.

A-3. Perméabilité à la vapeur d'eau

Les résultats des mesures de la perméabilité à la vapeur d'eau pour les mélanges chitosane/PLA sont présentés dans le Tableau 7. Le chitosane a une perméabilité à la vapeur d'eau comprise entre 0,265 et 1,364 ($\text{g}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}\cdot\text{atm}^{-1}$) pour une gamme d'humidités relatives allant de 40 à 90%. Ce résultat est en accord avec ceux de Caner *et al.* (1998) et de Butler *et al.* (1999) où la WVP du chitosane est de 0,20 – 1,32 $\text{g}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}\cdot\text{atm}^{-1}$. Quant au PLA pur, il a une WVP comprise entre 0,030 et 0,169 $\text{g}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}\cdot\text{atm}^{-1}$. Cette valeur est comparable à celle obtenue par Shogren (1997) qui se trouve entre 0,0655 et 0,1375 $\text{g}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}\cdot\text{atm}^{-1}$. On peut noter cependant une différence entre la WVP du PLA obtenu avec le chloroforme (0,133-

0,169 $\text{g.m}^{-1}.\text{j}^{-1}.\text{atm}^{-1}$) et celle du PLA obtenu avec l'acétonitrile (0,030-0,040 $\text{g.m}^{-1}.\text{j}^{-1}.\text{atm}^{-1}$). Selon Södegard (2000), les propriétés barrière des polymères dépendent de plusieurs paramètres: la structure chimique, la cristallinité, la densité, l'orientation, la masse molaire, le degré de réticulation et la température de transition vitreuse (T_g). Par ailleurs, l'analyse thermique a révélé une différence de cristallinité entre les deux PLA (Tableau 1). Ceci pourrait expliquer la différence de perméabilité observée. En effet, plus le polymère est cristallin, plus sa perméabilité sera faible. Shogren (1997) a également montré que la WVP du PLA cristallin est inférieure à celle du PLA amorphe et que la WVP du film de PLA ($T_g = 60^\circ\text{C}$) est plus faible que celle du film de PCL ($T_g = -60^\circ\text{C}$), même si le PLA est plus polaire que le PCL.

Tableau 7. Perméabilité à la vapeur d'eau (WVP) des films obtenus aux différentes humidités.

Composition (w/w) et solvant utilisé pour PLA	WVP à HR 90% $\text{g.m}^{-1}.\text{j}^{-1}.\text{atm}^{-1}$	WVP à HR 65% $\text{g.m}^{-1}.\text{j}^{-1}.\text{atm}^{-1}$	WVP à HR 40% $\text{g.m}^{-1}.\text{j}^{-1}.\text{atm}^{-1}$
<u>Chit/PLA : 100/0</u>	1.343 ^a ± 0.279	0.702 ^a ± 0.091	0.265 ^a ± 0.056
Chit/PLA : 95/5 (ACN)	0.903 ^b ± 0.107	0.511 ^b ± 0.031	0.238 ^a ± 0.004
Chit/PLA : 90/10 (ACN)	0.896 ^b ± 0.119	0.527 ^b ± 0.079	0.268 ^a ± 0.047
Chit/PLA : 0/100 (ACN)	0.030 ^c ± 0.003	0.040 ^c ± 0.001	0.040 ^b ± 0.005
Chit/PLA : 95/5 (Chlor)	1.149 ^b ± 0.204	0.572 ^b ± 0.078	0.277 ^a ± 0.003
Chit/PLA : 90/10 (Chlor)	1.069 ^b ± 0.192	0.680 ^b ± 0.060	0.283 ^a ± 0.009
Chit/PLA : 0/100 (Chlor)	0.169 ^c ± 0.005	0.150 ^c ± 0.004	0.133 ^b ± 0.006

^{a-c} Les différentes lettres dans la même colonne indiquent une différence significative ($p \leq 0,05$).

- Les valeurs entre parenthèses représentent les écarts-types calculés sur trois mesures pour chaque échantillon.

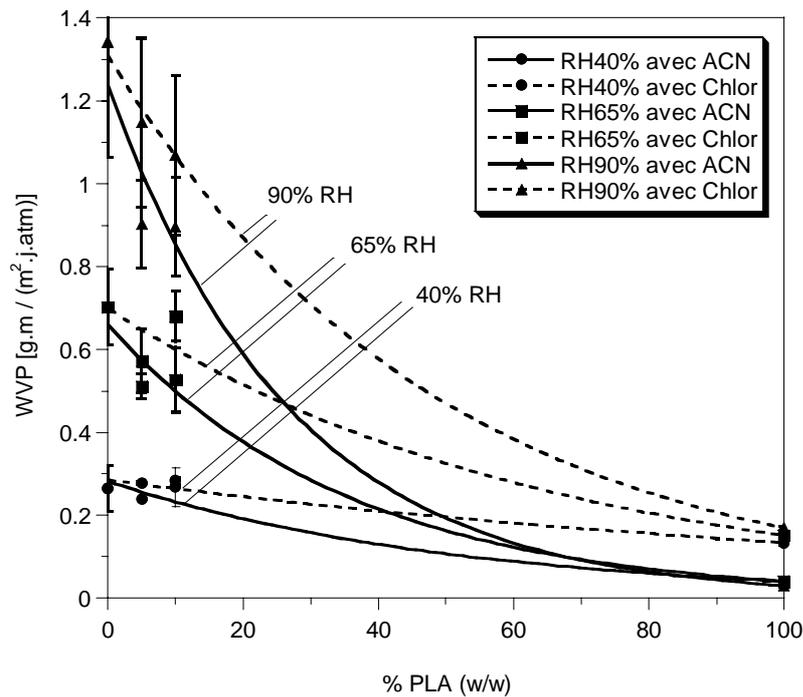


Figure 6. Perméabilité à la vapeur d'eau (WVP) des films du mélange chitosane/PLA préparés avec l'acétonitrile (—) et le chloroforme (- - -) comme solvant pour le PLA.

La Figure 6 montre que la perméabilité à la vapeur d'eau des films du chitosane pur varie fortement en fonction de HR, ce qui confirme leur sensibilité à l'humidité, alors qu'il n'y a que de faibles variations dans la WVP des films de PLA pur, quelle que soit la valeur de HR. Le film PLA pur préparé avec l'acétonitrile possède une meilleure propriété barrière à la vapeur d'eau que celui préparé avec le chloroforme. Ce résultat provient de la différence des taux de cristallinité des deux films (Tableau 1). L'incorporation de PLA a un effet positif sur les propriétés barrière à la vapeur d'eau. En effet, l'amélioration des propriétés barrière à la vapeur d'eau des films chitosane/PLA augmente substantiellement à humidité relative élevée (65 et 90 HR%). En revanche, il n'y a qu'un léger effet sur la WVP mesurée à 40% de HR.

A-4. Conclusions

Dans cette étude préliminaire, nous avons montré que les spectres IR peuvent être utilisés comme outil pour caractériser l'indice de cristallinité des matériaux. Le résultat obtenu pour le PLA est en accord avec celui de la DSC. L'incorporation du PLA diminue la cristallinité du film chitosane puisque la structure du chitosane pourrait être désorganisée.

L'incorporation du PLA dans la matrice du chitosane induit un effet négatif sur les propriétés mécaniques mais peut augmenter la performance sur la propriété barrière à la vapeur d'eau. Toutefois, il n'y a pas de différence significative au niveau des propriétés mécaniques et la propriété barrière à la vapeur d'eau lorsqu'on passe de 5 % à 10 % de PLA, mais on observe une tendance à la diminution de perméabilité à la vapeur d'eau. Les propriétés mécaniques du mélange chitosane/PLA se trouvent toujours dans la gamme des polymères parents (entre les valeurs de chitosane et de PLA), ce qui laisse supposer une certaine compatibilité des deux polymères. Dans la partie B, nous allons étudier la compatibilité du mélange chitosane/PLA.

D'après cette étude, la nature du solvant employé est un facteur modifiant les propriétés des films du PLA élaborés par casting. Pour la suite, l'emploi du chloroforme semble être un choix intéressant par rapport à l'acétonitrile. Tout d'abord, le PLA est bien soluble dans ce solvant qui est largement utilisé dans la fabrication du film PLA par casting (Hwang *et al.*, 2003; Peesan *et al.*, 2005, ...). De plus, l'emploi de l'acétonitrile provoque une précipitation de PLA au delà de 15% de la teneur en PLA. Ainsi, dans la partie B nous allons incorporer une quantité maximale de PLA dans la matrice de chitosane en utilisant le chloroforme comme solvant.

B. Etude de la compatibilité des mélanges chitosane/PLA

Dans cette étude, l'incorporation du PLA dans la matrice de chitosane est plus grande que lors de l'étude précédente. Le chloroforme est comme solvant. Nous avons employé des quantités de PLA jusqu'à 50 %, voire 60 et 80 %, w/w. Malheureusement les films obtenus sont médiocres: très opaques et très cassants, donc difficiles à obtenir pour les mélanges contenant plus de 40% de PLA. Pour ces raisons, nous présenterons seulement ici les résultats du mélange de chitosane/PLA pour les compositions : 100/0; 90/10; 80/20; 70/30; 0/100. Par ailleurs, ces mélanges ont l'avantage de contenir le chitosane en phase majoritaire assurant les propriétés antimicrobiennes. La miscibilité du mélange chitosane/PLA est étudiée par la spectroscopie infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF) et par l'étude des propriétés mécaniques et thermiques des mélanges en fonction de la composition.

B-1. Analyse par spectroscopie IR-TF

La spectroscopie infrarouge est très utile pour examiner la présence de liaisons hydrogène et d'autres interactions dans un mélange miscible de deux polymères. Aussi, les spectres IR peuvent être utilisés pour caractériser l'indice de cristallinité du matériau. Notamment pour le chitosane, c'est une méthode alternative parce que l'enthalpie de fusion du chitosane 100% cristallin n'est pas connue et ne peut pas être déterminée dans notre étude.

La Figure 7 montre les spectres IR de chitosane (spectre A), de PLA (spectre E) et des mélanges chitosane/PLA (spectres B, C, D). Les pics à 1652 et 1558 cm^{-1} sont caractéristiques du groupement amide dans le spectre de chitosane pur. Le pic à 1757 cm^{-1} représente le groupement ester dans le spectre de PLA pur. En ce qui concerne les spectres des mélanges chitosane/PLA (Figure 7: B, C, D), ils sont une simple superposition de deux polymères purs (A et E). En d'autre termes, les bandes spectrales ne sont pas affectées par la composition du mélange. Ce comportement pourrait signifier qu'il n'y a pas d'interaction spécifique entre le chitosane et le PLA ou peut-être l'interaction des deux polymères est trop faible pour être détectée par spectroscopie IR-TF. Par conséquent, les deux polymères ne sont pas complètement miscibles.

L'IC des films, calculé par le rapport A_{1379}/A_{2900} , est de 0,85 pour le chitosane pur, 0,73; 0,74 et 0,70 pour les mélanges contenant le PLA à 10, 20 et 30%, respectivement. Ces

résultats sont en accord avec résultats précédents où l'incorporation du PLA diminue la cristallinité des films du chitosane. La cristallinité du PLA, en utilisant le rapport de A_{756}/A_{870} , est de 1,03. On peut observer dans la Figure 7, pour les mélanges contenant 20 et 30% de PLA, l'apparition de deux pics à 756 et 870 cm^{-1} attribués aux phases cristalline et amorphe du PLA. Le rapport des deux pics est de 0,70 et 0,61 pour les films C et D, respectivement. Donc, la cristallinité du PLA diminue dans les mélanges chitosane/PLA. Pour le mélange chit/PLA : 90/10, l'intensité des pics cristallin et amorphe est très faible et difficile à déterminer.

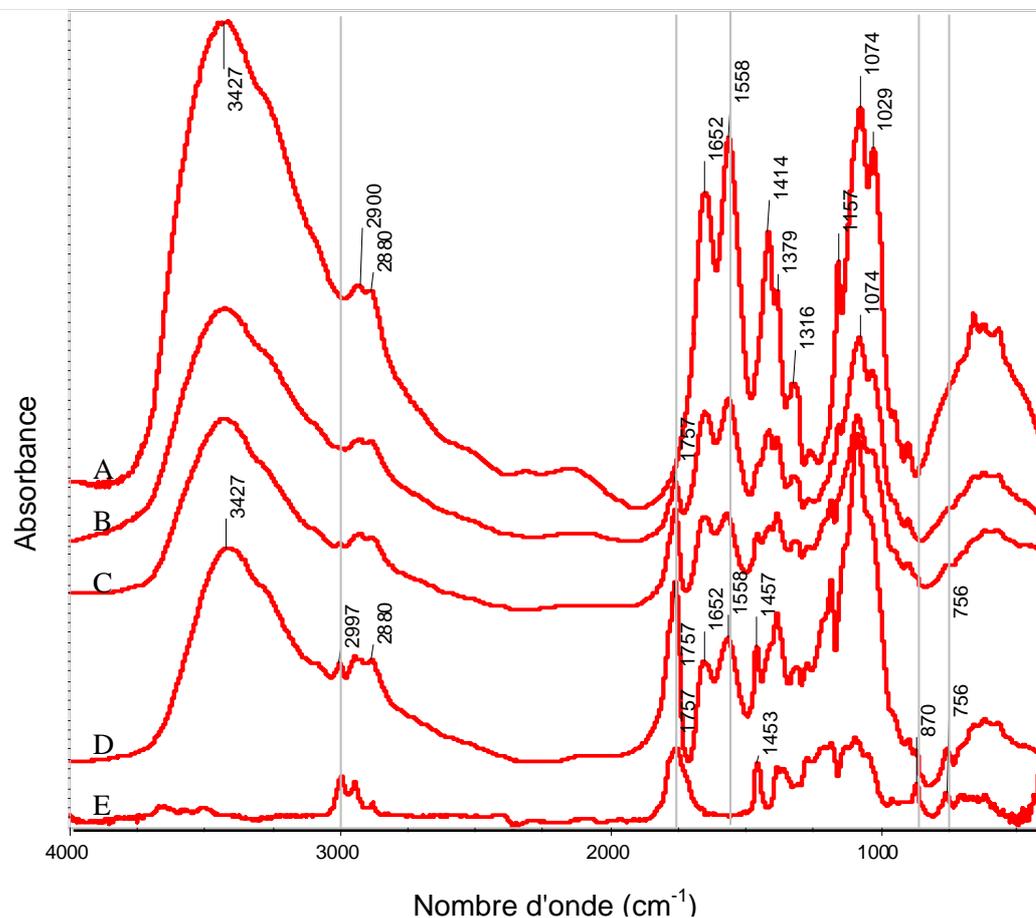


Figure 7. Spectres IR des films de Chitosane pur (A); de mélange chit/PLA: 90/10 (B), 80/20 (C), 70/30 (D) et de PLA pur (E).

B-2. Propriétés mécaniques

Les propriétés mécaniques des films de chitosane, de PLA et leurs mélanges sont présentées dans la Figure 8. L'incorporation de PLA diminue les valeurs de E , σ_r et ϵ_r du film chitosane. Cependant, la diminution n'est significative qu'au delà de 30% en teneur de PLA. Il est bien connu que les propriétés mécaniques peuvent être utilisées pour estimer la miscibilité dans le mélange des polymères en comparant les résultats expérimentaux et les prédictions basées sur les différents modèles. En effet, les propriétés mécaniques des mélanges de polymères dépendent des forces intermoléculaires, de la raideur de la chaîne et de la symétrie moléculaire des polymères purs.

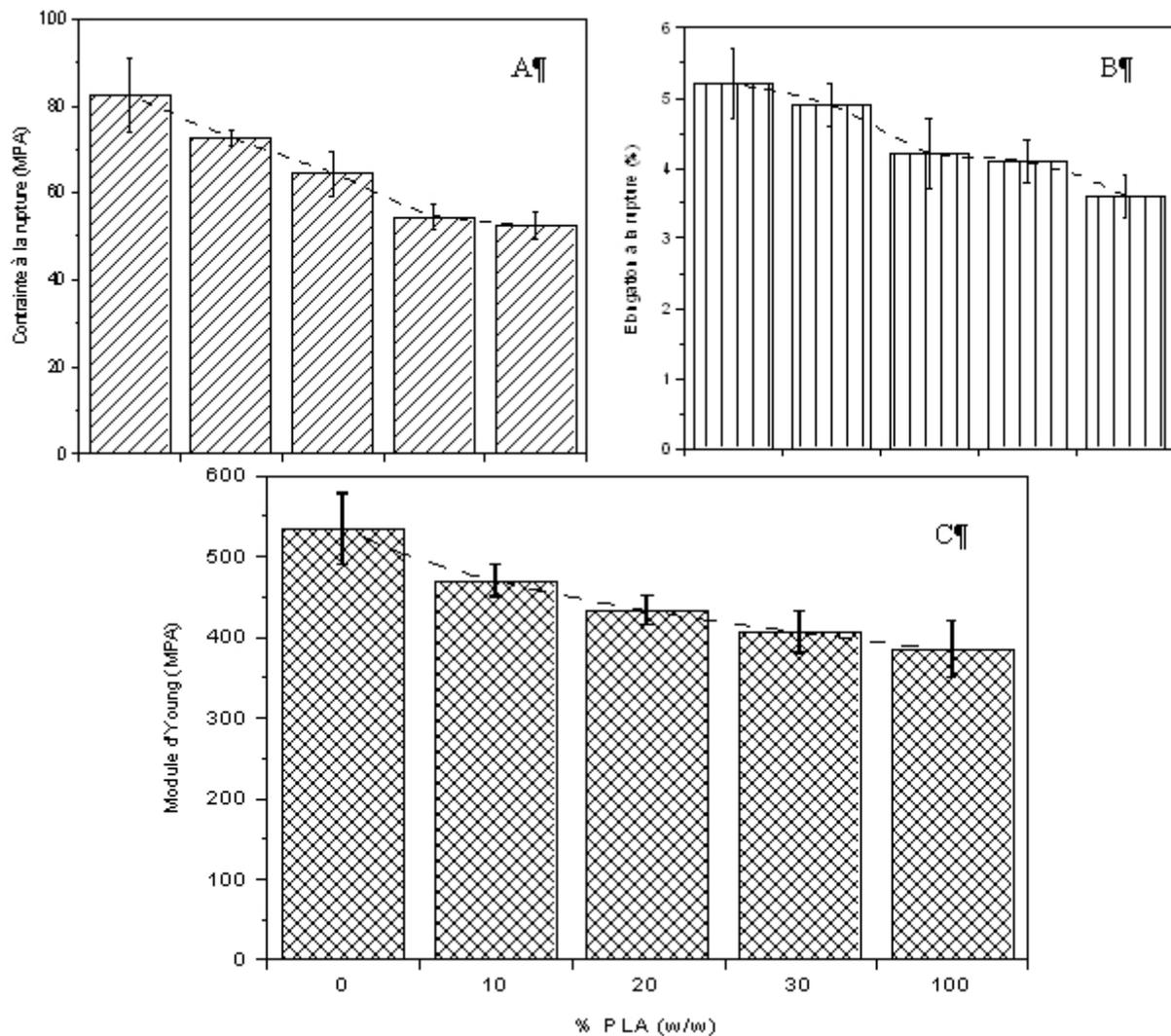


Figure 8. Propriétés mécaniques du mélange chitosane/PLA en fonction du pourcentage de PLA. (A) Contrainte à la rupture, (B) Allongement à la rupture et (C) Module d'Young.

Les modules d'élasticité du mélange de polymères sont fortement dépendants de la composition et de la morphologie des mélanges et théoriquement ils se trouvent entre une limite supérieure donnée par le modèle en parallèle et une limite inférieure donnée par le modèle en série. Ces modèles sont simples et ont été largement appliqués, p.ex. Martin et Averous (2001) qui les ont utilisés dans notre laboratoire pour caractériser la miscibilité des mélanges amidon plastifié/PLA.

Dans la Figure 9, les modules élastiques des mélanges de chitosane/PLA ont été tracés en fonction de la fraction volumique du PLA, et comparés avec les modèles de la littérature. Les modules d'élasticité expérimentaux des mélanges ne sont pas en accord avec les modèles théoriques et les valeurs expérimentales des modules d'Young sont inférieures à la limite inférieure (le modèle en série). La forte diminution des modules d'élasticité avec l'augmentation des proportions de PLA par rapport aux valeurs calculées, pourrait être due à la séparation de phases des mélanges. Il s'ensuit que les mélanges chitosane/PLA ne sont pas complètement compatibles. Ce résultat concorde avec l'analyse par la spectroscopie IR-TF.

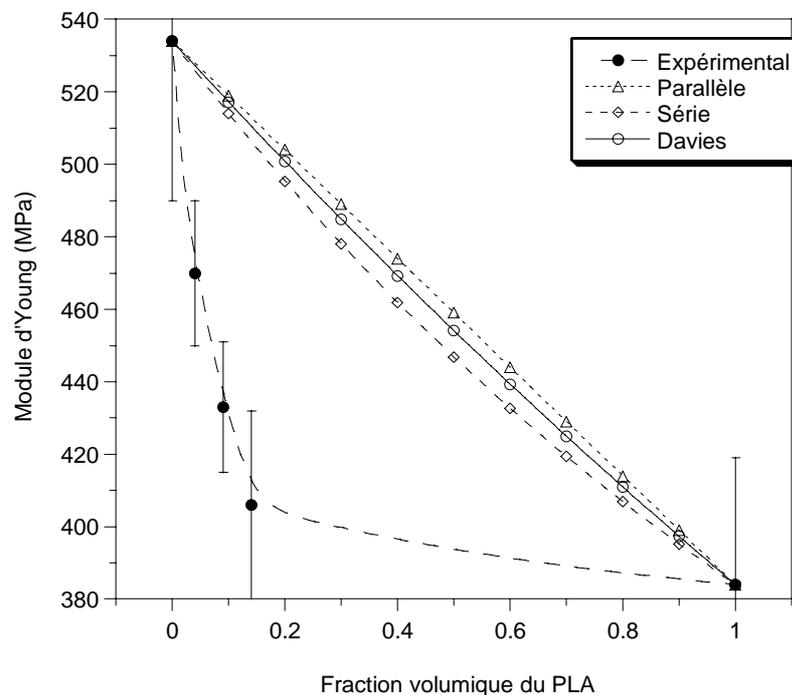


Figure 9. Comparaison des modules d'élasticité expérimentaux avec les prédictions théoriques (--) modèle parallèle, (- -) modèle série et (—) modèle de Davies.

B-3. Propriétés thermiques

La méthode de Sakurai *et al* (2000) a été adoptée pour les analyses par DSC afin de déterminer la T_g du chitosane et d'éviter la dégradation thermique de celui-ci. Généralement, la température de transition vitreuse est prise au changement de la capacité calorifique du thermogramme DSC et ce changement est mieux détecté au deuxième chauffage. En effet, l'humidité est éliminée lors du premier chauffage.

La Figure 10 montre les thermogrammes DSC obtenus lors du premier balayage. Pour toutes les compositions, il montre un pic endothermique avec un grand intervalle de température sauf pour le PLA. Les grands pics endothermiques observés ne sont pas liés à la fusion du chitosane mais pourraient être dus à l'évaporation de l'eau liée au chitosane (Cheung *et al.*, 2002). Les films chitosane/PLA contenant 20 et 30% de PLA montrent une transition vitreuse attribuée au PLA alors que cette transition n'est pas observée pour le film contenant 10% de PLA.

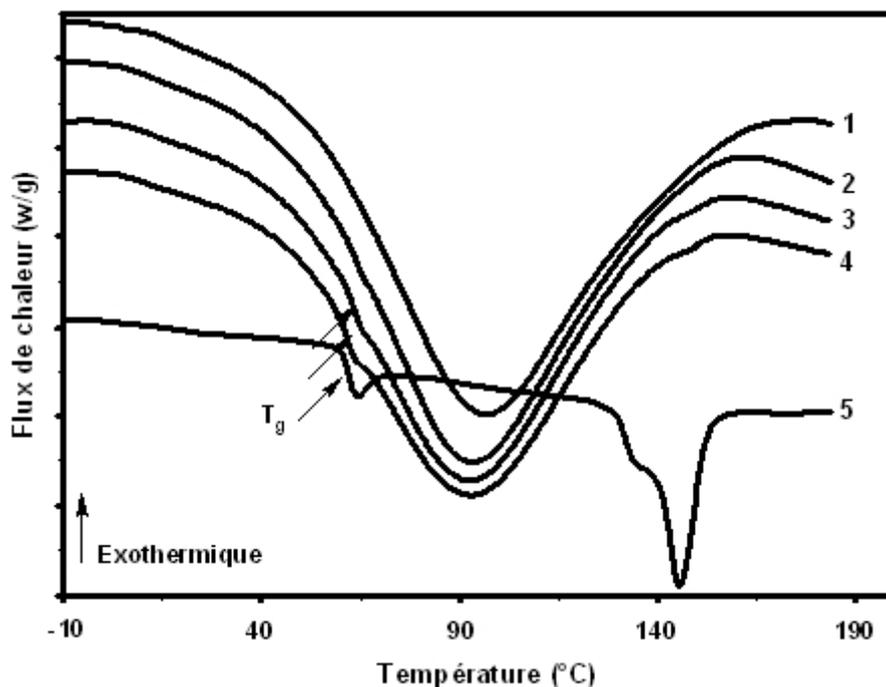


Figure 10. Thermogrammes DSC obtenus lors du premier balayage pour les mélanges de chitosane/PLA : (1) 100/0, (2) 90/10, (3) 80/20, (4) 70/30, (5) 0/100.

Les thermogrammes DSC obtenus au deuxième balayage est montré sur la Figure 11. La température de transition vitreuse des polymères purs et de leurs mélanges peut être déterminée bien que les changements de capacité calorifique soient faibles pour les films de chitosane pur et des mélanges chitosane/PLA. En effet, la structure moléculaire de chitosane se compose des éléments rigides de β -1,4-D-glucosamine (Sakurai *et al.*, 2000; Cheung *et al.* 2002).

En ce qui concerne la T_g du chitosane, des auteurs ont rapporté différentes valeurs. Cheung *et al.* (2002) ont observé la T_g du chitosane à environ 103 °C alors que Shanta et Harding (2002) ont trouvé une transition vitreuse de chitosane à 195°C, proche de celle trouvée par Sakurai *et al.* (2000) à 203 °C. Récemment, Dong *et al.* (2004) ont étudié la T_g du chitosane en utilisant quatre techniques différentes, à savoir la DSC, l'analyse thermique mécanique dynamique (DMTA), la spectroscopie courant thermiquement simulée (TSC) et la dilatométrie (DIL). Ils ont rapporté que la T_g du chitosane est d'environ 140-150°C et ne dépend pas du degré de désacétylation. Enfin, dans l'étude la plus récente, Cervera *et al.* (2004) ont trouvé que la T_g du chitosane, déterminée par la DSC, est de 130-139 °C. Dans le présent travail, la T_g du chitosane est observée à 194 °C (Figure 10), valeur très proche de celles de Shanta et Harding (2002) et Sakurai *et al.* (2000). En fait, la valeur de T_g du chitosane est fortement dépendant, comme l'ont signalé Cervera *et al.* (2004), de différentes propriétés telles la cristallinité, la teneur en eau, le degré de désacétylation et le nombre de groupements -OH ou -NH₂ dans la chaîne de la macromolécule.

Comme les propriétés mécaniques, il est bien connu que la T_g des mélanges de polymères est un critère important pour caractériser leur miscibilité. Dans un mélange complètement miscible de deux polymères, une seule T_g apparaîtra dans le thermogramme DSC qui se trouve entre les valeurs T_g des polymères purs. De plus, la T_g du mélange devrait obéir à l'équation de Fox (Gordon *et al.*, 1977) qui décrit la relation de la T_g du mélange en fonction de sa composition et des T_g des polymères purs. Si deux polymères sont seulement partiellement miscibles, la T_g de chaque polymère évolue et est affectée par l'autre polymère. En d'autres termes, elle dépend de la composition.

