

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE

CHAPITRE I : magadiite

I- HISTORIQUE :

I-1 CARACTERISATIONS DE LA MAGADIITE :

I-1-1 Diffraction de rayons x

I-1-2 Microscopie électronique à balayage

I-1-3 Spectroscopie infrarouge

I-2 SYNTHÈSE DES POLYSILICATES LAMELLAIRES

I-3 STRUCTURE ET COMPOSITION DES POLYSILICATES LAMELLAIRES :

I-3-1 Classification des polysilicates lamellaires

I-3-1-1 Classification des polysilicates lamellaires dans le système de Liebau

I-3-1-2 Classification des polysilicates lamellaires selon le type de feuillet

I-4 FORMULE CHIMIQUE DES POLYSILICATES LAMELLAIRES

I-5 MODELES STRUCTURAUX DE LA MAGADIITE

I-6 CAPACITE D'ECHANGE CATIONIQUE (CEC)

I-7 PROPRIETE D'ECHANGE IONIQUE

I-8 PROPRIETE D'INTERCALATION

I-9 REACTION DE GREFFAGE

I-10 TRANSFORMATION DE LA MAGADIITE

I-11 APPLICATION DES POLYSILICATES LAMELLAIRES :

I-11-1 Application environnementales

I-11-2 Catalyse

I-12 MATERIAUX COMPOSITES ANTIBACTERIENS :

I-12-1 Introduction

I-12-2 Différents types des matériaux composites antibactériens

Références bibliographiques

CHAPITRE II : polysaccharides

1- chitosane

II- INTRODUCTION

II-1 CHITOSANE

II-1-1 Historique

II-1-2 Source de chitine et de chitosane

- II-1-3 Chitine et chitosane
- II-1-4 Préparation du chitosane
- II-1-5 Gels de chitosane
- II-1-6 Propriétés du chitosane
 - II-1-6-1 *Degré de désacétylation (DD)*
 - II-1-6-2 *Masse moléculaire(MM)*
 - II-1-6-3 *Cristallinité*
 - II-1-6-4 *Solubilité*
 - II-1-6-5 *Propriétés polyélectrolytes du chitosane en milieu acide*
 - II-1-6-6 *Viscosité*
 - II-1-6-7 *Propriétés physico-chimiques du chitosane*
 - II-1-6-8 *Propriétés biologiques*
- II-1-7 Applications du chitosane
 - II-1-7-1 *Domaine biomédicale et pharmaceutique*
 - II-1-7-2 *Cosmétique*
 - II-1-7-3 *Agroalimentaire*
 - II-1-7-4 *Traitement des eaux*

II-2 INTERCALATION CHITOSANE-MATERIAUX LAMELAIRES :

- II-2-1 Mécanisme d'interaction chitosane-montmorillonite
- II-2-2 Application issues des interactions chitosane-argile

Références bibliographiques

2- alginate

- II-3 HISTORIQUE :
- II-4 SOURCE D'ALGINATE
- II-5 ALGUES :
 - II-5-1 Algues bleues
 - II-5-2 Algues vertes
 - II-5-3 Algues rouges
 - II-5-4 Algues brunes
- II-6 COMPOSITION CHIMIQUE
- II-7 PROPRIETES CHIMIQUES

II-7-1 Masse molaire moyenne

II-7-2 Rapport M/G

II-8 PROPRIETES PHYSIQUES

II-8-1 Solubilité et viscosité

II-8-2 Stabilité

II-9 PRODUCTION D'ALGINATE

II-10 PRINCIPALES APPLICATIONS DES ALGINATES

II-10-1 Application dans le domaine alimentaire

II-10-2 Application dans le domaine textile

II-10-3 Application dans le domaine pharmaceutique

II-10-4 Application dans les techniques de moulage

Références bibliographiques

CHAPITRE III : synthèse et caractérisation

III-1 INTRODUCTION

III-2 SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION DE POLYSACCHARIDES :

III-2-1 Préparation du chitosane :

III-2-1-1-*Mode opératoire*

III-2-2 Caractérisation :

III-2-2-1 *Analyse par diffraction de rayons X :*

III-2-2-2 *Analyse par spectrophotométrie infrarouge (IR) :*

III-2-2-3 *Microscopie électronique à balayage*

III-3 ECHANGE CATIONIQUE DU CHITOSANE AVEC LE CUIVRE ET LE ZINC :

III-3-1 Caractérisation

III-3-1-1 *Analyse par spectroscopie infrarouge*

III-4 PRÉPARATION DES BILLES ALGINATES :

III-4-1 Caractérisation :

III-4-1-1 *Analyse par diffraction de rayon X*

III-4-1-2 *Spectroscopie infrarouge*

III-4-1-3 *Microscopie électronique à balayage*

III-5 COLLAPSE DES BILLES ALGINATE ET CHITOSANE

III-6 SYNTHÈSE DE LA MAGADIITE-Na :

III-6-1 Caractérisation :

III-6-1-1 *Analyse par diffraction de rayons X*

III-6-1-2 *Analyse par spectroscopie infrarouge*

III-7 PROTOCOLE DE L'ÉCHANGE CATIONIQUE DE LA MAGADIITE-Na:

III-7-1 Diffraction de rayons X

III-7-2 Spectroscopie infrarouge

III-8 MATERIAUX COMPOSITES:

III-8-1 Protocole d'encapsulation

III-8-2 Caractérisation par spectroscopie infrarouge

Références bibliographiques

CHAPITRE IV: bactéries

IV-1 BACTERIE :

IV-1-1 Qu'est ce qu'une bactérie

IV-1-2 Etude des bactéries

IV-1-2-1 *Méthode d'étude*

IV-1-3 Antibiotiques

IV-1-4 Tests de sensibilité aux antibiotiques

IV-1-5 Exemple du test antibactérien

IV-2 ESCHERICHIA COLI :

IV-2 -1 Symptômes de l'infection

IV-2 -2 Cycle de vie

IV-2 -3 Épidémiologie

IV-2 -4 Transmission

IV-2 -5 Traitement

IV-3 STAPHYLOCOQUE :

IV-3-1 Définition

IV-3-2 Historique

IV-3-3 Infections staphylococciques

IV-4 TESTS BIOLOGIQUES:

IV-4-1 Protocole

IV-4-2 Antibiotiques témoins utilisés avec la bactérie staphylocoque

IV-4-3 Antibiotiques témoins utilisés avec la bactérie E. Coli

IV-4-4 Matériaux utilisés comme agents antibactériens

IV-4-4-1 *Tests avec S.Aureus*

IV-4-4-2 *Tests avec S.Aureus*

IV-4-5 Discussion des résultats

Références bibliographiques

CONCLUSION.

Introduction générale

Les polysaccharides sont des matériaux d'une importance sans cesse croissante pour l'industrie. Ils ont un impact significatif sur la recherche et le développement dans des domaines aussi variés que la chimie, la biologie, la santé ou encore la protection de l'environnement. Leurs propriétés exceptionnelles expliquent l'engouement pour ces macromolécules naturelles, extraites de différentes origines (marine, végétale ou bactérienne). Il s'est avéré que ces biopolymères à très bon marché, peuvent participer à l'élaboration de nombreux produits commerciaux à haute valeur ajoutée.

Les argiles lamellaires naturelles et synthétiques forment une classe très importante des matériaux catalytiques et adsorbants. La magadiite est un produit appartenant à cette famille, sa structure lui confère des propriétés importantes en termes d'échange ionique et d'adsorption.

Des études antérieures ont montrés que des tests biologiques effectués séparément sur les deux types de matériaux (magadiite et biopolymères) ont donné des résultats encourageants.

Notre travail se situe dans ce contexte et consiste à préparer des échantillons composites à base des deux matériaux magadiite et polysaccharides : afin de tester leur capacités antibactériennes vis-à-vis de deux types de bactéries ; Escherichia coli et le staphylocoque Aureus.

Le premier chapitre présente une bibliographie détaillée sur la magadiite qui présente une structure feuilletée et possède des propriétés d'échange ionique importantes. Cette partie traite aussi les propriétés antibactériennes constatées lors d'utilisation du matériau dans des tests biologiques in vitro.

Le deuxième volet de ce travail décrit avec beaucoup de détails les polysaccharides testés dans cette étude, à savoir le chitosane et l'alginate. Nous présentons les sources potentielles de ces polymères ainsi que les méthodes de leurs extractions et préparations. La versatilité de ces polysaccharides permet leurs utilisations dans différents domaines.

Le troisième chapitre concerne la partie pratique de notre travail. En premier lieu, nous donnons les protocoles de préparation des billes de chitosane et d'alginate, hydrogel et xérogel, et leurs caractérisations par différentes techniques telles que la DRX, IR et MEB.

Dans la même partie nous présentons les méthodes de synthèse de toute une série de matériaux échangés au cuivre et au zinc ainsi que des produits hybrides chitosane-magadiite et alginate-magadiite sous formes de billes et de membranes. Les modes de préparation des composites ainsi que les protocoles d'échange sont détaillés ; les produits obtenus sont caractérisés par DRX et/ou infrarouge.

Dans la dernière partie, nous donnons un aperçu global sur les bactéries et leur mode de vie avant de mettre plus de lumière sur les deux espèces pathogènes étudiées : E.Coli et S.Areus. Des tests antibactériens de tous nos matériaux vis-à-vis des deux bactéries sont effectués en utilisant des souches prélevées directement de patients souffrant des infections pathogènes. Une conclusion générale clôturera cette étude.

Nous pensons que notre étude est une contribution encourageante à mieux comprendre quelques paramètres gérant l'utilisation de ces biomatériaux en domaine biologique. Nos résultats nous ont incités à poser un certain nombre de questions quant à l'efficacité de l'utilisation de telles matrices comme agents antibactériens. Cette étude mérite d'être suivie par l'utilisation d'une gamme plus large de souches bactériennes pathogènes.

Chapitre I:

Magadiite

I-HISTORIQUE :

La magadiite est un silicate naturel rare. Elle a été découverte avec la kenyaite par Eugester [1] dans le lit du lac magadi au Kenya, en 1967. D'autres gisements ont été découverts plus tard dans l'Oregon et en Californie [2]. La magadiite appartient à la famille des polysilicates hydratés comme la makatite (autre minéral découvert dans le lac magadi [3]), la Kanémite, l'octosilicate et la Kenyaite. La structure de ces matériaux, est généralement formée de feuillets silicates séparés par des cations sodium hydratés. Ces cations qui assurent la neutralité électrique de la charpente silicate anionique sont facilement échangeables en solution ; ce qui confère à ces matériaux des propriétés d'échange d'ions et d'interaction remarquables. On notera que chacun de ces matériaux est caractérisé par une composition chimique et une distance interréticulaires (d_{001}) spécifique (cette distance est comprise, suivant la nature du matériau, entre 0.9 et 2 nm) (Voir tableau I-1). Parmi les membres de cette famille, seule la structure de la makatite est connue avec précision, elle a été résolue par les méthodes de diffraction de rayons X conventionnelles en 1980 par Annehed et al. [4, 5]. Depuis, l'utilisation des techniques d'analyse de plus en plus performantes telles que la résonance magnétique nucléaire du solide à haute résolution avec rotation à l'angle magique (RMN), des modèles de structures ont alors été proposés [6-10]. L'utilisation de la méthode de Rietveld a permis la résolution des structures de la kanémite et du matériau RUB-18 (octosilicate ou encore ilerite) [11] à partir des diffractogramme de rayons X sur poudre.

Tableau I-1 : Compositions chimiques et distances interréticulaires des polysilicates :

Silicate	Formule pour 1 Na ₂ O	Distance interréticulaires d_{001} (Å)	I-1 CAR ACT ERIS ATI ONS DE LA
Makatite	Na ₂ O.4SiO ₂ .5H ₂ O	9.03	
kanémite	Na ₂ O.4SiO ₂ .7H ₂ O	10.3	
octosilicate	Na ₂ O.8SiO ₂	11.0	
magadiite	Na₂O.14SiO₂.10H₂O	15.6	
kenyaite	Na ₂ .22SiO ₂ .10H ₂ O	20.0	

MAGADIITE :**I-1-1 Diffraction de rayons x :**

Le diffractogramme de rayons X sur poudre de la magadiite a été indexé pour la première fois dans le système hexagonal avec $a=b=12.62\text{Å}$ et $c=15.573\text{Å}$ (Eugester et al, 1967) [1]. En 1968, Mc-Atee et al. [2] recalculèrent les paramètres de maille à partir des données de diffraction électronique et indexèrent le diagramme de poudre de la magadiite dans le système monoclinique avec $a=7.22\text{Å}$, $b=15.70\text{Å}$, $c=6.91\text{Å}$ et $\beta=95,27^\circ$

Le réexamen de ces données de diffraction électronique par Brindly [12] en 1969 a conduit aux paramètres suivants : symétrie monoclinique, $a=b=7.25\text{Å}$, $c=15.69\text{Å}$, $\beta=96,8^\circ$ ($d_{001}=15.58\text{Å}$).

Brindly[12] remarqua que la structure de la magadiite s'effondre sous vide et forme un nouveau matériau appelé H-magadiite avec $d_{001}=13,5\text{Å}$. Ce matériau, dont la structure est

beaucoup moins régulière que celle de la magadiite-Na, a été aussi indexé dans le système monoclinique avec $a=b=7.3 \text{ \AA}$, $c=13.73 \text{ \AA}$ et $\beta=100.5^\circ$.

La calcination de la magadiite-Na à 400°C conduit à des structures beaucoup moins régulières, avec des distances interréticulaires d_{001} de l'ordre de 10.77 \AA . à 700°C , ce matériau se transforme en quartz.

I-1-2 Microscopie électronique à balayage :

La magadiite cristallise sous forme d'agrégat sphériques très denses et ressemblant à des « choux », avec en général une distribution inhomogène de leur taille (de 3.8 à $16.9 \mu\text{m}$ environ) [13]. Les petites dimensions des entités individuelles (cristaux) n'ont pas permis une résolution complète de la structure par les méthodes de diffraction de rayons X conventionnelles.

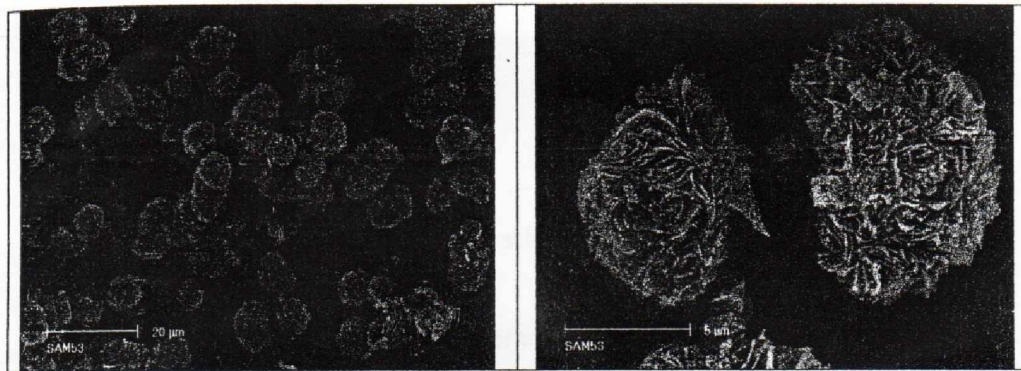


Figure I-1-3 : Clichés de Microscopie électronique à balayage de la magadiite-Na

I-1-3 Spectroscopie infrarouge :

En plus des vibrations internes et externes des tétraèdres SiO_4 communes à tous les polysilicates de cette famille, la magadiite se distingue par la présence de trois bandes de vibrations spécifiques à 620 , 580 et 540 cm^{-1} , attribuées aux vibrations des doubles cycles à six tétraèdres [14]. Un spectre infrarouge type de la magadiite-Na a été donné par Kosuge et Tsunashima [14].

I-2 SYNTHÈSE DES POLYSILICATES LAMELLAIRES :

Les polysilicates lamellaires peuvent être synthétisés au laboratoire en utilisant un procédé hydrothermal. La première synthèse effectuée est celle de l'octosilicate de sodium qui a été réalisée par Mc Culloch en 1952 [15]. Elle a été préparée en mélangeant 15 moles de gel de silice, 3,6 moles d'hydroxyde de sodium et 30 moles d'eau. Le gel est placé dans une ampoule en pyrex scellée puis chauffé à 100°C pendant quatre semaines. Le même auteur a réussi aussi la synthèse de la magadiite et de la kenyaite avant même leur découverte en tant que minéraux naturels [16]. Lagaly a procédé à la synthèse de la magadiite en 1975 [17]. Ainsi, il a préparé un mélange de 9 moles de gel de silice, 2 moles d'hydroxyde de sodium et 75 moles d'eau, le mélange a été chauffé à 100°C pendant quatre semaines.

Ce procédé hydrothermal est toujours très connu de nos jours pour la synthèse des polysilicates. Par contre les conditions expérimentales ont été modifiées de façon à réduire le temps de réaction. Ainsi, la magadiite a été obtenue après seulement une journée de cristallisation [18], c'est en augmentant la température de la réaction que le temps peut être considérablement réduit [19-25].

La cristallisation des silicates lamellaires en utilisant des solvants organiques comme agents structurants a été rapporté dans la littérature [16, 26-27]. Schwieger et al, ont préparé la kenyaite, en utilisant le chlorure de poly (diéthylallylammonium) comme template [16, 28]. Plusieurs auteurs ont préparé la magadiite en utilisant des agents structurants différents pour obtenir une cristallinité meilleure et des propriétés plus performantes [29-31].

I-3 STRUCTURE ET COMPOSITION DES POLYSILICATES LAMELLAIRES :

I-3-1 Classification des polysilicates lamellaires :

I-3-1-1 Classification des polysilicates lamellaires dans le système de Liebau : Liebau [32] a donné la structure et la classification des silicates en feuillets par rapport aux autres matériaux siliciques et alumino-siliciques. Une telle classification est donnée dans le tableau I-2. Les silicates en feuillets appartiennent au groupe des phyllosilicates (bidimensionnel) et diffèrent entre eux par la structure du complexe anionique (l'unité qui se répète dans l'espace pour former le cristal ou périodicité) et par le nombre d'atomes d'oxygène pontant.

Tableau I-2 : Classification des structures cristallines des polysilicates lamellaires dans le système de Liebau.

Dimension de la structure	Structure de silicates	Rapport O/Si	Complexe anionique	Nombre oxygène pontant
2	Kanemite	2.5	$[\text{Si}_4\text{O}_{10}]^{4-}$	3
	Octosilicate	2.25	$[\text{Si}_8\text{O}_{18}]^{4-}$	3.5
	Magadiite	2.17	$[\text{Si}_{12}\text{O}_{26}]^{4-}$	3.67
	Kenyaite	2.1	$[\text{Si}_{20}\text{O}_{42}]^{4-}$	3.8

I-3-1-2 Classification des polysilicates lamellaires selon le type de feuillet :

Les silicates lamellaires sont classés en deux catégories. Les silicates lamellaires simples et les silicates lamellaires à couches multiples. Ces derniers diffèrent des premiers par l'épaisseur du feuillet silicate [33, 34-38], la classification est donnée dans le tableau I-3.

Tableau I-3 : Classification des silicates suivant le type de feuillet

Type de silicates en feuillet	Nom	Composition	Structure
Simple	Kanemite Makatite Salinait KHSi ₂ O ₅ Li ₂ Si ₂ O ₅ Rb ₂ Si ₂ O ₅ K _{1.33} Na _{0.67} Si ₂ O ₅	NaHSi ₂ O ₅ , 3H ₂ O Na ₂ H ₂ Si ₄ O ₁₀ , 4H ₂ O NaLiSi ₂ O ₅ , 2H ₂ O KHSi ₂ O ₅ Li ₂ Si ₂ O ₅ Rb ₂ Si ₂ O ₅ K _{1.33} Na _{0.67} Si ₂ O ₅	6-MR 6-MR 6-MR 6-MR 6-MR 4-, 6-, 12- 4-, 6-, 8-MR
	CsHSi ₃ O ₇	CsHSi ₃ O ₇	4-, 6-MR
Multiple	Octosilicate Magadiite Kenyaite HLS AMH-3	Na ₈ Si ₃₂ O ₆₈ , 36H ₂ O Na ₂ Si ₁₄ O ₂₉ , 11H ₂ O Na ₂ Si ₂₂ O ₄₅ , 10H ₂ O (NMe ₄) ₂ Na ₂ [Si ₁₀ O ₂₀ (OH) ₄], 5.53H ₂ O Na ₈ Sr ₈ Si ₃₂ O ₇₆ , 16H ₂ O	4-, 5-, 8-MR 5-, 6-MR 5-, 6-MR 4-MR 4-, 8-MR

La magadiite est constituée donc de feuillets silicate à couches multiples [16]. Ces derniers sont formés par l'agencement dans l'espace de cycles à 5 (5-MR) et à 6 (6-MR) tétraèdres.

I-4 FORMULE CHIMIQUE DES POLYSILICATES LAMELLAIRES:

La série des polysilicates lamellaires d'hydrates de sodium, appelés communément silicates en feuillets, ont pour formule générale : Na₂O (4-22) SiO₂ (5-10) H₂O [33, 39-41]. Le tableau I-4 donne les formules chimiques de ces matériaux.

Tableau I-4 : formule chimique des polysilicates

Polysilicates lamellaires	Formule chimique
Kanemite	NaHSi ₂ O ₅ ·3H ₂ O
Makatite	Na ₂ Si ₄ O ₁₀ ·5H ₂ O
Octosilicate	Na ₂ Si ₈ O ₁₇ ·11H ₂ O
Magadiite	Na₂Si₁₄O₂₉·11H₂O
Silhydrite	3 SiO ₂ ·H ₂ O
Kenyaite	Na ₂ Si ₂₂ O ₄₅ ·10H ₂ O

En termes simples, ces matériaux se composent de couches de silicate séparées par les ions sodium [42-44], comme schématisées sur la figure I-1

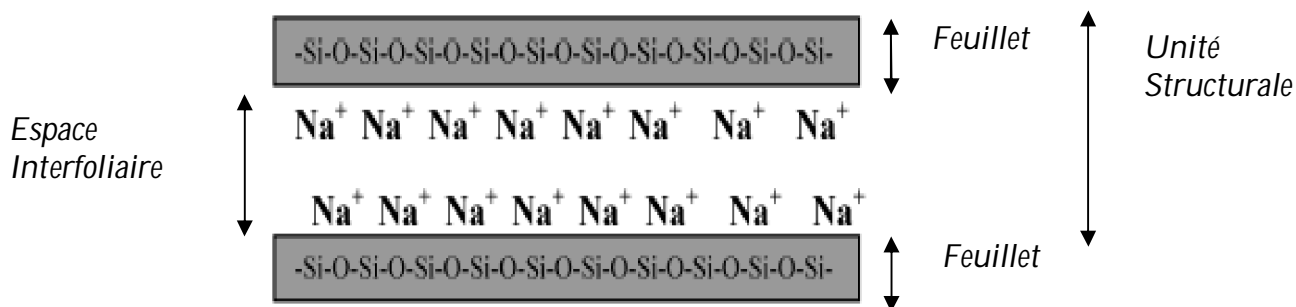


Figure I-4 : Représentation de l'unité structurale de polysilicates lamellaires.

Jusqu'à présent, seules les structures de la makatite, la kanémite et l'octosilicate ont été résolues [45, 46]. Toutefois celles de la magadiite et de la kenyaite ne sont pas connues avec précision. Ainsi, plusieurs modèles de structures ont été proposés pour expliquer les propriétés de ces matériaux [16]. Ceux concernant le matériau de type magadiite-Na sont résumés dans le Tableau I-5.

I-5 MODELES STRUCTURAUX DE LA MAGADIITE :

Le modèle de schwieger est basé sur les résultats de l'analyse par résonance magnétique nucléaire RMN RAM ^{29}Si du solide et sur la structure de la makatite [21]. Il suggère que le feuillet silicate de la magadiite est un feuillet multiple composé de trois feuillets makatite reliés entre eux. L'espacement basal calculé pour la magadiite sur la base de ce modèle a une valeur de 19.14 Å. Celle-ci est supérieure à la valeur expérimentale de 15.6 Å observée pour ce matériau. Ce qui montre l'invalidité de ce modèle pour l'étude de ce matériau.

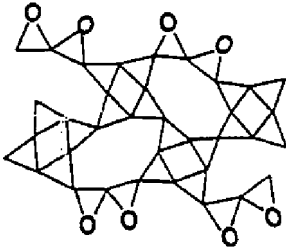
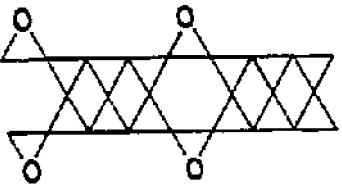
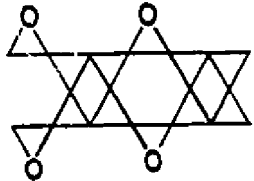
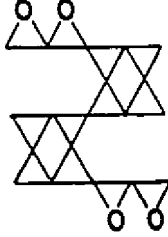
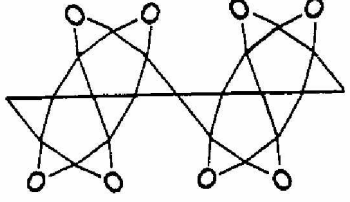
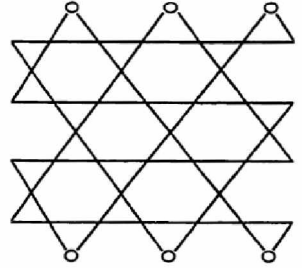
Le modèle de Pinnavaia [22] est basé aussi sur les résultats de la RMN RAM ^{29}Si . Il suggère que les feuillets silicate de la magadiite se composent de couches constituées d'un feuillet double de tétraèdres de type Q^4 ($\text{Si}(\text{OSi})_4$) dont 25 % d'entre eux sont inversés pour former des tétraèdres de type Q^3 ($\text{HOSi}(\text{OSi})_3$). Ce modèle, est en accord avec le rapport $Q^4 : Q^3$ égale à trois mesuré par RMN RAM ^{29}Si .

Le modèle de Rojo et al [23, 24] ressemble beaucoup à celui proposé par Pinnavaia et col. La seule différence entre les deux modèles est que la magadiite utilisée par Rojo est naturelle alors que celle de Pinnavaia est synthétique.

Ce modèle, proposé par rojo et al, est une variante de celui proposé par Schwieger qui stipule que la magadiite est composée de trois feuillets de makatite reliés entre eux. La RMN RAM ^{29}Si a donné aussi un rapport $Q^4 : Q^3$ de 2 : 1 ; cependant, comme dans le cas du modèle de Schwieger, l'espacement basal calculé à partir de ce modèle est encore une fois supérieur à celui obtenu expérimentalement pour la magadiite.

Parmi les six modèles proposés (tableau I-5) pour la magadiite, c'est celui de Pinnavaia qui semble être le plus compatible avec les données expérimentales obtenues jusqu'à maintenant. Il faut toutefois retenir que les informations présentées ne sont pas suffisantes pour déterminer avec une certitude absolue la structure de la magadiite. La structure de la magadiite ne repose donc, encore, que sur des hypothèses.

Tableau I-5 : Modèles de structure proposés pour la magadiite

	Modèle de Schweiger (1985) [21]
	Modèle de Pinnavaia (1986) [22]
	Modèle de Rojo (1986) [23, 24]
	Modèle de Brandt (1987) [25]
	Modèle de Garces (1988) [26]
	Modèle d'Almond (1997) [27]

I-6 CAPACITE D'ÉCHANGE CATIONIQUE (CEC) :

La capacité d'échange cationique (CEC) mesure la capacité d'un matériau à échanger des cations et dépend de la charge totale (charge de surface et structurale). La CEC est fonction du pH et elle est donnée généralement pour un pH neutre.

La détermination de la CEC de la magadiite a été effectuée par plusieurs auteurs [16, 17, 47-48]. Un échantillon peut être saturé avec un cation en le mélangeant dans une solution de chlorure de baryum ou du chlorure de magnésium. Les cations qui se trouvaient dans la couche diffuse vont être échangés et seuls les cations ajoutés seront fixés. On mesure ensuite la quantité de cations libérés.

Les valeurs de CEC (meq/100g) pour quelques matériaux sont données dans le tableau I-6, on constate que la magadiite-Na possède une capacité d'échange cationique intéressante par rapport aux matériaux argileux [16, 49].

Tableau I-6 : valeurs de capacité d'échange cationique de quelques matériaux.

Matériaux	CEC (mEq/100g)
Magadiite	80-200
Montmorillonite	60-150
Vermiculites	120-200
Illites	10-40
Kaolinites	3-15
Chlorite	10-40

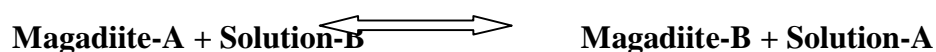
I-7 PROPRIETE D'ECHANGE IONIQUE :

Ce type de réaction concerne l'échange des cations interlamellaires des polysilicates en feuillets tels que la magadiite avec d'autres cations comme les protons, les cations organiques de type alkylammonium, les alcalins et alcalino-terreux (magnésium, calcium, et potassium) et les métaux (platine, cobalt, europium, argent). L'échange ionique des ions sodium de la magadiite avec les protons, pour former l'acide silicique correspondant, ont été parmi les premières réactions de ce genre effectuées sur les polysilicates lamellaires [15]. D'autre part, différents types de cations de type alkylammonium, triméthylalkylammonium, diméthylalkylammonium et dérivés d'alkylpyridinium ont été insérés dans l'espace interlamellaire de la magadiite par échange cationique [50-57].

I-8 PROPRIETE D'INTERCALATION :

L'intercalation est l'insertion réversible d'une substance étrangère entre les feuillets d'un solide lamellaire de telle sorte que la structure de celui-ci soit maintenue.

Des travaux sur l'intercalation des molécules organiques telles que les amines, les ions alkylammonium et les polymères dans l'espace interlamellaire des polysilicates en feuillets ont été rapportés dans la littérature [60]. L'intercalation de la molécule invitée dans l'espace interfoliaire du matériau se fait soit par une méthode directe soit par une méthode indirecte (intercalation préalable d'un agent organique gonflant suivie du remplacement de celui-ci par la molécule désirée). L'intercalation est représentée par la réaction suivante :



L'intercalation indirecte est une étape essentielle pour la réaction de greffage de différents composés puisqu'elle a comme effet principal de rendre la région interlamellaire organophile et facilite donc l'entrée de molécules organiques. De plus l'expansion qu'elle entraîne rend les groupements hydroxyles

plus accessibles pour une réaction ultérieure. L'expansion peut facilement être suivie par diffraction des rayons X. Ce type de réaction a tout d'abord été effectué sur la kaolinite en 1961 où l'acétate de potassium et l'urée ont été utilisés comme agents de gonflements [61, 62].

Les premières études sur l'intercalation de composés organiques dans l'espace interfoliaire des polysilicates en feuillets ont été effectuées par Lagaly et Beneke [15] sur l'acide silicique de la magadiite (magadiite-H). Depuis, plus d'une centaine de molécules organiques différentes ont été intercalées dans les espaces interfoliaires de la magadiite-Na et de magadiite-H. Pour la magadiite-H, les molécules utilisées comme agent facilitant l'intercalation (agent gonflant) sont le N-méthylformamide (NMF) qui entraîne une augmentation de l'espacement basal de 11,2 Å à 15,9 Å et le diméthylsulfoxyde (DMSO) qui donne un espacement basal de 15,6 Å.

Pour la magadiite-Na, les molécules utilisées comme intermédiaire pour la préparation de matériaux nanocomposites sont les cations organiques volumineux tels que les ions alkylammonium, alkyltriméthylammonium et N-cetylpyridinium (CP) [63]. Ce type de cations ou molécules peut-être intercalé en monocouche ou en multicouches soit parallèlement aux feuillets silicate, soit perpendiculairement à ceux-ci.

I-9 REACTION DE GREFFAGE :

Les polysilicates en feuillets tels que la magadiite contiennent dans leurs espaces interfoliaires des groupements silanols terminaux très réactifs [16]. Une réaction de greffage consiste en la formation d'une liaison covalente entre les fonctions silanols de magadiite-H et divers composés organiques pour former des composés intercalés. Les premières réactions de greffage avec la magadiite-H ont été effectuées avec différents types d'organosilanes. Ainsi dans les années 1980, Ruiz-Hitzky a réussi à greffer des molécules de type triméthylchlorosilane ((CH₃)₃Si-Cl), hexaméthylidisilane ((CH₃)₃Si)₂NH), hexaéthyl disilane ((CH₃CH₂)₃Si)₂NH) et du chloro méthyl diméthylchlorosilane (ClCH₂(CH₃)₂Si-Cl) [64, 66]. En effet, les groupements silanols rendus accessibles par l'intercalation préalable du NMF ou du DMSO réagissent avec les organosilanes dans une solution de dioxane portée au reflux [67, 68].

I-10 TRANSFORMATION DE LA MAGADIITE :

En étudiant l'effet des rapports relatifs des différents réactifs utilisés dans la synthèse de la magadiite ainsi que l'influence du pH, du temps et température de réaction, les chercheurs ont pu observer qu'il existe une relation entre la formation de la magadiite, de la kenyaite et du quartz. Effectivement, le quartz naturel est considéré comme étant formé à partir d'une solution saturée d'acide silicique ou de silice amorphe sur une période de temps très longue (des centaines d'années) et à des températures d'environ 100°C. Plusieurs études de la cristallisation de la silice amorphe en solution ont mené à la conclusion que la magadiite est un précurseur de la kenyaite [60]. Ces résultats expérimentaux sont présentés sous la forme suivante :

Solution de silicates → Magadiite → Kenyaite → quartz

I-11 APPLICATION DES POLYSILICATES LAMELLAIRES :

L'intercalation ou le greffage de composés dans les espaces interlamellaires des polysilicates lamellaires donne lieu à la formation de nombreux matériaux utiles, utilisables dans les domaines de l'environnement (adsorbant des polluants), de la catalyse (craquage dans l'industrie du pétrole : transformations des hydrocarbures dans le processus de raffinage du pétrole et d'autres procédés caractéristiques de la pétrochimie), de l'adsorption et dans d'autres domaines tels que : pharmacie, céramique, peinture, polymères, support de catalyseurs et processus de séparation des gaz..

Cependant, beaucoup de silicates lamellaires ont été également utilisés comme précurseurs pour la synthèse des tamis moléculaires tel que énuméré dans le tableau I-7 [69, 70]. Ces silicates lamellaires incluent la magadiite, kanemite et l'octosilicate. Des co-phases ont été aussi utilisées dans la synthèse de ZSM-11 et de ZSM-5 [71, 72]. Zones et al ont également montré que la magadiite était une phase intermédiaire dans la synthèse de ZSM-12 et ZSM-23 [73]. Les exemples des zéolithes synthétiques faites à partir des silicates lamellaires incluent la ZSM-5, ZSM-11, ZSM-12, ZSM-35, ZSM-39, ZSM-48, EU-2, FU-1, SSZ-15, ferrierite, mordenite, silicate-1 et silicate-[74, 75]. La kanemite et la magadiite ont été les précurseurs de zéolithes les plus étudiées.

Tableau I-7 : matériaux mésoporeux et microporeux à partir de silicates lamellaires.

Matériaux synthétisés	Silicates utilisés	Références
FSM-16	Kanemite	[76,77]
MCM-41	Magadiite	[78]
ZSM-5	Octosilicates	[79, 80]
ZSM-11	Kanemite	[81, 82]
ZSM-12	Magadiite	[81, 82]
ZSM-35	Magadiite	[81, 82]
ZSM-39	Magadiite	[81,82]
ZSM-48	Magadiite	[81,82]
EU-2	Magadiite	[81,82]
FU-1	Magadiite	[81,82]
Ferrierite	Magadiite	[83]
Silicalite-1	Kanemite	[84, 85]
Silicalite-2	Kanemite	[84]
Mordenite	Kanemite/ Magadiite	[75, 83]

I-11-1 Application environnementales :

Durant les dernières décennies, l'environnement a subi de nombreuses pollutions dues à des tests ou des accidents nucléaires, (accident de Chernobyl), à des guerres et à des rejets de déchets industriels. La pollution se retrouve dans les eaux, l'air, les sols et les sédiments. Une des causes principales de la dégradation de l'environnement est la présence des métaux lourds et des déchets nucléaires. Ainsi durant les dernières décennies de nombreux nouveaux composés organique-inorganiques à base de matériaux en feuillets argileux et silicates ont été mis au point pour la réduction des polluants tels que les métaux lourds [86, 87], les dioxines [88] et les composés aromatiques.

I-11-2 Catalyse :

La catalyse hétérogène est utilisée dans de nombreux domaines d'applications de l'industrie chimique. Les catalyseurs solides les plus largement utilisés sont de type aluminosilicates et des oxydes métalliques [89]. Les polysilicates lamellaires constituent une classe de solides poreux moins importants dans le domaine de la catalyse hétérogène. Par contre, les polysilicates acidifiés tels que la magadiite-H et la kenyaite-H sont utilisés dans la transformation d'hydrocarbure [90]. La grande utilisation des polysilicates dans la catalyse est sous forme pontée. Ces composés ont des propriétés acides remarquables et une sélectivité intéressante que donne leur structure poreuse ainsi que leur surface spécifique [16].

I-12 MATERIAUX COMPOSITES ANTIBACTERIENS :**I-12-1 Introduction :**

Durant ces dernières années, la synthèse de matériaux avec une activité antibactérienne a apporté un grand intérêt pour des chercheurs en raison du souci mondial concernant la santé publique [91]. Les argiles sont généralement les matériaux les plus utilisées dans la préparation des matériaux composites antibactériens [92]. En effet, les cations de compensation présents dans l'espace interfoliaire peuvent être échangés par des ions pouvant générer une activité antibactérienne. Ceci a pour résultat la naissance d'une nouvelle famille de matériaux composites antibactériens [93].

Les polysilicates lamellaires tels que la magadiite possèdent aussi des propriétés d'échange cationique et d'intercalation remarquable qui leur permettent sans aucun doute de développer une nouvelle famille de matériaux antibactériens inédits.

I-12-2 Différents types des matériaux composites antibactériens :

Les matériaux composites antibactériens se divisent en deux grandes catégories : les composites antibactériens inorganique-inorganiques et les matériaux composites organique-inorganiques. La plupart des matériaux composites antibactériens inorganique-inorganiques utilisent des cations inorganiques possédant une activité antibactérienne potentielle connues tels que les métaux lourds de type Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ce^{3+} [94-96].

Les matériaux antibactériens composites organique-inorganiques utilisent des cations ou des molécules organiques, antibiotique ou non (pouvant générer une activité antibactérienne), tels que le Norfloxacin, le 1,4-diazobicyclo[2.2.2]octane (DABCO), le Quinuclidinol et le Chlorhexidini Acetas (AC) [97].

Le tableau I-8 donne quelques exemples de matériaux composites antibactériens. On notera que grâce à leurs importantes propriétés, les argiles de type montmorillonite constituent l'une des classes de matériaux les plus utilisés dans la préparation de solides composites antibactériens.

Tableau I-8: Représentation des matériaux utilisés ainsi que les agents antibactériens échangés ou intercalés et les bactéries utilisées.

Matériaux utilisés	Agents antibactériens échangés ou intercalés	Bactéries Utilisées	Références
Montmorillonite	Chlorhexidini Acetas	Escherichia coli	[94]
	Cetylpyridinium	Escherichia coli	[98] [99]
	Cuivre (Cu) Argent (Ag) Zinc (Zn), Cerium (Ce)	Escherichia coli Escherichia coli Staphylocoques aureus, Candida	[100] [101] [102] [103] [104]
	Calcium (Ca)	albicans, et Mucor	[105]
	hexadecyltrimethylammonium (HDTMA)	Salmonella enteritidis	[98]
	cetyldimethylethylammonium (CDEA)	Salmonella Enteritidis	[98]
Mica	Norfoloxacine 1,4diazobicyclo [2.2.2] octane Quinuclidinole Argent (Ag)	Escherichia coli, et Staphylocoques aureus	[106]
Palygorskite	Argent (Ag) Cuivre (Cu)	E. Coli Staphylocoques aureus	[107]

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

- [1] Eugster.H.B, Science 157, **1967**, 1177.
- [2] Mcatee.J.L, House.R. et Eugster.H.B. Am. Miner, 53, **1968**, 2061.
- [3] Sheppard.R.A et Guide.A.J. Am. Miner. 55, **1970**,358.
- [4] Annehed.H et Falth.L. 5th International Conference on zeolites, Napoli, Recent Progress Reports and Discussion, Edited by Sersale, C.Collela and Aiello,R, Giannini-Napoli, **1980**, p.5.
- [5] Annehed.H, Falth.L et Lincoln.F.J et Kristallogr.Z. 159,**1982**,203.
- [6] Schwieger.W, Heideman.D et Bergk.K.H. REV. Chim Miner. 22, **1985**,639.
- [7]Pinnavaia.T.J, Johnson.T.DetLipsicas.A.J.SolideStateChemistry, 63,**1986**,118.
- [8] Nesbitt.G.J. University of Durham, **1986**.
- [9] Brandt.A, Schwieger.W et Berck.K.H, Rev. Mater. Chem, 24,**1987**,564.
- [10]Almond.G.G, Harris.R.k et Franklin.K.R.J. Mater.Chem, 74,**1997**,681.
- [11] Gies.H, Marler.B, Vortmann.S, Oberhagemann.U, Bayat.P, Krink.K, Rius.J, Wolf.I et Fyfe.C, Microporous and Mesoporous Materials, 21, **1998**, 183.
- [12] Brindly.G.W, Am Miner, 54, **1969**, 1583.
- [13] Delmotte.L, These de doctorat d'état, Université de mulhouse, 1985.
- [14] Kosuge.K et Tsunashima.A, langmuir, 12, **1996**, 1124.
- [15] Eugster. H.P. Science, 157,**1967**,1177.
- [16] Schwieger.W, Pohl.K, Brenn.U, Fyfe. C. A, Grondy.H, Fu,G, Kokotailo.G. T, Stud, Surf Sci, Catal, **1995**, 94, 47.
- [17] Handbook of Layered, Materials, **2004**.
- [18] McAtee.J.L, House.R, Eugster.H.B, Amer Mineral, 53,**1968**, 24,2061-2069; Gude.A.J, III.Amer Mineral, 55,**1972**, 358.
- [19] Fletcher.R.A, Bibby.D.M, Clays clayMiner, 35,**1987**, 318.
- [20] Lagaly.G, Beneke.K, Weiss.A, Amer. Mineral. 60, **1975**, 642-649.
- [21] Yuh-Ruey.w, Sea-Fue.W, Li-Chung.C, Applied Clay Science 33, **2006**, 73-77.
- [22] Fletcher.R.A, Bibby.D.M, Clays Clay Miner. 35, **1987**,318.
- [23] Lagaly.G, Beneke.K, Weiss.A, Amer. Mineral. 60, **1975**, 642-649.
- [24] Beneke.K, Lagaly.G, Amer Mineral, 68,**1983**, 818-826.
- [25] Spning.R, Davis.M.E, Kaufian.J.S, Dybowsky.C, Ind Eng.Chem.Res, 29, **1990**, 213-220.
- [26] Muraishi.H, Amer Mineral, 74,**1989**, 1147-1151.
- [27] Kwon.O.Y, Jeong.S.Y, Suh.J.k, Lee.J.M, **1995**.Hydrothermal syntheses of Na-magadiite and Na-kenyaite in the presence of carbonate, Bull.Korean Chem. Soc. 16 (No. 8), 737-741.
- [28] Kwon.O.Y, Park.K.W, **2004**.Synthesis of layered silicates from sodium silicates solution. Bull. Korean Chem. Soc. 25 (1), 25.
- [29] Ikuko, Fujita, Kazuyuki.K et Makoto.O, Chem. Mater, 15, **2003**, 3134-3141.
- [30] Feng.F, Balkus.Jr, K.J., **2003**. Synthesis of kenyaite, magadiite and octosilicate using poly(ethylene glycol) as a template. J. Porous Mater. 10, 5.
- [31] Schwieger.S, Lagaly.G, **2004**. Alkali silicates and crystalline silicic acids. In: Auerbach, S.M, Carrado, K.E, Dutta, P.K. (Eds.), Handbook of Layered Materials. Marcel Dekker. Inc, New York, pp. 541-629.