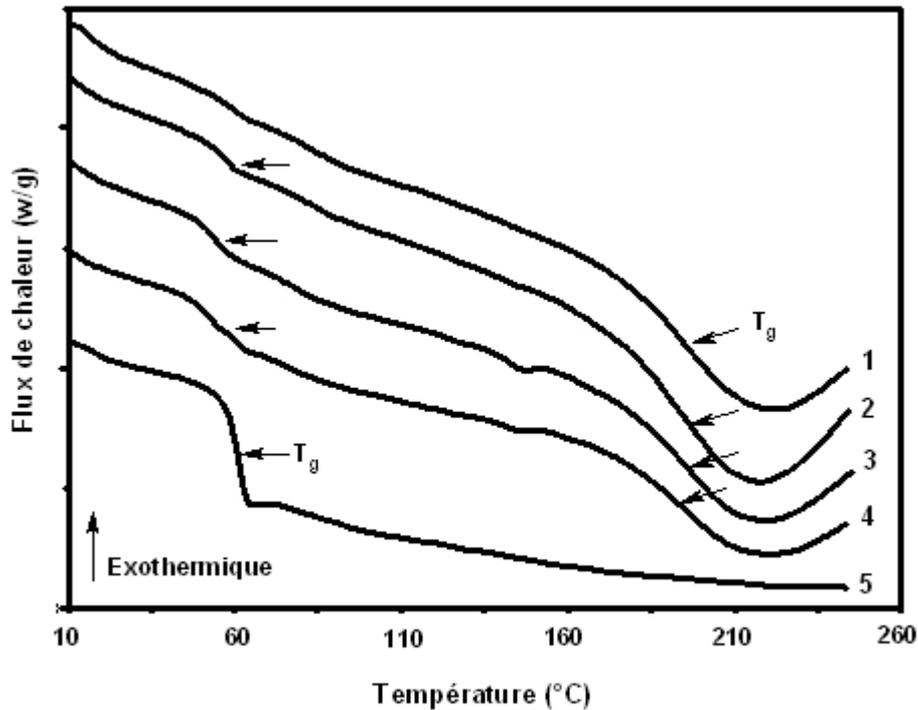


Figure 11. Température de transition vitreuse dans le thermogramme obtenu au deuxième balayage en DSC pour les mélanges de chitosane/PLA : (1) 100/0, (2) 90/10, (3) 80/20, (4) 70/30, (5) 0/100.

Dans notre étude, le chitosane et le PLA ont respectivement leur température de transition de vitreuse à 194 et 59°C. Puisque leurs mélanges montrent deux T_g dont les valeurs sont légèrement différentes de celles du chitosane et du PLA, on peut en déduire que le chitosane et le PLA ne sont pas complètement miscibles. Ces résultats suggèrent que les mélanges chitosane/PLA ont une miscibilité médiocre.

B-4. Perméabilité à la vapeur d'eau et sensibilité à l'humidité

La perméabilité à la vapeur d'eau des mélanges chitosane/PLA est présentée dans la Figure 12. Elle montre que l'augmentation de la quantité de PLA possède un effet positif: l'amélioration des propriétés barrière à l'eau. La diminution de la perméabilité à la vapeur d'eau par l'incorporation de PLA est due à son hydrophobie bien connue. L'influence du polymère hydrophobe a été étudiée par Olabarrieta *et al.* (2001) qui ont utilisé le poly (ϵ -caprolactone) (PCL) en mélange avec le chitosane. Selon eux, l'incorporation du polymère

hydrophobe dans le polymère hydrophile peut diminuer la perméabilité à la vapeur d'eau dû au blocage de la diffusion des molécules d'eau et à la diminution du gonflement de la matrice du polymère hydrophile, induite par les particules du polymère hydrophobe.

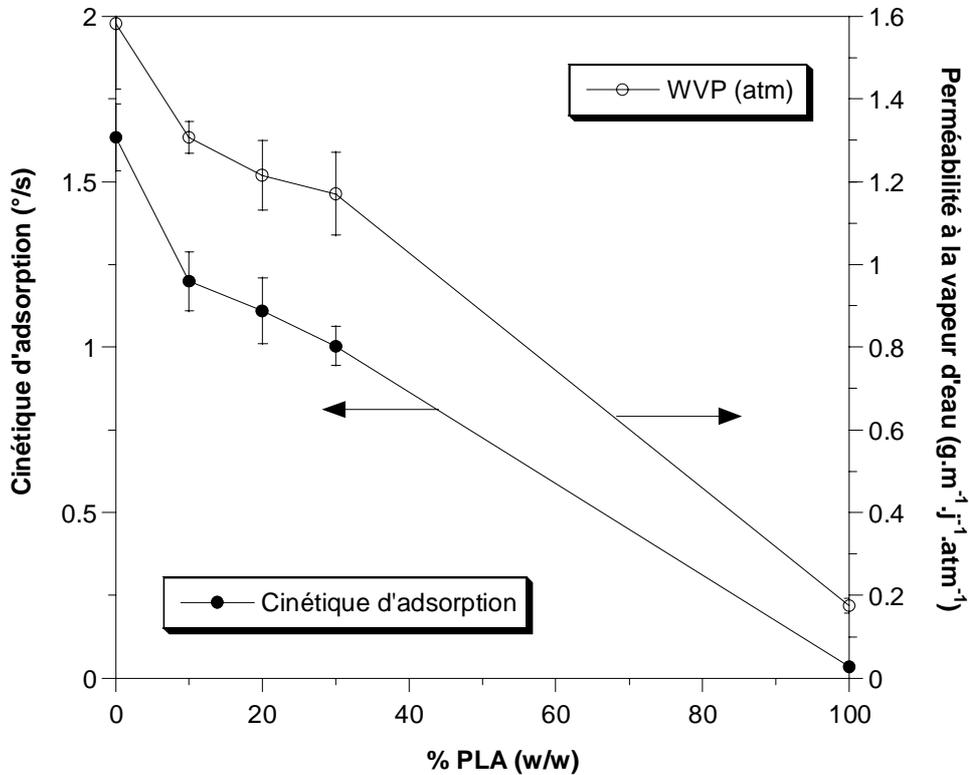


Figure 12. Cinétique d'adsorption et perméabilité à la vapeur d'eau (WVP) en fonction de la teneur en PLA

Nous pouvons remarquer dans la Figure 12 que l'addition de 10% de PLA donne une amélioration plus importante que 20 et 30 % (w/w). Cela signifie que l'incorporation du PLA en faible proportion est suffisante pour améliorer les propriétés barrière en raison de sa faible miscibilité avec le chitosane.

Pour obtenir la cinétique d'adsorption (Figure 12), la première étape consiste à mesurer l'angle de contact (θ) entre la goutte de liquide test et la surface de l'échantillon. L'évolution typique d'une goutte de l'eau sur la surface des films est montrée dans la Figure 13. La cinétique d'adsorption est calculée en mesurant la variation de l'angle de contact en fonction du temps. On peut observer clairement que l'incorporation du PLA diminue la cinétique d'adsorption du film de chitosane. Les angles de contact initiaux (angle de contact obtenu dès

le dépôt de la goutte) des mélanges chitosane/PLA sont légèrement augmentés avec la proportion croissante de PLA. Plus l'angle de contact initial augmente et plus la pente de la courbe diminue, le caractère hydrophobe des matériaux sera meilleur.

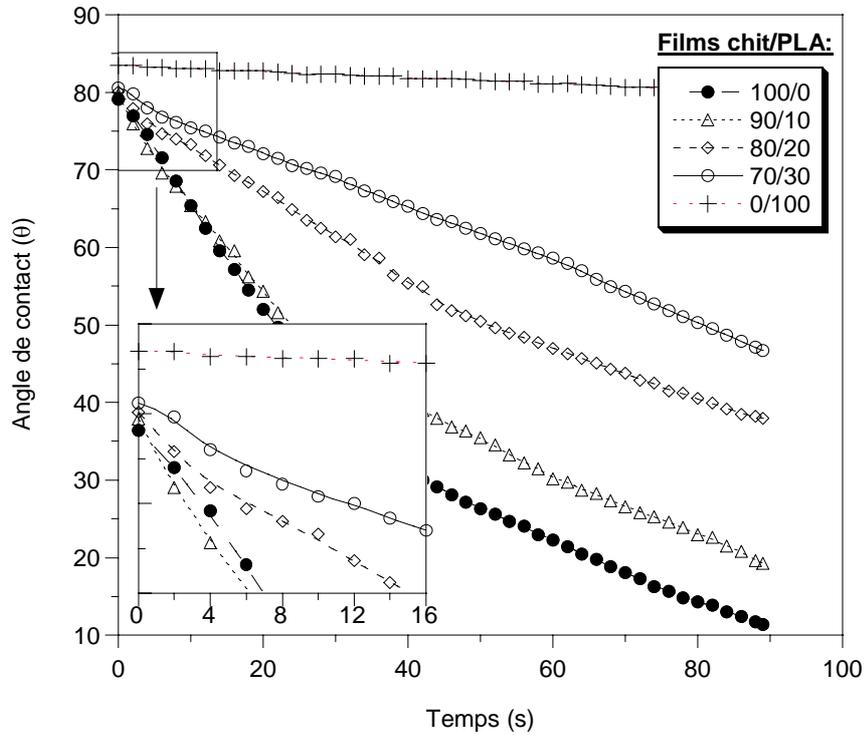


Figure 13. Courbes typiques de l'évolution de l'angle de contact entre une goutte d'eau distillée et la surface des films chitosane/PLA: 100/0 (●), 90/10 (Δ), 80/20 (◇), 70/30 (○) et 0/100 (+).

On observe sur la courbe de cinétique d'adsorption (Figure 12) que la sensibilité à l'eau du chitosane diminue avec l'augmentation de la quantité de PLA. Ce résultat peut expliquer pourquoi l'incorporation du PLA pourrait améliorer la performance de barrière du chitosane. De plus, les courbes de WVP et de cinétique d'adsorption ont la même tendance (Figure 12), c'est-à-dire elles montrent de légères variations de pente au delà de 20 % de PLA incorporé.

B-5. Observation par microscopie électronique à balayage (MEB)

L'observation par MEB peut confirmer visuellement la miscibilité du mélange entre deux polymères en mesurant la dimension des deux phases. La Figure 14 montre la micrographie MEB de la surface du film contenant 20% de PLA. Les particules de PLA dispersées dans la matrice chitosane sont assez petites (de l'ordre de 0,5-10 μm). Ce résultat est comparable à celui de Olabarrieta *et al.* (2001) qui ont incorporé le PCL (15 %, w/w) dans la matrice chitosane et ont obtenu des particules PCL de 1 à 10 μm . Selon ces auteurs, les petites tailles des particules PCL incorporées indiquent une bonne compatibilité entre le PCL et le chitosane. En revanche, ils n'ont pas étudié la compatibilité entre les deux matériaux avec l'analyse thermique, la comparaison des valeurs expérimentales du module d'Young et celles calculées par des modèles ou avec les spectres IR permettant de détecter des interactions spécifiques (liaisons hydrogène) entre deux polymères parents.

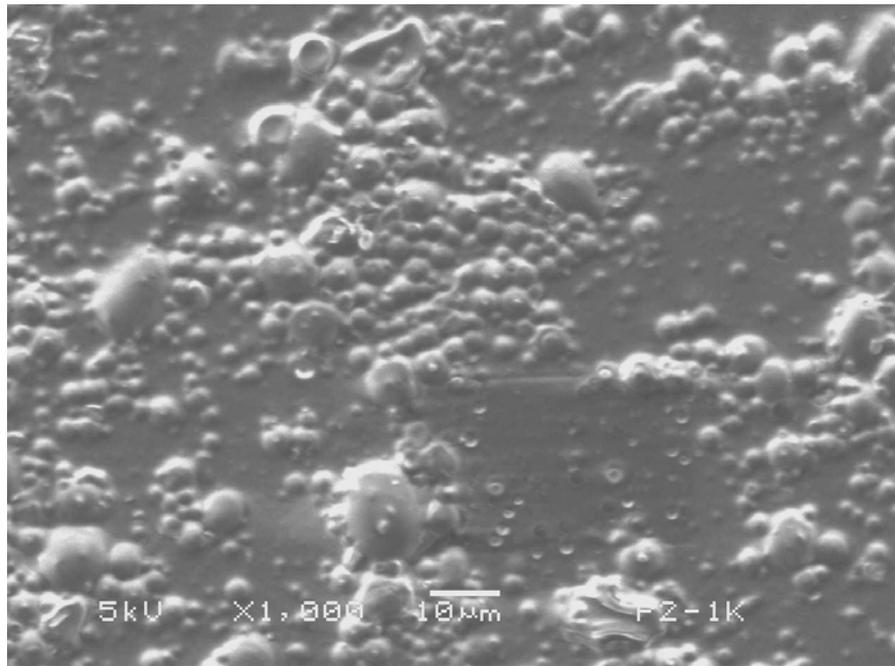


Figure 14. Micrographie MEB de la surface du film contenant 20% de PLA.

Quant au mélange chitosane/PLA, d'après les propriétés thermiques et mécaniques, il n'a pas montré une bonne compatibilité entre le PLA et le chitosane. De plus, il n'y a pas d'interactions spécifiques présentes dans les spectres IR des mélanges chitosane/PLA.

Pourtant, le PLA est relativement bien dispersé dans la matrice de chitosane comme le montre la Figure 14, probablement grâce au pouvoir émulsifiant du chitosane.

Les propriétés émulsifiantes du chitosane ont été étudiées par Rodriguez *et al.* (2002). Ils ont rapporté que le chitosane possède une haute valeur de la balance hydrophile-lipophile (HLB = 34) et se comporte comme un agent émulsifiant efficace. La Figure 15 présente la micrographie de l'émulsion d'huile de colza dans la solution de chitosane(1%) dans HCl $0,1\text{mol.L}^{-1}$. Dans cette figure, la distribution des gouttelettes d'huile de colza est comparable avec celle des particules PLA dispersées dans le film de chitosane (Figure 14). La fabrication des films du mélange chitosane/PLA est réalisée par émulsification dans la première étape, puis "casting" et évaporation du solvant. L'émulsion de l'huile dans l'eau (o/w, oil in water) a été réalisée en ajoutant goutte à goutte la solution de PLA dans le chloroforme à la solution aqueuse du chitosane.

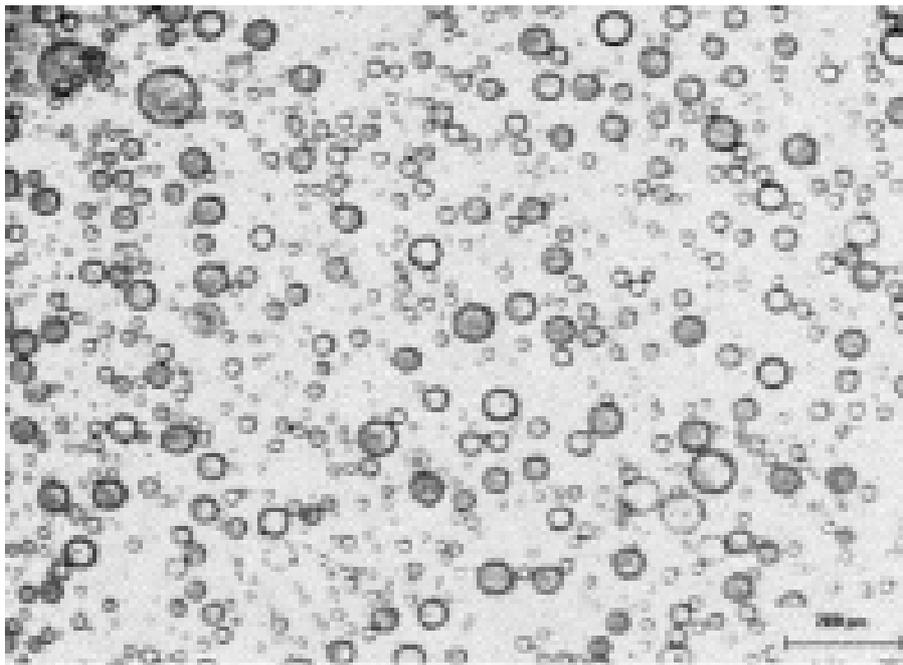


Figure 15. Cliché des gouttelettes de l'huile de colza dans la solution de chitosane (1%) dans HCl $0,1\text{mol.L}^{-1}$ avec le rapport huile/solution de chitosane = 20/80 (w/w). Le chitosane utilisé possède un DD de 95% (Rodriguez *et al.*, 2002).

Par ailleurs, Schulz et al. (1998) ont utilisé le chitosane pour fabriquer une émulsion de l'huile de colza dans l'eau et ont rapporté qu'il n'y a aucune séparation de phase pendant 2 mois de stockage, à condition optimale du rapport huile/solution de chitosane = 0,16/0,84 (w/w). Del Blanco *et al.* (1999) ont étudié l'influence du degré de désacétylation du chitosane sur ses propriétés émulsifiantes. La meilleure émulsion de l'huile de colza a été obtenue en utilisant le chitosane avec un DD de 88%.

B-6. Conclusions

Les films de chitosane manquent d'élasticité, indiqué par une faible élongation à la rupture (6 - 10 %). Le mélange avec le PLA n'a pas pu améliorer ce caractère puisque le PLA est aussi cassant. Donc, il s'avère indispensable de plastifier le chitosane pour améliorer son élasticité.

Par ailleurs, l'incorporation du PLA peut améliorer la résistance à l'eau du film chitosane indiqué par la diminution de la cinétique d'adsorption d'eau et l'augmentation de la valeur de l'angle de contact.

Les propriétés thermiques et mécaniques du mélange chitosane/PLA ont montré que le chitosane et le PLA ne sont pas compatibles. Ainsi, l'analyse par spectroscopie IR-TF a montré qu'il n'y a pas d'interactions spécifiques entre le chitosane et le PLA dans le mélange. Cependant, les films du mélange chitosane/PLA ont pu être réalisés jusqu'à 30% de PLA grâce à la qualité d'émulsifiant du chitosane. Afin d'améliorer la compatibilité entre le chitosane et le PLA, l'utilisation d'un agent compatibilisant s'avère nécessaire. Par ailleurs, il est aussi intéressant d'essayer le greffage du PLA sur la chaîne du chitosane en utilisant des méthodes déjà développées (Qu *et al.*, 1999; Kim *et al.*, 2002).

Chapitre III-2

RESULTATS ET DISCUSSION

Plastification du chitosane: effet des plastifiants hydrophiles et études de leurs stabilité et efficacité.

1. Introduction

Les résultats précédents et l'étude bibliographique ont montré qu'il est nécessaire de plastifier le chitosane afin d'améliorer son élasticité. De plus, le vieillissement, la nature du plastifiant et sa teneur sont des facteurs importants dans l'application du chitosane en tant qu'enrobage ou film comestible. Or, la comparaison de l'efficacité et de la stabilité des plastifiants n'a pas encore été étudiée pour les films de chitosane.

L'objectif de ce travail est de déterminer les taux de plastifiant et la stabilité des matériaux plastifiés pendant l'utilisation ou pendant le stockage afin de trouver le plastifiant le plus efficace pour le chitosane. Nous avons comparé quatre plastifiants hydrophiles à savoir le glycérol (GLY), l'éthylène glycol (EG), le poly(éthylène glycol) (PEG) et le propylène glycol (PG). Nous avons choisi ces quatre substances pour leur utilisation agréée dans l'industrie agro-alimentaire.

2. Propriétés mécaniques et teneur en humidité dans les films

Les courbes de contrainte-déformation des films de chitosane plastifié, stockés pendant 3 semaines sont présentées dans la Figure 16. Les courbes des films contenant 40% de plastifiant ne sont pas présentées puisque leurs allures sont identiques à celles des films de 20%. Sur cette figure, les courbes des chitosanes pur (a) et plastifié avec 5% de PG (b) montrent un comportement de matériau fragile. Les autres films plastifiés montrent le comportement de polymère ductile. A partir des courbes contrainte-déformation, la contrainte à la rupture (σ_r), le module d'élasticité (E) et le pourcentage d'allongement à la rupture (ϵ_r) peuvent être calculés (Tableau 8). Pour tous les matériaux plastifiés, l'effet souhaité sur les propriétés mécaniques (l'augmentation de l'allongement à la rupture et la diminution de la contrainte à la rupture et du module d'élasticité) est observé en fonction de la teneur en plastifiant sauf pour le film de chitosane avec 5% de PG. Pour ce dernier matériau, le résultat contraire a été observé, c'est-à-dire l'augmentation de la contrainte et la diminution de l'allongement à la rupture en comparaison avec le chitosane pur. Ce résultat signifie que le PG ne se comporte pas comme un plastifiant conventionnel à faibles concentrations, mais pour les

fortes concentrations, au-delà de 20%, son action de plastifiant a été observée. Ce comportement bien connu - l'effet "antiplastification"- a aussi été observé dans les mélanges amidon/glycérol (Lourdin *et al*, 1997) et amidon/sorbitol (Gaudin *et al*, 1999). Les quantités de glycérol et de sorbitol inférieures respectivement à 12% et 27% ont induit une diminution de l'allongement à la rupture, indiquant également un phénomène d'antiplastification. Le mécanisme d'antiplastification n'est pas encore parfaitement connu. Cependant, Lourdin *et al*. (1997) ont indiqué qu'une interaction forte peut se produire entre le polymère et la petite quantité de plastifiant provoquant une "réticulation" diminuant le volume libre et la mobilité des chaînes du polymère. De plus, une petite quantité de plastifiant pourrait améliorer la réorganisation du matériau et augmenter sa cristallinité, donc diminuer son élasticité.

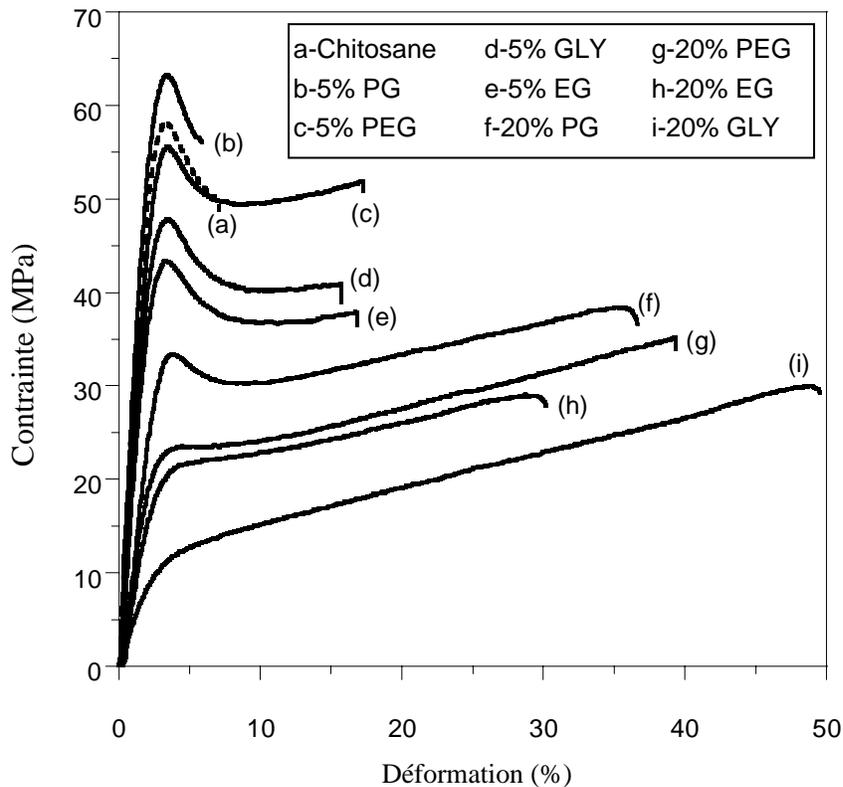


Figure 16. Courbes contrainte-déformation des films de chitosane plastifié stockés pendant 3 semaines (23°C et 50% HR).

La Figure 17 présente les courbes de contrainte-déformation des films conditionnés pendant 20 semaines. La comparaison des courbes des Figures 16 et 17 montre que le film plastifié avec 20% de PG est initialement ductile puis devient fragile après 20 semaines de stockage. L'échantillon avec 40% de PG présente le même comportement. Les propriétés mécaniques des films plastifiés avec d'autres plastifiants ne changent presque pas. Pour simplifier, nous pouvons dire qu'un plastifiant, à teneur donnée, est plus efficace qu'un autre si le film le contenant présente:

- un pourcentage d'allongement à la rupture plus élevé
- une plus grande stabilité dans le temps de ses propriétés mécaniques.

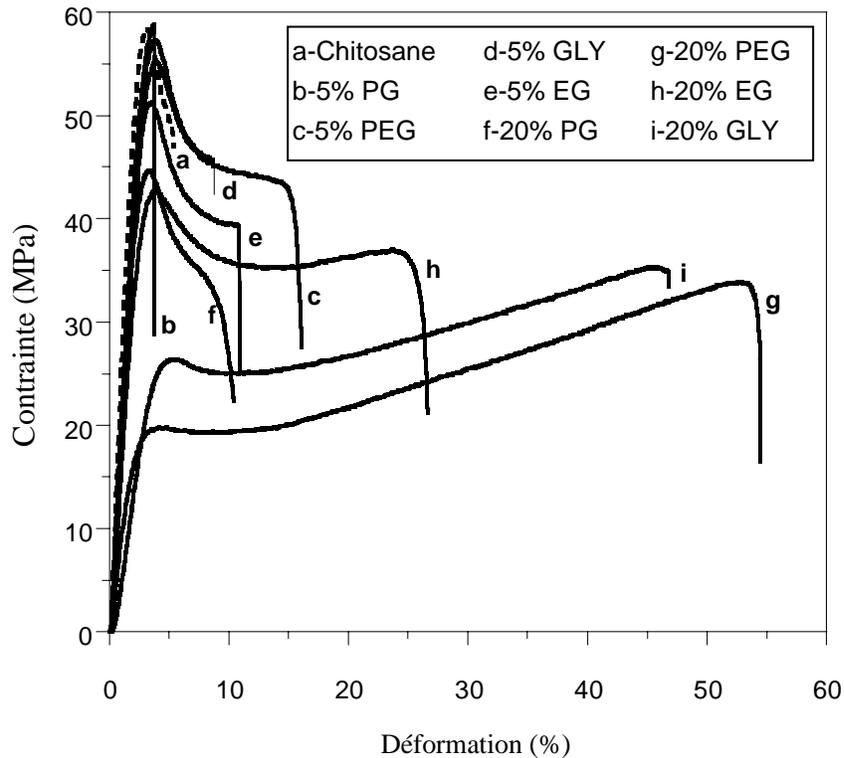


Figure 17. Courbes de contrainte-déformation des films de chitosane plastifié stockés pendant 20 semaines (23°C et 50% HR).

Ainsi, d'après les Figures 16 et 17, à 20% de la teneur en plastifiant, GLY et PEG montrent une meilleure efficacité de plastification que EG et PG. En effet, les films plastifiés avec 20% de GLY et PEG possèdent une plus grande déformation et une meilleure stabilité pendant le stockage, mais une plus faible contrainte à la rupture que celle des films plastifiés avec PG. Les films avec EG possèdent les caractéristiques mécaniques comparables à celles des films avec GLY et PEG, mais ils ne sont pas stables pendant le stockage.

Mangavel *et al.* (2003) ont rapporté que l'efficacité des plastifiants augmente avec leur masse molaire. Pour notre étude, l'efficacité des plastifiants suit l'ordre PEG > GLY > EG > PG, tandis que la masse molaire diminue suivant l'ordre PEG (200) > GLY (92) > PG (76) > EG (62). Les films préparés avec EG ont l'élongation supérieure et la contrainte à la rupture inférieure à celles des films avec PG, malgré une masse molaire plus faible. Cette anomalie peut être due à l'influence d'autres caractéristiques structurales que la masse molaire comme l'ont indiquée Mangavel *et al.* (2003).

Tableau 8. Effets de la plastification sur la teneur en humidité (H), la contrainte à la rupture (σ_r) et l'élongation à la rupture (ϵ_r) des films de chitosane.

Compositions (w/w)	Stockage pendant 3 semaines			Stockage pendant 20 semaines		
	H (%)	σ_r (MPa)	ϵ_r (%)	H (%)	σ_r (MPa)	ϵ_r (%)
Chitosan (chit) film	14.4(0.3) _a	63.1(4.4) _a	7.2(1.4) _a	12.3(0.4) _a	65.4(5.7) _a	4.7(0.5) _a
chit/GLY : 95/5	13.7(0.3) _a	59.5(4.4) _a	19.1(2.8) _b	11.5(0.4) _a	64.2(2.7) _a	8.8(1.8) _a
chit/GLY : 80/20	15.8(1.4) _a	31.8(2.0) _b	45.7(3.4) _c	13.1(0.4) _a	38.4(5.5) _b	42.0(5.7) _b
chit/GLY : 60/40	24.3(0.2) _b	22.0(2.2) _c	84.2(6.2) _d	21.6(0.2) _b	12.6(2.4) _c	33.9(5.9) _b
chit/EG : 95/5	13.9(0.2) _a	53.7(3.7) _b	16.8(1.2) _b	11.6(0.4) _a	60.8(4.3) _a	9.4(3.8) _a
chit/EG : 80/20	14.5(0.4) _a	34.0(1.4) _c	38.1(3.6) _c	11.9(0.2) _a	51.5(4.2) _b	19.4(6.6) _b
chit/EG : 60/40	14.0(0.6) _a	33.2(3.6) _c	67.0(5.3) _d	11.0(0.6) _a	49.1(4.1) _b	24.6(4.9) _b
chit/PEG : 95/5	13.2(0.6) _a	65.1(1.4) _a	12.1(1.8) _a	11.0(0.1) _a	61.0(6.0) _a	12.4(1.3) _a
chit/PEG : 80/20	21.9(0.9) _b	40.6(3.8) _b	42.2(2.9) _b	19.8(0.9) _b	39.0(4.5) _b	50.6(0.8) _b
chit/PEG : 60/40	22.1(1.8) _b	36.6(2.5) _b	79.7(6.7) _c	19.6(0.9) _b	22.9(2.1) _c	53.6(2.9) _b
chit/PG : 95/5	14.9(0.4) _a	74.2(1.7) _b	6.4(0.6) _a	11.1(0.2) _a	69.8(2.9) _a	4.3(0.6) _a
chit/PG : 80/20	15.5(1.5) _a	44.6(1.9) _c	36.6(3.9) _b	11.0(0.4) _a	54.2(4.8) _b	8.6(1.7) _b
chit/PG : 60/40	14.9(0.7) _a	36.3(3.4) _c	44.3(4.1) _c	11.9(0.1) _a	49.6(8.6) _b	7.0(0.4) _b

- ^{a-c} Les différences lettres en exposant dans la même colonne indique les différences significatives.
- Les valeurs entre parenthèses représentent les écarts-types calculés sur sept mesures pour chaque échantillon.

La contrainte à la rupture et le pourcentage d'allongement des films plastifiés changent après le stockage pendant 20 semaines, comparés à ceux des films conditionnés pendant 3 semaines (Tableau 8). La résistance à la traction augmente et l'élongation à la rupture diminue significativement sauf pour les films plastifiés avec 20% de GLY, 20 et 40% de PEG. Ces résultats pourraient être expliqués par la séparation de phase et la recristallisation du chitosane. En effet, l'augmentation du taux de cristallinité accroît logiquement la rigidité et la fragilité du film. D'ailleurs, Cervera *et al* (2004) ont observé que le vieillissement a tendance à augmenter la cristallinité des films du mélange chitosane-amylose (Hylon VII). Il est également possible que les films perdent de l'humidité et/ou les plastifiants par évaporation pendant le stockage. Par conséquent, il s'ensuit une diminution de l'élasticité et une augmentation de résistance à la traction.

Pour confirmer l'évaporation de l'humidité pendant le stockage, les teneurs en humidité des films ont été mesurées après 3 et 20 semaines. Les résultats sont indiqués dans le Tableau 8. Il est bien connu que l'eau est le plastifiant omniprésent et incontrôlable pour la plupart des films à base d'hydrocolloïdes (polysaccharides) en raison de sa capacité à modifier la structure de ce polymère naturel (Gontard *et al*, 1993; Pouplin *et al*, 1999). Les teneurs en humidité des films avec 40% de GLY, 20 et 40% de PEG sont significativement différentes de celles des films non plastifiés. Le taux d'humidité est de 14,4 % pour l'échantillon non plastifié (conditionné pendant 3 semaines) et augmente respectivement à 24,3 ; 21,9 et 22,1% pour des films avec 40% de GLY, 20 et 40% de PEG. Ainsi l'effet plastifiant de l'humidité ne pourrait pas être négligeable pour ces trois films car l'efficacité de plastification vient non seulement de l'action intrinsèque des plastifiants GLY et PEG mais aussi de leur apport en humidité. Par ailleurs, les teneurs en humidité des films conditionnés pendant 20 semaines sont diminuées sensiblement comparées à celles des films conditionnés pendant 3 semaines. Ceci confirme l'évaporation d'eau des films pendant le stockage.

Il est possible aussi que l'évaporation des plastifiants se produise entraînant une diminution de l'élongation et une augmentation de la résistance à la traction. Dans une étude précédente, Sanchez *et al*. (1998) ont observé que l'éthylène glycol (EG, point d'ébullition = 198°C), le diéthylène glycol (DEG, point d'ébullition (bp) = 244°C), triéthylène glycol (TEG,

bp = 287°C) et tétraéthylène glycol (TEEG, bp = 307°C) se sont évaporés des films de gliadine de blé d'environ 46, 23, 13 et 17%, respectivement, tandis qu'il n'y a aucune évaporation du glycérol (GLY, bp = 290°C). De même, Guéguen *et al.* (1998) ont constaté le vieillissement des films de gluten plastifiés avec du 1,2 ou 1,3 - propanediol et déclaré que la résistance à la traction est considérablement accrue après un mois de stockage car les plastifiants se sont évaporés des films.

Afin de confirmer l'évaporation des plastifiants, les tests suivants sont effectués. Environ 2 grammes de plastifiant ont été placés dans un dessiccateur (HR = 0%) pour éliminer toute trace d'humidité, à différentes températures : 23 °C dans une pièce thermostatée, 50 et 70 °C en étuve, respectivement pendant 7, 3 et 1 jours. Les taux d'évaporation sont calculés comme la perte de masse de plastifiant (%) et les résultats sont présentés dans le Tableau 9.

Tableau 9. Taux d'évaporation des plastifiants à différentes températures (écart type entre parenthèses).

Plastifiant	perte de masse des plastifiants (%) [*]		
	7 jours à 23 °C	3 jours à 50 °C	1 jour à 70 °C
GLY	0.0	0.0	0.0
EG	2.6 (0.1)	52.0 (1.3)	92.2 (1.9)
PEG	0.0	0.0	0.0
PG	6.7 (0.1)	90.7 (2.2)	99.4 (2.5)

^{*} les valeurs sont les moyennes de 3 mesures et déjà déduites de la teneur en eau initiale des plastifiants.

On observe clairement que PG (bp = 185°C) et EG. (bp=196°C) s'évaporent rapidement à 50 et 70 °C et légèrement à la température de stockage (23 °C), tandis qu'il n'y a aucune perte de masse de GLY (bp=290°C) et de PEG (bp inconnu) quelque soit la température utilisée. Cette observation est en accord avec Sanchez *et al.* (1998), qui ont indiqué que les différences de taux d'évaporation de plastifiants pourraient être dues à leurs différents points d'ébullition. Le Tableau 9 indique que 6,7 % de PG se sont évaporés après 7 jours à 23°C, par conséquent les films plastifiés avec PG tendent à retrouver sa rigidité naturelle après la migration et l'évaporation du plastifiant des films.

2. Propriétés thermiques

La Figure 18 présente à titre d'exemple les thermogrammes DSC des films avec 20% de plastifiants et obtenus au deuxième balayage. Les températures de transition vitreuse (T_g) sont observées entre 200 et 170 °C environ alors que les pics exothermiques de la dégradation des polymères apparaissent aux environs de 290 °C. Les température du début du pic exothermique sont prises comme température de la dégradation thermique T_{deg} . L'ensemble des figures équivalentes obtenues pour les différents teneurs en plastifiant a permis de tracer les courbes des figures 19a et 19b.

La Figure 19a présente la T_g en fonction de la concentration des plastifiants. La T_g des films plastifiés diminue avec l'augmentation du pourcentage de plastifiants, ce qui est en accord avec la théorie de volume libre de la plastification. En ce qui concerne l'efficacité des plastifiants, normalement elle peut être évaluée en comparant la T_g expérimentale aux modèles théoriques. Le modèle de Couchman-Karasz est employé couramment parce qu'il a été appliqué avec succès à divers biopolymères (Pouplin et al., 1999). En raison de la limitation de nos équipements, les T_g des plastifiants utilisés n'ont pas pu être déterminées par DSC. Ainsi, il n'est pas possible d'appliquer ce modèle. Cependant, on observe nettement que la T_g diminue avec les quantités de plastifiant.

La T_g du film chitosane pur se trouve à environ 196 °C et se décale à 184, 178, et 169 °C pour les films plastifiés avec 5, 20, et 40 % de GLY, respectivement. Des résultats semblables sont obtenus avec les autres matériaux plastifiés. Il y a systématiquement linéarité entre la T_g et le pourcentage de plastifiant. Les droites de PEG (3) et de GLY (1) ont une plus grande pente que celle de EG (2) et de PG (4). On peut en déduire que PEG et GLY sont des plastifiants plus efficaces pour le chitosane que PG et EG. Ces observations sont en accord avec les résultats des propriétés mécaniques obtenus précédemment montrant que PEG et GLY sont plus efficaces que PG et EG pour augmenter la ductilité du chitosane.

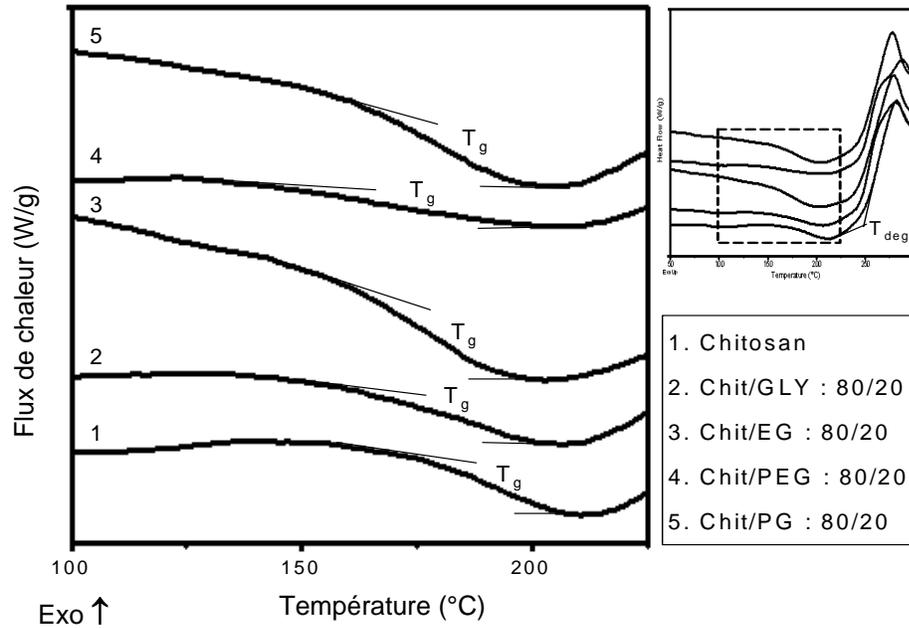


Figure 18. Thermogrammes des films contenant 20% de plastifiants, obtenus au deuxième balayage.

La figure 19b montre également que la T_{deg} des films diminue en fonction du pourcentage de plastifiant. Les plastifiants favorisent donc l'instabilité thermique par leur insertion entre les chaînes de polymère et la suppression des interactions polymère-polymère, comme mentionnés dans les théories de lubrification et de gel de la plastification. Les pentes des droites de la T_{deg} versus le pourcentage de plastifiant de PEG et GLY sont plus grandes que celles de PG et EG indiquant également que PEG et GLY sont des plastifiants plus efficaces que PG et EG. Ce résultat est en bon accord avec tous les résultats précédents.

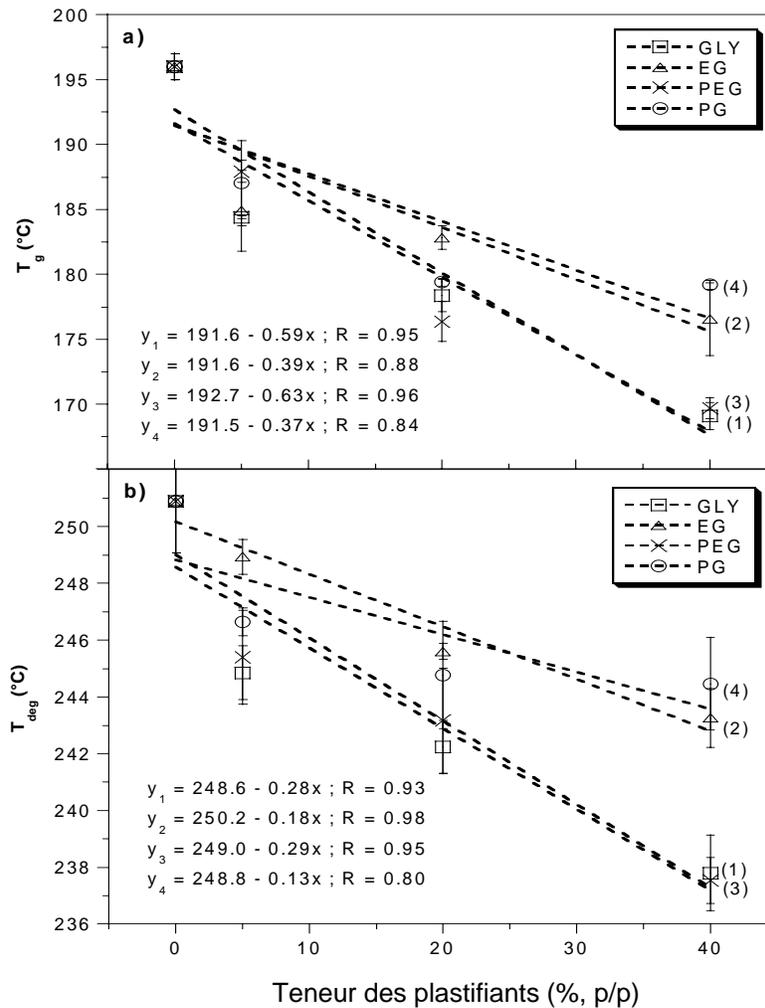


Figure 19. a) Température de transition vitreuse (T_g) et b) Température de dégradation (T_{deg}) en fonction de la teneur des plastifiants: (1)GLY, (2)EG, (3)PEG et (4)PG. Les pentes sont calculées par le modèle de régression linéaire.

La Figure 20 présente les thermogrammes DSC de la première montée en température des films de chitosane et des films contenant 20% de plastifiant. Les pics endothermiques, centrés à 90-95 °C, sont liés à l'évaporation de l'eau. Ainsi les surfaces de ces pics endothermiques représentent l'énergie nécessaire pour vaporiser l'eau présente dans les films. Par ailleurs, Rueda *et al.* (1999) ont rapporté que le pic endothermique du premier balayage en analyse DSC, pour le chitosane, correspond à la teneur en eau de l'échantillon. Dans notre cas,

le pic de l'évaporation de PG et EG pourrait se trouver sous le pic de l'évaporation d'eau, comme il a été montré par le test de l'évaporation des plastifiants (Tableau 9).

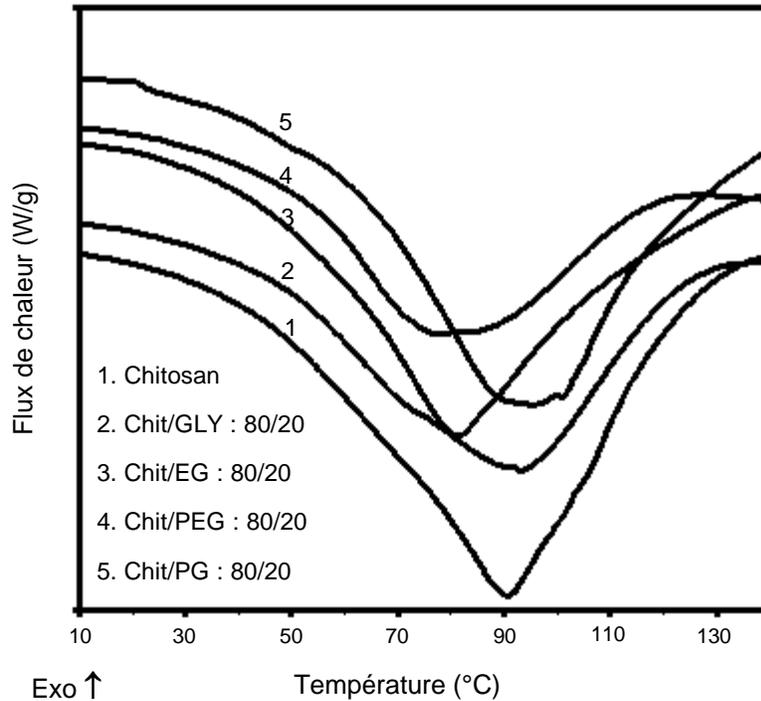


Figure 20. Thermogrammes des films contenant 20% de plastifiants, obtenus au premier balayage.

3. Propriétés de surface et absorption d'humidité

Des mesures de l'angle de contact en déposant des gouttes d'eau sur la surface du matériau sont employées pour caractériser les propriétés de surface (le caractère hydrophile/hydrophobe) des films de chitosane plastifiés. D'après les résultats obtenus (Figures 21a et 21b) l'addition des plastifiants diminue systématiquement l'angle de contact des films de chitosane donc leur hydrophobie. Les angles de contact des films conditionnés pendant 20 semaines sont plus importants que ceux des films conditionnés pendant 3 semaines, les films deviennent donc plus hydrophobes, dûs à la perte d'humidité et éventuellement de plastifiant, par évaporation.

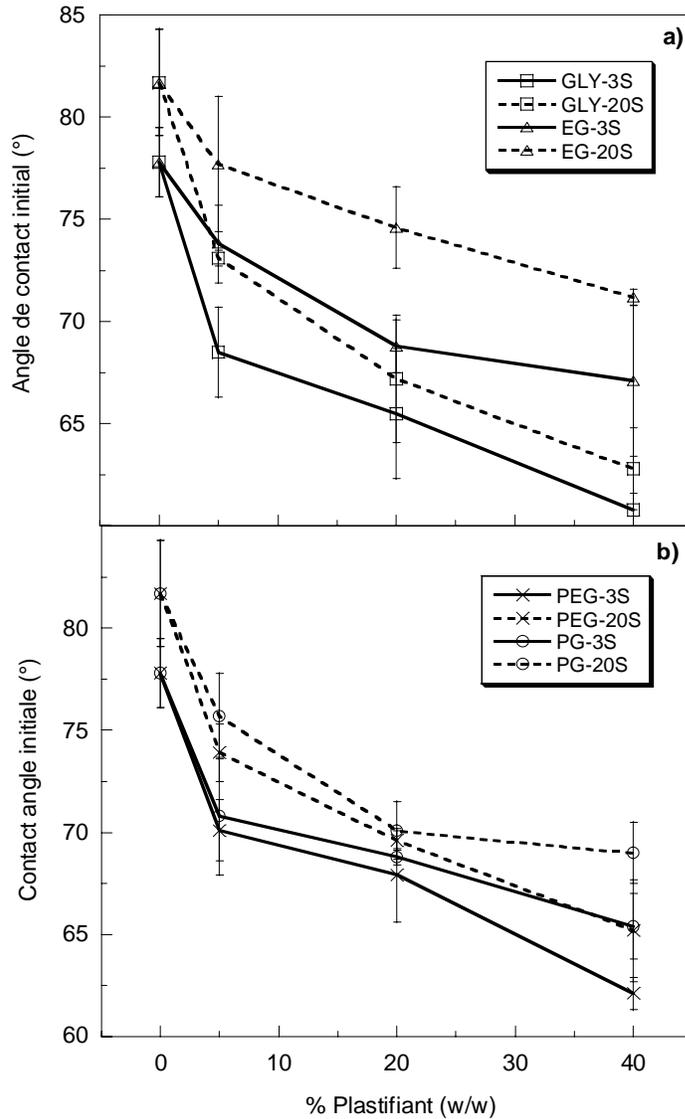


Figure 21. Angle de contact des films plastifiés: **a)** avec GLY et EG; **b)** avec PEG et PG. Les lignes continues et discontinues représentent respectivement le stockage pendant 3 et 20 semaines.

La Figure 22 montre l'absorption d'humidité pendant le stockage à HR de 98% en fonction du temps d'exposition. Nous pouvons différencier deux zones dans chaque courbe montrant deux cinétiques de l'absorption. Pour le film non plastifié, conditionné pendant 3 semaines, la cinétique de l'absorption d'eau est rapide jusqu'à environ 175 h (zone I), puis se ralentit ensuite pour atteindre un plateau (zone II). Les absorptions d'eau en équilibre ont été obtenues en prenant la valeur au plateau.

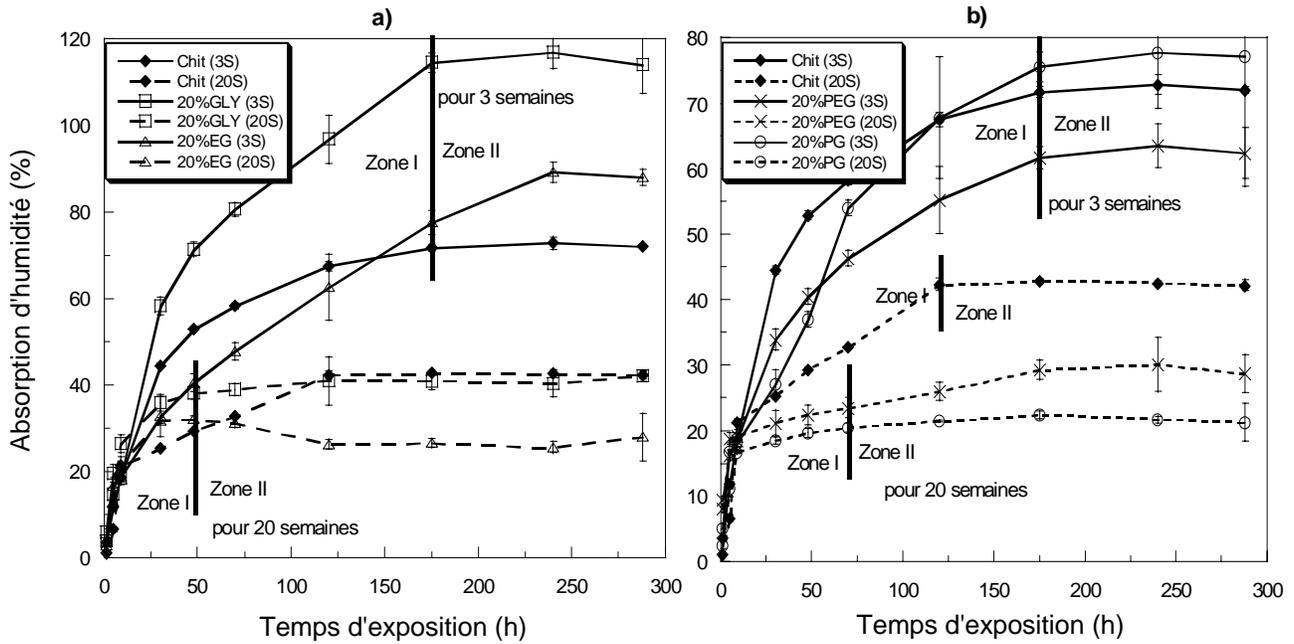


Figure 22. Absorption d'humidité des films non plastifiés et plastifiés avec 20% de plastifiants en fonction de la durée d'exposition: a) GLY, EG; b) PEG, PG. Les lignes continues et discontinues représentent respectivement le stockage pendant 3 et 20 semaines.

L'absorption d'eau en équilibre en fonction de la concentration du plastifiant (Figure 23) montre que le gonflement des films de chitosane dépend de la nature du plastifiant. Ainsi, pour les films conditionnés pendant 3 semaines, le gonflement avec GLY et EG est supérieur à celui avec PEG et PG. Cette observation pourrait être due à l'hydrophilie et la capacité de s'humecter de GLY et de EG qui sont plus importantes que celles de PEG et de PG. De plus, le gonflement du matériau est plus faible après 20 semaines à 23°C. Ceci peut être dû à une augmentation éventuelle de la cristallinité des films.

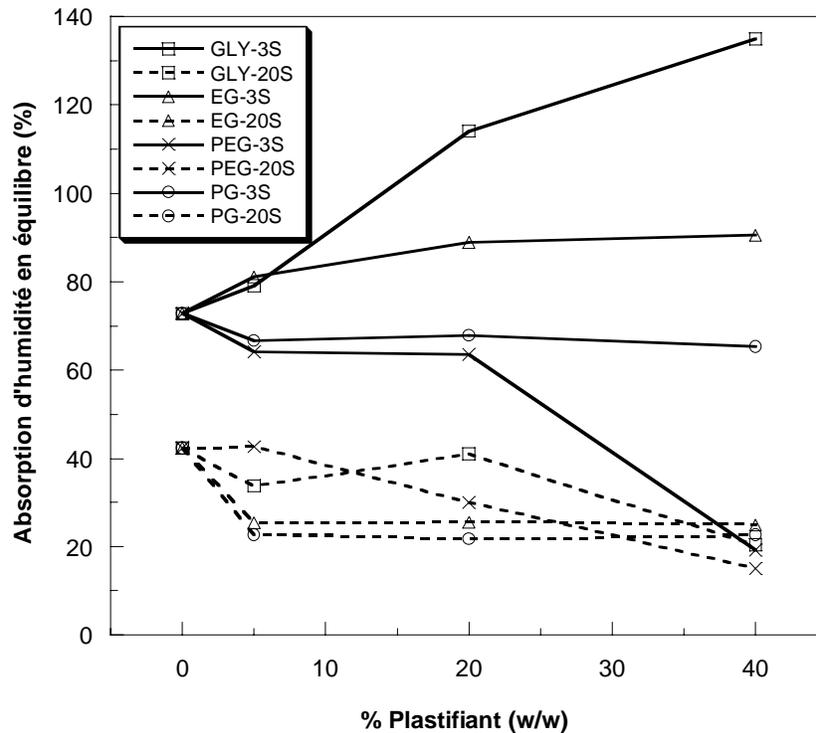


Figure 23. Absorption d'humidité en équilibre des films exposés à 98% HR. Les lignes continues et discontinues représentent respectivement le stockage pendant 3 et 20 semaines.

4. Analyse par spectroscopie Infra Rouge à Transformée de Fourier

La Figure 24 présente les spectres IR du chitosane pur et des films plastifiés (20% de plastifiant) afin de détecter l'effet des plastifiants sur la cristallinité du chitosane. L'indice de cristallinité des films contenant 20% de GLY, EG, PEG et PG est respectivement de 0,61; 0,78; 0,60 et 0,72, alors que l'indice de cristallinité du film de chitosane pur est de 0,79. On peut noter ici que le GLY et le PEG sont plus efficaces que EG et PG pour diminuer la cristallinité du chitosane. Il est bien connu que plus la cristallinité du matériau augmente, plus son élasticité est réduite. Ainsi, les spectres IR-TF confirment les résultats précédents (propriétés mécaniques et thermiques).