- [32] Sassi.M, Miché-Brindle.J, Patarin.J, Bengueddach.A, "Na-magadiite Prepared in water/alcohol medium: synthesis, characterization and use as a host material to prepare alkyltrimethylammonium- and Si-pillared derivates". *Clay Minerals* 40, **2005**, 369-378.
- [33] Fangxia.F, Kenneth.J, Balkus.Jr, *Microporous and Mesoporous Materials* 69, **2004**,85–96.
- [34] Shuqing.S, Qiuming.G, Jinhua.J, Lu.G, Ling.Y, *Materials Letters* 62,**2008**, 2520–2523.
- [35] Liebau.F, *Structural chemistry of silicates. Structures, bonding and classification.* Berlin: Springer Verlag, **1985**.
- [36] Dua.Z, Leeuw.N.H, Mater.J, *Chem*, 15,**2005**, 4167.
- [37] S. Vortmann, J. Rius, B. Marler, H. Gies, *Eur. J. Mineral.* **1999**, 11, 125.
- [38] Annehed.H, Falth.L, Lincoln.F.J, *Kristallogr.Z*, 159,**1982**, 203.
- [39] Grice.J.D, *Can. Mineral*, 29,**1991**, 363.
- [40] Vortmann.S, Rius.J, Siegmans.S, Gies.H, *Phys.J. Chem.B*, 101, **1997**, 1292.
- [41] Eypert-Blaison.C, Sauzéat.E, Pelletier.M, Michot.L.J, Villiéras.F, Humbert.B. *Chem. Mater.* 13,**2001**, 1480-1486.
- [42]Heloise.O, Pastor, MarceloMunsignatti,and Artur.J.S, Mascarenhas, *Clays Clay Minerals*, Vol. 48, No. 2, **2000**, 224–229,.
- [43] Huang.Y, Jiang.Z. et Schwieger.W, *Vibrational spectroscopic studies of layered silicates*, *Chem. Mater*, 11, **1999**, 1210–1217.
- [44] Rojo.J.M, Ruiz-Hitzky.E, Sanz.J, Serratos.J.M, *Rev Chim Mineral*, 20,**1983**, 807–816.
- [45] Brandt.A, Schwieger.W, Bergk.KH, *Rev Chim Min*, 24, **1987**, 564–571.
- [46] Zongta.Zhang, Saengkerdsub.Suree et Sheng.Dai, *Chem. Mater*, 15, **2003**, 2921-2925.
- [47] Ma.Y.L, Xu.Z.R, Guo.T, You.P, *J. Colloid Interface Sci*, 280, **2004**, 283-288.
- [48] Ohashi.F, Oya.A, *Appl Clay Sci*, 6, **1992**, 301-311.
- [49] Osinaga.P.W.R, Grande.R.H.M, Ballester.R.Y, Simionato.M.R.L, Rodrigues.C. R.M, Muench.A, *Dental Mater*, 19, **2003**, 212-217.
- [50] Tan, Shao.Zao, Zhang, Kui-Hua, Li-Ling, Xie, Yu-Shan.Liu, Ying-Liang, *Chinese Journal of Chemistry*, 26, **2008**, 865—869.
- [51] Makoto.O et Yoshinao.T, *J. Phys. Chem. B*, 103, **1999**, 5005-5009.
- [52] Kiyoshi.O, Yasuhiro.N, Zhenxiang.C, Minoru.O, Reika.O, Kazuhiko.S, Hiroyasu.I, Fumio.I.
- [53] Regdon.I, Kiraly.Z, Dekany.I, Lagaly.G. *Progr Colloid Polym Sci*, 109, **1998**, 214–220.
- [54] Naoko.M, Masachi.T, Kazuyuki.K et Makoto.O, *Clays Clay Minerals*, Vol. 50, No. 6,**2002**, 799–806.
- [55] Schwieger.W, Selvam.T, O. Gravenhorst, N. Pfander, Schlogl, G.T.P. Mabande. *Journal of Physics and Chemistry of Solids* 65 ,**2004**, 413–420.
- [56] James.S, Dailey et Pinnavaia.T, *Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry* 13, **1992**, 47-61.
- [57] Naoko.M, Masashi.T, Kazuyuki.K et Makoto.O, *Clays Clay Minerals*, Vol. 50, No. 6, **2002**, 799–806.
- [58] Shuge.P, Qiuming.G, Zuliang.D, Jianlin.S. *Applied Clay Science* 31, **2006**, 229–237.
- [59] Heloise.O, Pastore, Marcelo Munsignatti, et Artur.J.S.M. *Clays and Clay Minerals*, Vol. 48, No. 2,**2000**, 224–229.

- [60] Qinghui.M, Silvia.S, Herbert.Z, Gunnar.J. *Macromol Chem. Phys.* 208, **2007**.
- [61] Makoto.O, Yamamoto.M et Kuroda.M, *Clay Minerals*, 36, **2001**, 263–266.
- [62] Céline Eypert-Blaison.C, Laurent , Michot.J, Bernard Humbert, Manuel Pelletier, Frédéric Villiéras, and Jean-Baptiste d’Espinose de la Caillerie.J, *Phys. Chem. B*, 106, **2002**, 730-742.
- [63] Kooli.F, Mianhui.L, Alshahateet.F, Fengxi.C, Zhu.Y, *Journal of Physics and Chemistry of Solids* 67, **2006**, 926–931.
- [64] Kiyoshi.O, Fumio.I, Yasuhiro.N, Zhenxiang.C, Hiroki.F, Masashi.H, Hitoshi.Y, *Journal of the European Ceramic Society* 27, **2007**, 2665–2669
- [65] Wang.Z, Pinnavaia.T, Hybrid organic-inorganic nanocomposites, Exfoliation of magadiite nanolayers in an elastomeric epoxy polymer, *Chem. Mater.* 10, **1998**, 1820–1826.
- [66] Ledoux.RL, White.JL, *Proc-Int, Clay Conf.* **1966**, 361-374.
- [67] Wada.K. *Amer. Mineral.* 46, **1961**, 78-91.
- [68] Brenn.U, Schwieger.W. Wuttig.K, *Colloid Polym Sci*, 277, **1999**, 394-399.
- [69] Ruiz-Hitzky.E, Rojo.J-M, *Nature*, 287, **1980**, 28-30.
- [70] Ruiz-Hitzky.E, Rojo.J.M, Lagaly.G, *Colloid Polym. Sci.* 263, **1985**, 1025-1030.
- [71] Wang.M.S, Pinnavaia.T.J, *Chem. Mater.* 6, **1994**, 468-474.
- [72] Kojirna.Y, Usuki.A, Kawasumi.M, Okada.A, Kurauchi.T, Kamigaito.O, Kaji.k, *J. Poly. Sci B - Poly. Phys.* 32, **1994**, 625-630.
- [73] Benkhatou.S, Mémoire de magister en chimie. « Extraction des métaux lourds par des silicates en feuillets intercalés par des molécules complexantes ». Laboratoire des sciences et techniques de l’eau. **2007**.
- [74] Yanagisawa.T, Shimizu.T, Kuroda.K, Kato.C, *Bull.Chem.Soc.Jpn.* 63, **1990**, 988.
- [75] Brenn.U, Schwieger.W, Karge.H.G, *In Proc. 12th Inter. Zeolite. Conf. Baltimore. USA.* **1999**, 847.
- [76] Jacobs.P.A, Martens.J.A, Weitkamp.J, Beyer.H.K, *Faraday.Diss.Chem.Soc.* 72, **1981**, 353.
- [77] Feng.F, Balkus JR.K.J, *J.Por.Mater.* 10, **2003**, 235.
- [78] Zones.S.I, *Zeolites.* 9, **1989**, 458.
- [79] Hogan.P.J, *UK Patent Appl.* 390A. 2,125, **1983**.
- [80] Schwieger.W, Selvam.T, *Germany Offen.No.* De10.022A1. 134, **2003**.
- [81] Yanagisawa.T, Shimizu.T, Kuroda.K, Kato.C, *Bull.Chem.Soc.Jpn.* 63, **1990**, 988.
- [82] Inagaki.S, Yamada.Y, Fukushima.Y, *Stud.Sci.Catal.* 105, **1997**, 109.
- [83] Daily.J, Pinnavaia.T, *J.Chem.Mater.* 4.855, **1992**, 9. Jeong.S.Y, Kwon.O.Y, Seo,J.K, Jin.H, Lee.J.M. *J.Colloid and Interface Sci.* 175, **1995**, 253.
- [84] Mochizuki.D, Shimojima.A et Kuroda.K. *J.Am.Chem.Soc.* 124, **2002**, 182.
- [85] Kuroda.K, *J.Por.Mater.* 3, **1996**, 107.
- [86] Brenn.U, Schwieger.W, Karge.H.G, *In Proc. 12th Inter.Zeolite.*
- [87] Hogan.P.J, *UK Patent Appl.* 2, **1983**, 125-390.
- [88] Zones.S.I, *US Patent No.* 4, **1986**, 626, 421.
- [89] Zones.S.I, *US Patent No.* 4, **1987**, 689-207.
- [90] Onyestyak.G, Pal-borbely.G, Beyer.H.K, *Micropor.Mesopor.Mater.* 43, **2001**, 73.

- [91] Shimizu.S, Kiyozumi.Y, Maeda.K, Mizukami.F, Pal-borbely.G, Magdolna.R, Beryer.H.K, Adv.Mater. 8, **1996**, 759.
- [92] Kiyozumi.Y, Salou.M, Mizukai.F, Stud.Surf. Sci. Catal. **2002**, 142-231.
- [93] Zongtao.Z, Suree.S et Sheng.D. Chem. Mater. 15, **2003**, 2921-2925.
- [94] Fathi.K, Yoshimichi.K, Fujio.M. Materials Chemistry and Physics. 77, **2002**, 134–140.
- [95] Andrea.Svoegelin, Sabinapfister, Andrea.Scheinost, Matthewa.Marcus, et Brubenkretz.Schmar . Environ. Sci. Technol. 39, **2005**, 6616-6623.
- [96] Yoshimichi.Mitamura, Yoshihiko.Komori, Shigenobu.Hayashi, Yoshiyuki. Sugahara, et Kazuyuki.Kuroda. Chem. Mater.13, **2001**, 3747-3753.
- [97] Y. L. Ma, Z. R. Xu, T. Guo et P. You, J. Colloid Interf. Sci. 280, **2004**,283.
- [98] Yamada.Z, Ohta.K et Takauchi.S, Kagaku Kogaku Ronbun. 17,**1991**,29.
- [99] Herrera.P, Burghardt.R.C et Phillips. T. D, Vet. Microbiol. 74, **2000**, 259. [100] Yang.D, P. Yuanl. P, Zhu.J.X et He. H. P. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, Vol. 89, **2007**, 847–852.
- [101] Kateřina.M, PetrPraus, Zuzana.P, Martina.T. Applied Clay Science 43, **2009**, 364–368.
- [102] Herrera.P, Burghardt.R.C, Phillips.T.D, Veterinary Microbiology 74, **2000**, 259-272.
- [103] Guo Tong, Ma Yulong, Guo Peng, Xu Zirong. Veterinary Microbiology 105, **2005**, 113–122.
- [104] Hu. C.H, Xu Z.R, Xia. M.S. Veterinary Microbiology 109, **2005**, 83–88
- [105] Magana.S.M, Quintana.P , Aguilar.D.H , J.A. Toledo.J.A, Angeles-Chavez.C, Cortes.M.A, Leon.L, Freile-Peegrin.Y, Lopez.T, Torres.S.R.M . Journal of Molecular Catalysis A Chemical. 281, **2008**, 192–199.
- [106] Bekir.D, Jonathan.C, Badger.M, Elasri.O, Mathias.J. Applied Clay Science 38, **2007**, 57–63.
- [107] Difang.Z, Jie.Z, Ning.L. Applied Clay Science 33, **2006**, 161–170.

Chapitre II

Polysaccharides : Chitosane et Alginate



CHITOSANE



II- INTRODUCTION :

Les polysaccharides pouvaient être des matériaux de demain qui seront pleinement utilisés quand les ressources en pétrole commenceront à se tarir. Ces polymères sont, en effet, des substances uniques dans le sens où elles sont naturelles, abondantes, issues de ressources renouvelables et exploitables dans de nombreux pays, présentant de nombreuses propriétés à la fois physico-chimique et biologique (non toxiques, biodégradable, biocompatible, très réactif, versatiles ...)

Les polysaccharides peuvent être d'origine végétale (cellulose, amidon, alginate), animale (chitine) ou bactérienne (xanthine, gellane) [1].

Les polysaccharides jouent des rôles structuraux chez les plantes et les animaux : ils permettent la réalisation des structures constitutives de ces organismes et le stockage d'énergie chez les organismes vivants (amidon, glycogène, etc.). D'un point de vue chimique, ce sont des bio polymères hydrophiles et stables, formés par l'enchaînement de motifs similaires qui appartiennent au groupe des hydrates de carbone (sucres) [2,3].

Parmi les polysaccharides d'intérêt pour l'homme, la chitine et son principal dérivé, le chitosane, occupent une place de plus en plus importante.

II-1 CHITOSANE :**II-1-1 Historique :**

La découverte de la chitine par le professeur Français H. BRACONN, spécialisé en histoire de la nature, date du VIII^{ème} siècle. Les premiers brevets d'invention en chitine furent obtenus en 1935 par A.RICARDO sous le titre "chitine". Ce n'est que dans les années 1970 que ces polymères ont suscité un réel intérêt [4], quand les gouvernements américain et japonais ont cherché à valoriser ces déchets et ont lancé les premiers programmes de recherche. Actuellement, il est connu que la chitine et le chitosane (collectivement appelés les substances chitineuses), sont des sources renouvelables que l'on peut trouver en abondance dans la nature. Ce fait a attiré plus d'intérêt pour le développement durable.

A présent, ces bio-polymères font l'objet de nombreuses recherches, tant sur le plan fondamental que sur le plan appliqué [2, 6, 5], et intéressent de nombreux domaines. Les différentes conférences internationales sur la chitine et le chitosane qui se tiennent périodiquement dans le monde témoignent de l'importance de la communauté scientifique intéressée par la chitine à travers le monde.

II-1-2 Source de chitine et de chitosane :

La chitine est produite par :

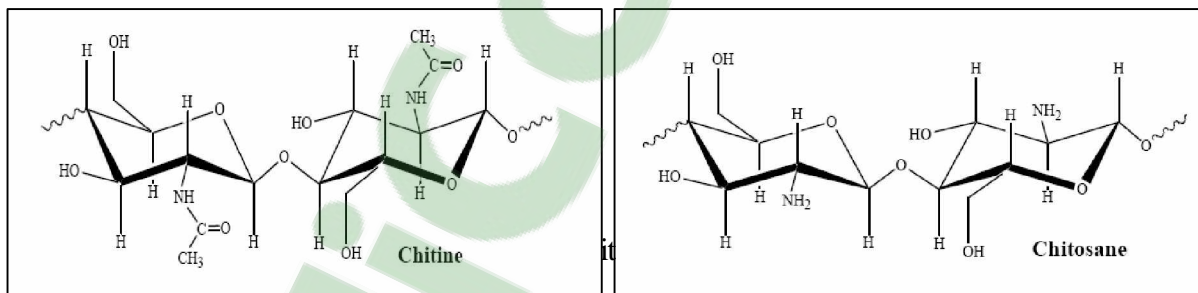
- Les insectes (blattes « cafard », coléoptères « coccinelle »).
- L'araignide (scorpions, araignées).
- Les animaux marins (crabes, crevettes, homards, langoustines, calamars).
- Les champignons [2,6-7]

En revanche, le chitosane est une substance très peu répandue dans la nature [5, 8-9]. Elle n'est signalée que dans les exosquelettes de certains insectes (comme par exemple la paroi abdominale des reines de termites) et dans la paroi cellulaire d'une classe particulière de champignons (les zygomycètes), de bactéries et de levures. Il n'y a donc pas de source primaire de chitosane exploitable, la production étant assurée par transformation de déchets issus de la pêche.



Déchets de crustacés de l'industrie alimentaire

II-1-3 Chitine et chitosane :



Les structures de la chitine et du chitosane diffèrent uniquement au niveau des groupements C-2 : acétamide pour la chitine et amine pour le chitosane. La chitine et également le chitosane sont caractérisés par la fraction de groupement N-acétamide résiduels appelée degré d'acétylation, noté DA. Dans le cas du chitosane, on préfère utiliser le pourcentage de désacétylation, noté DD, qui correspond à la quantité relative de groupement acétylés retirés à la macromolécule de chitine lors de la préparation du chitosane [1,2]. Les structures de la chitine et du chitosane sont donc caractérisées par la présence de groupements amine et de groupements acétamide, auxquels ils convient d'ajouter la présence de nombreuses fonctions

hydroxyles qui confèrent un fort caractère hydrophile notamment au chitosane. Les polymères de chitine et chitosane sont également caractérisés par les longueurs de leurs chaînes macromoléculaires ou leur masse moléculaire (MM), exprimée en poids (MMw) ou en nombre (MMn) [10-11].

La désacétylation en milieu basique de la chitine permet d'obtenir le chitosane qui est un copolymère linéaire à arrangement aléatoires d'unités D-glucosamine et d'unités N-acétyl-D-glucosamine reliés par des liaisons β -(1→4). Le chitosane est un polysaccharide appartenant à la famille des glucosaminoglucane [1]. Cependant, l'une des caractéristiques importantes à retenir est que le chitosane commercial est en réalité un copolymère avec des distributions de motifs aléatoires.

II-1-4 Préparation du chitosane :

Il existe une multitude de méthode de préparation du chitosane [9, 10-11]. En générale, le chitosane est produit par une désacétylation partielle de la chitine brute dans une solution d'hydroxyde de sodium concentrée à une température de 110-115°C durant quelques heures, en atmosphère inerte et en présence d'un agent réducteur (NaBH₄). Le chitosane obtenu est alors séché puis redissous dans une solution d'acide organique afin de le purifier. Le chitosane obtenu possède généralement un taux de désacétylation voisin de 70-80%, il se présente sous la forme d'un solide amorphe ayant une couleur orange brulé. Les trois étapes d'extraction de la chitine déprotéinisation, déminéralisation et décoloration ainsi que l'étape de désacétylation influencent la qualité du produit fini ; le chitosane [12].

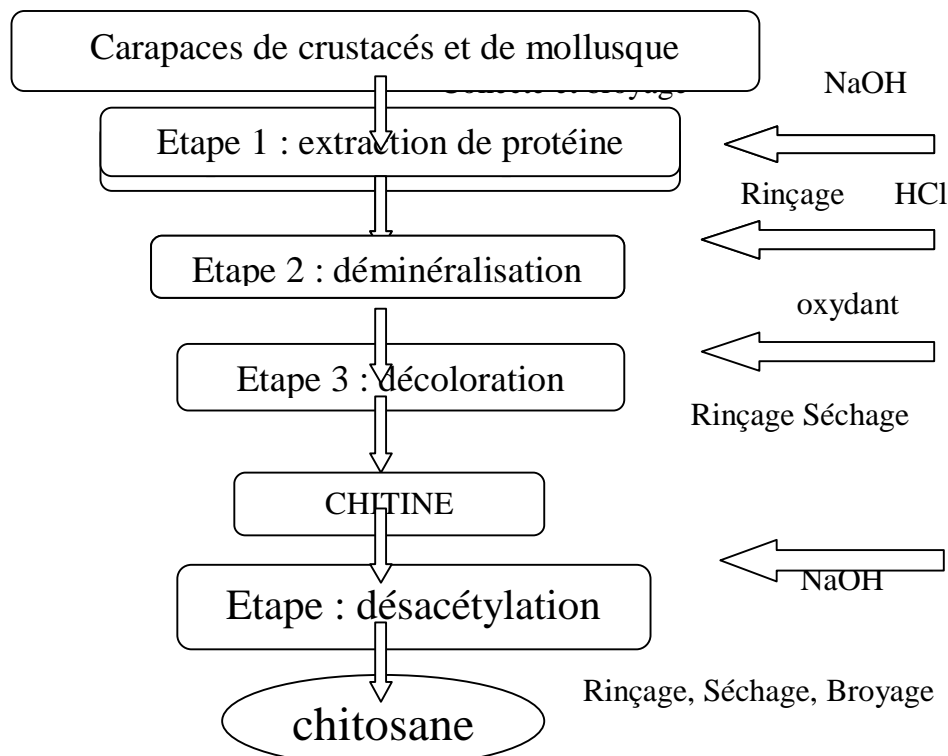


Figure II-3 : méthode de production de chitosane d'après Onsoyen et SKaugrud [13]

II-1-5 Gels de chitosane :

Depuis plusieurs années : les gels de chitosane ont suscité beaucoup d'intérêt dû à leur excellent potentiel d'utilisation dans les domaines pharmaceutiques, biomédicaux et cosmétiques. En bref, un gel est défini comme un réseau tridimensionnel semi-solide incluant une phase liquide. La plupart des gels de chitosane sont non thermoréversibles et sont formés : soit de liens covalents, on parle de gels «chimiques» ; soit d'interaction de type hydrophobe et on les qualifie de gels «physique » [14]. Il existe donc une variété importante de systèmes gélifiants basés sur le chitosane ; certains de nature permanente ; d'autres réversibles : et applicables dans divers domaines dépendant de leur nature et composition.