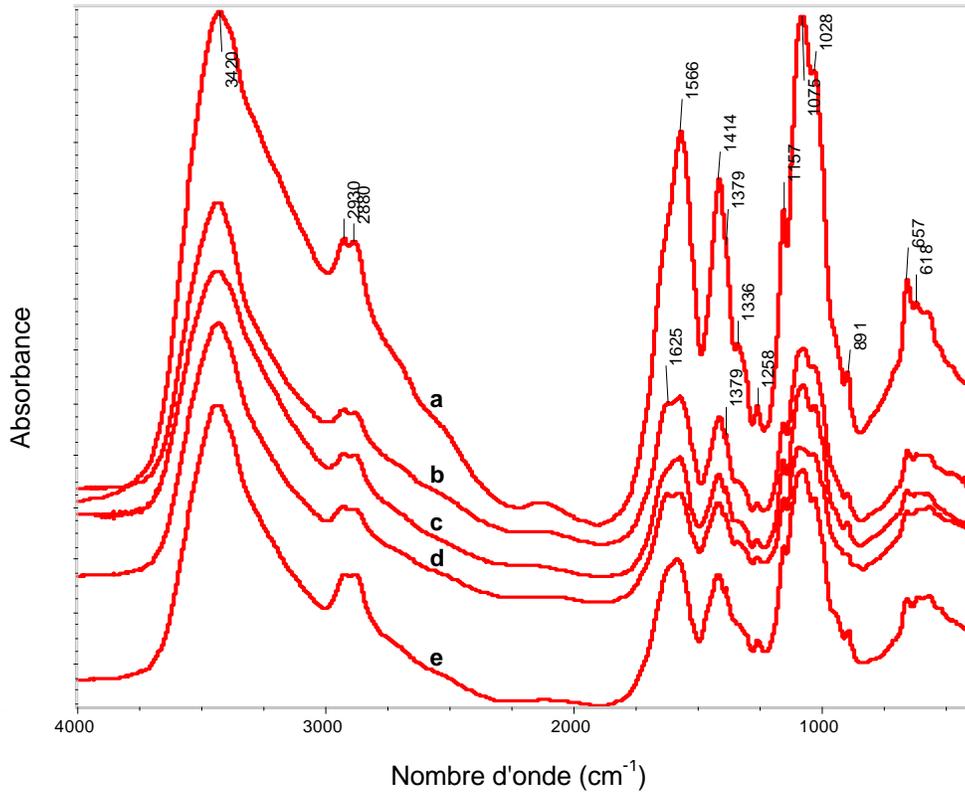


Figure 24. Spectres IR-TF du film de chitosane pur (a), du film chitosane plastifié avec 20% de EG (b), PG (c), GLY (d) et PEG (e), après stockage pendant 20 semaines.

5. Conclusion

L'utilisation de GLY, de PEG, d'EG et de PG améliore la ductilité du chitosane. Quelle que soit la quantité de plastifiant, il est évident qu'un effet conventionnel des plastifiants (l'augmentation de l'élongation et la diminution de la résistance à la traction) se produit, sauf pour le PG à basse concentration (5%) qui montre clairement le phénomène d'anti-plastification. En effet, la diminution de l'élongation du film préparé avec 5% de PG est accompagnée d'une augmentation de la contrainte, ce qui a également été observé dans les polymères synthétiques (Lourdin *et al*, 1997). De plus, les propriétés mécaniques des films plastifiés ont changé pendant le stockage à 23 °C, 58 %HR, ce qui pourrait être dû à l'évaporation de l'eau et éventuellement de plastifiant.

Dans cette étude, GLY et PEG sont des plastifiants plus efficaces que PG et EG pour le chitosane. En effet, GLY et PEG ont montré une meilleure efficacité que PG et EG pour augmenter l'élasticité du chitosane et pour baisser la T_g , la T_{deg} et la cristallinité du chitosane. De plus, les films plastifiés avec GLY et PEG restent stables pendant 20 semaines de stockage.

Notre étude a démontré que la volatilité des plastifiants doit être prise en considération parce qu'elle influence la stabilité des propriétés des films. Par ailleurs, l'utilisation d'un plastifiant hydrophile a des effets négatifs sur la résistance à l'eau. Enfin, un plastifiant joue également le rôle de stabilisant en évitant au film de se casser pendant son application comme décrit par Garcia *et al* (1998).

Chapitre III-3

RESULTATS ET DISCUSSION

Chitosane greffé PLA: comparaison de deux méthodes de greffage

1. Introduction

Dans l'étude précédente (Chapitre III-1), le PLA a été associé avec le chitosane pour améliorer la ductilité et la résistance à l'eau du film de chitosane. Les films composites obtenus ont une meilleure propriété barrière à la vapeur d'eau et de résistance à l'eau que le film du chitosane pur. Cependant, il y a une diminution des propriétés mécaniques. D'ailleurs, les propriétés thermiques, mécaniques et les spectres IR des mélanges chitosane/PLA montrent que les deux polymères ne sont que partiellement compatibles, voire incompatibles.

Les modifications chimiques constituent une alternative intéressante pour rendre le chitosane compatible avec d'autres polymères. Parmi elles, la copolymérisation par greffage peut être l'une des meilleures méthodes pour associer les polymères synthétiques avec le chitosane. Dans la littérature, le greffage des polymères sur les chaînes de chitosane a été largement étudié, par exemple le poly (méthacrylate de méthyl) par Hsu *et al.* (2002), le polyacrylamide par Yazdani-Pedram *et al.* (2002), le poly (éthylène-glycol) par Ouchi *et al.* (1998), Kolhe et Kannan (2003) et Hu *et al.* (2005), le poly(alcool vinylique) par Huang et Fang (2006), le poly(acrylonitrile) par Prashanth, et Tharanathan (2003) et le poly (acétate de vinyle) par Don *et al.* (2002). Par ailleurs, Qu *et al.* (1999) a synthétisé un hydrogel sensible aux variations de pH par le greffage direct de D, L-acide lactique sur le chitosane sans catalyseur. De plus, Kim *et al.* (2002) ont utilisé la polymérisation par l'ouverture de cycle ("Ring Opening Polymérisation") pour synthétiser les copolymères de chitine-greffé-PLA en utilisant le L-Lactide.

Dans cette étude, la copolymérisation par greffage de poly (acide lactique) sur les chaînes de chitosane a été effectuée en suivant la méthode de Qu *et al.* (1999) et de Kim *et al.* (2002) avec quelques modifications dans le système solvant et l'utilisation du catalyseur. L'objectif de ce travail est de synthétiser et caractériser les copolymères chitosane-greffé-PLA avec deux méthodes différentes, à savoir le greffage direct de D,L - acide lactique sur le chitosan en employant l'acide para toluène sulfonique en tant que catalyseur et la polymérisation d'ouverture de cycle (ROP) de L-lactide en utilisant le triéthylamine (TEA) comme activateur (capteur de H⁺). Par suite, les copolymères chitosane-greffé-PLA obtenus pourraient être utilisés directement comme film d'emballage ou comme agent compatibilisant dans les mélanges de chitosane/PLA. La spectroscopie

IR-TF, l'analyse thermique DSC et l'essai de solubilité ont été employés pour caractériser les copolymères greffés.

2. Essais de solubilité et rendement du greffage

La solubilité du chitosane et des deux copolymères chitosane-g-PLA dans différents solvants est présentée dans le Tableau 10. Les deux copolymères chit-g-PLA présentent une solubilité différente du chitosane pur. Le chitosane est soluble dans une solution aqueuse acidifiée, tandis que les deux copolymères ne sont pas solubles dans aucun des solvants testés et seulement gonflés dans l'eau distillée. Cette différence de solubilité confirme qu'il y a eu une modification chimique sur la chaîne du chitosane. L'efficacité de greffage des deux méthodes sont voisines, environ 46 et 47% pour la greffe directe et la méthode ROP, respectivement.

Tableau 10. Solubilité des copolymères chitosane-g-PLA obtenus par le greffage direct (GD) et par ROP.

Solvants	Chitosane	Chit-g-PLA par GD	Chit-g-PLA par ROP
<u>Tests de solubilité:</u>			
- H ₂ O	insoluble	insoluble	insoluble
- 1% acide acétique	très soluble	insoluble	insoluble
- 2% acide lactique	très soluble	insoluble	insoluble
- chloroforme	insoluble	insoluble	insoluble
- méthanol	insoluble	insoluble	insoluble
- acétone	insoluble	insoluble	insoluble
- n-Hexane	insoluble	insoluble	insoluble
- acétonitrile	insoluble	insoluble	insoluble
Rendement du greffage:	-	45.7%	46.5%

3. Caractérisation par spectroscopie IR-TF

Pour confirmer le greffage du PLA sur le chitosane, les spectres IR-TF du chitosane, du L-lactide, du D,L-acide lactique et des deux chitosane-greffé-PLA ont été enregistrés et comparés. La Figure 25 montre les spectres IR-TF du chitosane, du D, L- acide lactique et du chitosane-greffé-PLA par le greffage direct. Cette figure montre clairement que le spectre infrarouge du copolymère chitosane-g-PLA a quatre nouveaux pics apparus à 1742,

1453, 1589 et 1207 cm^{-1} . La bande à 1453 cm^{-1} a été attribuée à la vibration de déformation CH_3 . Les deux pics à 1589 et 1207 cm^{-1} représentent la vibration de valence de N-H et C-OH, respectivement. Le pic à 1742 cm^{-1} représente la vibration de valence de C=O du groupement ester. Comparé à l'absorption de C=O de l'acide lactique (à 1720 cm^{-1}), la bande de C=O du chitosane greffé apparaît à une fréquence plus élevée. Ainsi, ce résultat confirme la copolymérisation par greffage direct du monomère D, L- acide lactique sur la chaîne de chitosane.

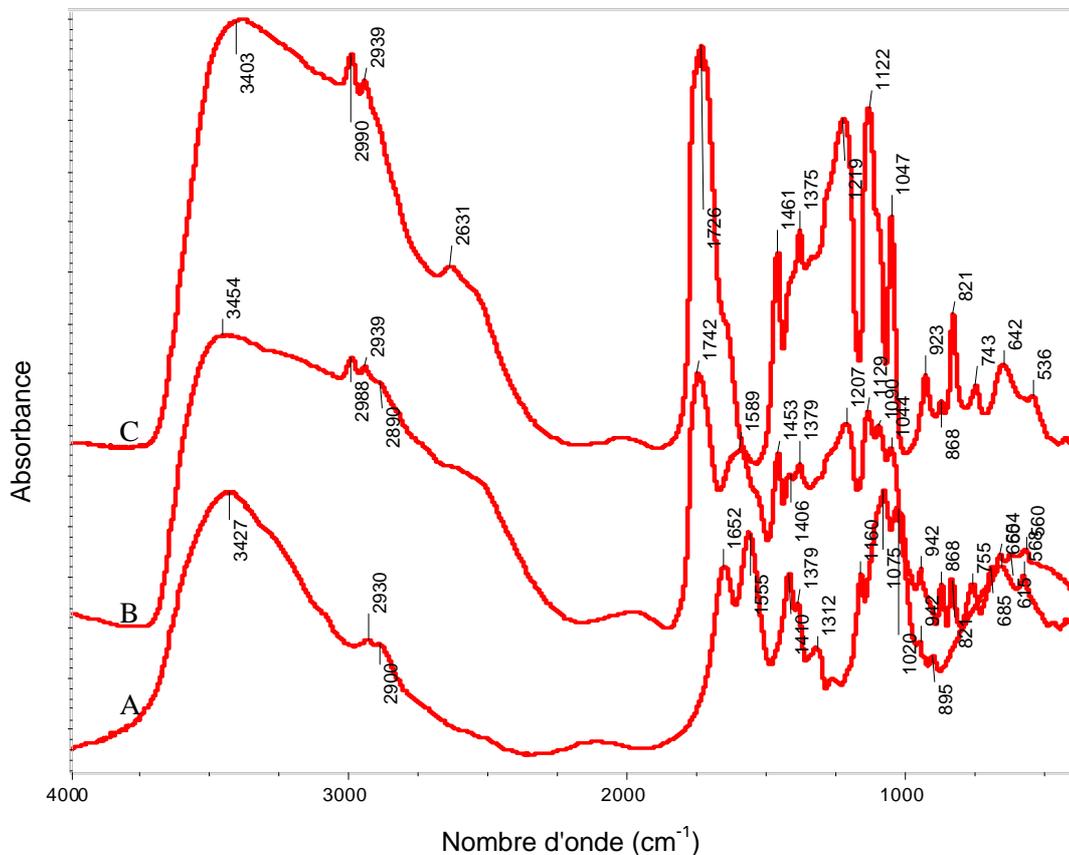


Figure 25. Spectres IR-TF de chitosane (A), de chit-g-PLA par le greffage direct (B) et de D,L-acide lactique (C).

Les spectres IR-TF du chitosane, du L-lactide et du chitosane-g-PLA par ROP sont présentés dans la Figure 26. Comparé au spectre infrarouge du chitosane, le copolymère chitosane-g-PLA a trois nouveaux pics apparus à 1734, 1629 et 1527 cm^{-1} . Le pic des groupements amide I et aminé s'est décalé clairement de 1652 et 1558 cm^{-1} dans le spectre

du chitosane pur à 1629 et 1527 cm^{-1} , respectivement, dans celui du chitosane greffé. Un faible pic des groupements ester est apparue à 1734 cm^{-1} , comparé à un pic très fort du groupe carbonyle dans L-lactide à 1761 cm^{-1} , confirme le greffage par ROP.

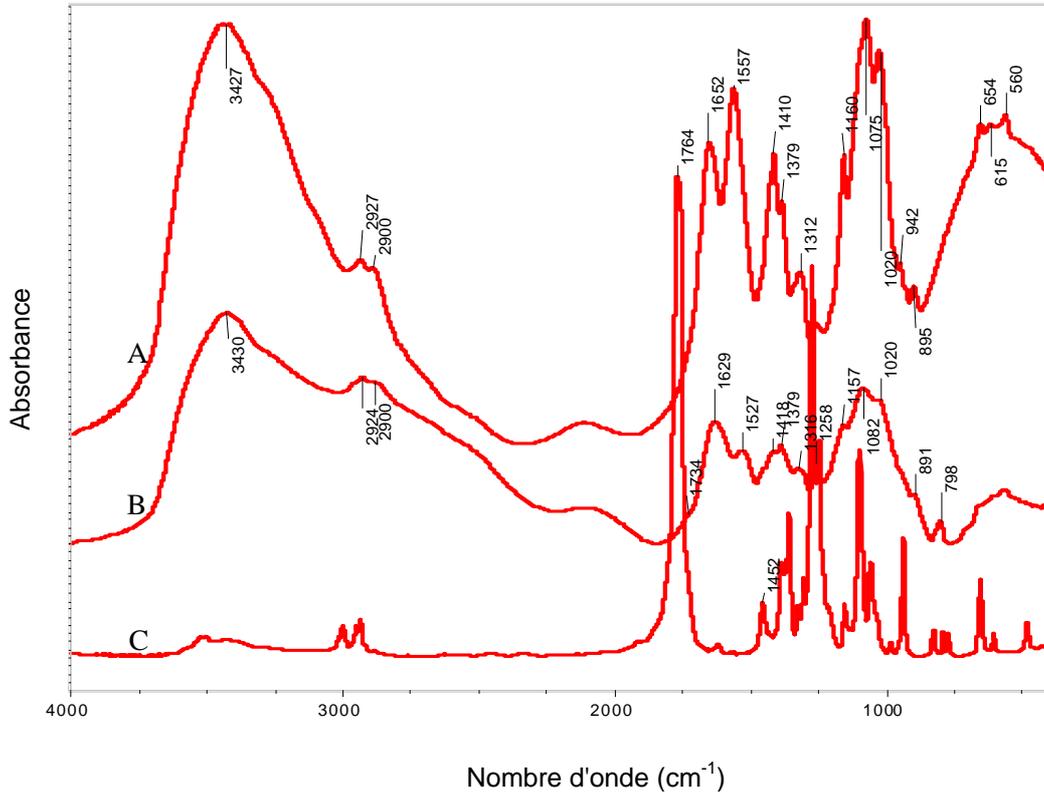


Figure 26. Spectre IR de chitosane (A), de chit-g-PLA par ROP (B) et de L-lactide (C).

En ce qui concerne l'indice de cristallinité du chitosane caractérisé par les spectres IR-TF, il diminue nettement avec le greffage du PLA. Les valeurs de l'indice de cristallinité sont de 0,59; 0,14 et 0,21 pour le chitosane; le chit-g-PLA (GD) et le chit-g-PLA (ROP), respectivement (Tableau 11).

4. Propriétés thermiques

Les propriétés thermiques des deux copolymères de chitosane-g-PLA sont différentes de celles du chitosane pur (Figures 27 et 28). La Figure 27 présente les thermogrammes DSC des copolymères greffés du chitosane et du chitosan pur obtenus lors du premier chauffage. Les deux copolymères greffés du chitosane ne montrent pas de pic endothermique, tandis que le chitosane pur a un grand pic endothermique à environ 91°C dû à l'évaporation de l'eau présente dans la matrice du chitosane. Ce résultat pourrait indiquer que le greffage diminue le nombre de groupements NH_2 et OH libres qui sont responsables de l'hygroscopicité du chitosane.

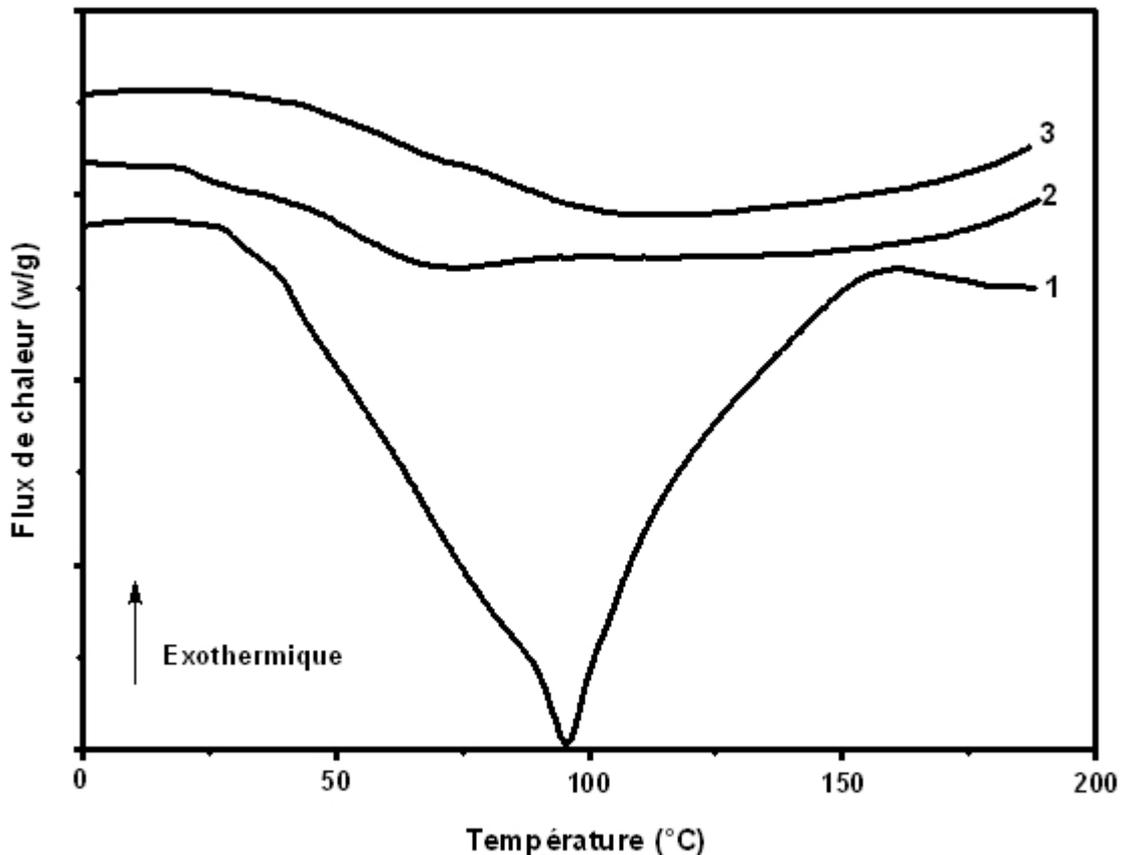
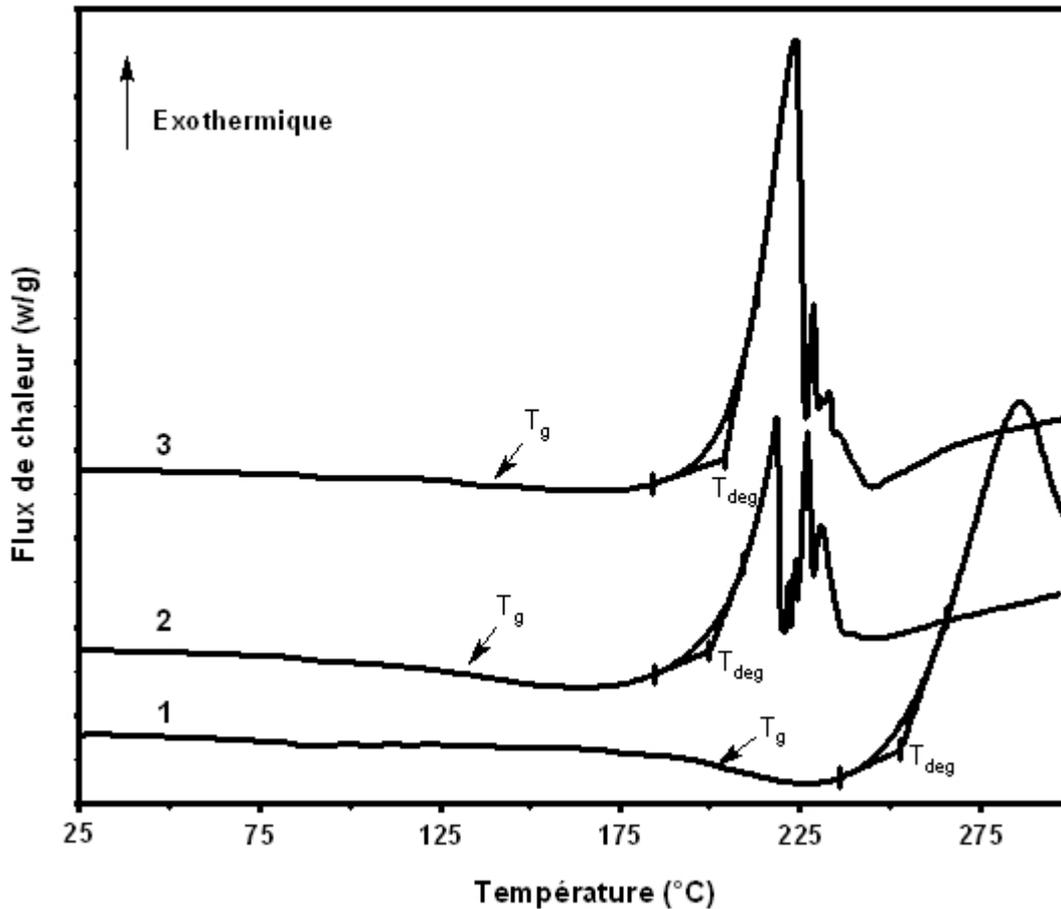


Figure 27. Thermogrammes DSC obtenus au premier balayage du chitosane pur (1), du copolymère chit-g-PLA par greffage direct (2) et du copolymère chit-g-PLA par ROP (3).

Tableau 11. Propriétés thermiques et indice de cristallinité du chitosane et des deux copolymères chit-g-PLA obtenus par greffage direct et par ROP.

Caractéristiques	Chitosane pur	Chit-g-PLA par GD	Chit-g-PLA par ROP
<u>Propriétés thermiques:</u>			
- Pic endothermique	91 °C	-	-
- T transition vitreuse (T_g)	202 °C	144 °C	149 °C
- T dégradation thermique	253 °C	204 °C	201 °C
<u>Indice de cristallinité (IR-TF)</u>	0,59	0,14	0,21

**Figure 28.** Thermogrammes DSC obtenus au deuxième balayage du chitosane pur (1), du copolymère chit-g-PLA par greffage direct (2) et du copolymère chit-g-PLA par ROP (3).

Lors du deuxième balayage en DSC (Figure 28), la dégradation thermique du chitosane pur se produit à une température supérieure à celle du chitosane greffé. Il serait

possible que la dégradation thermique des greffons se produise avant la dégradation thermique de la chaîne principale de chitosane. Ce résultat est en accord avec Ding *et al* (2003) qui notent que le taux de dégradation thermique du copolymère greffé de chitosane est beaucoup plus grand que celui de chitosane pur. Les températures de dégradation thermique du chitosane et du chitosane greffé (Tableau 11) suivent l'ordre:

T_{deg} du chitosane > T_{deg} de chit-g-PLA par greffage direct > T_{deg} de chit-g-PLA par ROP.

Dans la Figure 28, la T_g du chitosane se trouve à environ 202°C tandis que celles des deux copolymères se trouvent respectivement à 144 et 149 °C pour le greffage direct et pour la greffe par ROP. La diminution de T_g du chitosane greffé serait due à la suppression de certains ponts hydrogène entre les chaînes du chitosane. Autrement dit, le greffage du PLA sur le chitosane augmente la flexibilité des chaînes de chitosane.

5. Conclusion

Le greffage du PLA sur le chitosane a été préparé avec succès par deux méthodes différentes: le greffage direct et la méthode ROP. Aux conditions utilisées dans cette étude, l'efficacité de greffage des deux méthodes était similaire (Tableau 10). Le greffage du PLA sur la chaîne de chitosane a été confirmé par l'analyse IR-TF. Les propriétés thermiques ont montré que la copolymérisation du PLA sur la chaîne de chitosane par le greffage direct est plus thermostable que celui préparé par le ROP. Du point de vue économique, le greffage direct est plus approprié pour être appliqué à l'échelle industrielle car le D, L-acide lactique est beaucoup moins cher que le L-lactide. Notre méthode de greffage est plus efficace que celle utilisée par Qu *et al* (1999). Elle est mise en évidence par l'apparition du pic ester dans les spectres IR, qui est absent dans leur étude. De plus, le test de solubilité a prouvé que le chitosane greffé n'est pas soluble dans les solvants organiques du PLA ou l'acide dilué qui est un bon solvant du chitosane pur. Par conséquent, le chitosane greffé de PLA ne sera pas utilisé pour l'étude ultérieure de la compatibilisation du mélange chitosane/PLA à cause de cette insolubilité.

Chapitre III-4

RESULTATS ET DISCUSSION

Compatibilisation des mélanges chitosane/PLA en utilisant le 4,4'-méthylènebis(phénylisocyanate) (MDI)

1. Introduction

Les résultats antérieurs (chapitre III-1b) ont montré les limites des associations entre le chitosane et le PLA sans l'utilisation d'un agent de compatibilisation. La présence de groupements réactifs sur les chaînes macromoléculaires de chaque constituant dans un mélange de polymères peut être exploitée pour la compatibilisation. Cependant, la réaction chimique intermoléculaire ne peut avoir lieu souvent qu'en présence d'un réactif ajouté pendant le processus de mélange. Dans notre cas, le chitosane possède de nombreux groupements -OH et -NH₂ alors que le PLA possède des groupements -OH et -COOH. La démarche proposée consiste donc à compatibiliser les mélanges chitosane-PLA par réaction entre ces groupements réactifs.

La compatibilisation entre deux polymères incompatibles peut se faire en faisant des réactions entre leurs groupements fonctionnels afin d'obtenir la formation *in-situ* d'un compatibilisant. Selon Paul (1991), le compatibilisant est un agent d'interface qui (1) peut réduire l'énergie d'interface entre les deux phases, (2) permet de réduire la taille des particules pendant le mélange, (3) donne une stabilité de mélange et (4) augmente l'adhésion interfaciale.

Dans la littérature, des travaux de compatibilisation ont été réalisés sur des systèmes amidon/PLA en utilisant le 4,4'-méthylènebis(phénylisocyanate) (MDI) pour produire une compatibilisation *in-situ* (Wang *et al.*, 2001 et 2002a; Jun, 2000). La compatibilisation par addition de diisocyanate repose sur les réactions d'addition entre la fonction isocyanate et la fonction hydroxyle du PLA qui donne une fonction uréthane: R-NH-CO-O-R' (Hiltunen *et al.*, 1997). Les réactions chimiques possibles entre le PLA et le diisocyanate sont résumées sur la Figure 29-A (Wang *et al.*, 2002b). Le chitosane peut également réagir avec les groupements diisocyanates grâce à la présence de nombreux groupements hydroxyles et amines, les réactions sont présentées dans la Figure 29-B. Il serait donc possible que pour des mélanges PLA/chitosane, le diisocyanate agisse comme un agent de couplage pour lier de façon covalente le PLA au chitosane, permettant d'améliorer les interactions entre les deux polymères et de réduire la taille des particules de PLA pendant le mélange.

Par ailleurs, Wang et al. (2001) ont rapporté que l'utilisation de MDI en faible concentration (0,5%, w/w) dans les mélanges PLA/amidon natif peut améliorer la résistance à la traction et l'allongement à la rupture du mélange compatibilisé comparé aux mélanges non compatibilisés. Par contre, l'utilisation de concentrations plus élevées du MDI (1 et 2 %) n'apporte pas plus d'amélioration de ces deux propriétés mécaniques.

Cette étude a pour but de tester la compatibilisation des mélanges chitosane/PLA par addition de diisocyanate et d'étudier l'effet de différentes concentrations du MDI (0,5 et 2,5 % de la masse totale du mélange, w/w). Dans le chapitre III-3, nous avons réussi à synthétiser les copolymères chitosane-greffé-PLA comportant une partie hydrophile (chitosane) et une partie hydrophobe (PLA), donc ils sont théoriquement capables de compatibiliser des mélanges chitosane/PLA. Malheureusement, nous ne pouvons pas les utiliser dans cette étude puisqu'ils sont insolubles.

Pour évaluer l'efficacité du MDI comme agent de compatibilisation des mélanges chitosane/PLA, les spectres IR-TF, les propriétés thermiques et la micrographie par MEB ont été examinés. Ensuite, les propriétés mécaniques ont été caractérisées (module d'Young (E), contrainte à la rupture (σ_r) et allongement à la rupture (ϵ_r)).

2. Analyse par spectroscopie Infra Rouge à Transformée de Fourier

Les mélanges chitosane/PLA compatibilisés par addition de MDI ont été caractérisés par la spectroscopie infrarouge qui permet de détecter la présence de liaisons hydrogène et les autres interactions, en comparant les spectres des mélanges et ceux du chitosane et du PLA. La Figure 30 présente les spectres IR de chitosane (spectre A), de PLA (spectre E), du mélange chit/PLA : 90/10 non compatibilisé (spectre B) et compatibilisé avec MDI 0,5 et 2,5 % (spectre C et D, respectivement). De la même façon, la Figure 31 présente les films composites contenant 20 % de PLA.

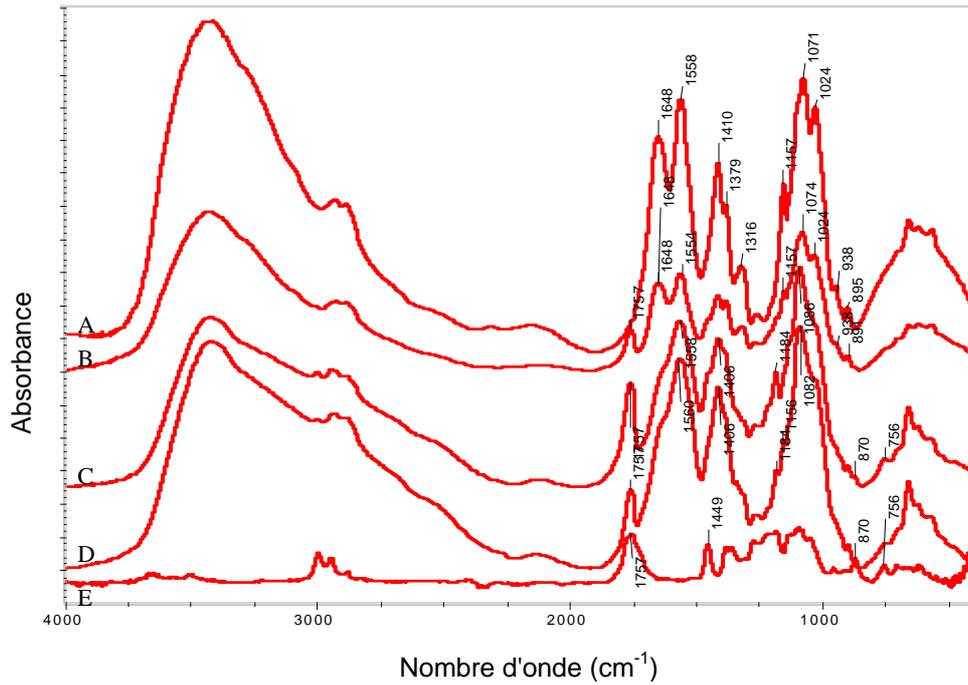


Figure 30. Spectres IR-TF des films de Chitosan pur (A); de mélange chit/PLA: 90/10 (B), 90/10 + 0,5% MDI (C), 90/10 + 2,5% MDI (D) et de PLA pur (E).

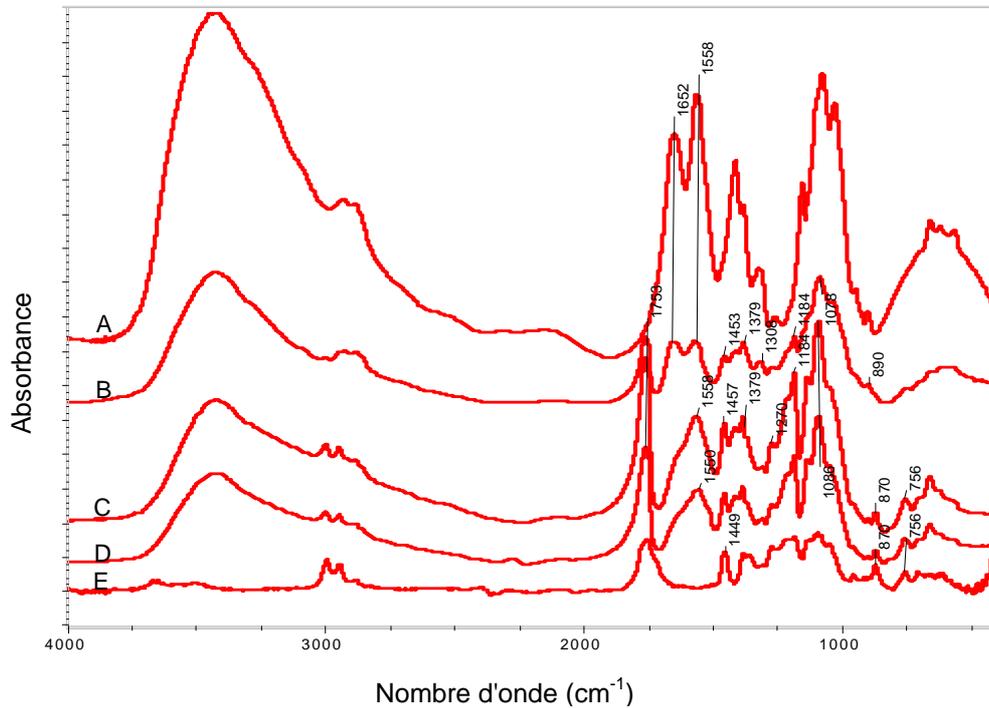


Figure 31. Spectres IR-TF des films de Chitosan pur (A); de mélange chit/PLA: 80/20 (B), 80/20 + 0,5% MDI (C), 80/20 + 2,5% MDI (D) et de PLA pur (E).

Les Figures 30 et 31 montrent les pics d'absorption caractéristiques du chitosane pur et du PLA pur, sur les spectres des mélanges chitosane/PLA sans MDI. Les bandes de vibration de valence $\nu_{C=O}$ du groupe $-NH-CO-CH_3$ et de déformation δ_{NH} caractéristique des groupements $-NH-CO-CH_3$ et $-NH_2$, sont bien visibles respectivement à 1652 et 1558 cm^{-1} (Figures 30B et 31B). Dans les spectres des mélanges chitosane/PLA avec 0,5 et 2,5 % MDI (Figure 30 C,D et 31 C,D), l'absence du pic $\nu_{N=C=O}$ à 2266 cm^{-1} confirme la réaction totale des groupements $-NCO$ avec les groupements $-OH$ (PLA et chitosane) et $-NH_2$ (chitosane). De plus l'augmentation du pic à 1558 cm^{-1} provient de la formation des liaisons $-NH$ dans les groupements urée et uréthane. Parallèlement les intensités des pics à 1757 cm^{-1} ($\nu_{C=O}$ des esters et uréthanes) et à 1652 cm^{-1} ($\nu_{C=O}$ urée) ont augmenté dû également à la formation des groupements uréthane et urée. De plus, l'addition de MDI provoque l'apparition plus nette des bandes caractéristiques de la phase cristalline (756 cm^{-1}) et de la phase amorphe (870 cm^{-1}) du PLA, même si la quantité de PLA dans le mélange est faible (10 %). L'ensemble de ces résultats confirme l'interaction spécifique du PLA au chitosane plus importante par l'addition de MDI.

L'indice de cristallinité (IC) des films chitosane/PLA a été calculé suivant la méthode de Cohn et Younes (1988) pour le PLA et la méthode de Focher *et al.* (1990) pour le chitosane. Le Tableau 12 résume le calcul de l'indice de cristallinité des films chitosane/PLA. On peut observer ici que l'incorporation du PLA (sans utiliser un agent de compatibilisation) diminue la cristallinité du chitosane. Par contre, l'addition de MDI augmente la cristallinité du chitosane dans les mélanges chitosane/PLA. En ce qui concerne le PLA, l'indice de cristallinité des mélanges compatibilisés est supérieur à celui du PLA pur. On note également une augmentation de la cristallinité du PLA dans les mélanges compatibilisés par rapport aux mélanges sans MDI.

Dans les mélanges avec MDI, la formation des liaisons uréthane et urée entre MDI, le PLA et le chitosane augmente l'adhésion interfaciale et favorise la cristallisation. Ces résultats sont en accord avec ceux de Wang *et al.*, (2002b) qui a étudié les mélanges PLA/amidon compatibilisés avec MDI.

Tableau 12. Indice de cristallinité calculé à partir des spectres IR-TF

Composition du mélange Chit/PLA (w/w)	IC chitosane (A1379/A2900)	IC PLA (A756/A870)
<u>100/0 (Chitosane pur)</u>	0,75	-
90/10	0,70	-
90/10 + MDI 0,5 %	0,83	1,03
90/10 + MDI 2,5 %	0,79	1,10
80/20	0,73	0,71
80/20 + MDI 0,5 %	0,90	1,20
80/20 + MDI 2,5 %	1,05	1,30
<u>0/100 (PLA pur)</u>	-	0,79

3. Observation par microscopie électronique à balayage (MEB)

La Figure 32 présente les micrographies MEB de la surface des films du mélange chitosane/PLA 80/20 (w/w) sans MDI (**A**), avec 0,5% MDI (**B**) et avec 2,5 % MDI (**C**). Les différentes tailles des particules PLA dispersées dans la matrice chitosane peuvent être observées clairement. Dans le mélange sans MDI, la taille des particules PLA est très variable et globalement beaucoup plus grande que dans le mélange avec 0,5 % MDI. Dans le mélange avec 2,5 % MDI, les particules de PLA sont presque invisibles même avec un plus grand grossissement car leurs tailles sont très petites. Ces résultats montrent que l'addition de MDI diminue la taille des particules de PLA en mélange avec le chitosane et sont en accord avec la théorie de compatibilisation postulée par Paul (1991). L'observation par MEB montre que l'emploi de 2,5% de MDI donne une meilleure compatibilisation que celui de 0,5 %.

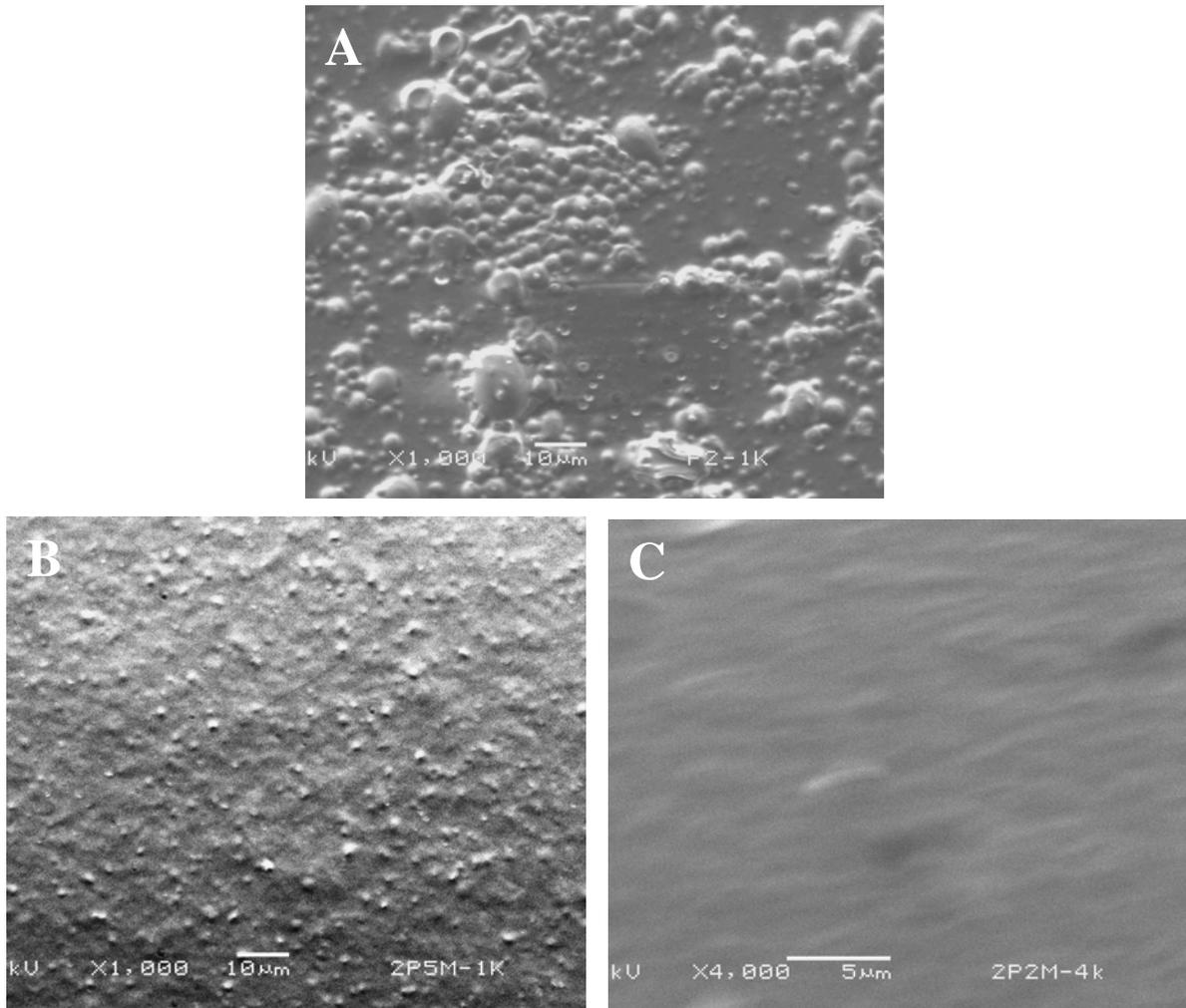


Figure 32. Micrographies MEB sur la surface (face évaporation) des films contenant 20% de PLA: (A) sans MDI, (B) avec 0,5% MDI et (C) avec 2,5% MDI.

Les résultats par spectroscopie IR-TF et par MEB indiquent que l'adhésion interfaciale entre le PLA et le chitosane est améliorée grâce à l'addition du MDI. De plus, on peut noter que la compatibilisation avec 2,5 % (w/w) MDI est meilleure qu'avec 0,5 % (w/w) MDI. En fait, tout le MDI introduit dans le mélange chitosane/PLA ne peut contribuer à la compatibilisation car une partie réagit, dans une réaction parasite avec l'eau. D'après Wang *et al.* (2002b), le MDI peut réagir avec l'eau présente dans le matériau (dans notre cas c'est la solution aqueuse du chitosane) selon le mécanisme présenté dans la Figure 33. Par conséquent, l'utilisation du MDI à faible concentration (0,5 %) est peut-être insuffisante parce qu'une partie du MDI a été consommée par l'eau. Pour cette raison, comme présenté dans la Figure 3 (Chapitre II), nous avons effectué, tout d'abord la réaction

entre le MDI et le PLA, puis ce mélange est ajouté dans la solution du chitosane. De cette manière, l'extension de la réaction entre MDI et l'eau pourrait être limitée.

Du point de vue d'application des films obtenus dans le secteur alimentaire, la réaction parasite du MDI avec l'eau présente un avantage. En effet, grâce à cette réaction, il n'y aura plus de groupements isocyanates libres dans les films obtenus. Les Figures 30 et 31 confirment que, dans les produits finaux, il n'y a pas de bande caractéristique du groupement isocyanate ($\text{N}=\text{C}=\text{O}$) qui se trouve normalement à 2270 cm^{-1} .

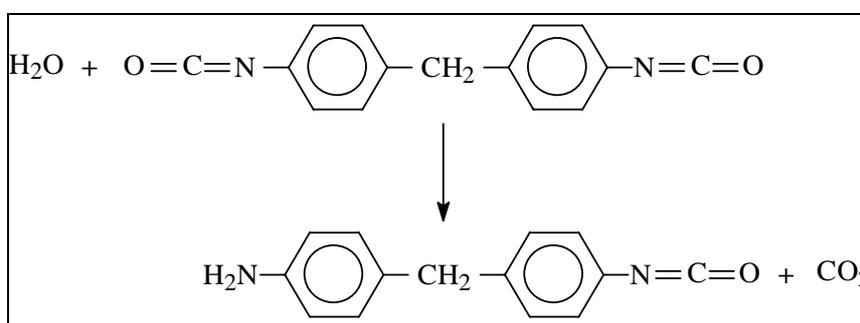


Figure 33. Réaction parasite entre le MDI et l'eau (D'après Wang *et al.*, 2002b)

4. Propriétés thermiques par analyse enthalpique différentielle (DSC)

La Figure 34 présente les thermogrammes DSC obtenus au premier balayage. Le PLA pur montre une T_g à $58\text{ }^\circ\text{C}$. Les mélanges chitosane/PLA sans MDI et avec MDI montrent aussi la T_g du PLA avec une valeur légèrement plus haute que celle du PLA pur (Tableau 13). Le PLA pur montre un pic de fusion à $154\text{ }^\circ\text{C}$, avec une enthalpie de fusion de $15,3\text{ J/g}$ (% cristallinité = $16,5\%$). Le chitosane pur et les mélanges montrent un grand pic endothermique dû à l'évaporation d'eau, encore présente dans le matériau. La température des pics endothermiques des mélanges chitosane/PLA sans MDI se trouve plus basse que celle du chitosane pur, alors que celle des mélanges chitosane/PLA avec MDI est proche de celle du chitosane pur. L'enthalpie d'évaporation est présentée dans le Tableau 13 et elle correspond à la teneur en eau présente dans le matériau (Rueda et al, 1999). Les valeurs de $\Delta H_{\text{évaporation}}$ montrent clairement que l'incorporation de PLA, notamment

pour les mélanges avec MDI, diminue la capacité du chitosane d'absorber de l'eau parce qu'une partie de ses groupements -OH et -NH₂ a déjà réagi avec les groupements isocyanate du MDI et/ou est liée par ponts hydrogène avec les groupements -OH du PLA. Ce résultat confirme ainsi que la compatibilisation in-situ entre le chitosane et le PLA, en utilisant MDI, s'est effectivement produite.

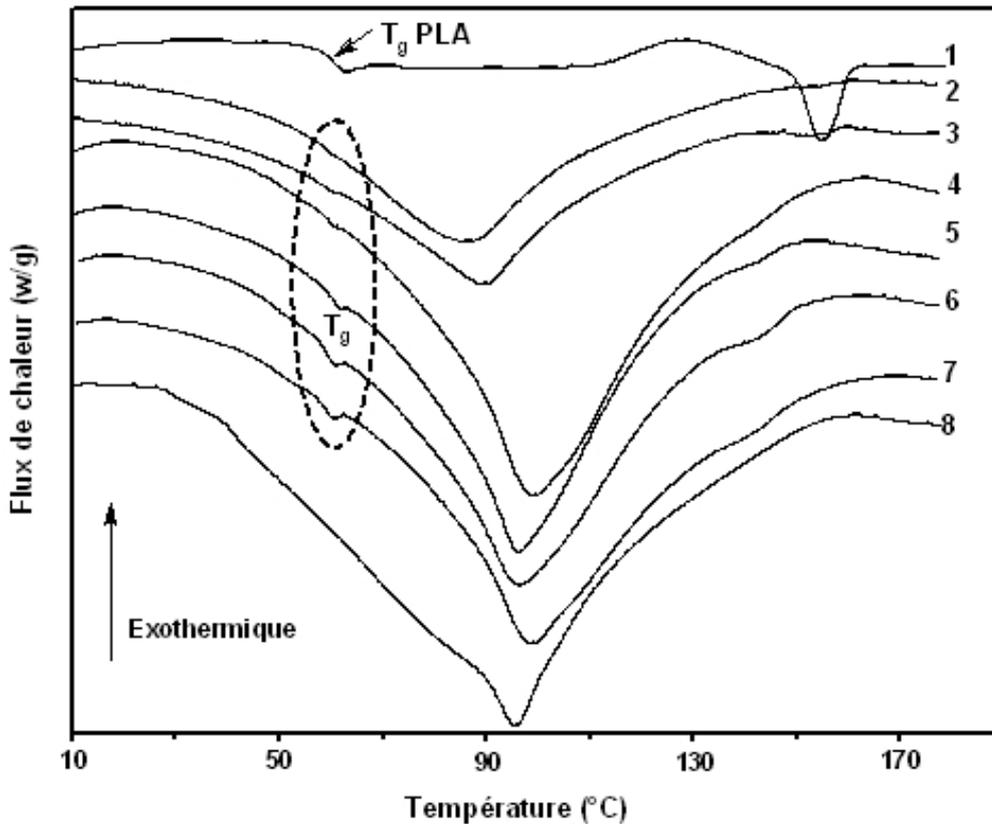


Figure 34. Thermogrammes DSC obtenus au premier balayage pour les mélanges chit/PLA: (1)0/100 ou PLA pur, (2)90/10, (3)80/20, (4)90/10 + 0,5% MDI, (5)90/10 + 2,5% MDI, (6)80/20 + 0,5% MDI, (7)80/20 + 2,5% MDI, (8)100/0 ou chitosane pur.

Tableau 13. Propriétés thermiques du mélange chitosane/PLA sans et avec MDI.

Chit/PLA (w/w)	Pic endo (°C)	ΔH évaporation (J/g)	T_g exp. (°C)	T_g théorique (°C) *	$T_{dég}$ (°C)
<u>100/0 (Chit pur)</u>	96	422,0	206	-	286
90/10	87	419,2	59; 197	185	260
90/10 + 0,5% MDI	96	381,4	59; 195	185	271; 293
90/10 + 2,5% MDI	96	341,5	59; 193	185	281; 295
80/20	90	387,5	59; 193	167	260
80/20 + 0,5% MDI	96	368,4	59; 182	167	267; 295
80/20 + 2,5% MDI	99	361,2	59; 182	167	271; 298
<u>0/100 (PLA pur)</u>	154	-	58	-	-

* Obtenu par l'équation de Fox, introduite par Gordon *et al* (1977):

$$1/T_g = w_A/T_{gA} + w_B/T_{gB}, \text{ où } w_i \text{ est la fraction massique de phase } i \text{ et } T_g \text{ en K}$$

La Figure 35 montre les thermogrammes DSC obtenus au deuxième balayage. Les mélanges chitosane/PLA (90/10 et 80/20) sans MDI montrent un petit pic endothermique à 154 °C attribué au PLA alors que dans les mélanges avec MDI ce pic n'est pas visible sauf pour le mélange chitosane/PLA 90/10 avec 0,5 % MDI indiquant une séparation de phase entre le PLA et le chitosane dans ce mélange.

La courbe n° 8 de la Figure 35 montre que le chitosane pur a une seule T_g qui se trouve à 206 °C, alors que celle du PLA se trouve à 58 °C (n° 1). Quant aux mélanges chitosane/PLA, ils ont deux T_g attribués aux deux polymères parents. La T_g du PLA dans les films composites se trouve à 59 °C, très proche de celle du PLA pur, et ne change pas quelle que soit la composition du mélange et avec l'emploi du MDI. En revanche, la T_g du chitosane dans les mélanges dépend de la quantité de PLA, cela veut dire qu'il y a une miscibilité partielle entre le PLA et le chitosane. De plus, si on applique l'équation de Fox pour les mélanges de polymères miscibles, la T_g des mélanges chitosane/PLA 90/10 et 80/20 doit se situer respectivement à 185 et 167 °C. Tableau 13 montre que la T_g du chitosane dans les mélanges compatibilisés avec MDI se rapproche de la valeur théorique du mélange miscible. Ces résultats confirment que l'addition de MDI augmente la compatibilité entre le PLA et le chitosane et sont en accord avec les observations par spectroscopie IR et MEB.

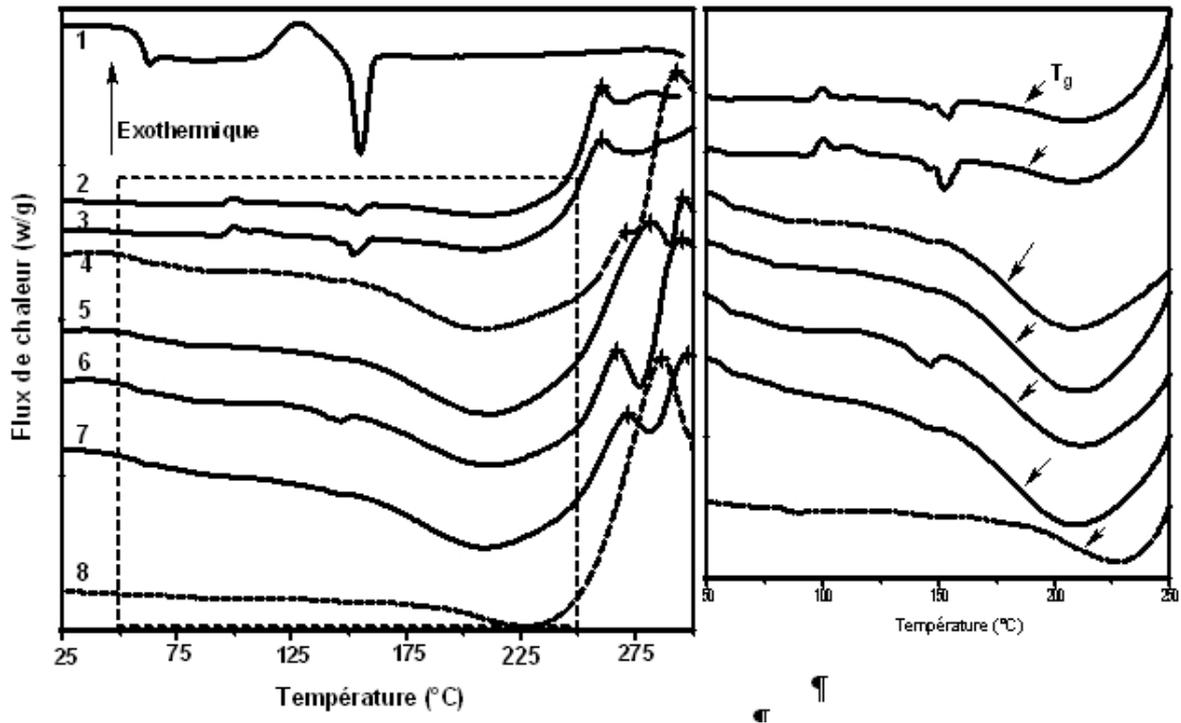


Figure 35. Thermogrammes DSC obtenus au deuxième balayage pour les mélanges chit/PLA: (1)0/100 ou PLA pur, (2)90/10, (3)80/20, (4)90/10 + 0,5% MDI, (5)90/10 + 2,5% MDI, (6)80/20 + 0,5% MDI, (7)80/20 + 2,5% MDI, (8)100/0 ou chitosane pur.