II-1-6 Propriétés du chitosane :

II-1-6-1 Degré de désacétylation (DD) :

Le traitement alcalin conduit généralement à une désacétylation partielle. En effet, pour obtenir une désacétylation totale ; il conviendrait de procéder à une série de traitements successifs avec le risque de voir diminuer de manière dramatique la masse moléculaire MM du polymère. Une autre possibilité est d'opérer en conditions contrôlées limitant les mécanismes d'oxydation. Ceci retient l'utilisation à la synthèse de chitosane pour des applications très spécifiques à forte valeur ajoutée dans les domaines biomédical, pharmaceutique ou cosmétique. Hors de ces applications spécifiques, l'utilisateur recherche du chitosane à moindre coût avec comme corollaire une désacétylation incomplète [5].

II-1-6-2 Masse moléculaire (MM) :

La seconde caractéristique importante est la masse moléculaire (MM), en masse ou en nombre, ou mieux encore la distribution de la MM, qui nécessite la mise en solution du polymère. Elle peut se faire par des mesures viscosimétriques ou par chromatographie à perméation de gel. La valeur de MM d'un chitosane dépend intimement du procédé de fabrication car, celui-ci peut induire une dépolymérisation des chaînes macromoléculaires et/ou une dégradation lors de sa production. Les chaînes de chitosane ont des masses très élevées. Pour la chitine native, les masses peuvent atteindre plusieurs millions de Daltons.

II-1-6-3 Cristallinité :

La cristallinité est un paramètre important car elle contrôle un certain nombre de propriétés comme l'accessibilité des sites internes dans les chaînes macromoléculaires, les propriétés de gonflement dans l'eau ou encore les propriétés diffusionnelles [2,3]. Le chitosane est une

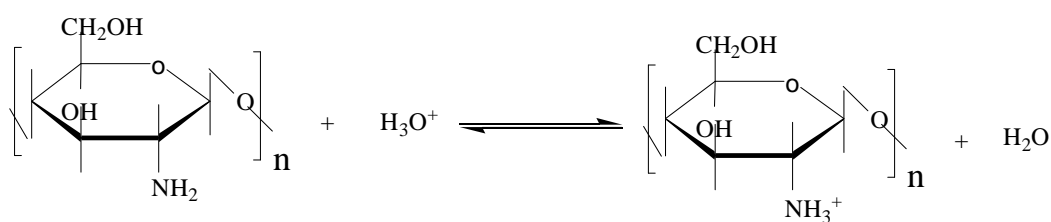
substance semi-cristalline, il cristallise dans le système orthorhombique et deux types de produits sont connus : le chitosane I (faible DD, sous forme de sel) est plus désordonnés que le chitosane II (fort DD, formé d'amine libre) [2, 5, 8].

II-1-6-4 Solubilité :

Le chitosane est insoluble dans l'eau et dans les solutions alcalines concentrées ou diluées. Le chitosane est, par contre, soluble dans la plupart des solutions organiques acides [2-3, 14-15]. L'acide le plus couramment utilisés pour préparer une solution de chitosane est l'acide acétique dilué. En générale, le chitosane est parfaitement soluble à pH 3-4 ; Il est également soluble dans des solutions diluées (0,1-1%) d'acide nitrique et chlorhydrique. En effet, les groupes aminés du chitosane sont protonés à partir de pH 3-4 et le polymère chargé positivement devient soluble. Le chitosane est insoluble dans les solvants purs et les acides concentrés, en raison de l'impossibilité d'hydrater le matériau. Il est donc relativement stable en milieu acide concentré, même s'il se dégrade après une longue exposition. Cependant, il faut noter, que la solubilité du chitosane est un paramètre très difficile à contrôler [3] car la valeur de DD influence fortement sa solubilité.

II-1-6-5 Propriétés polyélectrolytes du chitosane en milieu acide :

Le chitosane est l'un des rares polyélectrolytes naturels cationiques [16-19]. En milieu acide, il se comporte comme un polycation, à forte densité de charge et dont l'état d'ionisation est décrit par l'équilibre suivant :



Le chitosane est une base faible de pKa compris entre de 6,3-6,7, En général, la valeur du pKa augmente quand le DD diminue [8, 10, 11-12].

II-1-6-6 Viscosité :

La viscosité du chitosane dépend du degré de désacétylation de ce polymère. Plus il est désacétylé, plus il ya de groupement amines libres, le chitosane est donc plus soluble et par voie de conséquence sa viscosité est plus importante [15]. La viscosité dépend également : de la concentration du polymère (elle augmente avec la concentration), de la température (elle chute lorsque la température augmente) [20], du poids moléculaire (la viscosité intrinsèque

augmente en fonction de l'augmentation du poids moléculaire) [21] et enfin du pH (plus il est bas plus la viscosité est élevée). Ce paramètre est déterminé par viscosimètre.

II-1-6-7 Propriétés physico-chimiques du chitosane :

Le chitosane est un matériau poreux ayant des surfaces spécifiques allant de l'ordre de quelques m²/g à quelques centaines de m²/g sous des formes physiquement modifiables [1, 4, 8]. C'est un matériau très stable en phase solide (sèche) et il a une conservation quasi infinie. En solution, il est relativement fragile et dégradable. Il possède un degré élevé de réactivité chimique dû à son groupe amine primaire libre qui lui confère une forte densité de charges positives. Une autre propriété intéressante du chitosane concerne son aptitude à interagir avec d'autres substances chimiques grâce à une structure chimique particulière, qui permet d'entrevoir des capacités à interagir, complexer ou adsorber [13,22].

Comme la plupart des polysaccharides, le chitosane, en raison de la liaison glycosidique β -(1→4), est un polymère semi-rigide et, donc, un bon agent épaississant puisqu'il augmente fortement la viscosité de la solution.

II-1-6-8 Propriétés biologiques :

De part sa structure chimique, le chitosane constitue un substitut des milieux biologiques. Ces biopolymères possèdent d'exceptionnelles propriétés biologiques, propriétés qui sont à la fois variées et complémentaires.

Le chitosane est non toxique, biodégradable, biocompatible et surtout bioactifs [3-13]. Il est bio-résorbable avec des cinétiques faibles et contrôlées. Il ne présente aucun comportement antigénique et hémostatique [6, 23]. Le chitosane inhibe la croissance de nombreux parasites et réduit le développement des infections : c'est donc un bon agent antibactérien et antifongique. De plus, il a des propriétés anti-tumorales, ainsi que des propriétés cicatrisantes remarquables.

Pour résumer cette partie relative aux propriétés du chitosane ; on note son grand intérêt scientifique, technique et économique à cause de son fort pourcentage d'azote comparé aux celluloses synthétiques substituées et de ses nombreuses propriétés physico-chimiques et biologiques. Les propriétés originales de cet amino-polysaccharide sont essentiellement liées aux groupements aminés des chaînes macromoléculaires. De plus, le chitosane se distingue de la cellulose et de la chitine non seulement par sa structure moléculaire chargée positivement, mais aussi par sa versatilité chimique en termes de mise en œuvre et de mise en forme. Les nombreuses propriétés physico-chimiques et biologiques du chitosane ont donné lieu à de nombreuses applications.

II-1-7 Applications du chitosane :

Le chitosane trouve des applications importantes dans différents domaines [1, 16 -18,23] en raison de ses nombreuses et diverses propriétés.

II-1-7-1 *Domaine biomédicale et pharmaceutique :*

Les propriétés biologiques, de biocompatibilité et bioactivité du chitosane permettent de nombreuses applications pharmaceutiques, biomédicales et cliniques [6, 23, 24-26]. Il trouve de ce fait des applications en tant que revêtement d'objet mis en contact avec le sang comme les prothèses vasculaires ou les valves cardiaques [16, 27, 28].

Le chitosane accélère la cicatrisation des plaies [6, 23, 24], ces propriétés cicatrisantes sont également utilisées pour fabriquer des fils de structure et des dispositifs chirurgicaux utilisés comme pansement lors d'opération ou de peaux artificielles utilisables dans le traitement des grands brûlés [6, 23, 24]. Des études récentes tendent à montrer que le chitosane exerce un effet bénéfique sur le renforcement du système immunitaire, le contrôle du niveau de cholestérol et du sucre dans le sang, Le chitosane diminue le risque d'hypertension et de cancer tout en stimulant les fonctions hépatiques et immunitaires et règle le transit intestinal.

II-1-7-2 *Cosmétique :*

L'industrie cosmétique s'est également intéressée aux produits naturels (les polysaccharides) car ces matières sont riches d'une infinité de molécules aux propriétés variées et souvent complémentaires. Le chitosane est d'un grand intérêt dans les cosmétiques en raison de ce cumul de fonctions [29].

Comme il peut entrer comme un composant très efficace dans :

- crème hydratante/soin/anti âge.
- lotions/shampoings.
- produits déodorant.
- laque/aérosols et colorations.

II-1-7-3 *Agroalimentaire :*

Dans l'industrie alimentaire, l'utilisation du chitosane n'est pas encore généralisée à l'exception des pays asiatiques. Nous pouvons résumer l'utilisation du chitosane dans ce domaine comme :

- agent additif de conservation de fruits et de légumes.
- agent antimicrobien pour éviter la détérioration des aliments.

-agent moussant dans l'industrie de boissons.

II-1-7-4 Traitement des eaux :

La solubilité du chitosane en milieu acide, à de nombreuses applications dans les domaines de coagulation-floculation, chélation, adsorption ou encore l'ultrafiltration assistée par complexation. Le chitosane est déjà utilisé dans le traitement des eaux de piscines. Dans le domaine de l'eau industrielle usée, il peut être utilisé comme coagulant, chélatant ou adsorbant pour complexer une large gamme de polluants comme le montrent les nombreuses études faites en laboratoire [30-31]. Par exemple, son fort pouvoir chélatant et adsorbant lui permet d'éliminer des effluents industriels différents tels les métaux [30,32], les molécules aromatiques et phénoliques [31,33] et les colorants, même à l'état de traces [34]. Ses excellentes propriétés peuvent permettre l'élimination des matières minérales (colloïde, acides humique) et organiques (effluents agroalimentaires, papetiers et textiles).

II-2 INTERCALATION CHITOSANE-MATERIAUX LAMELAIRES : exemple chitosane-montmorillonite

Le chitosane manifeste des interactions avec toute particule solide en suspension dans un milieu aqueux, et qui possède des charges de surface. Parmi les solides dont les surfaces satisfont à ces conditions, les argiles occupent une place privilégiée. A titre d'exemple la montmorillonite possède des défauts de structure par substitution isomorphe créant ainsi une charge négative excédentaire, compensée par des cations [35]. La montmorillonite dispersée dans l'eau, voit ses feuillets se comporter comme des particules colloïdales, les ions échangeables s'hydratent, et selon leur degré d'hydratation, ils se dissocient à une certaine distance de la surface de la particule en développant une double couche électrique, formant ainsi une micelle colloïdale.

II-2-1 Mécanisme d'interaction chitosane-montmorillonite :

Les interactions entre le chitosane et l'argile peuvent varier et impliquer des mécanismes différents. Ainsi, en présence d'acide acétique, le chitosane s'adsorberait différemment sur la montmorillonite dont les propriétés de surface ont été modifiées par échange avec des ions Na^+ [36]. L'adsorption impliquerait la formation d'une couche simple ou double selon la capacité d'échange de l'argile. L'intercalation des feuillets d'argile chargés négativement avec l'acétate de chitosane dissout est de nature électrostatique, et la formation de la première couche aurait lieu par échange des ions Na^+ par des cations [chitosane- NH_3^+], l'anion acétate reste en solution. L'adhésion de cette première couche est relativement forte, ce qui permet d'entrevoir la possibilité d'obtenir des matériaux composites dits organo-argiles, ayant une

rigidité appréciable pour diverses applications. L'interaction de cette première couche avec l'acétate de chitosane dispersé en solution fait intervenir des attractions électrostatique de type dipôle-dipôle.

II-2-2 Application issues des interactions chitosane-argile :

Les applications concernent essentiellement le domaine des industries laitières et pharmaceutiques. Dans les industries laitières, une importance problématique réside dans l'élimination de l'ion acétate qui inhibe le développement et la croissance de la bactérie lactique, utilisée comme ferment pour l'obtention des yaourts et des fromages. L'utilisation de ce genre d'organo-argiles échangeuses d'anions pourrait représenter une solution. Par ailleurs, dans le domaine pharmaceutique, de telles organo-argiles pourraient être employées pour réduire l'hyperacidité du suc gastrique chez certains patients.

Ces interactions argile-chitosane exercent des effets sur chacun des composants du système, et peuvent entraîner une densification (compaction) ou une expansion de chacune des phases mise en jeu (empilement des feuillets d'argile ou enchevêtrement polymérique du chitosane) [37].

Références bibliographiques :

- [1] Rauchf.M, Dornish. chitosan in : An introduction to biomaterials. SA. Guelcher, JO. Hollinger, eds CRC press. 14, **2006**, 249 .
- [2] Kurita.K, Marine Biotechnol. 8, **2006**, 203.
- [3] Rinaudo.M Prog Polym Sci. 31, **2006**, 603.
- [4] Guilbal.E, Vincent.T. Adsorption d'ions métalliques sur chitosane et produits dérivés dans : traitement des équations des eaux industrielles polluées, coordonné par G Crini.G et PM Badot.PM Presses Universitaires de Franches-Comté. Chapitre 4, 2007, 137. Kurita.K, Marine Biotechnol. 8, **2006**, 203.
- [5] Sandford.PA, Commercial sources of chitin and chitosan and their utilization in : Advances in chitin science. Varum.KM, Domard.A, Smidrosrod.O, eds. Trondheim : NTNU. 6, **2003**, 35.
- [6] Shi.C, Zhu.Y, Ran.X, Wang.M, Su.Y, Cheng.T, Surgical.J, research 133, **2006**, 185.
- [7] Rouget C. Des substances amylicées dans le tissu des animaux, spécialement les articules (chitine). Compte Rendus. 48, **1859**.
- [8] Hudson.SM, Jenkins.DW. Chitin and chitosan in : EPST . Mark.HF, ed New York: Wiley. **2003**, 569.
- [9] Desbrieres.J. Actu Chim 11/12, **2002**, 39.
- [10] Sorlier.P, deniziere.A, Viton.C, Domard.A. Biomacromolecules, 2, **2001**, 765.
- [11] Blackwell.J, Chitin in: Biopolymers.Walton.AG, Blackwell.JEds.New York :Academic press. **1973**, 474.
- [12] HK. No ; Meyers. Preparation of chitin and chitosan in : chitin handbook. Muzzarelli.RAA, Peter.MG, eds. Grottammare : Atec Edizioni. **1997**, 475.
- [13] Onsoyen.E, Skaugrud.O, JChem Technol Biotechnol. 49, **1990**, 395.
- [14] Roberts.GAF, Chitin Chemistry. London Marc Millan. **1992**.
- [15] Wang.W et Xu.D Viscosity and Flow properties of concentrated solutions of chitosan with different degree of deacetylation, Int. J. Biol.Macromol.16 ,3, **1994**,49-152.
- [16] Sandfort.PA. Chitosan : commercial uses and potentials in : Chitin and Chitosan. Sources, chemistry, biochemistry, physical properties and applications. Skjak-Brak.G, Anthonsen.T, Sandford.PA, London and New York : Elsevier. **1989**, 51.
- [17] Synowiecki.J, AL-Khateeb.NA. Critical Rev Food Sci Nutrition. 43, **2003**, 145.
- [18] Muzzarelli.RAA, Carbohydr Polym. 3, **1983**, 53.

- [19] Austin.PR, Chitin solvents and solubility parameters in : chitin and chitosane and related enzymes. Zikakis.JP, Orlando.Ed ; Academic Press. **1984**, 227.
- [20] Chen.R.H, et Tsaih.M.L Effect of temperatures on the intrinsic viscosity and conformation of chitosa in dilute HCL solution. *Int. J.Biol.Macromol.*23,**1998**, 135-141.
- [21] Berth,G, Dautzenberg.H et Peter.M.G, Physico-chemical characterization chitosans varrying in degree of acetylation. *Carbohydrate Polymers.*36, **1998**, 205-218.
- [22] Bade.MF, Structure and isolation of native animal chitins in : applications of chitin and chitosane. Goosen.MFA, Lancaster.Ed : Technomic Publishing. **1997**, 221.
- [23] Muzzarelli.RAA, Muzzarelli.C. Chitosan chemistry : relevance to the biomedical science in : Polysaccharides I. structure, characterization and use. Springer. *Adv Polym Sci.* 186, **2005**, 151.
- [24] Ravi Kumar.MNV, *React Funct Polym.* 46, **2000**, 1.
- [25] Illum.L, *Pharm.J, Sci.* 96,**2007**, 363.
- [26] Mazzarelli.RAA, Vicenzi.M. Chitosan as dictary food additives in : applications of chitin and chitosan. Goosen MFA, ed. Lancaster : technomic Publishing. **1997**, 115.
- [27] Strusczyk.MH, *Polimery.* 47, **2002**, 396.
- [28] Sandford.PA, Hutchings.GP. Chitosan-a natural, cationic biopolymer : commercial applications in : *Industrial polysaccharides : Genetic engineering, structure/property and application.* YalpaniM.ed. Elsevier. **1987**, 363.
- [29] Kohgo.O, Nishimura.SI, Kurita.k. Amphilic polysaccharides from chitosan by regioselective chemical modifications in: *Advances in chitin and chitosan.* Brine.C, Sandford.PA, Zikakis.JP, eds. London and New York. Elsevier. **1992**, 526.
- [30] Gérente.C, Lee.VKC, Cloirec.P, Mckay.G.*Critical Rev Environ Sci Technol.* 37, **1984**, 41.
- [31] Peter.MG.*JMS Pure Appl Chem.* 32, **1995**, 629.
- [32] Guibal.E, *Sep Purif Technol.* 38, **2004**, 43.
- [33] No.HK, Meyers.SP. *Rev Environ Contam Toxicol.* 163, **2000**, 126.
- [34] Grini.G. *Bioresour Technol.* 97, **2006**, 1061.
- [35] Periera.MFR, Onfaoj.M, Figueiredo.JL, « les charbons actifs dans le traitement des eaux presseres industrielles polluées », ouvrage coordonne par Grini.G et Badot .P.M et edité par les presses universitaires de Franche-comte. Chapitre. 7,**2007**.
- [36] Gibal.E,MC.corrick.P, Tobin.J.M,*sep SCI techno.* 38,**2003**.
- [37] Gibbs.G,Tobin.J.M,Gibal.E,*J Applpolym Sci.* 90,**2003**.

ALGINATE



II-3 HISTORIQUE :

Les premières études scientifiques sur l'extraction des alginates provenant des algues brunes ont été réalisées par un chimiste britannique E.C.Stanford à la fin du XIX^{ème} siècle. Au cours de ses travaux sur l'extraction de l'iode à partir d'algues brunes, Stanford découvrit, en 1883, sur la variété «Laminaria Digital», une substance aux nombreuses et intéressantes propriétés qu'il appela : algine, du nom algue.

Plus tard, en 1886, il l'identifie comme acide et la rebaptisa acide alginique. Il en conçut quelques applications industrielles, notamment dans le domaine alimentaire pour épaissir et gélifier des solutions : soupes, gelées...etc. mais ce n'est que cinquante ans plus tard, dans les années 1930 aux Etats-Unis, qu'a véritablement démarré la production d'alginate.

Aujourd'hui, l'alginate est reconnu comme l'un des polymères les plus variés pour son exploitation industrielle [1].

II-4 SOURCE D'ALGINATE :

L'alginate est un polymère linéaire de structure hétérogène [2] dérivée d'une source marine naturelle, il est aussi biodégradable et non toxique [3]. Il existe dans les algues brunes comme polysaccharide le plus abondant, comportant jusqu'à 40% de la matière sèche. Il est situé dans la matrice intercellulaire comme gel contenant le sodium, le calcium, le magnésium, le strontium, et les ions de baryum [4]. Les molécules d'alginates fournissent à la plante, à la fois flexibilité et force : conditions nécessaires à sa croissance sous marine.

L'alginate est produit presque uniquement par les algues brunes des espèces Laminaria, Macrocystis, Fucus, Phaeophyceae, Ascophyllum, Ecklonie, Nereocystis, Durvillia, Chnoospora, Cystoseira et Turbinaria. Cependant, certaines bactéries telles que Azotobacter Vinelandii et plusieurs espèces de Pseudomonas sont susceptibles de produire l'alginate par des processus de fermentation microbienne suivis d'une polymérisation [5].

Les algues brunes sont récoltées dans quelques unes des eaux les plus froides et les plus claires du monde, figure III-1: les mers arctiques au large des côtes norvégiennes et canadiennes et dans l'atlantique nord principalement : aux U.S.A, en Grande Bretagne, France et en Norvège.

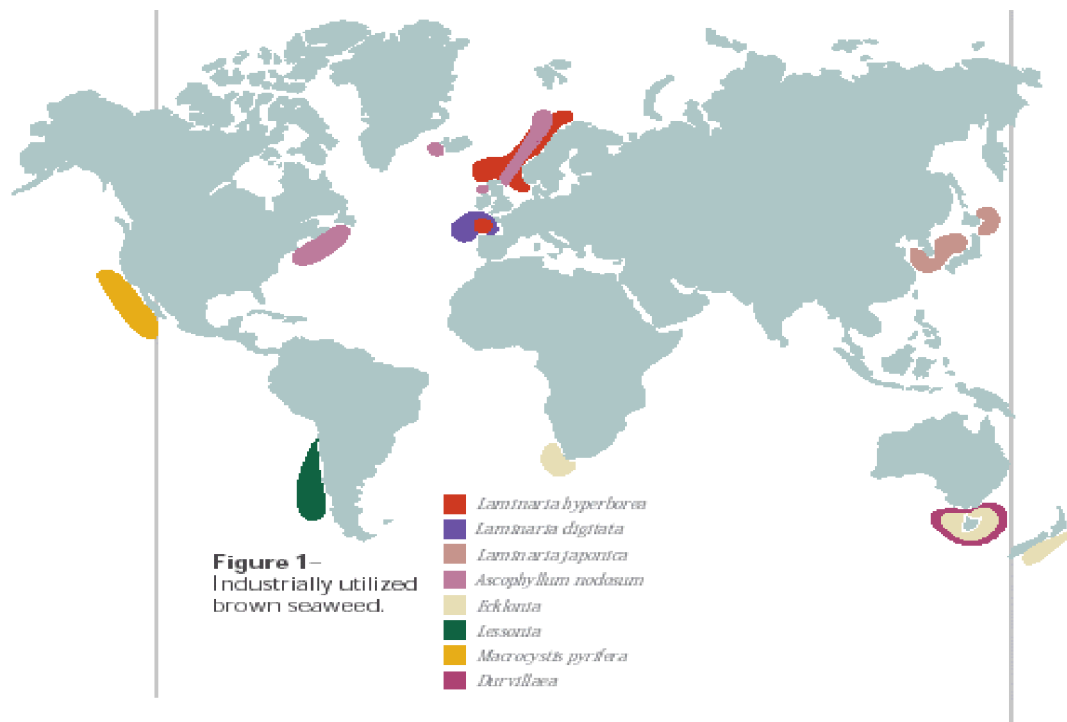


Figure II-4 : Espèces récoltées pour l'extraction d'alginate

II-5 ALGUES :

Les algues sont des êtres vivants capables de faire la photosynthèse dont le cycle de vie se déroule généralement en milieu aquatique. Elles constituent une part très importante des plantes largement exploitées par l'homme ; et sont utilisées par l'agriculture, l'industrie alimentaire et même comme produit essentiel dans le moulage [6]. L'étude des algues s'appelle la phycologie (le terme d'algologie est parfois utilisé mais il désigne également la branche de la médecine qui traite de la douleur). Les couleurs des algues peuvent être très variées : verte, jaune, rouge et brune.

II-5-1 Algues bleues :

Cette algue est de couleur verte à bleu verte. Elle se présente sous la forme d'une pellicule qui recouvre le sol de l'aquarium ainsi que les éléments du décor. Elle envahit aussi les plantes qu'elle finit par étouffer, son développement est d'une part favorisé par une mauvaise hygiène de l'aquarium (eau de mauvaise qualité, filtre encrassé, aquarium surpeuplé) ou par un le taux de nitrate élevé.

D'autre part la pousse de cette algue est aussi favorisée par une faible plantation et un éclairage inadéquat [7].

II-5-2 Algues vertes (chlorophycées) :

Elles sont de formes très variées, uni-ou pluricellulaires. Leurs plastes sont colorés en vert par les chlorophylles. La plupart des algues vertes vivent en eau douce ou en milieux marins, mais certaines espèces peuvent également se développer sur terre.

Elles jouent un rôle important dans l'oxygénation des eaux, favorisant ainsi la vie animale [7].

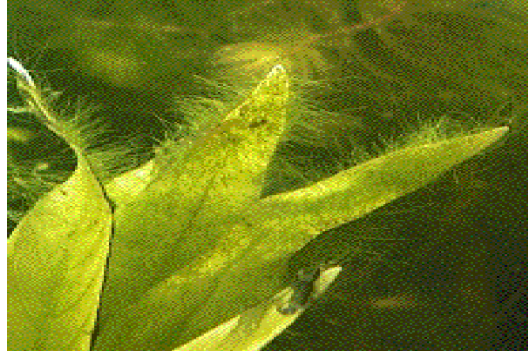


Figure II-5 : algue verte

II-5-3 Algues rouges (Rhodophycées) :

Les algues rouges forment un groupe très diversifié. Ces algues doivent leur couleur à la présence de plastes roses dans lesquels un pigment rouge, la phycoérythrine, est associé à plusieurs autres pigments dont les chlorophylles.

La plupart de ces algues rouges sont pluricellulaires et marines, mais il existe quelques formes unicellulaires et quelques unes vivent également en eau douce.

Les algues rouges sont divisées en deux groupes : celui des Bangiophycées (qualifiées de primitives) et celui des Floridéophycées (plus complexes). Elles se distinguent généralement par leur cycle de reproduction particulièrement complexe [7].



Figure II-6 : algue rouge

II-5-4 Algues brunes :

L'algue brune est l'une des algues qui se rencontre le plus souvent en aquarium. Elle se développe surtout sur les vitres de l'aquarium, le sol et les éléments du décor. D'une coloration ocre brune, elle donne à l'eau un aspect sale, lorsqu'elle colonise la vitre frontale, gâchant ainsi la vue de l'aquarium.



Figure II-7 : algue brune

Les algues brunes sont constituées d'un squelette polysaccharide, une matrice polysaccharide et d'un réseau de protéines.

II-6 COMPOSITION CHIMIQUE :

L'alginate est un polymère formé de deux monomères liés ensemble : le mannuronate ou acide mannuronique dont certains sont acétylés et le guluronate ou acide guluronique. La proportion et la distribution de ces deux monomères sont déterminantes pour une large expansion des propriétés physiques et chimiques de l'alginate. Sa composition chimique varie selon les diverses espèces d'algues, les différentes parties de la même plante est sujette aux changements saisonniers. Néanmoins par sélection de matières premières aux différentes propriétés, il est possible de fabriquer une variété d'alginate aux caractéristiques constantes [1].

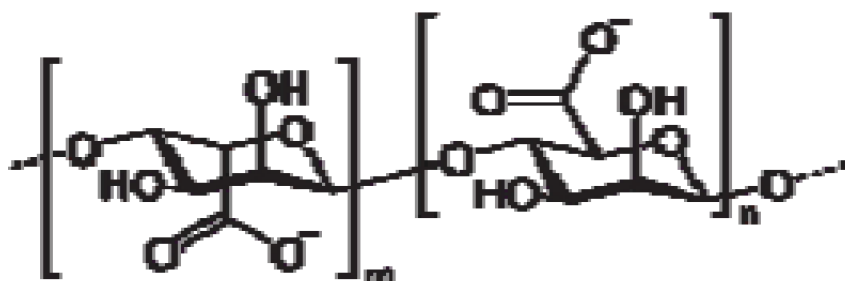


Figure II-8 : structure d'alginate

II-7 PROPRIETES CHIMIQUES :

Comme tous les polymères, l'alginate est caractérisé par différents paramètres tels que les masses molaires moyennes en poids (M_w) et masses molaires moyennes en nombre (M_n), d'autres facteurs sont propres à l'alginate et donc utiles pour l'appréciation de ses propriétés comme le rapport M/G.

II-7-1 Masse molaire moyenne :

La masse molaire moyenne en nombre M_n est définie comme la masse totale de toutes les macromolécules dans un échantillon divisée par le nombre total de macromolécules de l'échantillon [8].

La masse molaire moyenne en poids M_w est définie comme le rapport entre la somme des produits de la masse d'une chaîne i par sa masse molaire sur la masse totale des chaînes. Elle permet de prendre en compte le fait que les molécules de polymère les plus grosses contribuent plus à la masse totale de l'échantillon que les molécules plus petites [8].

II-7-2 Rapport M/G :

La qualité de l'alginate est appréciée par le rapport M/G. Ce rapport est fonction de l'espèce, de la variation saisonnière, de la partie et de portion de l'algue brune en étude. Les algues brunes du genre Sargassum ont donné un taux élevé du bloc G et un faible pourcentage du bloc M ; tandis que les algues Laminaires ont une quantité énorme en bloc M, et faible en bloc G. le rapport M/G des monomères se situe entre 0,25 et 2,25 selon l'espèce, l'organe, ou le tissu considéré [9].

II-8 PROPRIETES PHYSIQUES :

II-8-1 Solubilité et viscosité :

L'acide alginique pur est insoluble dans l'eau. Sa solubilité ou non dans l'eau dépend du type de sels métalliques qui lui sont associés. Les sels de sodium, d'ammonium, de potassium et d'autres métaux alcalins se dissolvent parfaitement en solution aqueuse, en donnant des solutions à haute viscosité. Exemple : pour une teneur pondérable de 1% d'alginate dans une solution aqueuse à 20°C, la viscosité est de 1.500 à 3.000 centipoises, alors que la gomme arabique à la même dilution donne moins de 30 centipoises. Les sels de cations polyvalents, tel le Ca^{+2} sont insolubles en solution aqueuse, à l'exception de celui de Mg^{+2} [10 ,11].

II-8-2 Stabilité :

L'alginate de sodium sec, pur et en poudre peut avoir une stabilité de plusieurs mois et peut être stocké dans un endroit sec et frais loin de toute lumière du soleil. A basse température, l'alginate de sodium peut être gardé pendant plusieurs années sans réduction significative de son poids moléculaire. En revanche, l'acide alginique sec a une stabilité très limitée aux températures ordinaires dues à la dégradation intramoléculaires [12].

Vu leurs multiples, il est important de se rendre compte des facteurs qui déterminent et limitent la stabilité des solutions d'alginate qui peut être sévèrement réduite sur une courte période dans les conditions favorisant la dégradation.

Puisque les alginates sont des produits naturels, beaucoup de micro-organismes peuvent les digérer [13].

II-9 PRODUCTION D'ALGINATE :

L'extraction de l'alginate des algues repose sur la solubilité dans l'eau de ce polymère : l'acide alginique est insoluble dans l'eau, mais ses sels de cations monovalents tels que le sodium Na ou le potassium k sont solubles. Ainsi, des changements de pH permettent sa purification et sa séparation des autres composants. Les principales étapes du processus d'extraction de l'alginate sont :

- ✓ **Prétraitement** : les algues sont lavées plusieurs fois à l'eau puis rincées à l'eau distillée, de façon à retirer d'éventuelles impuretés. Les algues sont ensuite séchées et broyées finement.
- ✓ **Purification** : la poudre d'algue est traitée avec une solution diluée d'acide, capable de dissoudre les sucres autres que l'alginate.
- ✓ **Extraction** : l'acide alginique dissout dans une solution légèrement basique de NaHCO_3 ou Na_2CO_3 sous forme d'alginate de sodium alors que les protéines encore présentes en solution sont hydrolysées.
- ✓ **Récupération** : la solution est alors filtrée et un ajout d'éthanol permet de précipiter spécifiquement l'alginate, celui-ci étant insoluble dans ce solvant contrairement aux acides aminés issus des protéines précédemment hydrolysées [8].

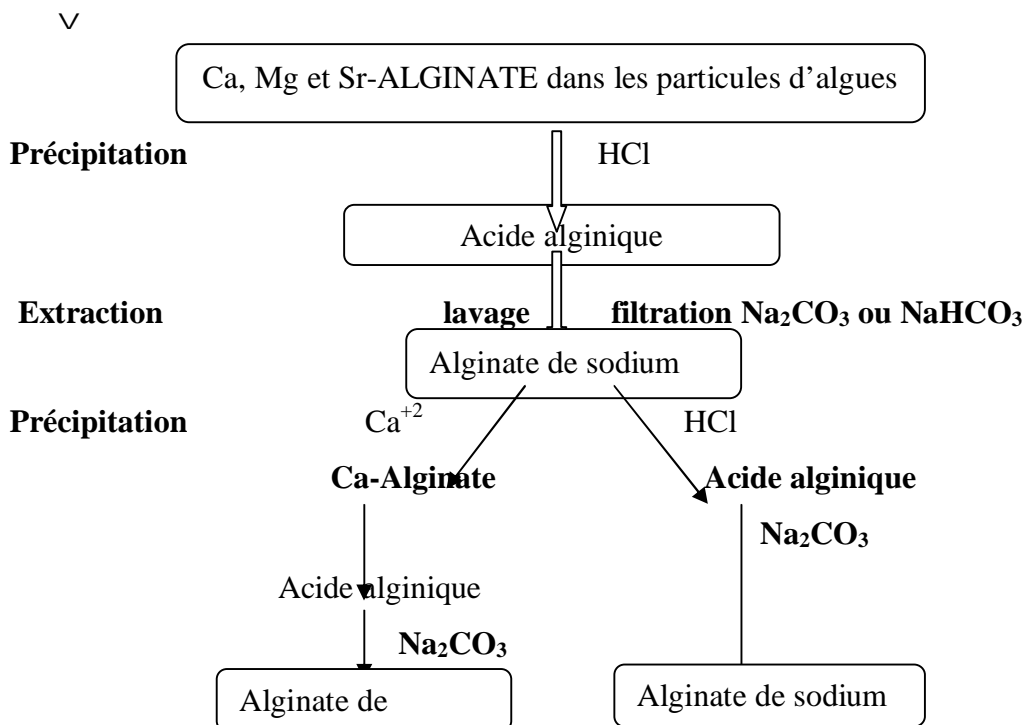


Figure II-9 : procédé pour l'isolement de l'alginate à partir d'algue [14]

II-10 PRINCIPALES APPLICATIONS DES ALGINATES :

Il ya différentes façons d'utiliser l'alginate dans des industries, aussi diverses que celles du textile, des produits alimentaires et pharmaceutiques, ainsi que toutes industries produisant des substances gélifiantes [1].

II-10-1 Application dans le domaine alimentaire :

L'alginate est un additif largement accepté par l'industrie alimentaire, où il est utilisé pour gélifier, épaissir et stabiliser. Il offre une solubilité à froid et une stabilité à chaud pour des produits comme les crèmes préparées, les confitures et les gelées. Il sert à la fabrication des sauces, de sirop, de produits en poudre, de conserves de viande et des pates de fruits.

II-10-2 Application dans le domaine textile :

L'industrie textile a également largement recours à l'alginate pour épaissir la pate à imprimer et rehausser la brillance des couleurs. L'alginate de sodium, agissant comme un épaississant, assure une meilleure suspension du colorant, facilite l'étalement et apporte une couverture homogène. Il renforce la brillance, la netteté des dessins et la pureté des couleurs.

II-10-3 Application dans le domaine pharmaceutique :

L'emploi de l'alginate à des fins médicales n'est pas nouveau, les chinois connaissaient déjà des algues comme médicament, il ya 5000 ans. Aujourd'hui, l'alginate est utilisé dans un large éventail de produit concernant toutes les parties du corps humain. Ses propriétés émulsifiantes le font également participer à la fabrication de produits cosmétiques : crèmes, savon, shampoing. Il aide à épaissir les crèmes pour la peau et joue un rôle clé pour la prévention des brulures d'estomac et dans les additifs dentaires.

II-10-4 Application dans les techniques de moulage :

Ses caractéristiques utilisées dans l'art dentaire pour la prise d'empreintes ont fait de l'alginate un matériau de moulage, à la fois, d'une grande souplesse, facile à utiliser et particulièrement efficace et performant.

De nouvelles applications émergent à l'horizon, avec la contribution potentielle de l'alginate dans des désintoxications contre la drogue, grâce à ses propriétés bio-adhésives et dans les produits antirejet lors d'une transplantation.

Références bibliographiques :

- [1] Delpech.J.P, Figueres.M.A, Mari.N, Technique du moulage « Alginate et Bandes Plâtrée », Editions Eyrolles Paris.16, 23, 15, 17 Aout **2000**.
- [2] Diane J « les phycocolloides » **2007**.
- [3] Payet.L, Ponton.F, Agenly.P , colinart.J, Grpossiord payet et al ; Rheologie caractérisation rhéologie de la gélification de l'alginate et de chitosane : effet de la température Vol. 2, **2002**, 46-51.
- [4] Hang.A, composition and properties of alginates, thèses, Norwegain institue of technology, Trondheim, **1964**.
- [5] Vicent.Rocher « Synthèse et caractérisation de billes d'alginate magnétiques pour l'élimination de polluants organiques dans les affluents par séparation magnétique » these de doctorat de l'université Pierre et Marie Curie. **2008**.
- [6] Revies.B, Biologie et phylogénie des algues, chapitre1, Paris. 16, Oct**2002**.
- [7] Garnon-lardiere.S « étude structurale des polysaccharides Pariétaux de l'algue rouge » (asparagopsis armata), université de gratagne occidentale. **2004**.
- [8] Rocher.V, « synthèse et caractérisation de billes d'alginate magnétiques pour l'élimination de polluants organiques dans les effluents par séparation magnétique » université Pierre et Marie Curie, chap. II, **2008**, 49-52.
- [9] Minghou,M.H.C.J, Yujun.W, Zuhong.X et Yucai.G « Studies on the M/G ratios in alginate ». Hydrobiology, 116,N^o7, **1984**, 554-556.
- [10] Bruneton.J « Les polysaccharides des algues. Eléments de Phytochimie et de Pharmacognosie» Technique Et Documentation, Lavoisier, **1987**, pp.23-30.
- [11] Larsen.B Handbook of Phycological and Biochemical Methods. Cambridge University Press, **1978**, 181-189.
- [12] Smidsord.O, Haug.A, et Larsen.B, « The influence of Ph on the rate hydrolysis of acidis polysaccharides», Acta Chem. **1996**.
- [13] Gacesa.P, Caswell.R.C, et Kille.P, « Bacterial alginates, Pseudomonas aeruginosa infection», Karger, Basel. 67, **1989**.
- [14] Alistair.M.S, « food polysaccharides and their application », departement of Chemistry,university of Cape Town Rondebosch, South Africa.

Chapitre III

Synthèse et caractérisation

III-1 INTRODUCTION :

Dans cette partie du travail nous avons essayé de préparer une série de matériaux composites à base de silicates lamellaires et des polysaccharides.

Le silicalite utilisé est la magadiite dont la synthèse a été maîtrisée dans notre laboratoire par M.Sassi et col [1]. C'est un silicate naturel rare, découvert avec la kenyaite dans le lit du lac magadi au Kenya, en 1967. La mise au point des protocoles de synthèse de ce matériau, appartenant à la famille des polysilicates hydratés comme la makatite, la Kanémite, l'octosilicate et la Kenyaite, a permis d'ouvrir un large domaine d'application. La structure de ces matériaux, est généralement formée de feuillets silicates séparés par des cations sodium hydratés.

Les polysaccharides sont des polymères naturels, abondants, issues de ressources renouvelables et exploitables dans de nombreux pays. Ils présentent des caractéristiques inédites telles que la biodégradabilité, la biocompatibilité, la versatilité ou encore la non toxicité. Ce sont des bio-indicateurs de pollution, des adsorbants efficaces, des catalyseurs actifs et des agents bactéricides intéressants. Au cours de cette étude, deux bio-polymères seront utilisés : le chitosane et l'alginate.

Le chitosane est une substance très peu répandue dans la nature. Elle n'est considérée que dans les exosquelettes de certains insectes et dans la paroi cellulaire d'une classe particulière de champignons (les zygomycètes). La production étant assurée par transformation de la chitine issue de déchets crustacés de la pêche. Le chitosane est caractérisés par la présence de groupements amines et de nombreuses fonctions hydroxyles qui lui confèrent un fort caractère hydrophile.

L'alginate est un polymère biodégradable et non toxique, dérivé d'une source marine naturelle : à savoir les algues brunes de type : Laminaria, Macrocystis, Fucus, Phaeophyceae, Ascophyllum, Ecklonie, Nereocystis, Durvillia, Chnoospora, Cystoseira et Turbinaria. Sa structure hétérogène est linéaire, il constitue jusqu'à 40% des constituants des algues brunes et fournit à la plante, à la fois flexibilité et la force : conditions nécessaires à sa croissance sous marine.

Des matériaux composites magadiite-polysaccharides seront mis au point à la fin de cette partie en vue de juger leur efficacité contre des bactéries pathogènes à la suite de ce travail.

III-2 SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION DE POLYSACCHARIDES :**III-2-1 Préparation du chitosane :****III-2-1-1-Mode opératoire :**

Pour la formation des billes de chitosane on dissout une quantité du chitosane dans l'eau distillée légèrement acidifiée par l'acide acétique, l'opération est réalisée sous agitation magnétique. La solution aqueuse du chitosane est aspirée par une seringue puis gélifiée goutte à goutte dans un bain de solution alcaline de NaOH 0.5M. La formation des billes de chitosane est instantanée et se fait par réticulation de chaînes. Après une période de maturation de deux heures, les billes sont récupérées, filtrées puis lavées et laissées dans l'eau distillée afin d'éviter l'écrasement de leur réseau par évaporation. Le principe du mode opératoire pour la préparation des billes de chitosane est présenté sur la figure III-1.