La Figure 35 montre également les pics de dégradation thermique des films obtenus sauf celui du PLA. Le PLA montre une meilleure stabilité thermique que le chitosane. Le film de chitosane pur montre un pic dégradation thermique à 286 °C. Ce résultat est en accord avec Cheung *et al* (2002) et Sakurai *et al* (2000). Le mélange avec le PLA sans MDI diminue la résistance à la dégradation thermique du chitosane, indiqué par une baisse du pic de dégradation thermique à 260 °C. L'addition de MDI provoque une augmentation de la température de dégradation thermique. De plus, pour les mélanges chitosane/PLA avec MDI, on observe deux pic de dégradation thermique. On suppose que le premier pic est attribué à la dégradation de liaisons uréthane et/ou urée et le deuxième pic est attribué à la dégradation de la chaîne principale du chitosane.

5. Propriétés mécaniques

La Figure 36-A montre le pourcentage d'élongation à la rupture des films obtenus. L'addition de MDI induit un effet positif sur l'élasticité du mélange. En effet, l'allongement à la rupture des films compatibilisés avec 2,5 %MDI est plus grand que celui des films sans MDI. Les contraintes à la rupture des mélanges chitosane/PLA avec MDI (Figure 36-B) sont également plus grandes que celles des mélanges sans MDI, quelque soit la quantité du PLA.

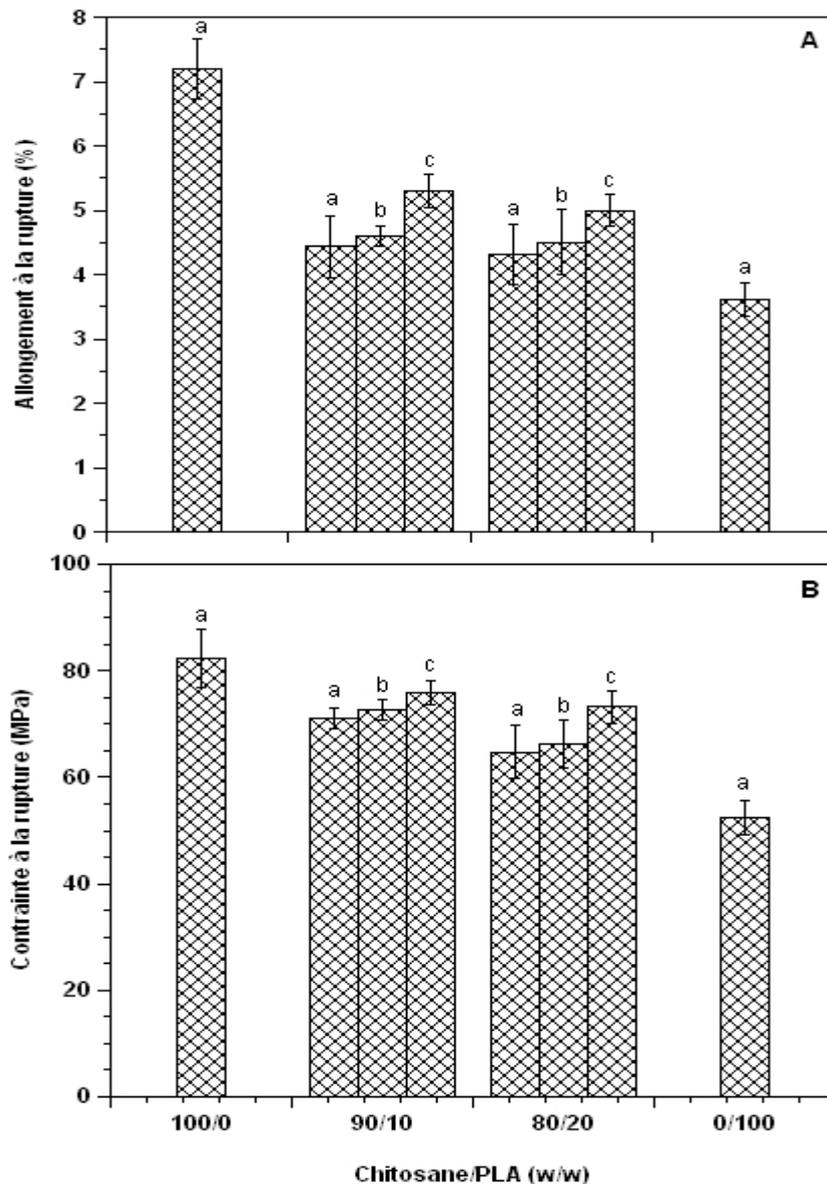


Figure 36. Comparaison de l'allongement (A) et de la contrainte à la rupture (B) des mélanges chitosane/PLA sans MDI (a) et des compatibilisés avec 0,5% (b) et 2,5% (c) de MDI.

La Figure 37 présente la comparaison des modules d'Young expérimentaux et calculés avec les modèles parallèle, série et Davies en fonction de la fraction volumique du PLA. Sur cette figure, nous pouvons noter que les mélanges chitosane/PLA compatibilisés avec MDI possèdent un module d'Young plus haut que ceux des mélanges non compatibilisés. Par contre, l'effet significatif est seulement bien observé pour le mélange chit/PLA 80/20 avec 2,5% de MDI. Pour le mélange chit/PLA 90/10, nous n'observons pas d'effet significatif dû probablement à la faible quantité de PLA. De plus, nous pouvons remarquer que les valeurs des modules d'Young des mélanges avec 2,5% MDI se trouvent plus proches de la limite basse (modèle série), indiquant que le PLA et le chitosane sont plus compatibles grâce aux réactions avec MDI. Ces résultats montrent encore que la compatibilisation du mélange chitosane/PLA est efficace avec 2,5% (w/w) de MDI.

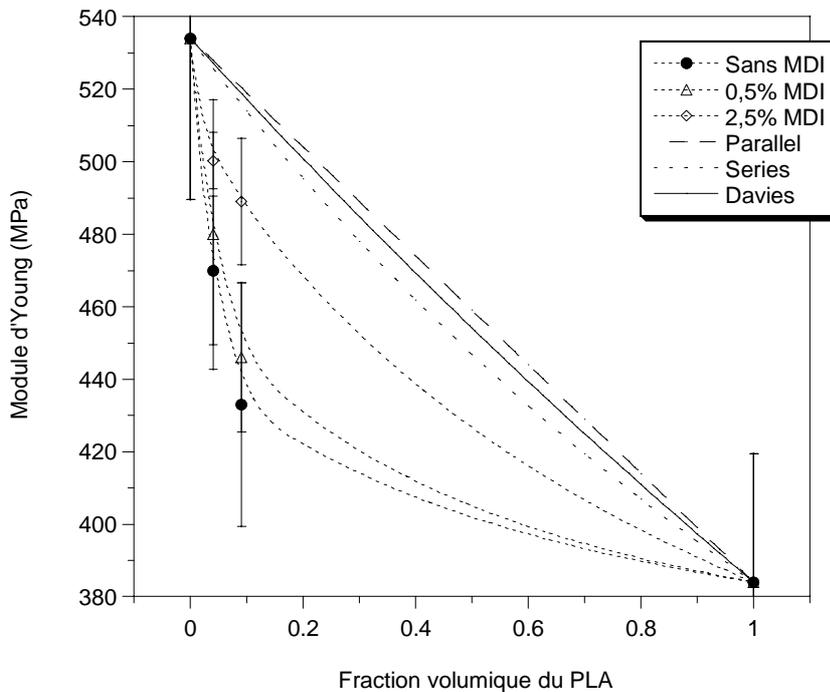


Figure 37. Modules d'élasticité des mélanges chitosane/PLA sans MDI (●) et compatibilisés avec 0,5% (▲) et 2,5% (◇) de MDI comparés avec des modules théoriques pour le mélange compatible.

6. Conclusion

L'analyse par spectroscopie IR-TF montre la présence d'interaction spécifique entre le chitosane et le PLA dans les mélanges chitosane/PLA compatibilisés avec le MDI. De plus, la morphologie des films, observée par la microscopie MEB, montre que les mélanges chitosane/PLA avec MDI sont plus homogènes et les particules du PLA incorporées dans la matrice du chitosane sont plus fines. Enfin, l'analyse par DSC montrent également que le MDI peut être utilisé comme agent compatibilisant du mélange chitosane/PLA, indiqué par l'abaissement de la T_g du chitosane se rapprochant à la valeur théorique d'un mélange miscible.

D'ailleurs, cette étude montre que l'addition de 2,5% MDI est plus efficace pour compatibiliser les mélanges chitosane/PLA que 0,5 % MDI. Il paraît que l'utilisation de 0,5 % MDI n'est pas suffisante pour assurer la compatibilisation car une partie du MDI peut être consommée par l'eau. L'addition de MDI augmente la performance des propriétés mécaniques des mélanges. Donc, avec cette compatibilisation, on pourrait avoir des mélanges chitosane/PLA qui possèdent une bonne résistance à l'eau sans perdre trop leurs propriétés mécaniques.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Conclusion générale

Ce travail de thèse s'est attaché à valoriser le chitosane en tant que l'emballage biodégradable. Ce matériau est bien connu pour ses propriétés antimicrobiennes mais il présente l'inconvénient d'être sensible à l'humidité et cassant limitant ses applications dans le domaine de l'emballage. L'objectif principal de notre étude est donc d'améliorer la résistance à l'eau et l'élasticité de chitosane.

Dans la première partie de ce travail, les mélanges chitosane/PLA ont été effectués pour fabriquer des films composites dans lesquels les particules PLA sont bien incorporées et réparties dans la matrice du chitosane. Nous nous sommes particulièrement intéressés aux mélanges chitosane /PLA car le PLA, par rapport à d'autres polyesters biodégradables (PCL, PHB, PHA,...), présente les avantages suivants: il est disponible commercialement en grande quantité et il est issu de ressources renouvelables. Les mélanges chitosane/PLA ont pour but d'améliorer les propriétés barrière à la vapeur d'eau du film de chitosane. L'efficacité du PLA incorporé pour diminuer la sensibilité à l'eau et améliorer la barrière à la vapeur d'eau du chitosane a été confirmée. Par contre, l'incorporation de PLA n'a pas pu améliorer les propriétés mécaniques du chitosane. Elle diminue les propriétés mécaniques du chitosane, notamment la contrainte à la rupture et l'allongement à la rupture, car le PLA est aussi cassant. L'analyse par spectroscopie IR-TF montre que la miscibilité entre le chitosane et le PLA est très faible. On n'a pas pu détecter les liaisons hydrogène entre deux polymères sur leurs spectres IR-TF. Les propriétés thermiques et mécaniques du mélange chitosane/PLA ont également montré que le chitosane et le PLA ne sont que partiellement compatibles. Certes, nous avons pu réaliser les mélanges chitosane/PLA sans additif, jusqu'à 30% (w/w) de PLA, grâce à la capacité d'émulsifiant intrinsèque du chitosane.

La deuxième partie de ce travail consiste à plastifier le chitosane avec 4 plastifiants hydrophiles: GLY, PEG, EG et PG. Les quatre plastifiants peuvent améliorer la ductilité du chitosane quelque soit la quantité de plastifiant sauf pour PG. Un phénomène d'anti-plastification a été montré clairement pour la plastification avec PG en basse concentration (5 %, w/w). De plus, cette étude montre que GLY et PEG sont des plastifiants plus

efficaces que PG et EG pour le chitosane. Ces deux plastifiants ont montré une meilleure stabilité pendant le stockage et une meilleure efficacité pour augmenter l'élasticité du chitosane que EG et PG. Par ailleurs, notre étude a démontré que la masse molaire, le point d'ébullition et la volatilité des plastifiants doivent être prise en considération parce qu'elles influencent la stabilité des propriétés des films.

Dans la troisième partie, les greffages du PLA sur la chaîne du chitosane ont été effectués en modifiant la méthode de Qu *et al.* (1999) et Kim *et al* (2002). Le greffage chitosane-g-PLA a été mis en évidence par l'analyse spectroscopie IR-TF et l'analyse DSC. Les chitosane-g-PLA obtenus ne sont pas solubles dans l'eau et des solvant organiques provoquant une difficulté pour son utilisation.

Enfin, dans la dernière partie, nous avons compatibilisé les mélanges chitosane/PLA par addition de 4,4'- méthylènebis(phénylisocyanate) (MDI). L'interaction spécifique entre le chitosane et le PLA pourrait se produire par une compatibilisation *in-situ* (liaison uréthane et urée) grâce à la réaction des groupements –NCO avec les groupements –OH (PLA et chitosane) et –NH₂ (chitosane). Pour la plupart des études de compatibilisation, l'extrusion réactive est utilisée pour compatibiliser deux matériaux non miscibles. Notre étude montre clairement que la compatibilisation peut être aussi bien effectuée par "casting" que par extrusion réactive.

Perspectives

Les travaux de cette étude sont loins d'être terminés et plusieurs aspects doivent être approfondis. Les résultats de cette étude encouragent à réaliser une étude simultanée de la plastification et de la compatibilisation pour les mélanges chitosane/PLA. Nous avons entrepris cette étude actuellement, en ajoutant 20 % (w/w) de GLY et PEG comme le plastifiant et 2,5 % (w/w) de MDI dans les mélanges chit/PLA: 90/10 et 80/20. Malheureusement, les films obtenus sont opaques, fragiles et non acceptables. La quantité de MDI peut être insuffisante car il y a de nombreux groupements -OH supplémentaires, provenant de GLY et PEG. L'utilisation d'une plus haute quantité en MDI (par exemple 5 ou 10 %, w/w), pourrait être envisagée pour résoudre la réaction parasites de GLY et PEG.

La plastification et la compatibilisation pourraient être réalisés en extrudeuse, ce qui permet d'éviter l'utilisation des solvants. Par ailleurs, l'utilisation du chitosane-g-PLA pour compatibiliser le mélange chitosane/PLA est aussi possible par extrusion.

En ce qui concerne l'activité antimicrobienne des films des mélanges chitosane/PLA, théoriquement, elle pourrait diminuer ou neutraliser par l'incorporation du PLA, notamment pour les mélanges avec le MDI, car une partie des groupements fonctionnels $-NH_2$ a déjà réagi avec les groupements $-NCO$ du MDI et/ou les groupements $-COOH$ du PLA. Pour palier ce problème, il serait intéressant d'ajouter une huile essentielle dans les mélanges chitosane/PLA (Pranoto *et al*, 2005 et Zivanovic *et al*, 2005). Celle-ci possède deux avantages: d'une part elle augmente l'activité antimicrobienne et d'autre part elle améliore la propriété barrière à la vapeur d'eau du matériau final.

D'après l'analyse par spectroscopie IR-TF, il n'y a plus de groupements isocyanates libres dans les films chitosane/PLA compatibilisés avec le MDI. Cependant, une étude d'écotoxicité pourrait être réalisée sur ces films afin de mettre en évidence la sécurité pour l'emballage agro-alimentaire et pour l'environnement.

Références Bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alexeev, V.L.; Kelberg, E.A.; Evmenenko, G.A. 2000. Improvement of mechanical properties of chitosan films by the addition of poly(ethylene oxide). *Polym. Engineer. Sci.* **40**, 1211-1215.
- Amass, A.J, K.L. N'Goala, B.J. Tighe and F. Schué. 1999. Polylactic acids produced from L-and DL-lactic acid anhydrosulfite: stereochemical aspects. *Polym.*, **40**, 5073-5078.
- Amiji, M.M. 1995. Permeability and blood compatibility properties of chitosan-poly(ethylene oxide) blend membranes for haemodialysis. *Biomat.*, **16**, 593-59
- Andrady, A.L., and P. Xu. 1997. Elastic behavior of chitosan films. *J. Polym. Sci.: Part B: Polym. Phys.*, **35**, 517-521.
- Anglès, M.N.; Dufrense, A. Plasticized starch/tunicin whiskers nanocomposites. 1. structural analysis. *Macromol.* **2000**, 33, 8344-8353.
- Appendini, P. and J. Hotchkiss. 1997 . Immobilization of lysozyme on food contact polymers as potential antimicrobial films. *Packag. Tech. Sci.*, **10**, 271-279
- Appendini, P., and J. Hotchkiss. 2002. Review of antimicrobial food packaging. *Innov. Food Sci. Emerg. Tech.*, **3**, 113-126.
- Arvanitoyannis, I., I. Kolokuris, A. Nakayama, N. Yamamoto and S. Aiba (1997) Physico-chemical studies of chitosan-poly(vinyl alcohol) blends plasticized with sorbitol and sucrose. *Carbohydr. Polym.*, **34**, 9-19.
- Arvanitoyannisa, I.S., A. Nakayamab, S. Aiba. 1998. Chitosan and gelatin based edible films: state diagrams, mechanical and permeation properties. *Carbohydr. Polym.* **37**, 371–382.
- Avérous, L. 2004. Biodegradable multiphase systems based on plasticized starch: a review. *J. Macromol. Sci.—Part C, Polym. Rev.*, **3**, 231-274.
- Averous, L., and C. Fringant. 2001. Association between plasticized starch and polyesters: processing and performances of injected biodegradable systems. *Polym. Eng. Sci.*, **41**, 727-734.
- Babiker, E. E. 2002. Effect of chitosan conjugation on the functional properties and bactericidal activity of gluten peptides. *Food Chem.*, **79**, 367-372.
- Bai, R.K., M.Y. Huang, and Y.Y. Jiang. 1988. Selective permeabilities of chitosane-acetic acid complex membrane for oxygen and carbon dioxide. *Polym. Bull.*, **20**, 83-88.
- Bangyekan, C., D. Aht-Ong and K. Srikulkit. 2006. Preparation and properties evaluation of chitosan-coated cassava starch films. *Carbohydr. Polym.*, **63**, 61–71.
- Baron, J., and S. Sumner. 1993 . Antimicrobial containing edible films as an inhibitory system to control microbial growth on meat products. *J. Food Protect.*, **56**, 916-.
- Bauer, C.D., Neuser, G.L. and Pinkalla, H.A. 1968. *U.S. patent 3,406,081*.

- Bégin, A and M. V. Calsteren. 1999. Antimicrobial films produced from chitosan. *Int. J. Biol. Macromol.*, **26**, 63-67.
- Belhaneche-Bensembra, N. and A. Bedda. 2001. Analyse de la relation structure-propriétés des mélanges PVC-PMMA. *Ann. Chim. Sci. Mater.*, **26**, 79-90.
- Brugnerotto, J., J. Lizardi, F.M. Goycoolea, W. Argüelles-Monal, J. Desbières and M. Rinaudo. 2001. An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. *Polym.*, **42**, 3569-3580.
- Butler, B.L., P.J. Vergano, R.F. Bunn, and J.L. Wiles. 1996. Mechanical and Barrier Properties of Edible Chitosan Films as Affected by Composition and Storage. *J. Food Sci.*, **61**, 953-955.
- Caner, C., P.J. Vergano and J.L. Wiles. 1998. Chitosan film mechanical and permeation properties as affected by acid, plasticizer, and storage. *J. Food Sci.*, **63**, 1049-1053.
- Cervera, M. F.; Heinämäki, J.; Räsänen, M.; Maunu, S.L.; Karjalainen, M.; Acosta, O.M.N.; Colarte, A.I.; Yliruusi, J. 2004a. Solid-state characterization of chitosans derived from lobster chitin. *Carbohydr. Polym.*, **58**, 401-408.
- Cervera, M. F.; Karjalainen, M.; Airaksinen, S.; Rantanen, J.; Krogars, K. ; Heinamaki, J. ; Colarte, A. I.; Yliruusi, J. 2004b. Physical stability and moisture sorption of aqueous chitosan-amylose starch films plasticized with polyols. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **58**, 69-76.
- Chang, D.S., H.R. Cho, H.Y. Goo, and W.K. Choe. 1989. A development of food preservation with the waste of crab processing. *Bull. Korean Fish Soc.*, **22**, 70-78.
- Chatelet, C., O.Damour, and A. Domard. 2001. Influence of the degree of acetylation on some Biological properties of chitosan Films. *Biomater.*, **22**, 261-268.
- Cheah, L.H., B. B. C. Page, R. Shepherd, 1997. Chitosan coating for inhibition of sclerotinia rot of carrots. *New Zealand J. Crop Horticul. Sci.*, **25**: 89-92
- Chen, C. X. Zhou, Y. Zhuang, L. Dong. 2005. Thermal Behavior and Intermolecular Interactions in Blends of Poly(3-hydroxybutyrate) and Maleated Poly(3-hydroxybutyrate) with Chitosan. *J. Polym. Sci.: Part B: Polym. Phys.*, **43**, 35-47.
- Chen, C.-S., W.-Y. Liao and G.-J. Tsai. 1998. Antimicrobial effects of N-Sulfonated and N-Sulfobenzoyl chitosan and application to oyster preservation. *J. Food Protect.*, **61**, 1124-1128.
- Chen, M.-C, G.H.-C. Yeh and B.-H. Chiang. 1996. Antimicrobial and physicochemical properties of methylcellulose and chitosan films containing a preservative. *J. Food Process. Preserv.* **20**, 379-390.
- Chen, R.H. and H. Hwa. 1996. Effects of molecular weight of chitosan with the same degree of deacetylation on the thermal, mechanical and permeability properties of the prepared membrane. *Carbohydr. Polym.*, **29**, 353-358.
- Chen, R.H., J. R. Chang, and J. S. Shyr. 1997. Effects of ultrasonic conditions and storage in acidic solutions on changes in molecular weight and polydispersity of treated chitosan. *Carbohydr. Res.*, **299**, 287-294
- Chen, X.-G., L. Zheng, Z. Wang, C.-Y. Lee, and H.-J. Park. 2002. Molecular affinity and permeability of different molecular weigh chitosan membranes. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 5915-5918.

- Cheung, M.K., K.P.Y. Wan, and P.H. Yu. 2002. Miscibility and morphology of chiral semicrystalline poly-(R)-(3-hydroxybutyrate)/chitosan and poly-(R)-(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)/chitosan blends studied with DSC, ¹H T1 and T1ρ CRAMPS. *J. Appl. Polym. Sci.*, **86**, 1253-1258.
- Chow K.S., and E. Khor. 2002. New fluorinated chitin derivatives: synthesis, characterization and cytotoxicity assessment. *Carbohydr. Polym.*, **47**, 357-363.
- Cira, L. A., S. Huerta, G.M. Hall and K. Shirai. 2002. Pilot scale lactic acid fermentation of shrimp wastes for chitin recovery. *Process Biochem.*, **37**, 1359-1366.
- Clarival, A.M., Monfort-Windels, F. 2003. Les polymères biodégradables. CRIF 79p.
- Cohn, D., and H. Younes. 1988. Biodegradable PEO/PLA block copolymers. *J. Biomedical Mat. Res.*, **22**, 993 - 1009.
- Cölfen, H., G. Berth, and H. Dautzenberg. 2001. Hydrodynamic studies on chitosans in aqueous solution. *Carbohydr. Polym.*, **45**, 373-383.
- Coma, V., A.Martial-Gros, S. Garreau, A. Copinet, F. Salin, and A. Deschamps. 2002. Edible antimicrobial films based on chitosan matrix. *J. Food Sci.*, **67**, 1162-1169.
- Coma, V., A. Deschamps, and A.Martial-Gros. 2003. Bioactive packaging materials from edible chitosan polymer — antimicrobial activity assessment on dairy-related contaminants. *J. Food Sci.*, **68**, 2788-2792.
- Conn, R.E., J.J. Kolstad, J.F. Borzelleca, D.S. Dixler, L.J. Filer, B.N. Ladu, and M.W. Pariza. 1995. Safety assessment of Polylactide (PLA) for use as a food-contact polymer. *Food Chem. Toxicol.*, **33** (4), 273-283.
- Cooksey, K. 2000. Antimicrobial food packaging materials. *Additives for Polymers*, August, 2001.
- Couchman P.R., Karasz F.E. 1978. A classical thermodynamic discussion of the effect of composition on glass-transition temperatures. *Macromol.*, **11**, 117-119.
- Cuero, R.G., Osuji, G and A. Whashington. 1991. N-Carboxymethyl-Chitosan inhibition of Aflatoxin production : role of zinc. *Biotech. Lett.* **13**, 441-444.
- Cuq, B., Aymard, C., Cuq, J.L., and Guilbert, S. 1995. Edible packaging films based on fish myofibrillar proteins: formulation and functional properties. *J. Food Sci.*, **60**, 1369-1374.
- Cuq, B., Gontard, N., Cuq, J.L., and Guilbert, S. 1996. Stability of myofibrillar protein-based biopackagings during storage. *Food Sci. Tech.*, **29**, 344-348.
- Daniels, C.A. 1989. *Polymers: Structure and Properties*; Technomic: Lancaster, Pennsylvania, p.21-27.
- Darmadji, P. and M. Izumimoto. 1994. Effect of chitosan in meat preservation. *Meat Sci.*, **38**, 243-254.
- Datta, R., S.-P. Tsai, P. Bonsignore, S.-H. Moon, and J.R. Frank. 1995. Technological and economic potential of poly(lactic acid) and lactic acid derivatives. *FEMS Microbiol. Rev.*, **16**, 221-231.
- Davies, W.E.A. 1971. The elastic constants of a two-phase composite material. *J. Phys. D.*, **4**, 1176-1181.