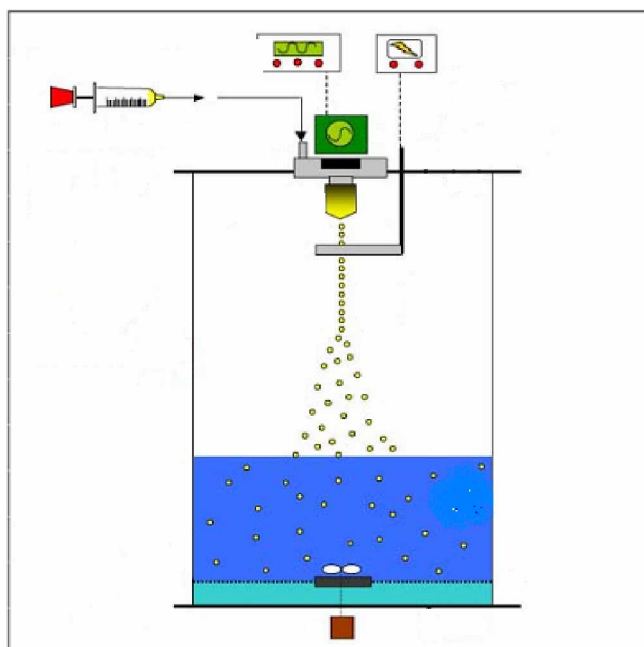


Figure III-1 : Principe de préparation des billes de chitosane

III-2-2 Caractérisation :**III-2-2-1 Analyse par diffraction de rayons X :**

Les rayons X sont des rayonnements électromagnétiques dont la longueur d'onde est comprise entre 0.2 et 2 Å. La diffraction des rayons X est une analyse non destructive qui

nécessite une faible masse d'échantillon (30mg). Le diffractogramme du chitosane est présenté sur la figure III-2.

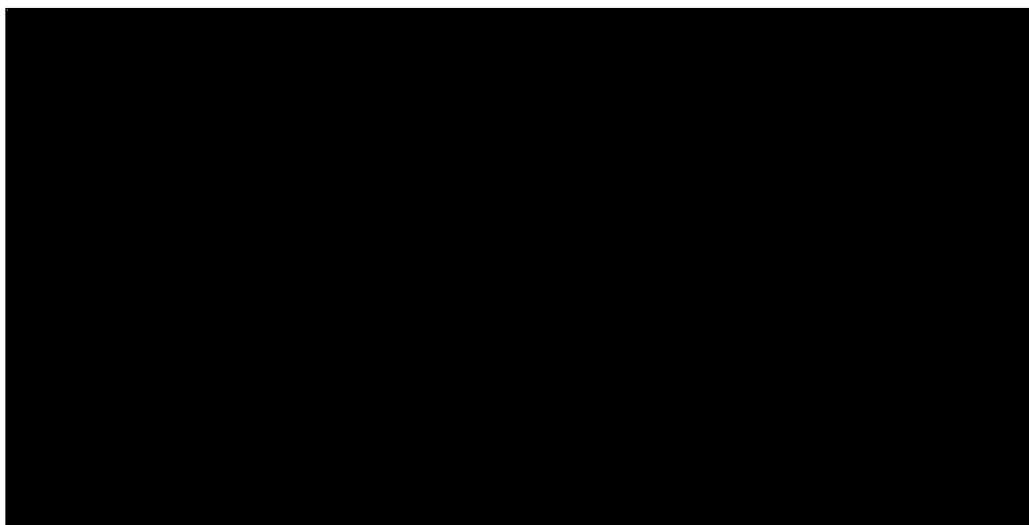


Figure III-2 : Diffractogramme du chitosane.

Le chitosane existe sous deux formes cristallines, la forme I est caractérisée par deux pics larges vers $2\theta = 11.2^\circ$ et 18° ; tandis que la forme II présente trois pics à $2\theta = 15^\circ$, 20.9° , et 23.8° . Le diffractogramme présenté sur la figure révèle deux pics larges vers 11° et 19° . Ainsi, notre produit est de forme cristalline I.

III-2-2-2 Analyse par spectrophotométrie infrarouge (IR) :

Le spectre infrarouge du chitosane est donné sur la figure III-3 :

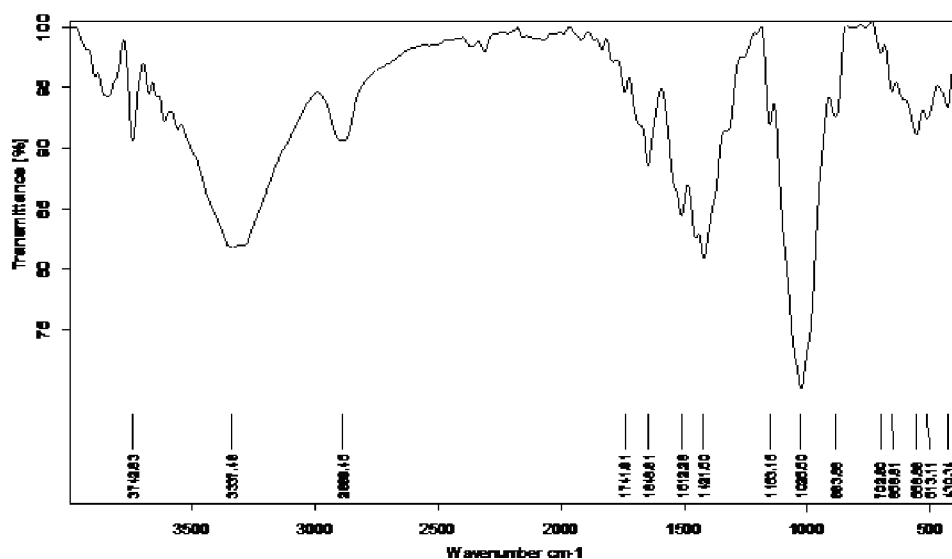


Figure III-3 : Spectre infrarouge du chitosane

L'identification de différentes bandes est donnée selon le tableau III-1 :

Tableau III-1 : Bandes d'adsorption infrarouge du chitosane :

Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Fonctions
3337.48	Large bande caractéristique des groupements OH
2889.45	Bande caractéristique d'élongation des groupements C-H
1646.58	Bande moyenne caractéristique des groupements NH ₂
1548.03	Bande caractéristique de la vibration et d'élongation de la liaison N-H
1024.36	Bande caractéristique des groupements C-O-C
1375.08	Bande caractéristique des groupements C-O-H
1083	Bande caractéristique des vibrations C-N
895.15	Bande caractéristique d'un composé cyclique

III-2-2-3 Microscopie électronique à balayage :

Les photographies MEB sont effectuées à l'aide d'un microscope électronique à balayage à effet de champ, type Hitachi S-4500. Les échantillons sont fixés à l'aide de colles conductrices sur des plots métalliques, la métallisation (2 nm de Pt) est faite ensuite par pulvérisation de platine sous un vide de 0.05 mbar d'argon.

La figure III-4 donne un cliché MEB d'une bille de chitosane sous forme aérogel.

Notons que l'obtention d'aérogel nécessite un séchage au CO₂ supercritique qui donne des billes dont la structure est similaire aux billes hydrogel parents. La nécessité de présenter des résultats concernant l'aérogel est due à la présence d'eau dans le réseau de l'hydrogel qui ne permet pas d'avoir une analyse par microscopie électronique à balayage.

La photo MEB d'une bille de chitosane sous forme aérogel traduit fidèlement le réseau fibreux et le volume libre important du polysaccharide, le xérogel présente une structure figée.

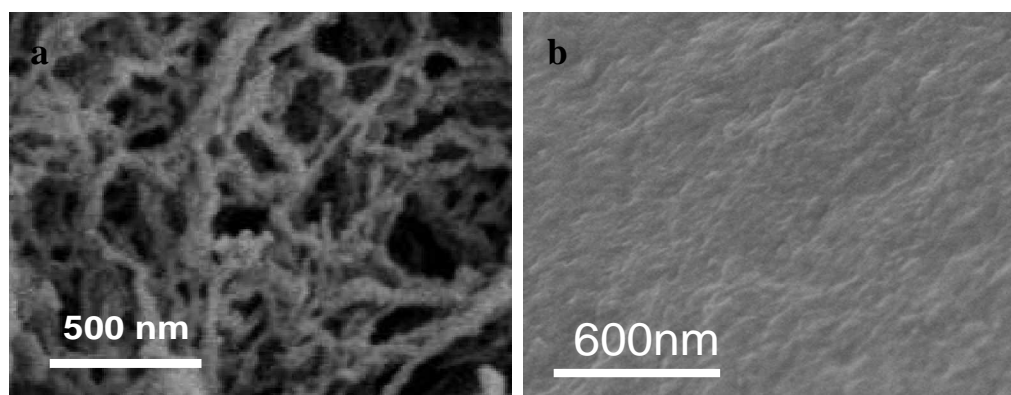


Figure III-4: photo MEB du réseau du chitosane d'un aérogel (a) et xérogel (b).

III-3 ECHANGE CATIONIQUE DU CHITOSANE AVEC LE CUIVRE ET LE ZINC :

L'échange avec le cuivre et le zinc est effectué dans une solution contenant une quantité de chitosane sous forme de bille hydrogel dont la masse est de 100 mg dans une solution de 50 ml du cation correspondant. La concentration du cation est de 60 ppm avec un pH fixé à 6,8. L'opération est faite sous faible agitation à température ambiante pendant 6 jours pour le cuivre et trois jours pour le zinc.

III-3-1 Caractérisation :

III-3-1-1 Analyse par spectroscopie infrarouge :

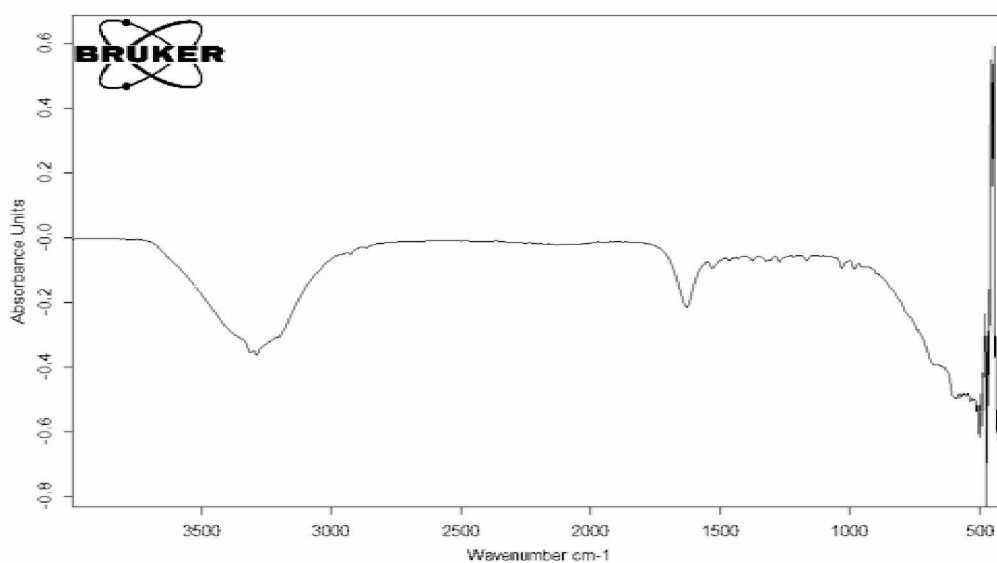


Figure III-5 : spectre infrarouge de chitosane-Cu

Les spectres infrarouge obtenus après échange par cuivre et zinc sont similaires et présentent une bande à 3330cm^{-1} caractéristique des groupements OH et une autre bande vers 1550cm^{-1} caractéristique de la vibration et d'élongation de la liaison N-H.

III-4 PREPARATION DES BILLES ALGINATES :

L'alginate est dissout dans l'eau distillée, sous agitation magnétique pendant une heure. La solution aqueuse d'alginate est aspirée par seringue puis gélifiée goutte à goutte dans un bain de solution de CaCl_2 0.2M. La gélification dans la solution saline est instantanée et la formation des billes d'alginate se fait par agrégation de chaîne au tour des cations Ca^{2+} .

Après une période de maturation d'une nuit, les billes sont récupérées, filtrées puis lavées et laissées dans l'eau distillée. Les billes ainsi obtenue sont nommées « hydrogel ». Après séchage à l'air libre ou à l'étuve les billes deviennent « xérogels ».

III-4-1 Caractérisation :

III-4-1-1 Analyse par diffraction de rayon X :

Le diffractogramme DRX, enregistré sur un appareil Bruker AXS D-8 utilisant la radiation $K\alpha$ du cuivre, de l'alginate séché à l'aire libre est présenté sur la figure III-6.

Deux pics à 2 théta égale à 15° et 18° sont caractéristiques de la structure d'alginate.

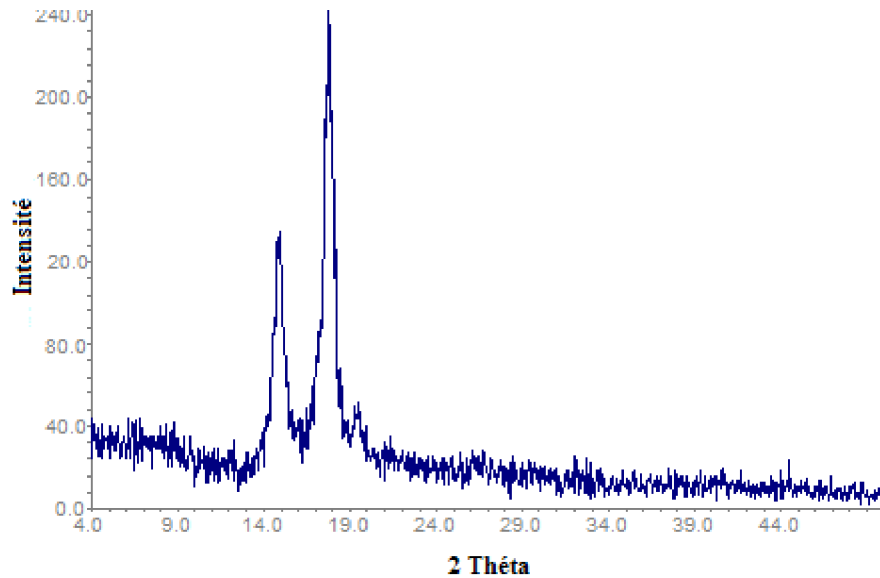


Figure III-6 : Diffractogramme des rayons X de l'alginate de sodium

III-4-1-2 Spectroscopie infrarouge :

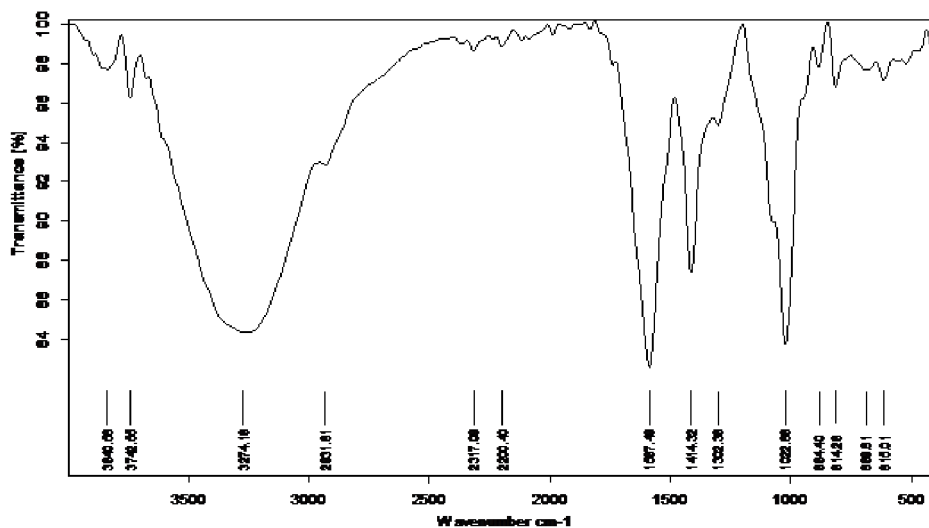


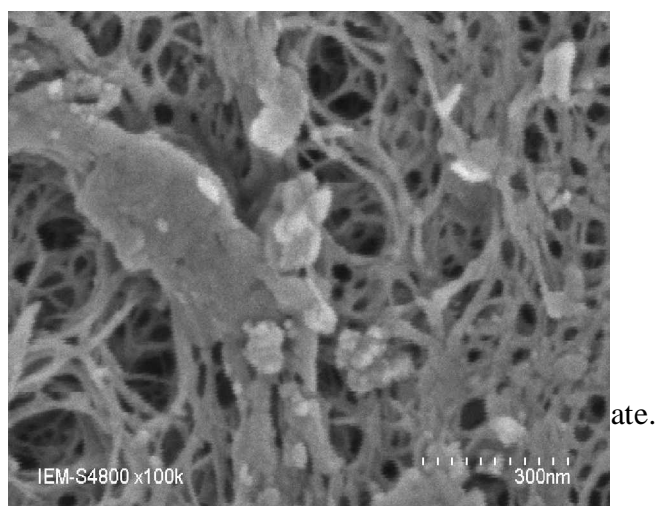
Figure III-7 : Spectre infrarouge d'alginate de sodium

Le spectre infrarouge de l'alginate de sodium est présenté sur la figure III-7, les bandes caractéristiques sont :

3274.18 cm^{-1}	Une large bande caractéristique des groupements OH.
1687.49 cm^{-1}	Bande caractéristique des groupements carboxylate COO asymétriques
1414.32 cm^{-1}	Bande caractéristique des groupements carboxylate COO symétriques
1022.6 cm^{-1}	Bande caractéristique des groupements C-O-C.
2931.61 cm^{-1}	Bande caractéristique des groupements C-H.
844.40 cm^{-1}	Bande caractéristique d'un composé cyclique.

III-4-1-3 Microscopie électronique à balayage :

Les photos MEB des billes d'alginate sous forme aérogel montre un réseau fibreux de polysaccharide avec un volume libre important. L'aérogel traduit la morphologie, presque réelle, de l'hydrogel avant le départ de l'eau. La figure III-8 donne un cliché MEB d'une bille d'alginate vue de l'intérieur.



III-5 COLLAPSE DES BILLES ALGINATE ET CHITOSANE :

Le xérogel obtenu par séchage à l'air libre subit un écrasement important de son réseau. Cependant, si la diminution de diamètre ne dépasse pas les deux tiers pour le xérogel, en termes de volume les variations sont très importantes. Ainsi, et puisque les billes sont assimilées à des sphères, la perte en volume est de 93% pour les billes alginate et 95% pour

les billes chitosane, après un séchage à l'air libre. L'évaporation de l'eau engendre des tensions capillaires importantes et mène au collapse du réseau.

La perte en volume s'accompagne par une perte similaire en masse : après séchage à l'air libre, la perte en masse enregistrée est de 94% pour les billes alginate et 96% pour le chitosane.

La figure III-9 présente un exemple de collapse des billes alginate après séchage à l'air libre.

Dans notre travail nous nous sommes limités à l'utilisation des billes hydrogels.

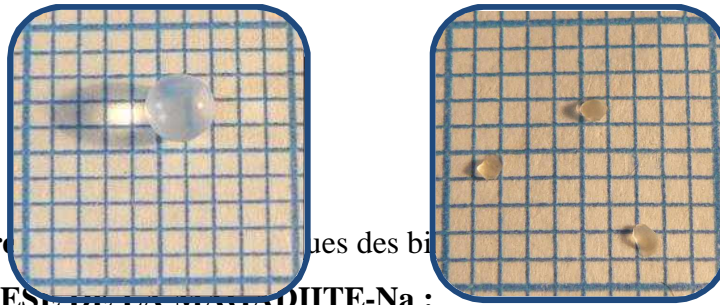
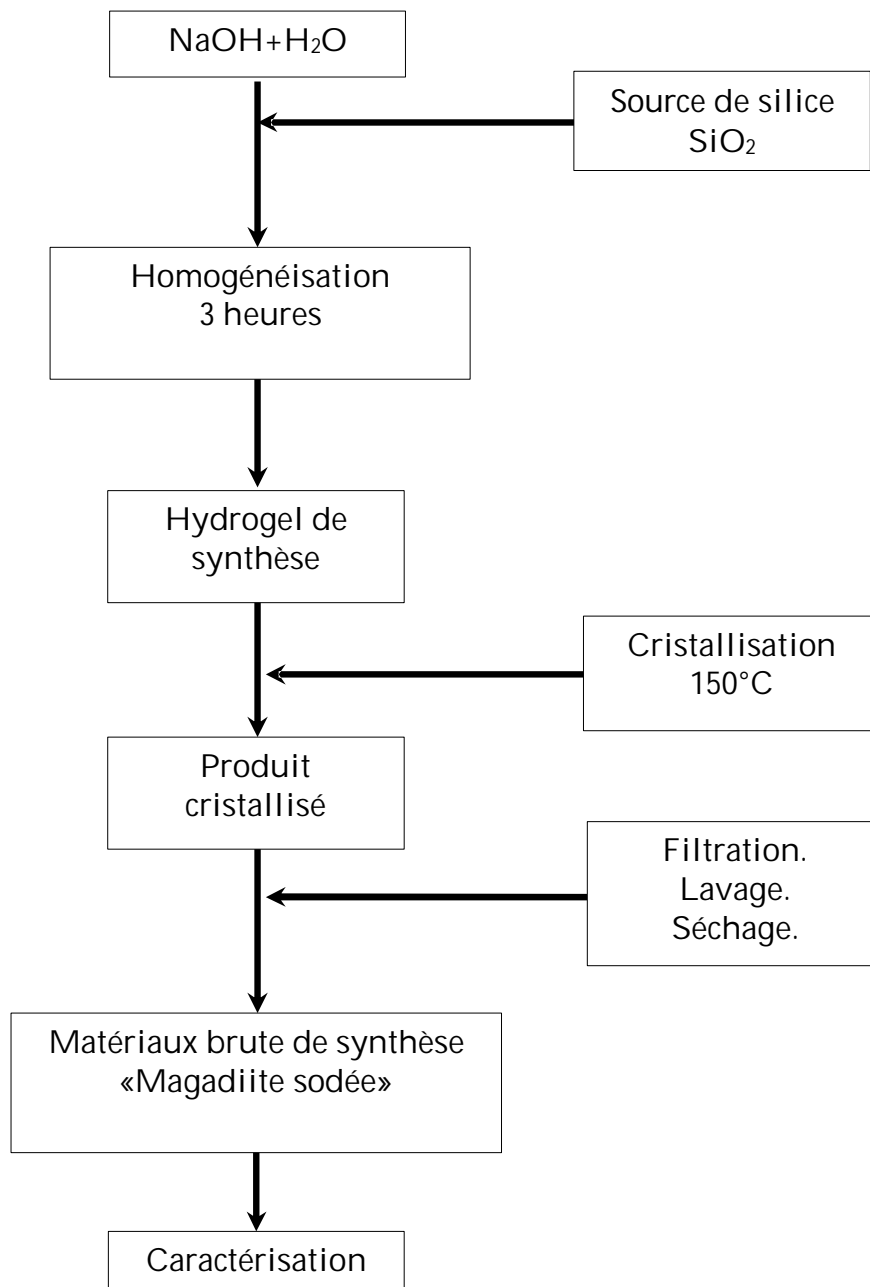


Figure III-9 : Exemple de collapse des billes alginate après séchage à l'air libre.