- De Kruijf, N., M. van Beest, R. Rijk, T. Sipiläinen-Malm, P. P. Losada, and B. de Meulenaer. 2002. Active and intelligent packaging: applications and regulatory aspects. *Food Add. Cont.*, **19**, 144-162.
- Debeaufort, F., Tesson, N., and Voilley, A. 1995. Aroma compounds and water vapor permeability of edible films and polymeric packagings. *Special Publication - Royal Soc. Chem.*, **162**, 169-174.
- Del Blanco, L.F., M.S. Rodriguez, P.C. Schulz, and E. Agullo. 1999. Influence of the deacetylation degree on chitosan emulsification properties. *Colloid Polym. Sci.* **277**, 1087-1092.
- Desbrières, J. 2002. Chitine et chitosane. L'actualité Chimique. Société Française de Chimie, Novembre-Décembre 2002, pp. 39-44.
- Despond, S., E. Espuche, and A. Domard. 2001. Water sorption and permeation in chitosan films: Relation between gas permeability and relative humidity. *J. Polym. Sci.: Part B: Polym. Phys.*, **39**, 3114-3127.
- Di Gioia, L and S. Guilbert. 1999. Corn Protein-Based Thermoplastic Resins: Effect of Some Polar and Amphiphilic Plasticizers. *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 1254-1261.
- Ding, W. Q. Lian, R.J. Samuels, and M.B. Polk. 2003. Synthesis and characterization of a novel derivative of chitosan. *Polym.*, **44**, 547-556.
- Ding, Z. J. Chen, S. Gao, J. Chang, J. Zhang, and E.T. Kang. 2004. Immobilization of chitosan onto poly-l-lactic acid film surface by plasma graft polymerization to control the morphology of fibroblast and liver cells. *Biomat.*, **25**, 1059-1067.
- Don, T.-M., C.-F. King, and W.-Y. Chiu. 2002. Synthesis and Properties of Chitosan-Modified Poly(vinyl acetate). *J. Appl. Polym. Sci.*, **86**, 3057-3063.
- Dong, Y., Y. Ruan, H. Wang, Y. Zhao, and D. Bi. 2004. Studies on glass transition temperature of chitosan with four techniques. *J. Appl. Polym. Sci.* **93**, 1553-1558.
- Dorgan, J.R., H. Lehermeier, and M. Mang. 2000. Thermal and rheological properties of commercial-grade poly(lactic acid)s. *J. Polym. Environ.*, **8**, 1-4.
- Drumright, R.E., P.R. Gruber and D.E. Henton. 2000. Polylactic acid technology. *Adv. Mat.* **12**, 1841-1846.
- Du, J., Gemma, H. and Iwahori, S. 1997. Effect of Chitosan Coating on the Storage of Peach, Japanese Pear, and Kiwifruit. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **66**, 15-22
- Dufresne, A, J.Y. Cavallé, D. Dupeyre, M. Garcia-Ramirez. 1999. Morphology, phase continuity and mechanical behaviour of polyamide 6 / chitosan blends. *Polym.*, **40**, 1657-1666.
- Durango, A.M., N.F.F Soares, and N.J. Andrade. 2006. Microbiological evaluation of an edible antimicrobial coating on minimally processed carrots. *Food Control*, **17**, 336-341
- Duval, C. **2004**. Matières Plastiques Et Environnement. Dunod, Paris.
- Earle, R.D. AND Snyder, C.E. *U.S. patent 3,255,021*(1966)
- Earle, R.D. *U.S. patent 3,395,024* (1968)

- El Ghaouth, A., J. Arul, A. Asselin, and N. Benhamou. 1992. Antifungal activity of chitosane on two post-harvest pathogens of strawberry fruits. *Phytopathol.* **82**, 398-402.
- El Ghaouth, A., J. Arul, R. Ponnampalam and M. Boulet. 1991b. Chitosane coating effect on storability and quality of fresh strawberries. *J. Food Sci.* **56**, 1618-1620.
- El Ghaouth, A., J. Arul, R. Ponnampalam, and M. Boulet. 1991a. Use of chitosan coating to reduce water loss and maintain quality of cucumber and bell pepper fruits. *J. Food Proc. Preserv.* **15**, 359-368.
- Fang, Q and M. A. Hanna. 1999. Rheological Properties of Amorphous and semi crystalline Polilactic acid polymers. *Ind. crops prod.*, **10**, 47-53.
- Fang, S.W., C.F. Li, and D.Y.C. Shih. 1994. Antifungal activity of chitosan and its preservation effect on low-sugar Candied Kumquat. *J. Food Protect.*, **56**,136-140.
- Fang,N., Chan,V., Mao,H.Q. & Leong,K.W. 2001. Interactions of phospholipid bilayer with chitosan: effect of molecular weight and pH. *Biomacromol.*, **2**, 1161-1168.
- Fischer E. W., Sterzel H.J. et Hugues G. 1973. Investigation of the structure of solution grown crystals of lactide copolymers by means of chemicals reactions. *Kolloid-Z. Z. Polym.*, **251**, 980-990;
- Focher, B.; Beltrame, L. P.; Naggi, A.; Torri, G. 1990. Alkaline N-deacetylation of chitin enhanced by flash treatments. reaction kinetics and structure modifications. *Carbohyd. Polym.*, **12**, 405-418.
- Fox, D.L. 1973. Chitin-bound keto-carotenoids in a crustacean carapace. *Comp. Biochem. Physio.*, **44B**. p.953.
- Freier, T., C. Kunze, C. Nishan, S. Kramer, K. Sternberg, M. Sab, U.T. Hopt, and K.P. Shmitz. 2002. In vitro and in vivo degradation studies for development of a biodegradable patch based on poly(3-hydroxybutyrate). *Biomater.*, **23**, 2649-2657.
- Gälldtedt, M., and M.S. Hedenqvist. 2002. Oxygen and water barrier properties of coated whey protein and chitosan films. *J. Polym. Environ.*, **10**, 1-4.
- Gälldtedt, M., J. Törnqvist, and M.S. Hedenqvist. 2001. Properties of nitrocellulose-coated and polyethylene-laminated chitosan and whey films. *J. Polym. Sci.: Part B: Polym. Phys.*, **39**, 985-992.
- Gallo, J.A.Q., Debeaufort, F., and Voilley, A. 1999. Interactions between Aroma and Edible Films. 1. Permeability of Methylcellulose and Low-Density Polyethylene Films to Methyl Ketones. *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 108-113.
- García, M.A. ; Martino, M.N. ; Zaritzky, N.E. 1998. Plasticized Starch-Based Coatings To Improve Strawberry (*Fragaria x Ananassa*) Quality and Stability. *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 3758-3767.
- García, M.A., A. Pinotti, M. N. Martino, N. E. Zaritzky. 2004. Characterization of composite hydrocolloid films. *Carbohyd. Polym.*, **56**, 339-345
- García, M.A., Martino, M.N., and Zaritzky, N.E. 2000. Microstructural characterization of plasticized starch-based films. *Starch/Staerke.*, **52**, 118-124.
- Garlotta D. 2001. A literature review of poly(lactic acid). *J. Polym. Environ.*, **9**, 63-84.

- Gaudin, S.; Lourdin, D.; Le Botlan, D.; Ilari, J.L.; Colonna, P. 1999. Plasticisation and mobility in starch-sorbitol films. *J. Cereal Sci.*, **29**, 273-284.
- Gennadios, A., C. L. Weller, and R. F. Testin. 1993. Modification of physical and barrier properties of edible wheat gluten-based films. *Cereal Chem.*, **70**, 426-429.
- Gennadios, A., C.L. Weller, and R.F. Testin. 1993. Modification of physical and barrier properties of edible wheat gluten-based films. *Cereal Chem.*, **70**, 426-429.
- Goldberg, S., Doyle, R., & Rosenberg, M. 1990. Mechanism of enhancement of microbial cell hydrophobicity by cationic polymers. *J. Bacteriology*, **172** (10), 5650-5654.
- Gontard, N. 2000. Les Emballages Actifs. *Tec et Doc, Lavoisier, Paris*.
- Gontard, N. and Guilbert, S. 1998. Edible and/or biodegradable wheat gluten films and coatings. *Plant Proteins from European Crops*. 324-328.
- Gontard, N., S. Guilbert, and J.-L. Cuq. 1993. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. *J. Food Sci.*, **58**, 206-211.
- Gonzales, V., C. Guerrero, and U. Ortiz. 2000. Chemical structure and compatibility of polyamide-chitin and chitosan blends. *J. Appl. Polym. Sci.*, **78**, 850-857.
- Gordon J.M. and Taylor J.S. 1952. Ideal copolymers and second-order transitions of synthetic rubbers. I. Non-crystalline copolymers. *J. Appl. Chem.*, **2**, 493-500.
- Gordon J.M., Rouse G.B., Gibbs J.H. and Risen W.M. 1977. The composition dependence of glass transition properties. *J. Chem. Phys.*, **66**, 4971-4976.
- Grizzi, I., H. Garreau, S. Li and M. Vert. 1995. Hydrolytic Degradation of Devices based on Poly (DL-lactic acid) Size Dependence. *Biomat.* **16**, 305-311.
- Guéguen, J.; Viroben, G.; Bardot, J.; Subirade, M. Comparative properties of pea protein and wheat gluten films. Influence of various plasticizers and aging. *Biopolymer Science: Food and Non Food Applications*; INRA Editions; Montpellier, France, 1998.
- Guilbert, S. 2000. Edible films and coatings and biodegradable packaging. *Bulletin of the Int. Dairy Fed.*, **346**, 10-16.
- Guilbert, S., A. Redl, H. De Regh, C. Baron, H. Mujica-Paz, B. Cuq and N. Gontard. 1999. Gas and solute barrier properties of wheat gluten films: application to the design of "active biopackagings". *Colloques - Institut National de la Recherche Agronomique*. 91, 315-320.
- Guilbert, S., Gontard, N., and Gorris, L.G.M. 1996. Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. *Food Sci. Tech.*, **29**, 10-17.
- Hadwiger, L. A.; Kendra, D. F.; Fristensky, B. W.; Wagoner, W. 1986. Chitosan both activates genes in plants and inhibits RNA synthesis in fungi. In *Chitin in Nature and Technology*; Muzzarelli, R. A. A., Jenuniaux, C., Gooday, G., Eds.: Plenum: New York.
- Hadwiger, L.A., C. Chiang, S. Victory and D. Horovitz. 1989. "The molecular biology of chitosan in plant/pathogen interaction and its application in agriculture" in Skjak-Braek, G., T. Anthonsen, and P. Sandford. *Chitin and Chitosan: Sources, Chemistry,*

- Biochemistry, Physical Properties and Applications. Elsevier Applied Science, New York.
- Hallary J.L., Monnerie L. 1986. Techniques physico-chimiques d'étude des mélanges de polymères, dans " Initiation à la chimie et à la physico-chimie macromoléculaires – Mélanges de polymères". Eds GFP, Strasbourg (France).
- Hansmann, J and N. Mustafa. 1993. Compatibility of plastic polymers, in Mustafa, N. *Plastics Waste Managements*. Marcel Dekker, Inc. New York. p. 185-222.
- Haynie, S., Crum, G., and B. Doele. 1995 . Antimicrobial activities of amphiphilic peptides covalently bonded to a water-insoluble resin. *Antimicrob. Agents Chemotherapy*, **39**, 301-307.
- Helander, I.M., E.-L. Nurmiäho-Lassila, R. Ahvenainen, J. Rhoades, and S. Roller. 2001. Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria. *Int. J. Food Microb.*, **71**, 235-244.
- Hernandez, E. 1994. " Edible coatings from lipids and resins" in Krochta, J.M., E.A. Baldwin, and M.O. Nisperos-Carriedo (Eds.): *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*. Technomic Publishing Co. Inc., Lancaster - Basel.
- Heux,L., Brugnerotto,J., Desbrieres,J., Versali,M.F. & Rinaudo,M. 2000. Solid state NMR for determination of degree of acetylation of chitin and chitosan. *Biomacromol.*, **1**, 746-751.
- Hiltunen K., Seppälä J.V., Härkönen M. 1997. Lactic acid based poly(ester-urethanes): use of hydroxyl terminated prepolymer in urethane synthesis. *J. Appl. Polym. Sci.*, **63**, 1091-1100.
- Ho, K.-L.G., A.L. Pometto III, and P.N. Hinz. 1999. Effects of temperature and relative humidity on polylactic acid plastic degradation. *J. Environ. Polym. Deg.*, **7**, 83-92.
- Hoagland, P. D. and N, Parris. 1996. Chitosan/Pectin Laminated Films. *J. Agric. Food Chem.* **44**, 1915-1919.
- Hong, S., Park, J., & Kim, D. 2000 . Antimicrobial and physical properties of food packaging films incorporated with some natural compounds. *Food Sci. Biotechnol.*, **9** (1), 38_42.
- Hosokawa, J., M. Nishiyama, K. Yoshihara, and T. Kubo. 1990. Biodegradable Film Derived from Chitosan and Homogenized Cellulose. *Ind. Eng. Chem. Res.* **29**, 800-805.
- Hsu, S.-C., T.-M. Don, and W.-Y. Chiu. 2002. Synthesis of chitosan-modified poly(methyl methacrylate) by emulsion polymerization. *J. Appl. Polym. Sci.*, **86**, 3047-3056.
- Hu, Y., H. Jiang, C. Xu, Y. Wang, and K. Zhu. 2005. Preparation and characterization of poly(ethylene glycol)-g-chitosan with water- and organosolubility. *Carbohydr. Polym.*, **61**, 472–479.
- Huang, M., and Y. Fang. 2006. Preparation, Characterization, and Properties of Chitosan-g-Poly(vinyl alcohol) Copolymer. *Biopolym.*, **81**, 160–166
- Hulleman, S.H.D., F.H.P. Janssen, and H. Feil. 1998, The role of water during plasticization of native starches. *Polym.*, **39**, 2043-2048.

- Hwang, K.T., J.T. Kim, S.T. Jung, G.S. Cho, H.J. Park. 2003. Properties of chitosan-based biopolymer films with various degrees of deacetylation and molecular weights. *J. Appl. Polym. Sci.*, **89**, 3476–3484
- Ikejima, T and Y. Inoue. 2000. Crystallization behavior and environmental biodegradability of the blend films of poly (3-hydroxybutyric acid) with chitin and chitosan. *Carbohydr. Polym.*, **41**, 351-356.
- Ikejima, T., K. Yagi, and Y. Inoue. 1999. Thermal properties and crystallization behavior of poly(3-hydroxybutyric acid) in blends with chitin and chitosan. *Macromol. Chem. Phys.* **200**, 413-421.
- Ishitani, T., 1995. Active Packaging for food quality preservation in Japan. In P. Ackermann, M. Jaegerstaad, & T. Ohlsson, *Foods Ž . and Packaging Materials_Chemical Interactions* pp. 177_188. Letchworth, UK: Royal Society of Chemistry.
- Jaouen, D. 1994. Chitine, Chitosane et Dérivés. PhD Thèse en pharmacie, Université d'Angers, Angers (France)..
- Jeon, Y.-J.; Kamil, J.Y.V.A.; Shahidi, F. 2002. Chitosan as an Edible Invisible Film for Quality Preservation of Herring and Atlantic Cod. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 5167-5178.
- Jia, Z. and D. Shen (2002) Effect of reaction temperature and reaction time on the preparation of low-molecular-weight chitosan using phosphoric acid. *Carbohydr. Polym.*, **49**, 393-396.
- Jiang, Y and Y. Li. 2001. Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of longan fruit. *Food Chem.*, **73**, 139-143.
- Jiratananon, R., A. Chanachai and R.Y.M. Huang. 2002. Pervaporation dehydration of ethanol–water mixtures with chitosan/hydroxyethylcellulose (CS/HEC) composite membranes II. Analysis of mass transport. *J. Membrane Sci.*, **199**, 211–222.
- Jo, C., J.W. Lee, K.H. Lee, and M.W. Byun. 2001. Quality properties of pork sausages prepared with water-soluble chitosan oligomer. *Meat Sci.*, **59**, 369-375.
- John, J., R. Mani, and M. Bhattacharya. 2002. Evaluation of compatibility and properties of biodegradable polyester blends. *J. Polym. Sci.: Part A: Polym. Chem.*, **40**, 2003-2014.
- Johnson, E.L. and Peniston, Q.P. Utilization of shellfish waste for chitin and chitosan production. In *Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products*; Martin, R.E., Flick, G.J., Hebard, C.E., Ward, D.R., Eds.; AVI Publishing: Westport, CT. 1982; Chapter 19.
- Jumaa, M., F.H. Furkert and B.N. Müller. 2002. A new lipid emulsion formulation with high antimicrobial efficacy using chitosan. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **53**, 115-123.
- Jun, C. L. 2000. Reactive blending of biodegradable polymers: PLA and starch. *J. Polym. Environ.* **8**, 33-37.
- Kam, H.-M, E. Khor, and L.-Y. Lim. 1999. Storage of Partially Deacetylated Chitosan Films. *J Biomed Mater Res (Appl Biomater)*, **48**, 881–888.
- Kamper, S.L. and Fennema, O. 1985. Use of an edible film to maintain water vapor gradients in foods. *J. Food Sci.*, **50**, 382-384.

- Kamper, S.L. and O. Fennema. 1984. Water vapor permeability of an edible, fatty acid, bilayer film. *J. Food Sci.*, **49**, 1478-1485.
- Kasaai, M. R., J. Arul, S. L. Chin et G. Charlet. 1999. The use of intense femtosecond laser pulses for the fragmentation of chitosan. *J. Photochem. Photobiol., A: Chem.*, **120**, 201-205.
- Khan, T. A., K.K. Peh, and H.S. Cheng. 2000. Mechanical, bioadhesive strength and biological evaluation of chitosan films for wound dressing. *J. Pharm. Pharmaceut Sci.* **3**, 303-311.
- Khoo, C.G.L., S. Frantzych, A. Rosinski, M. Sjöström, Janet Hoogstraate. 2003. Oral gingival delivery systems from chitosan blends with hydrophilic polymers. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **55**, 47-56
- Kim, C.H., J.W. Choi, H.J. Chun and K.S. Choi. 1997. Synthesis of chitosan derivatives with quaternary ammonium salt and their antimicrobial activity. *Polym. Bull.*, **38** (4) 387-393.
- Kim, C.-H., S.-Y. Kim, and K.-S. Choi. 1996. Synthesis and antibacterial activity of water-soluble chitin derivatives. *Polym. Adv. Tech.*, **8**, 319-325.
- Kim, J. Y., C.S. Ha, and N.J. Jo. 2002. Synthesis and properties of biodegradable chitin-graft-poly(L-lactide) copolymers. *Polym. Int.*, **51**, 1123-1128.
- Kim, S.J. and Ustunol, Z. 2001. Solubility and moisture sorption isotherms of whey-protein-based edible films as influenced by lipid and plasticizer incorporation. *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 4388-4391.
- Kister, G., G. Cassanas and M. Vert. 1998. Effects of morphology, conformation and configuration on the IR and Raman spectra of various poly(lactic acid)s. *Polym.*, **39**, 267-273.
- Kittur, F.S., Kumar, K.R. and Tharanathan, R.N. (1998) Functional Packaging Properties of Chitosan Films. *Z. Lebensm. Unters Forsch. A.*, **206**, 44-47.
- Knowles S. and S. Roller. 2001. Efficacy of chitosan, carvacrol, and a hydrogen peroxide-based biocides against foodborne microorganisms in suspension and adhered to stainless steel. *J. Food Protect.*, **64**, 1542-1548.
- Kolhe, P., and R. M. Kannan. 2003. Improvement in ductility of chitosan through blending and copolymerization with PEG: FTIR investigation of molecular interactions. *Biomacromol.*, **4**, 173-180.
- Krochta, J. M. and C. Mulder-Johnston. 1997. Edible and Biodegradable Polymer Films: Challenges and Opportunities. *Food Tech.*, **51** (2), 61-74.
- Kurita, K., A. Yoshida, and Y. Koyama. 1988. New Polysaccharide/polypeptide hybrid materials based on chitin and poly(γ -methyl L-glutamate). *Macromol.*, **21**, 1579-1583.
- Kweon, H., H.C. Ha, I.C. Um, and Y.H. Park. 2001. Physical properties of silk fibroin/chitosan blend films. *J. Appl. Polym. Sci.* **80**, 928-934.
- Labuza, T. & Breene, W. 1989. Applications of active packaging for improvement of shelf-life and nutritional quality of fresh and extended shelf-life foods. *J. Food Process. Preserv.*, **13**, 1-89.

- Lang, G., Clausen, T., 1989. The use of chitosan in cosmetics. In:Skjak-Braek, G., Thorleif Anthosen, T., Standford, P. (Eds.), Chitin and Chitosan. Sources, Chemistry, Biochemistry. Physical Properties and Applications. Elsevier Applied Science, London and New York, pp. 139–147.
- Lazaridou, A. and C.G. Biliaderis. 2002. Thermophysical properties of chitosane, chitosane-starch and chitosan-pullulan films near the glass transition. *Carbohydr. Polym.*, **48**, 179-190.
- Le Tien, C., M. Letendre, P. Ispas-Szabo, M.A. Mateescu, G. Delmas-Patterson, L. Yu, H and M. Lacroix. 2000. Development of Biodegradable Films from Whey Proteins by Cross-Linking and Entrapment in Cellulose. *J. Agric. Food Chem.* **48**, 5566-5575.
- Lee, C.H., D. S. An, H. J. Park and D. S. Lee. 2003. Wide-spectrum antimicrobial packaging materials incorporating nisin and chitosan in the coating. *Pack. Tech. Sci.*, **16**, 99-106.
- Lee, C.H., D. Soon An, S. C. Lee, H. J. Park, D. S. Lee. 2004. A coating for use as an antimicrobial and antioxidative packaging material incorporating nisin and α -tocopherol. *J. Food Eng.*, **62**, 323–329
- Lee, D., Hwang, Y., & Cho, S. 1998 . Developing antimicrobial packaging film for curled lettuce and soybean sprouts. *Food Sci. Biotech.*, **7** (2), 117-121.
- Lehermeier, H.J., J.R. Dorgan, and J.D. Way. 2001. Gas permeation of poly(lactic acid). *J. Membrane Sci.*, **190**, 243-251.
- Li, H and T. Yu. 2000. Effect of chitosan on incidence of brown rot, quality and physiological attributes of postharvest peach fruit. *J. Sci. Food Agric.*, **81**, 269-274.
- Li, L., S. Ding, C. Zhou. 2004. Preparation and Degradation of PLA/Chitosan Composite Materials. *J. Appl. Polym. Sci.*, **91**, 274–277
- Li, S and Mc Carthy. 1999. Futher Investigations on the Hydrolytic Degradation of Poly (DL-lactide). *Biomat.*, **20**, 35-44.
- Lim, L.-T., Y. Mine and M.A. Tung. 1999. Barrier and tensile properties of transglutaminase cross-linked gelatin films as affected by relative humidity, temperature, and glycerol content. *J. Food Sci.*, **64**, 616-622.
- Liu, L., S. Li, H. Garreau, and M. Vert. 2000. Selective enzymatic degradations of poly(L-lactide) and poly(ϵ -caprolactone) blend films. *Biomacromol.*, **1**, 350-359.
- Liu, X. F., Y.L. Guan, D.Z. Yang, Z. Li and K. D. Yao. 2001. Antimicrobial action of chitosan and carboxymethylated chitosan. *J. Appl. Polym. Sci.*, **79**, 1324-1335.
- Lodovico di Gioia and Stéphane Guilbert. Amphiphilic plasticizers. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, **47**, 1254-1261.
- Lopez-Caballero, M.E., M.C. Gomez-Guillén, M. Pérez-Mateos, P. Montero. 2005. A chitosan–gelatin blend as a coating for fish patties. *Food Hydrocoll.* **19**, 303–311
- Lourdin, D., Bizot, H., and Colonna, P. 1997. "Anti-plasticization" in starch-glycerol films? *J. Appl. Polym. Sci.* **63**, 1047-1053.
- Lourdin, D., la Valle, G., and Colonna, P. 1995. Influence of amylose content on starch films and foams. *Carbohydr. Polym.*, **27**, 261-270.
- Lunt, J. 1998. Large-scale production, properties and commercial applications of polylactic acid polymers. *Polym. Deg. Stab.*, **59**, 145-152.

- Mac Carthy-Bathes L. 1993. Biodegradable blossom into field of dreams for packagers. *Plast. World*, **51**(3), 22-25.
- Machado, A.A.S., V.C.A. Martins and A.M.G. Plepis. 2002. Thermal and rheological behavior of collagen:chitosan blends. *J. Thermal Anal. Cal.*, **67**, 491-498.
- MacKnight, W.J., F.E. Karasz and J.R. Fried (1991) Solid state transition behavior of blends in Paul, D.R. and S. Newman. *Polymer Blends*. **1**, 185-224. Academic Press Inc. New York.
- Maghami, G. G., and G. A. F. Roberts. 1988. Evaluation of the viscometric constants for chitosan. *Die Makromolekulare Chemie*, 189 (1), 195-200.
- Makino, Y and T. Hirata (1997) Modified atmosphere packaging of fresh produce with a biodegradable laminate of chitosane-cellulose and polycaprolactone. *Postharv. Biol. Tech.*, **10**, 247-254.
- Mangavel, C., J. Barbot, J. Guéguen, and Y. Popineau. 2003. molecular determinants of the influence of hydrophilic plasticizers on mechanical properties of cast wheat gluten films. *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 1447-1452.
- Mao, J.S., L. G. Zhao, Y. Ji Yin, K. De Yao. 2003. Structure and properties of bilayer chitosan–gelatin scaffolds. *Biomat.*, **24**, 1067–1074
- Martin, O and L. Avérous. 2001. Poly(lactic acid): plasticization and properties of biodegradable multiphase systems. *Polym.*, **42**, 6209-6219.
- Mathew, S., M. Brahmakumar and T. E. Abraham. 2006. Microstructural imaging and characterization of the mechanical, chemical, thermal and swelling properties of starch-chitosan blend films. *Biopolym.*, 82, 176–187.
- Matsushashi, S. and T. Kume. 1997. Enhancement of antimicrobial activity of chitosan by irradiation. *J. Sci. Food Agric.*, **73**, 237-241.
- Mauduit, J., E. Pérouse, and M. Vert. 1996. Hydrolytic degradation of films prepared from blends of high and low molecular weight poly(D-lactic acid). *J. Biomed. Res.*, 30, 201-207.
- Mauer, L.J., Smith, D.E., and Labuza, T.P. 2000. Water vapor permeability, mechanical, and structural properties of edible b-casein films. *Int. Dairy J.* 10, 353-358.
- Maynard, F. 1999. Edible film and method. European Patent 0935921.
- Mecitoğlu, C., A. Yemenicioğlu, A. Arslanoğlu, Z. S. Elmac, F. Korel, A. E. Çetin. 2006. Incorporation of partially purified hen egg white lysozyme into zein Wlms for antimicrobial food packaging. *Food Res. Int.*, **39**, 12–21.
- Mermelstein, N. 1998 . Enzyme Developments. *Food Technol.*, **52**, 124.
- Miya, M., R. Iwamoto, S. Yoshikawa, and S. Mima. 1980. I.R. spectroscopic determination of CONH content in highly deacylated chitosan. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2, 323-324.
- Miya, M., Yoshikawa, S., Iwamoto, R., & Mima, S. 1983. Mechanical properties of poly(vinyl alcohol)–chitosan blend films. *Kobunshi Ronbunshu*, 40, 645–651.
- Mohanty, A.K., M. Misra, and L.T. Drzal. 2002. Sustainable bio-composites from renewable resources: opportunities and challenges in the green materials world. *J. Polym. Environ.*, 10 (1/2),

- Möller, H.; Grelier, S.; Pardon, P.; Coma, V. 2004. Antimicrobial and Physicochemical properties of chitosan-HPMC based films. *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 6585-6591.
- Morillon, V., F. Debeaufort, M. Capelle, and A. Voilley. 2000. Influence of the Physical State of Water on the Barrier Properties of Hydrophilic and Hydrophobic Films. *J. Agric. Food Chem.* **48** (1), 11-16.
- Mungara, P., T. Chang, J. Zhu, and J. Jane. 2002. Processing and physical properties of plastics made from soy protein polyester blends. *J. Polym. Environ.*, **10**, xx-xx.
- Muzzarelli R.A.A. 1996. Chitosan-based dietary foods. *Carbohydr. Polym.*, **29**, 309-316.
- Muzzarelli, R.A.A. Chitin; *Pergamon*: Oxford, 1977.
- Narayan, R. 1993. Biodegradable plastics. Draft of Chapter on Monograph "Opportunities for Innovation in Biotechnology". National Institute of Standards and Technology (NIST), USA.
- Nielsen L.E. 1974. Mechanical properties of polymers and composites II. Eds Marcel Dekker, New-York (USA).
- Nielsen, P., & Rios, R. 2000 . Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. *Int. J. Food Microbiol.*, **60**(2/3) , 219-229.
- Nishimura, S.-I., O. Kohgo, K. Kurita, and H. Kuzuhara. 1991. Chemospecific manipulations of a rigid polysaccharide: synthesis of novel chitosan derivatives with excellent solubility in common organic solvents by regioselective chemical modifications. *Macromol.*, **24**, 4745-4748.
- Nisperos-Carriedo, M.O. 1994. Edible coatings and films based on polysaccharides. In: *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality* (Ed. by J.M.Krochta, E.A.Baldwin & M.O.Nisperos-Carriedo), pp. 305-336. Basel, Switzerland: Technomic Publishing AG.
- No, H.K. and Meyers, S.P. 1995. Preparation and characterization of chitin and chitosan-- a review. *J. Aquatic Food Prod. Tech.*, **4**, 27-52.
- No, H.K., Hur, E.Y. 1998. Control of Foam Formation by Antifoam during Demineralization of Crustacean Shell in Preparation of Chitin. *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 3844-3846.
- No, H.K., N. Y. Park, S.H. Lee and S. P. Meyers. 2002. Antimicrobial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *Int. J. Food Microbiol.*, **74**, 65-72.
- No, H.K., S.P. Meyers, and K.S. Lee. 1989. Isolation and characterization of chitin from crawfish shell waste. *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 575-579.
- Oda, Y., A. Yonetsu, T. Urakami, and K. Tonomura. 2000. Degradation of polylactide by commercial proteases. *J. Polym. Environ.*, **8**, 29-32
- Olabarrieta, I., A. Jansson, U.W. Gedde, and M.S. Hedenqvist. 2002. Mechanical and physical properties of chitosan and whey blended with poly(ϵ -caprolactone). *Int. J. Polym. Mat.* **51**, 275-289.
- Olabarrieta, I., D. Forsström, U.W. Gedde and M.S. Hedenqvist (2001) Transport properties of chitosan and whey blended with poly(ϵ -caprolactone) assessed by standard permeability measurements and microcalorimetry. *Polym.*, **42**, 4401-4408.