III-6 SYNTHÈSE DE LA MAGADIITE-Na :

La magadiite-Na est synthétisée suivant le protocole suivant :

A une solution alcaline de soude, on ajoute lentement la source de silice, sous moyenne agitation. Après homogénéisation à température ambiante, le mélange réactionnel est transféré dans un autoclave en acier puis porté à la température de cristallisation de 150°C pendant 48h [1]. Le produit de la réaction est filtré, lavé, séché puis caractérisé par diffraction de rayons X, spectroscopie infrarouge et microscopie électronique à balayage.

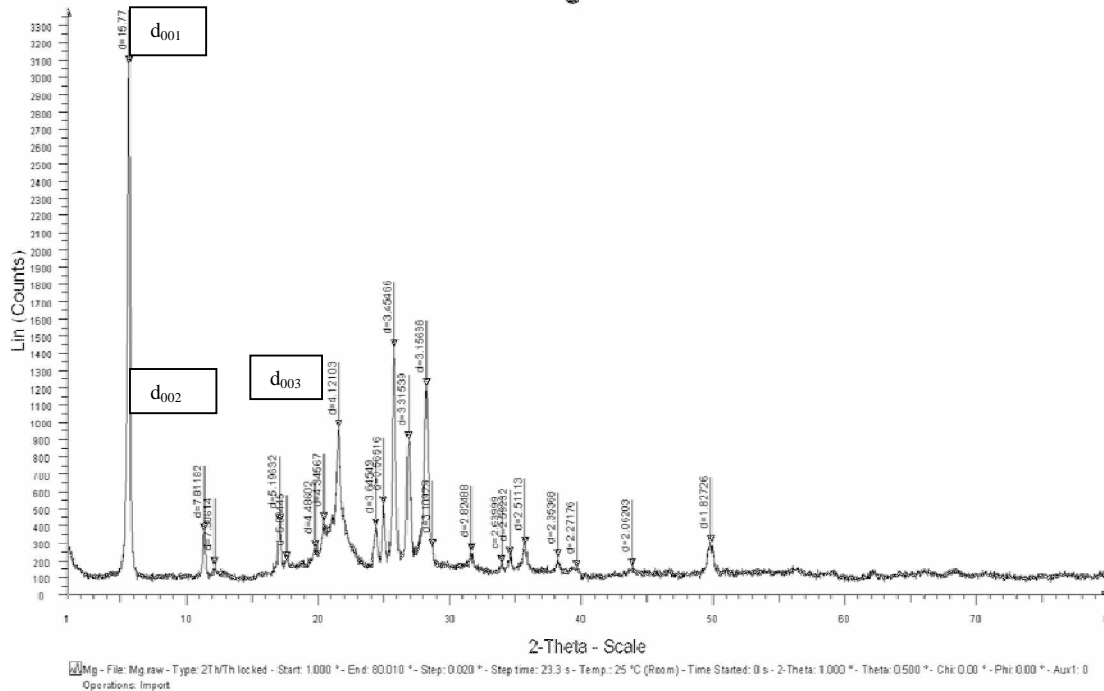


III-6-1 Caractérisation :

III-6-1-1 Analyse par diffraction de rayons X :

Cette technique est utilisée pour identifier la structure de la phase cristalline, utilisant la radiation $\text{K}\alpha$ du cuivre, les enregistrements sont réalisés dans un domaine de 2θ variant de 1 à 80 degrés par pas de 0.02 degrés.

La figure III-10 présente le diffractogramme DRX de la magadiite Na synthétisée.



Figure

III-10 : Diffractogramme des rayons X de la Magadiite-Na

Le diffractogramme de rayons X présente plusieurs raies de diffraction. Le pic (001) correspond à une périodicité d_{001} , de l'ordre de 15.7\AA , les raies de périodicité d_{002} égale à 7.81\AA et d_{003} de 5.1\AA , sont caractéristiques de la magadiite-Na.

Le diffractogramme obtenu est en très bon accord avec les résultats de la littérature [2].

III-6-1-2 Analyse par spectroscopie infrarouge (FTIR):

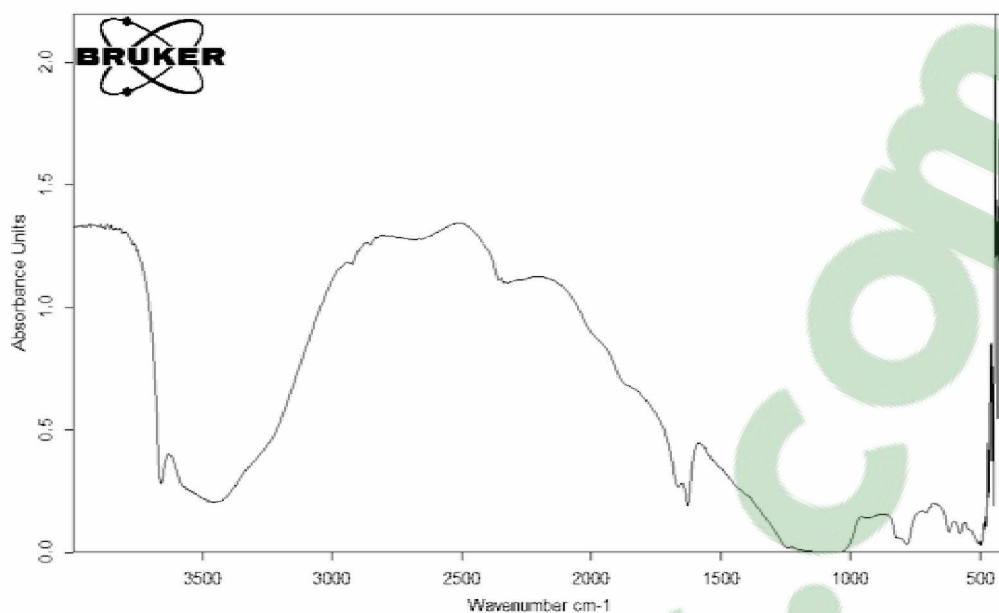


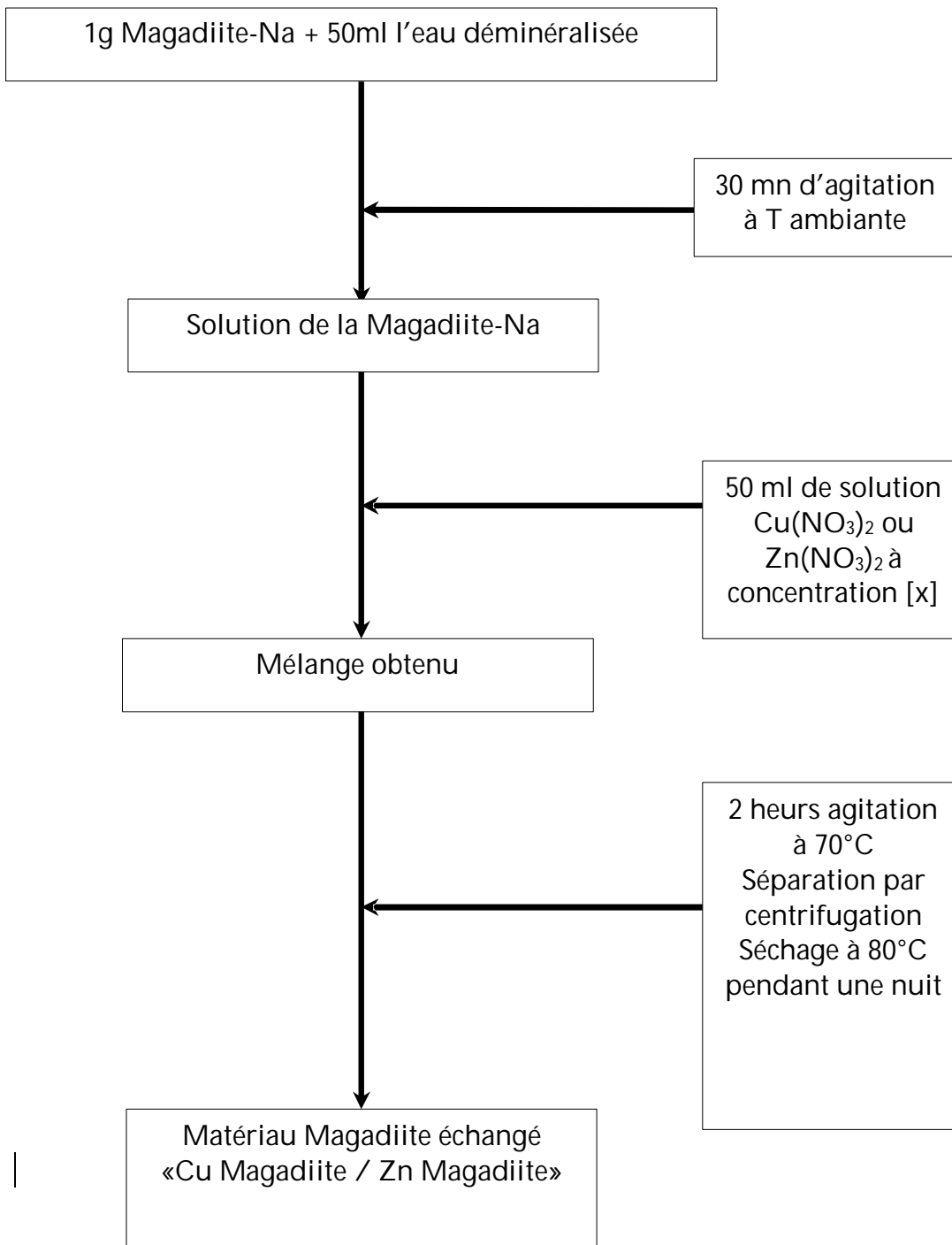
Figure III-11: Spectre infrarouge de la magadiite-Na

Le spectre infrarouge de la magadiite-Na est donné par la figure III-11, Celui-ci présente un signal à 3660 cm^{-1} associé aux vibrations des groupements OH libres des groupements Si-OH ; une large bande de vibration à 3500 cm^{-1} attribuée aux groupements OH formant des liaisons hydrogènes ou bien à des groupements OH de l'eau interlamellaire. Un autre signal est observé à environ 1600 cm^{-1} indiquant la présence d'eau physisorbée. Les bandes situées à environ 785 cm^{-1} sont associées à l'étirement symétrique Si-O et celles à 463 cm^{-1} au cisaillement.

III-7 PROTOCOLE DE L'ÉCHANGE CATIONIQUE DE LA MAGADIITE-Na

La préparation des magadiite-Cu ou magadiite-Zn, par échange cationique, est réalisée par la mise en contact de la magadiite-Na avec des solutions de nitrate de cuivre $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ ou de Nitrate de zinc $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ respectivement [2].

Les étapes à suivre, pour réaliser ces échanges, sont schématisées par le protocole suivant



III-7-1 Diffraction de rayons X:

L'évolution de l'échange cationique de la magadiite-Na par le cuivre a été suivie par diffraction de rayons X, figure III-12., La périodicité d_{001} diminue de 15.6\AA dans la Magadiite-Na à 13.5\AA dans la Magadiite-Cu. Cette diminution est due au fait que pour échanger un ion de cuivre il faut faire sortir deux ions de sodium, elle est aussi expliquée par les diamètres des rayons des ions échangés, le diamètre de cuivre étant inférieur à celui du sodium. D'autre part, la raie (001) fine et intense dans le cas de la Magadiite-Na, diminue d'intensité pour la Magadiite échangée.

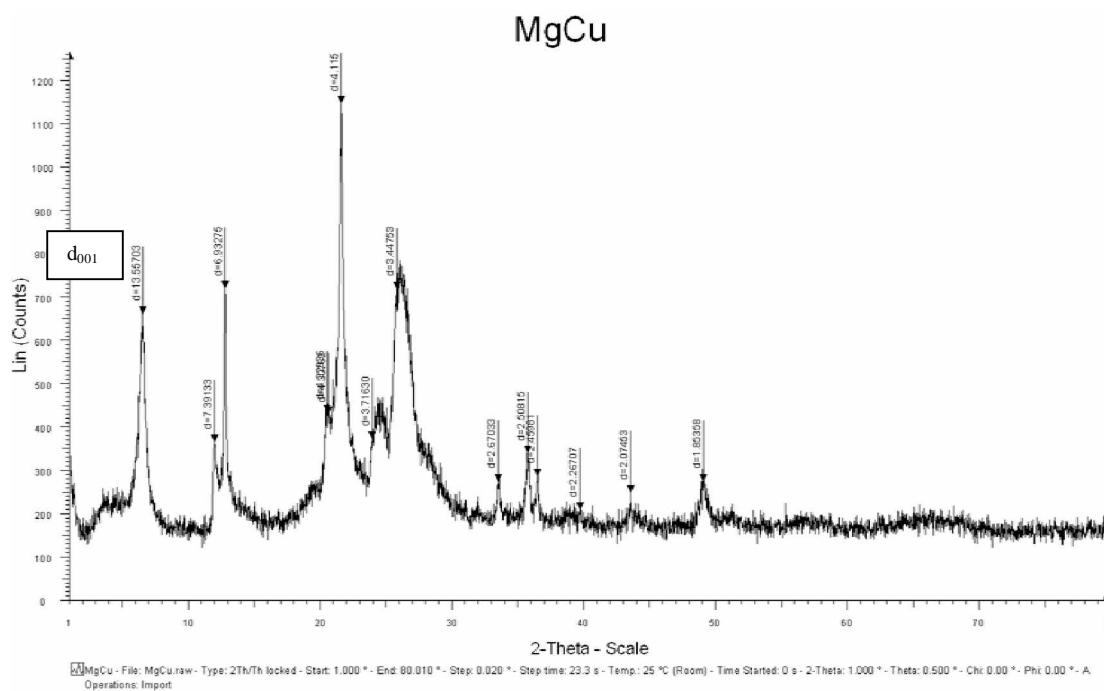


Figure III-12 : Diffractogramme de rayons X de la Magadiite-Na/Cu

III-7-2 Spectroscopie infrarouge:

L'analyse par spectroscopie infrarouge (FTIR) est donnée sur les figures III-13 et III-14. Les spectres infrarouge des matériaux magadiite échangés au cuivre ou au zinc montrent la présence de toutes les bandes de vibrations caractéristiques de la magadiite-Na. Ainsi, une large bande de vibration à 3500 cm^{-1} est attribuée aux groupements OH formant des liaisons hydrogènes ou bien à des groupements OH de l'eau inter lamellaire ; à 1600 cm^{-1} une bande intense indique la présence d'eau physisorbée. Les bandes situées à environ 786 cm^{-1} sont associées à l'étirement symétrique Si-O et celles à 463 cm^{-1} au cisaillement. Cela donne un indice positif quant à la préservation de structure de la magadiite après échange.

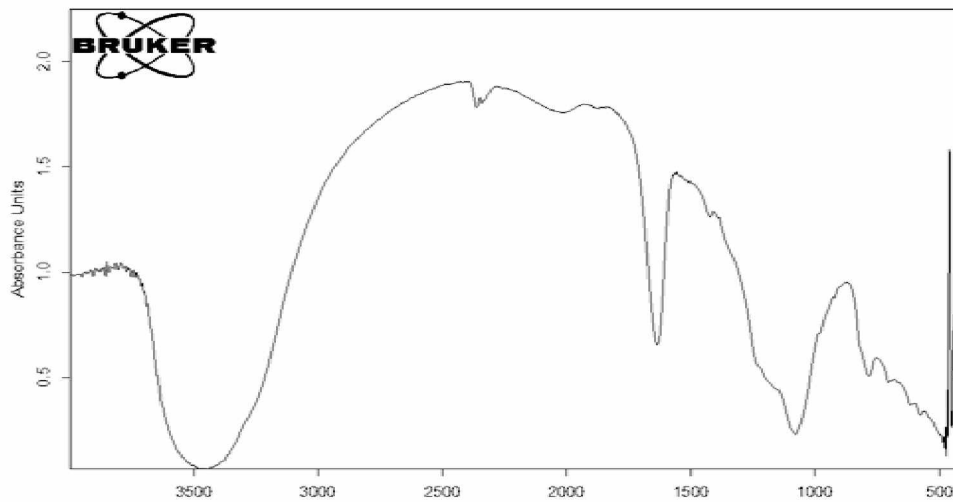


Figure III-13 : Spectre infrarouge de la magadiite-Cu

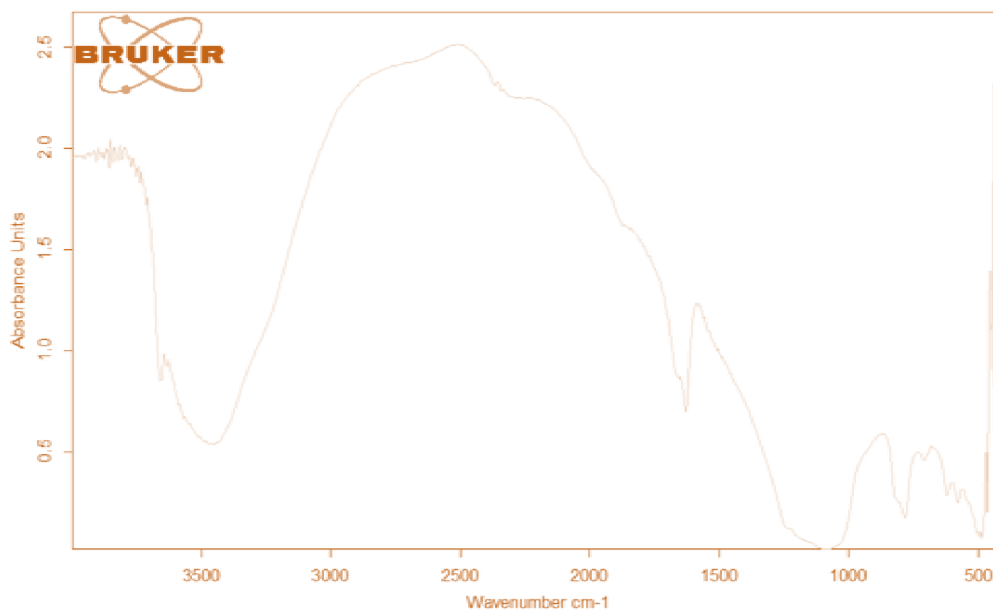


Figure III-14: Spectre infrarouge de la magadiite-Zn

III-8 MATERIAUX COMPOSITES :

Des produits composites sont préparés à base de la magadiite et des polysaccharides sous deux formes billes et membranes, ces derniers sont cités dans le tableau suivant :

Chitosane-Magadiite-Na	Chitosane-Magadiite-Na/Cu	Chitosane-Magadiite-Na/Zn
Alginate-Magadiite-Na	Alginate-Magadiite-Na/cu	Alginate-Magadiite-Na/Zn

III-8-1 Protocole d'encapsulation :

L'encapsulation du produit minéral au sein du polysaccharide est une opération selon laquelle les propriétés des deux composants peuvent être accouplées. Cette opération a été faite avec succès pour plusieurs types de zéolithes telles la zéolithe type X, Y, A ou mordenite [3].

Ainsi, lors de la préparation du gel du chitosane ou d'alginate une masse de 10% pds de la magadiite-Na ou bien magadiite échangée est ajoutée lentement jusqu'à homogénéisation du mélange. Le gel obtenu est aspiré par une seringue puis gélifié dans une solution alcaline de soude 1M pour les composites à base de chitosane ou dans un bain de CaCl_2 pour ceux à base d'alginate.

Après une maturation de deux heures, les billes sont récupérées, filtrées puis lavées et laissées dans l'eau distillée afin de maintenir leur forme hydrogel.

L'obtention des composites Magadiite-polysaccharide sous forme de membrane est assurée par la pulvérisation des solutions gélifiantes (NaOH ou CaCl_2) sur une couche fine du gel, le même décrit pour les billes, dans une boîte de pétrie. Le recouvrement de toute la surface permet la diffusion du produit à l'intérieur du gel et donne lieu à une membrane homogène de quelques millimètres d'épaisseur.

Les membranes sont lavées, après maturation et gardées dans un bain d'eau puis découpées sous forme de disques de petites tailles avant leurs utilisation pour des tests antibactériens.