- Osman, Z., and A.K. Arof. 2003. FTIR studies of chitosan acetate based polymer electrolytes. *Electrochim. Acta.*, **48**, 993-999.
- Ouattara, B., R.E. Simard, G. Piette, A. Bégin, and R.A. Holley. 2000a. Diffusion of acetic and propionic acids from chitosane-based antimicrobial packaging films. *J. Food Sci.*, **65**, 768-773.
- Ouattara, B., R.E. Simard, G. Piette, A. Bégin, and R.A. Holley. 2000b. Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. *Int. J. Food Microbiol.*, **62**, 139-148.
- Ouattara, B., R.E. Simard, R.A. Holley, G.J.-P. Piette, and A. Bégin. 1997. Inhibitory effect of organic acids upon meat spoilage bacteria. *J. Food Protect.*, **60**, 246-253.
- Ouchi, T., H. Nishizawa, and Y. Ohya. 1998. Aggregation phenomenon of PEG-grafted chitosan in aqueous solution. *Polym.*, **39**, 5171-5175.
- Padgett, T., Han, I., & Dawson, P. 1998 . Incorporation of food-grade antimicrobial compounds into biodegradable packaging films. *J. Food Protect.*, **61**, 1330-1335.
- Padgett, T., Han, I., & Dawson, P. 2000 . Effect of lauric acid addition on the antimicrobial efficacy and water permeability of corn zein films containing nisin. *J. Food Process. Preserv.*, **24**, 423_432
- Papineau, A.M., D.G. Hoover, D. Knorr, and D.F. Farkas. 1991. Antimicrobial effect of water-soluble chitosan with high hydrostatic pressure. *Food Biotech.*, **5**, 45-57
- Park, S.Y., B. I. Lee, S. T. Jung and H. J. Park (2001b) Biopolymer composite film based on κ -carrageenan and chitosan. *Mat. Res. Bull.*, **36**, 511-519.
- Park, S.Y., K.S. Marsh, and J.W. Rhim. 2002. Characteristics of different molecular weight chitosan films affected by the type of organic solvents. *J. Food Sci.*, **67**, 194-197.
- Park, S.Y., S.T. Jung, and K.S. Marsh. 2001a. Physical properties of PVOH/chitosan-blended films cast from different solvents. *Food Hydrocol.*, **15**, 499-502.
- Paul, D.R. (1991) Interfacial agents (“Compatibilizers”) for polymer blends. in Paul, D.R. and S. Newman. *Polymer Blends*. **2**, 35-60. Academic Press Inc., New York.
- Pawlak, A., and M. Mucha. 2003. Thermogravimetric and FTIR studies of chitosan blends. *Thermochim. Acta*. **396**, 153-166.
- Peesan, M., P. Supaphol, R. Rujiravanit. 2005. Preparation and characterization of hexanoyl chitosan/poly lactide blend films. *Carbohydr. Polym.*, **60**, 343-350
- Percot, A., C. Viton, and A. Domard. 2003. Optimization of Chitin Extraction from Shrimp Shells. *Biomacromol.*, **4**, 12-18.
- Peter, M.G. 1995. Applications and environmental aspects of chitin and chitosan. *J.M.S.-Pure Appl. Chem.* **A32**, 629-640.
- Peter, M.G. 2002. Chitin and chitosan from animal sources. *Biopolym.*, **6**, 481-574.
- Petersen, K., P.V. Nielsen, and M.B. Olsen. 2001. Physical and mechanical properties of biobased materials – starch, polylactate and polyhydroxybutyrate. *Starch*. **53**, 356-361.
- Ping, Z.H., Q.T. Nguyen, S.M. Chen, J.Q. Zhou and Y.D. Ding (2001) States of water in different hydrophilic polymers – DSC and FTIR studies. *Polym.*, **42**, 8461-8467.

- Pouplin, M.; Redl, A.; Gontard, N. 1999. Glass transition of wheat gluten plasticized with water, glycerol, or sorbitol. *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 538-543.
- Pranoto, Y., S.K. Rakshit, and V.M. Salokhe. 2005. Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. *LWT.*, **38**, 859-865.
- Prashanth, K.V.H. and R.N. Tharanathan (2003) Studies of graft copolymerization of chitosan with synthetic monomers. *Carbohydr. Polym.*, **54**, 343-351.
- Qu, X., A. Wirsén, and A. Albertson. 1999. Structural change and swelling mechanism of pH-sensitive hydrogels based on chitosan and D,L-Lactic acid. *J. Appl. Polym. Sci.*, **74**, 3186-3192.
- Qu, X., A. Wirsén, and A. Albertson. 1999. Synthesis and characterization of pH-sensitive hydrogels based on chitosan and D,L-Lactic acid. *J. Appl. Polym. Sci.*, **74**, 3193-3202
- Quezada-Gallo, J.A., Debeaufort, F., and Voilley, A. 2000. Mechanism of aroma transfer through edible and plastic packagings. Are they complementary to solve the problem of aroma transfer? *ACS Symposium Series*. 753, 125-140.
- Quintavalla, S. and L. Vicini. 2002. Antimicrobial food packaging in meat industry. *Meat Sci.*, **62**, 373-380.
- Rabea, E.I., M.E.-T. Badawy, C.V. Stevens, G. Smagghe, and W. Steurbaut. 2003. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. *Biomacromol.*, **4**, 1457-1465.
- Ratto, J and T. Hatakeyama (1995) Differential scanning calorimetry investigation of phase transitions in water/chitosan systems. *Polym.*, **36**, 2915-2919
- Ravi Kumar, M.N.V. 2000. A review of chitin and chitosan applications. *React. Function. Polym.*, **46**, 1-27.
- Rege, P.R., and L.H. Block. 1999. Chitosan processing: influence of process parameters during acidic and alkaline hydrolysis and effect of the processing sequence on the resultant chitosan's properties. *Carbohydr. Res.*, **321**, 235-245.
- Remunan-Lopez, C., and R. Bodmeier. 1996. Effect of formulation and process variables on the formation of chitosan-gelatin coacervates. *Int. J. Pharm.*, **135**, 63- 72
- Rhazi, M., J. Desbrières, A. Tolaimate, A. Alagui, and P. Vottero. 2000. Investigation of different natural sources of chitin: influence of the source and deacetylation process on the physicochemical characteristics of chitosan. *Polym. Int.*, **49**, 337-344.
- Rinaudo, M., G. Pavlov and J. Desbrières. 1999. Influenced of acetic acid concentration on the solubilization of chitosan. *Polym.* **40**, 7029-7032
- Rodriguez, M.S., L.A. Albertengo, and E. Agullo. 2002. Emulsification capacity of chitosan. *Carbohydr. Polym.*, **48**, 271-276.
- Roller, S and N. Covill. 2000. The antimicrobial properties of chitosan in mayonnaise and mayonnaise-based shrimp salads. *J. Food Protect.*, **63**, 202-209

- Roller, S and N. Covill. 1999. The antifungal properties of chitosan in laboratory media and apple juice. *Int. J. Food Microbiol.*, **47**, 67–77.
- Roller, S., S. Sagoo, R. Board, T. O'Mahony, E. Caplice, G. Fitzgerald, M. Fogden, M. Owen, and H. Fletcher. 2002. Novel combinations of chitosan, carnocin and sulphite for the preservation of chilled pork sausages. *Meat Sci.*, **62**, 165-177.
- Roussel, E. 2005. "Emballages Actifs: Quelles sont les utilisations possibles ?" Proceeding des Journées de l'Emballage, à Reims, le 21-22 juin 2005.
- Rueda, D.R.; Secall, T.; Bayer, R.K. 1999. Differences in the interaction of water with starch and chitosan films as revealed by infrared spectroscopy and differential scanning calorimetry. *Carbohydr. Polym.*, **40**, 49-56.
- Sabnis, S., and L.H. Block. 2000. Chitosan as an enabling excipient for drug delivery systems. I. Molecular modifications. *Int. J. Biol. Macromol.*, **27**, 181-186.
- Sakurai, K., T. Maegawa, and T. Takahashi. 2000. Glass transition temperature of chitosan and miscibility of chitosan/poly(N-vinyl pyrrolidone) blends. *Polym.*, **41**, 7051-7056.
- Sammon, C., C. Deng, and J. Yarwood. 2003. Polymer-water interactions. Origin of perturbed infrared intensities of water in polymeric systems. *Polym.*, **44**, 2669-2677.
- Sanchez, A.C., Y. Popineau, C. Mangavel, C. Larré and J. Guéguen. 1998. Effect of Different Plasticizers on the Mechanical and Surface Properties of Wheat Gliadin Films. *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 4539-4544.
- Sandford, P., 1989. Chitosan: commercial uses and potential applications. In: Skjak-Braek, G., Anthosen, T., Standford, P. (Eds.), Chitin and Chitosan. Sources, Chemistry, Biochemistry. Physical Properties and Applications. Elsevier Applied Science, London and New York, pp. 51–69.
- Sandford, P.A. 2002. Commercial sources of chitin and chitosan and their utilization. *Adv. Chitin Sci.* **6**, 35-42.
- Santosa, F.X.B. and Padua, G.W. 1999. Tensile Properties and Water Absorption of Zein Sheets Plasticized with Oleic and Linoleic Acids. *J. Agric. Food Chem.* **47**, 2070-2074.
- Sarasam, A and S. V. Madihally. 2005. Characterization of chitosan–polycaprolactone blends for tissue engineering applications. *Biomater.*, **26**, 5500–5508.
- Savage, P.J. and Savage, G.P. 1994. The Effect of Coating Apples on the Quality of Stored Apples' in *Proceedings of the Nutrition Society of New Zealand 19*, 129-133
- Scanell, A., Hill, C., Ross, R., Marx, S., Hartmeier, W., & Arendt, E. Ž. 2000. Development of bioactive food packaging materials using immobilized bacteriocins lacticin 3147 and Nisaplin. *Int. J. Food Microbiol.*, **60** (2-3), 241-249.
- Schulz, P.C., M.S. Rodriguez, L.F. Del Blanco, M. Pistonesi, and E. Agullo. 1998. Emulsification properties of chitosan. *Colloid Polym Sci.*, **276**, 1159-1165.
- Schwach, E. 2004. Etude de Systèmes Multiphasés Biodégradables à base d'Amidon de Blé Plastifié Relations Structure – Propriétés, Approche de la Compatibilisation. Thèse, Université de Reims-Champagne Ardenne, Reims (France).
- Sebti, I. 2002. Bio-emballage actif incorporant la nisine, diffusion de cette bactériocine en gel d'agarose. Thèse. Université Bordeaux 1, Bordeaux (France).

- Sebti, I., A. Martial-Gros, A. Carnet-Pantiez, S. Greliez, and V. Coma. 2005. Chitosan Polymer as Bioactive Coating and Film against *Aspergillus niger* Contamination. *J. Food Sci.*, **70**, 100-104.
- Senda, T., Y. He and Y. Inoue. 2001. Biodegradable blends of poly(ϵ -caprolactone) with α -chitin and chitosan: specific interactions, thermal properties and crystallization behavior. *Polym. Int.*, **51**, 33-39.
- Seng, J.-M. 1988. Chitine, chitosane et dérivés: de nouvelles perspectives pour l'industrie. *Biofutur*, **9**, 40-44.
- Shahidi, F. and Abuzaytoun, R. 2005. Chitin, chitosan, and co-products: chemistry, productions, applications, and health effects. *Adv. Food Nutr. Res.*, **49**, 93-135.
- Shahidi, F. and Synowiecki, J. 1991. Isolation and characterization of nutrients and value-added products from snow crab (*Chionoecetes opilio*) and shrimp (*Pandalus borealis*) processing discards. *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 1527-1532.
- Shahidi, F., J.K.V. Arachi and Y.J. Jeon. 1999. Food applications of chitin and chitosans. *Trends Food Sci. Tech.*, **10**, 37-51.
- Shanta, K.L.; Harding, D.R.K. 2002. Synthesis and characterisation of chemically modified chitosan microspheres. *Carbohydr. Polym.*, **48**, 247-253.
- Sharma, A., K. Mondal, and M.N. Gupta. 2003. Some studies on characterization of three phase partitioned chitosan. *Carbohydr. Polym.*, **52**, 433-438.
- Shepherd, R., S. Reader, and A. Falshaw. 1997. Chitosan functional properties. *Glycoconj. J.*, **14**, 535-542.
- Shin, Y., D.I. Yoo, and J. Jang. 2001. Molecular weight effect on antimicrobial activity of chitosan treated cotton fabrics. *J. Appl. Polym. Sci.*, **80**, 2495-2501.
- Shogren, R. 1997. Water vapor permeability of biodegradable polymers. *Journal of Environ. Polym. Deg.*, **5**, 91-95
- Siew, D.C.W.; Heilmann, C.; Easteal, A.J.; Cooney, R.P. Solution and film properties of sodium caseinate/glycerol and sodium caseinate/polyethylene glycol edible coating systems. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, 47, 3432-3440.
- Simpson, B.K., N. Gagne, I.N.A. Ashie and E. Noroozi. 1997. Utilization of chitosan for preservation of raw shrimp (*Pandalus borealis*). *Food Biotech.*, **11**, 25-44.
- Siragusa, G.R., C.N. Cutter and J.L. Willet. 1999. Incorporation of bacteriocin in plastic retains activity and inhibits surface growth of bacteria on meat. *Food Microbiol.*, **16**, 229-235.
- Sobral, P.J.A. and Habitante, A.M.Q.B. 2001. Phase transitions of pigskin gelatin. *Food Hydrocol.*, **15**, 377-382.
- Sobral, P.J.A., Menegalli, F.C., Hubinger, M.D., and Roques, M.A. 2001. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin-based edible films. *Food Hydrocol.*, **15**, 423-432.
- Södegard, A. 2000. Lactic acid based polymers for packaging materials for the Food Industry. *The Food Biopack Conference, Copenhagen, Denmark, 27-29 august 2000*.

- Srinivasa, P.C., M.N. Ramesh, K.R. Kumar, and R.N. Tharanathan. 2004. Properties of chitosan films prepared under different drying conditions. *J. Food Eng.* **63**, 79-85.
- Sudharshan, N.R., D.G. Hoover and D. Knorr. 1992. Antimicrobial action of chitosan. *Food Biotechnol.*, **6**, 257-272.
- Sun, T., P. Xu, Q. liu, J. Xue, and W. Xie. 2003. Graft copolymerization of methacrylic acid onto carboxymethyl chitosan. *Eur. Polym. J.*, **39**, 189-192.
- Suppakul, P., J. Miltz, K. Sonneveld, & S.W. Bigger. 2003. Active packaging technologies with an emphasis on antimicrobial packaging and its applications. *J. Food Sci.*, **68**, 408-420.
- Suyatma, N.E.; Copinet, A.; Coma, V.; Tighzert, L. Mechanical and barrier properties of biodegradable films made from chitosan dan poly (lactic acid) blends. *J. Polym. Environ.* **2004**, 12, 1-6.
- Synowiecki, J. and Al-Khateeb, N.A. 2003. Production, properties, and some new applications of chitin and its derivatives. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **43**, 145-171.
- Tanabe, T., N. Okitsu, A. Tachibana, and K. Yamauchi. 2002. Preparation and characterization of keratin-chitosan composite film. *Biomat.*, **23**, 817-825.
- Tang, R., Y. Du, and L. Fan. 2003. Dialdehyde starch-crosslinked chitosan films and their antimicrobial affects. *J. Polym. Sci.: Part B: Polym. Phys.*, **41**, 993-997.
- Tharanathan, R.N. 2003. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends Food Sci. Tech.*, **14**, 71-78.
- Thomas, J.N. 1999. Le PLA dans l'emballage rigide alimentaires. Aliment 2000:"Anticiper les marchés, incorporer la démarche prospective dans l'innovation emballage: Prospective-Emballage", p.12
- Timm A, and A. Steinbüchel. 1990. Formation of polyesters consisting of medium-chain-length 3-hydroxyalkanoic acid from gluconate by *Pseudomonas aeruginosa* and other pseudomonads. *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**, 3360-3367.
- Tolaimate, A., J. Desbrieres, M. Rhazi and A. Alagui. 2003. Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties. *Polym.*, **44**, 7939-7952.
- Torres, J., M. Motoki and M. Karel. 1985. Microbial stabilization of intermediate moisture food surface. *J. Food Proc. Preserv.*, **9**, 75-79.
- Trotignon, J.-P., J. Verdu, A. Dobraczynski and M. Piperaud. 1996. Matières Plastiques: Structures-propriétés, mise en oeuvre, normalisation. AFNOR/Nathan, Paris. p.25.
- Tsai, G.-J., and W.-H. Su. 1999. Antimicrobial activity of shrimp chitosan against *Escherichia coli*. *J. Food Protect.*, **62**, 239-243.
- Tsai, G.-J., Z.-Y. Wu and W.-H. Su. 2000. Antibacterial activity of a chitooligosaccharide mixture prepared by cellulose digestion of shrimp chitosan and its application to milk preservation. *J. Food Protect.*, **63**, 747-752.
- Tsai, G.-J., Su, W.-H. 1999. Antimicrobial activity of shrimp chitosan against *Escherichia coli*. *J. Food Protect.*, **62**, 239-243.

- Tual, C., Espuche, E.; Escoubes, M.; Domard, A. 2000. Transport properties of chitosan membranes : influence of crosslinking. *J. Polym. Sci. B: Polym. Phys.*, **38**, 1521-1529.
- Uragami, T., T. Matsuda, H. Okuno, and T. Miyata. 1994. Structure of chemically modified chitosan membranes and their characteristics of permeation and separation of aqueous ethanol solutions. *J. Membrane Sci.*, **88**, 243-251.
- Utracki L.A. 1989. Polymer blends and alloys, Hanser, Munich.
- Utracki, L.A. 1983. Melt flow of polymer blends. *Polym. Eng. Sci.*, **23**, 602-609.
- Vartiainen, J. E. Skytta, J. Enqvist, and R. Ahvenainen. 2003. Properties of Antimicrobial Plastics Containing Traditional Food Preservatives. *Packag. Technol. Sci.*, **16**: 223–229.
- Veenstra, H., P.C.J. Verkooijen, B.J.J. van Lent, J. van Dam, A. P. de Boer, A.P.H.J. Nijhof. 2000. On the mechanical properties of co-continuous polymer blends: experimental and modelling. *Polym.*, **41**, 1817-1826.
- Vermeiren, L., F. devlieghere, and J. Debevere. 2002. Effectiveness of some recent antimicrobial packaging concepts. *Food Add. Cont.*, **19**, 163-171.
- Vermeiren, L., F. Devlieghere, M. van Beest, N. de Kruijf, and J. Debevere. 1999. Developments in the active packaging of foods. *Trends Food Sci. Tech.*, **10**, 77-86.
- Verrier, P. 2005. Plastifiants. *Technique de l'Ingenieurs*, **A 3 231** p.11.
- Viljanmaa, M., A. Södegard, and P. Törmälä. 2002. Lactic acid based polymers as hot adhesives for packaging applications. *Int. J. Adhesion Adhesives.*, **22**, 219-226.
- Vink E.T.H., Rabago K.R., Glassner D.A., Gruber P.R. (2003). Applications of life cycle assessment to NatureWorks™ polylactide (PLA) production. *Polym. Deg. Stab.*, **80**, 403-419.
- Wali, A.C., B. V. K. Naidu, N. N. Mallikarjuna, S. R. Sainkar, S. B. Halligudi and T. M. Aminabhavi. 2005. Miscibility of Chitosan–Hydroxyethylcellulose Blends in Aqueous Acetic Acid Solutions at 35°C. *J. Appl. Polym. Sci.*, **96**, 1996–1998.
- Wang H., Sun X., Seib P. 2001. Strengthening blends of poly(lactic acid) and starch with methylenediphenyl diisocyanate. *J. Appl. Polym. Sci.*, **82**, 1761-1767.
- Wang H., Sun X., Seib P. 2002a. Mechanical properties of poly(lactic acid) and wheat starch blends with methylenediphenyl diisocyanate. *J. Appl. Polym. Sci.*, **84**, 1257-1262.
- Wang H., Sun X., Seib P. 2002b. Effects of starch moisture on properties of wheat starch/poly(lactic acid) blend containing methylenediphenyl diisocyanate. *J. Polym. Env.*, **10(4)**, 133-138.
- Wang, G.-H. 1992. Inhibition and inactivation of five species of foodborne pathogens by chitosan. *J. Food Protect.* **55**, 916-919
- Wang, H., X. Sun, and P. Seib. 2001. Strengthening blends of poly(lactic acid) and starch with methylenediphenyl diisocyanate. *J. Appl. Polym. Sci.*, **82**, 1761-1767.
- Wang, L., W. Ma, R. A. Gross and S.P. McCarthy. 1998. Reactive compatibilization of biodegradable blends of poly(lactic acid) and poly(ϵ -caprolactone). *Polym. Deg. Stab.* **59**, 161-168.

- Wellinghoff, S. 1995 . Chlorine dioxide generating polymer packaging films US Patent: 360 5, 609.
- Weng YM, Hotchkiss JH. 1992. Inhibition of surface molds on cheese by polyethylene film containing the antimycotic imazalil. *J Food Prot.*, **55**(5):367-9.
- Weng YM, Hotchkiss JH. 1993. Anhydrides as antimycotic agents added to polyethylene films for food packaging. *Packag Technol Sci.*, **6**(3):123-8.
- Wiles, J.L., P.J. Vergano, F.H. Bunn, and R.F. Testin. 2000. Water vapor transmission rates and sorption behavior of chitosan films. *J. Food Sci.*, **65**, 1175-1179.
- Willemsse, R.C, A. Speijer, A.E. Langeraar and A. Posthuma de Boer. 1999. Tensile Moduli of co-continuous polymer blends. *Polym.* **40**, 6645-6650.
- Wong, D.W.S., F.A. Gastineau, K.A. Gregorski, S.J. Tillin, and A.E. Pavlath. 1992. Chitosan-lipids films: microstructure and surface energy. *J. Agric. Food Chem.* **40**, 540-544.
- Wu, T., S. Zivanovic, F. A. Draughon, W. S. Conway, And C. E. Sams. 2005. Physicochemical Properties and Bioactivity of Fungal Chitin and Chitosan. *J. Agric. Food. Chem.*, **53**, 3888-3894.
- Wu, Y., J. W. Rhim, C.L. Weller, F. Hamouz, S. Cuppet and M. Schnepf. 2000. Moisture loss and lipid oxidation for precooked beef patties stored in edible coating and films. *J. Food Sci.*, **65**, 300-304
- Xie, W., P. Xu, W. Wang and Q. Liu. 2002. Preparation and antimicrobial activity of water-soluble chitosan derivative. *Carbohydr. Polym.*, **50**, 35-40.
- Xu, Y.X., K.M. Kim, M.A. Hanna, and D. Nag. 2005. Chitosan–starch composite film: preparation and characterization. *Ind. Crops Prod.*, **21**, 185–192
- Yan, X.-L., E. Khor, L.-Y. Lim. 2001. Chitosan-Alginate Films Prepared with Chitosans of Different Molecular Weights. *J. Biomed. Mater. Res. (Appl. Biomater.)*, **58**, 358–365.
- Yang, M.-C., and W.-C. Lin. 2002. The grafting of chitosan oligomer to polysulfone membrane via ozone-treatment and its effect on anti-bacterial activity. *J. Polym. Res.*, **9**, 135-140.
- Yang, B.Y. & Montgomery, R. 2000. Degree of acetylation of heteropolysaccharides. *Carbohydr. Res.*, **323**, 156-162.
- Yazdani-Pedram, M., A. Lagos, and P.J. Retuert. 2002. Study of the effect of reaction variables on grafting of polyacrylamide onto chitosan. *Polym. Bull.*, **48**, 93-98.
- Yin, J., K. Luo, X. Chen, V.V. Khutoryanskiy. 2005. Miscibility studies of the blends of chitosan with some cellulose ethers. *Carbohydr. Polym.*, **63**, 238-244.
- Zang, X and E. Ruckenstein. 1996. Control of pore sizes in macroporous chitosan and chitin. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **35**, 4169-4175.
- Zentz, F., L. Bédouet, M.J. Almeida, C. Milet, E. Lopez, and M. Giraud. 2001. Characterization and quantification of chitosan extracted from nacre of the abalone *Haliotis tuberculata* and the oyster *Pinctada maxima*. *Marine Biotech.*, **3**, 36-44.
- Zhai, M., L. Zhao, F. Yoshii and T. Kume. 2004. Study on antibacterial starch/chitosan blend film formed under the action of irradiation. *Carbohydr. Polym.*, **57**, 83–88

- Zhang, D and P. C. Quantick. 1997. Effects of chitosan coating on enzymatic browning and decay during postharvest storage of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit. *Postharv. Biol. Tech.* **12**, 195-202.
- Zhang, M.; Li, X.H.; Gong, Y.D.; Zhao, N.M.; Zhang, X.F. 2002. Properties and biocompatibility of chitosan films modified by blending with PEG. *Biomat.*, **23**, 2641-2648.
- Zheng, L.-Y. and J.-F. Zhu. 2003. Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights. *Carbohydr. Polym.*, **54**, 527-530.
- Zivanovic, S., S. Chi, and A.E. Draughon. 2005. Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. *J. Food Sci.*, **70** (1), 45-51.

TITRE

Développement de Films Biodégradables a base de Chitosane: Etudes du Mélange Chitosane/PLA, de la Plastification et de la Compatibilisation.

RESUME

Il est bien connu que le chitosane possède des activités bactériostatique et fongistatique. Donc, il peut être utilisé en tant que le matériau d'emballage actif. Cependant, les applications des films à base de chitosane restent limitées à cause de son caractère hydrophile et sa faible élasticité. Ce travail de thèse consiste à améliorer les propriétés barrière à la vapeur d'eau et l'élasticité du chitosane. Des mélanges du chitosane/ poly (acide lactique) (PLA) ont été préparés par la méthode « casting » sans et avec le 4,4'- méthylènebis(phénylisocyanate) (MDI). L'efficacité d'incorporation du PLA pour améliorer la barrière à la vapeur d'eau du chitosane a été confirmée. De plus, l'utilisation de MDI a pu augmenter la compatibilité entre le chitosane et le PLA, confirmée par spectroscopie IR-TF, DSC et MEB. Les propriétés élastiques du chitosane sont améliorés par plastification avec quatre plastifiants: glycérol (GLY), éthylène glycol (EG), propylène glycol (PG) et poly(éthylène glycol) (PEG). Parmi eux, GLY et PEG sont des plastifiants les plus efficaces pour le chitosane. Ces deux plastifiants ont montré une bonne stabilité pendant le stockage et une bonne efficacité pour augmenter l'élasticité du chitosane.

Mots clés : chitosane, poly(acide lactique), film biodégradable, emballage biodégradable, plastification, mélanges de polymères, compatibilisation.

TITLE

Development of Biodegradable Films based on Chitosan: Study on Chitosan/PLA Blends, Plasticization, and Compatibilization.

ABSTRACT

It is well-known that chitosan has bacteriostatic and fungistatic activities. Thus, it can be used as active packaging material. However, the applications of films based on chitosane are limited because of its water sensitivity and its inelasticity. Our works consist in improving of the water vapor barrier and the elasticity of chitosan. The blends between the chitosane and the poly (acid lactic) (PLA) were prepared by the method “casting” without and with methylenediphenyl diisocyanate (MDI). The effectiveness of incorporation of the PLA to improve the water vapor barrier of the chitosan was confirmed. Moreover, the use of MDI could increase compatibility between the chitosan and the PLA, confirmed by FTIR spectroscopy, DSC analysis, and morphological observation with SEM. The elastic properties of the chitosane are improved by plasticization with four plasticizers: glycerol (GLY), ethylene glycol (EG), propylene glycol (PG) and poly (ethylene glycol) (PEG). Among them, GLY and PEG are the most effective plasticizers for the chitosane. Both GLY and PEG showed a good stability during storage and a good effectiveness to increase the elasticity of the chitosane.

Keywords: chitosan, poly(lactic acid), biodegradable film, biodegradable packaging, plasticization, polymer blend, compatibilization.