III-8-2 Caractérisation par spectroscopie infrarouge:

Les billes et membranes de chitosane modifié (Chitosane-Magadiite-Na, Chitosane-Magadiite-Cu, Chitosane-Magadiite-Zn), analysées par spectroscopie infrarouge, ont donné des spectres infrarouge identiques. La figure III-15 présente un spectre du composite chitosane-Magadiite-Na avec deux bandes seulement. La première est située à 3300 cm^{-1} spécifique des bandes OH et la deuxième vers 1550 cm^{-1} caractéristique de la vibration et d'élongation de la liaison N-H. Nous pensons qu'une analyse structurale et texturale complète est seule capable de définir la nature compliquée de ces composites.

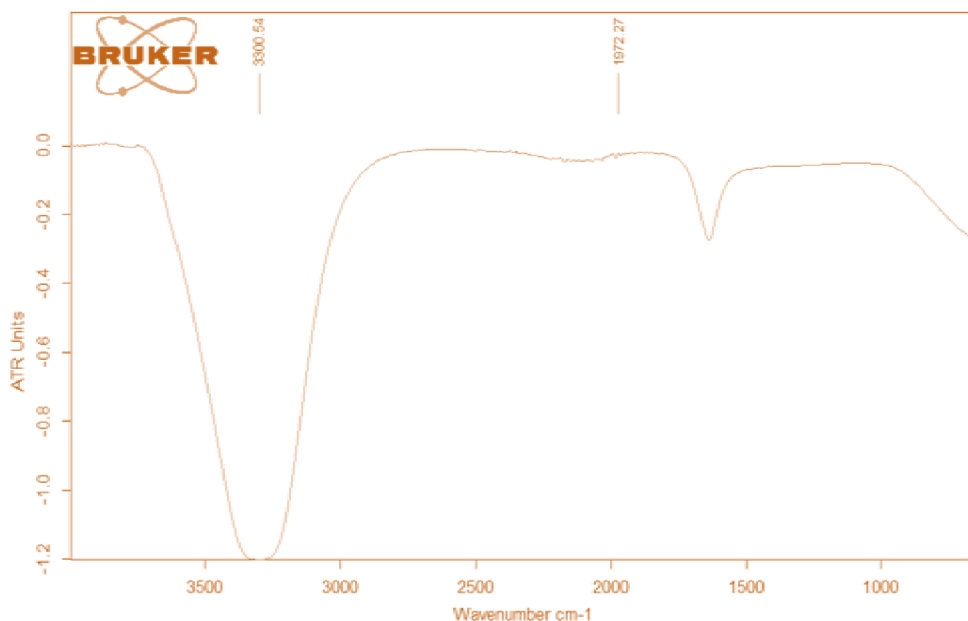


Figure III-15: spectre infrarouge de chitosane-Magadiite-Na

Concernant les composites alginate-magadiite (Alginate-Magadiite-Na, Alginate-Magadiite-Cu, Alginate-Magadiite-Zn), ils présentent aussi les mêmes allures en spectroscopie infrarouge. La bande des vibrations OH, située vers 3300 cm^{-1} , est large. Celle située vers 1640 cm^{-1} est caractéristique des groupements carboxylate COO^- asymétriques. L'absence des autres bandes, probablement due à une interaction minérale-polysaccharide, a été déjà constaté lors de la préparation et caractérisation des composites alginate-SAPO-5 [4].

La figure III-16 présente le spectre infrarouge du produit Alginate-Magadiite-Na similaire à ceux échangés avec du cuivre et du zinc.

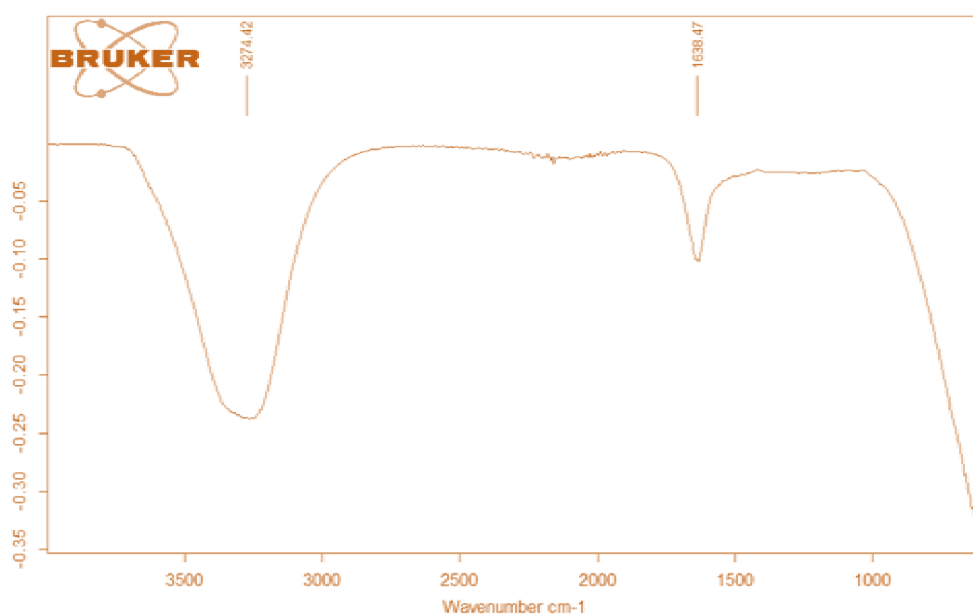
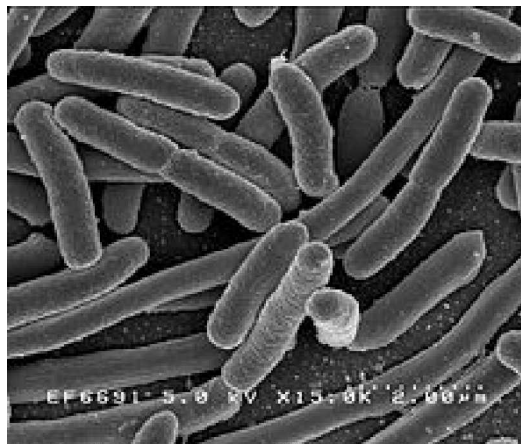


Figure III-16 : infra-rouge d'Alginate-Magadiite-Na**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :**

- [1] M.Sassi.Mohammed, these de doctorat, Université d'Oran.
- [2] M.Adel, « étude de l'échange ionique de la magadiite-Na avec du cuivre et du zinc», Memoire de Magister, Université d'Oran, **2009**.
- [3] A.Djelad, A.Morsli, M.Robitzer, A.Bengueddach, F.DI Renzo and F.Quignard, Macromol.Symp, 173, **2008**, 103.
- [4] A.Ammar, Préparation et caractérisation des composites alginate-SAPO-5. Mémoire Master, Université d'Oran, **2011**.

Chapitre IV

Bactéries : Concept et Définition - Application antibactérienne -



IV-1 BACTERIE :**IV-1-1 Qu'est ce qu'une bactérie :**

Les bactéries sont des organismes minuscules que l'on trouve à peu près partout (les blessures s'infectent, le lait s'acidifie, la viande se putréfie). La bactérie est un être unicellulaire autonome. La cellule bactérienne présente une organisation procaryote et diffère de façon marquée des cellules eucaryotes des animaux et des plantes. On place les bactéries dans la catégorie des micro-organismes. Ceux-ci comprennent, outre les bactéries, plusieurs types d'autres organismes – les algues, les champignons, les lichens, les protozoaires et les virus. Le terme « bactéries » a été largement utilisé dans le sens général « d'organismes procaryotes ». Il inclut alors tous les procaryotes. Cependant, les études moléculaires ont montré que ceux-ci pouvaient être divisés en deux groupes appelés domaines, fondamentalement différents : le domaine des Bacteria (avec un « B » majuscule) et le domaine des Archaea [1]. De ce fait, le mot « bactéries » est maintenant de plus en plus utilisé pour désigner spécifiquement certains membres du domaine des Bacteria. Toutefois il ya des bactéries qui vivent dans des milieux extrêmes, comme les neiges antarctiques [2], tandis qu'on trouve certaines espèces dans des milieux normaux comme le sol, la mer et la nature [3].

IV-1-2 Etude des bactéries :

Une des raisons majeures de cette étude est la lutte contre la maladie. Les bactéries sont la cause de quelques maladies graves, ainsi que de multiples affections bénignes, on cite quelques maladies :

Conjonctivite : par exemple Staphylococcus aureus, d'autres staphylocoques, Hémophiles influenza, Streptococcus pneumoniae et des virus conduisent à l'irritation physique ou chimique ou l'inflammation des conjonctives (membranes muqueuses de l'œil). [4]

Fasciite nécrosante : divers organismes, dont staphylococcus aureus. Les effets systémiques dus à une toxine peuvent être sévères, on peut s'aider d'un test PCR. La Fasciite nécrosante était mortelle au Japon, causé par Photobacterium [5].

IV-1-2-1 Méthode d'étude :

La plupart des milieux sont vendus dans le commerce sous forme de poudre déshydratée. D'habitude, on les dissout dans le volume d'eau approprié, on les stérilise et on les répartit dans des récipients stériles adéquats. La répartition en récipient de certains milieux peut se faire avant stérilisation.

Pour la plupart des milieux à base de gélose, la poudre est mélangée à l'eau et chauffée pour dissoudre la gélose. On stérilise alors le tout à l'autoclave et on laisse refroidir jusqu'à 45°C

environ, température à laquelle la gélose reste fluide. Pour préparer une boîte de gélose, quelque 15 à 20ml de milieu gélosé fondu sont coulés dans une boîte de pétri stérile, jusqu'à ce que la gélose ait pris. Les boîtes de gélose au sang se préparent en mélangeant la gélose nutritive liquide (à 45-50°C environ) avec 5 à 10 % de sang citrate par volume, avant de la couler dans les boîtes. Avant certains usages, la surface d'une boîte nouvellement préparée doit être séchée : c'est-à-dire qu'il faut laisser s'évaporer l'humidité de surface en excès. Ceci se fait souvent en plaçant la boîte, couvercle partiellement ouvert, dans un incubateur à 37°C, pendant 20 minutes environ. Les boîtes destinées à un étalement peuvent aussi être séchées. Pour préparer une pente de gélose nutritive, on laisse solidifier le milieu gélosé fondu dans une bouteille ou un tube à essai, incliné par rapport à l'horizontale. Certains types de milieux ne peuvent pas être stérilisés par autoclavage, parce qu'un ou plusieurs de leurs constituants sont détruits aux températures atteintes en autoclave. [6].

IV-1-3 Antibiotiques :

A l'origine le mot « antibiotique » désigne tout produit microbien qui, même à de très faibles concentrations, inhibe ou tue certains micro-organismes. On l'emploie maintenant dans un sens plus large qui inclut, en outre, toute substance synthétique ou semi-synthétique dotée de ces propriétés. Comme les désinfectants, les antibiotiques peuvent être soit bactéricides, soit bactériostatique. Un antibiotique bactéricide, à une certaine concentration, peut s'avérer bactériostatique à concentration plus faible. Aucun antibiotique n'est efficace contre toutes les bactéries. Certains agissent contre un petit nombre d'espèces, tandis que d'autres sont actifs contre un large spectre d'organismes incluant aussi bien les bactéries Gram-positives que les bactéries Grams-négatives. Dans certains cas, les antibiotiques naturels ont été modifiés chimiquement en laboratoire. On a ainsi obtenu des antibiotiques semi-synthétiques dont le spectre d'activité diffère de celui du composé d'origine, dans le cas de l'érythromycine, les gènes nécessaires à la synthèse du noyau polykétide de la molécule ont été transférés du producteur naturel, un actinomycète, dans une souche d'*Escherichia coli*. On a ainsi facilité l'ingénierie de nouveaux dérivés [7]. Un antibiotique agit en un site bien précis. Cette cible peut être située dans la paroi cellulaire, dans la membrane cytoplasmique, dans la machinerie de synthèse des protéines, ou dans la synthèse de l'ADN ou de l'ARN. Les antibiotiques du même groupe ont des cibles similaires ou identiques, et tous affectent la cellule de la même façon. Peu fréquemment, il arrive que des antibiotiques de groupes différents aient un site cible commun. Par exemple, le site cible des oxazolidinones chevauche celui du chloramphénicol et de la lincomycine [8].

IV-1-4 Tests de sensibilité aux antibiotiques :

On peut effectuer des tests pour déterminer la sensibilité d'un agent pathogène à une série d'antibiotique. Le profil des sensibilités d'une souche donnée s'appelle un antibiogramme. Les résultats de tels tests peuvent permettre au clinicien de choisir le ou les antibiotiques les plus actifs pour la chimiothérapie et d'éviter les antibiotiques auxquels le pathogène est résistant. La méthode des disques (diffusion) est un type de test très utilisé. Une boîte de milieu gélosé adéquat estensemencée avec une culture pure de l'organisme pathogène. L'inoculum est étalé souvent avec un écouvillon sur toute la surface du milieu, de manière à ce qu'une croissance quasi-confluente se développe lors de l'incubation. Avant de mettre à incuber, on dépose sur le milieuensemencé, en différents endroits de la boîte, plusieurs petits disques de papier absorbant, imprégnés chacun d'un antibiotique différent. Pendant l'incubation, l'antibiotique diffuse à partir de chaque disque. Si l'organisme est sensible à un antibiotique donné, une zone d'inhibition de croissance apparaît autour du disque contenant cet antibiotique. Il est nécessaire de standardiser les méthodes : la présence ou la dimension d'une zone libre de croissance ne peut être interprétée correctement que si toute la procédure a été standardisée. Une zone sans croissance (simulant une sensibilité) peut se former dans un test de diffusion sur des organismes qui codent pour des enzymes inductibles, qui inactivent l'antibiotique. Les cellules proches du disque sont tuées avant d'avoir pu synthétiser une quantité suffisante d'enzyme. Les cellules plus éloignées du disque subissent des concentrations en antibiotique qui augmentent graduellement et, à une certaine distance du disque, quelques unes des cellules auront synthétisé assez d'enzymes pour pouvoir survivre. Ces cellules donneront naissance à des colonies de taille normale ou relativement grandes, en consommant les nutriments libérés, dans leur environnement immédiat, par les cellules inactivées. Certains tests utilisent des comprimés ou des bandelettes de papier ou de plastique contenant l'antibiotique. Dans un test de dilution, on détermine la capacité de l'organisme à croître en présence d'une série de concentration de l'antibiotique étudié en milieu solide ou liquide. La concentration en antibiotique la plus faible qui empêche la croissance est la concentration minimale inhibitrice CMI de cet antibiotique dans les conditions utilisées et pour la souche testée. Les différentes souches d'un même organisme peuvent avoir des CMI différentes pour chaque antibiotique particulier. [6]

IV-1-5 Exemple du test antibactérien :

Le test biologique appelé halo test est l'une des techniques les plus utilisées pour tester l'activité antibactérienne ou la croissance bactériennes. En effet, les zones d'inhibition

apparaissent comme des halos clairs autour des disques et signifient que la croissance des bactéries a été inhibée dans ces régions. Tandis que les sombres autour des disques ou zones de stimulation signifient que la croissance de la bactérie dans ces régions a été stimulée [9,10].

IV-2 ESCHERICHIA COLI :

Escherichia coli (*E. coli*) est une bactérie qui s'établit dans le tube digestif de l'homme et des animaux à sang chaud. La majorité des souches de *E. coli* sont inoffensives, quelques-unes seulement sont pathogènes. C'est le cas des souches de *E. Coli* dites entérohémorragiques (ECEH). Ces dernières provoquent des diarrhées sanglantes et produisent une puissante toxine à l'origine du syndrome hémolytique et urémique (SHU). Régulièrement, des souches d'ECEH sont la cause d'intoxications alimentaires via la consommation de produits animaux mal cuits ou consommés crus. Les fruits et les légumes frais, ayant été en contact avec ces souches peuvent être également à risque [11].

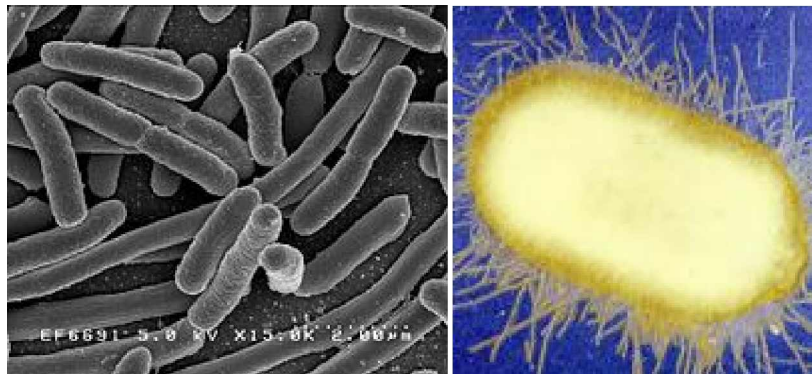


Figure IV-1 : Photo MEB de la bactérie E. Coli

IV-2 -1 Symptômes de l'infection :

Les symptômes provoqués par ECEH apparaissent entre 3 et 8 jours après l'infection. Il s'agit de **douleurs abdominales** et de **diarrhées**, lesquelles peuvent évoluer vers des **formes sanglantes** (colites hémorragiques). Des vomissements et de la fièvre peuvent aussi survenir.

Parallèlement, les toxines produites par ECEH (appelées **Shiga-toxines** en raison de leur ressemblance avec celles produites par *Shigella dysenteriae* ou Bacille de Shiga) détruisent la paroi des vaisseaux sanguins et causent des **problèmes de coagulation** ainsi que d'hypertension artérielle. Chez 10% des personnes infectées, la dissémination des Shiga-toxines provoque un **syndrome hémolytique et urémique (SHU)**, mortel dans 3 à 5% des cas. Ce dernier est caractérisé par une atteinte de la fonction rénale et par une baisse de la

concentration des cellules sanguines (globules rouges et plaquettes). Un quart des personnes souffrant de SHU développe aussi des complications neurologiques qui peuvent aboutir à un état de coma [12].

IV-2 -2 Cycle de vie :

Le cycle de vie de la bactérie E. coli est représenté sur la figure IV-2.

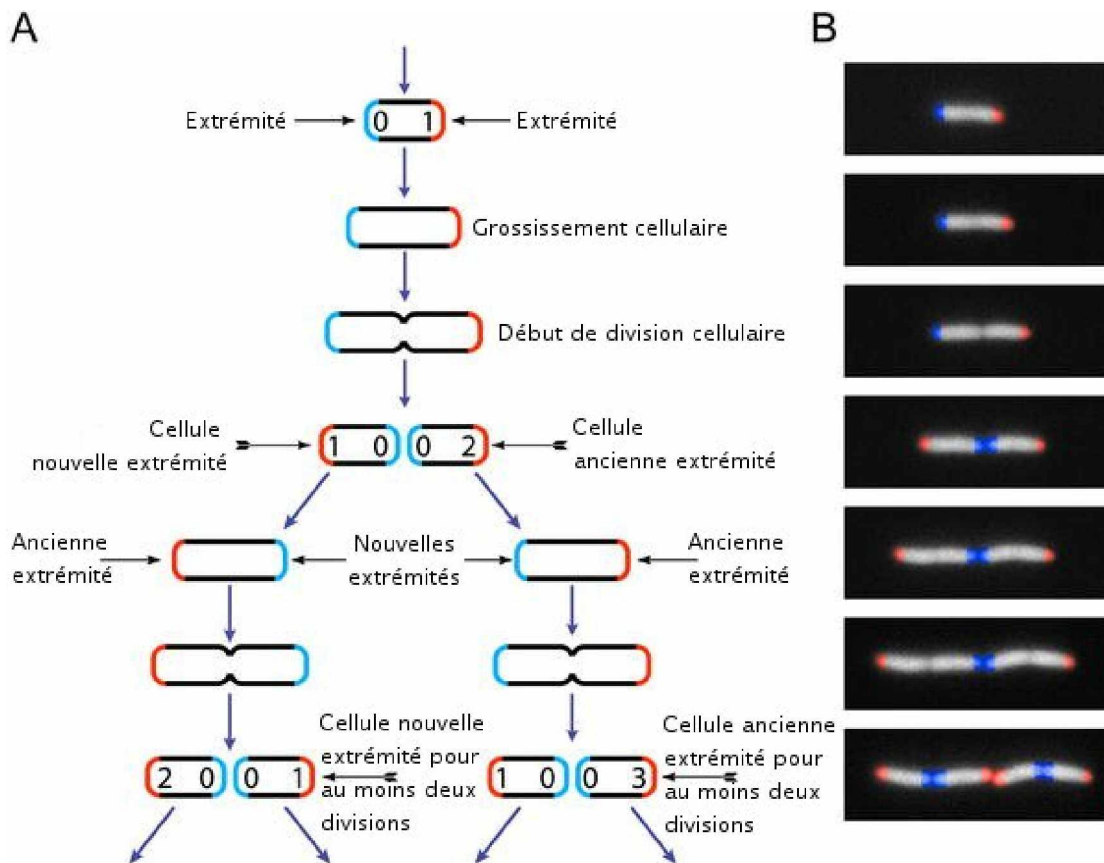


Figure IV-2 : Cycle de vie de la bactérie E. coli [13].

IV-2 -3 Épidémiologie :

Les ECEH peuvent être à l'origine de **toxi-infections alimentaires (TIA) graves**. Les premières données épidémiologiques remontent à 1982, date à laquelle la première souche d'ECEH a été isolée aux Etats-Unis. L'épidémie avait été provoquée par des hamburgers dont les steaks hachés étaient insuffisamment cuits. Depuis, les ECEH ont engendré de nombreuses autres flambées épidémiques et représentent donc un **problème de santé publique**. En 1996,

le Japon a connu une importante épidémie de TIA suite à la consommation de graines germées de radis, 9578 cas ont été recensés. **En 2011**, une souche de ECEH appartenant au stéréotype O104:H4 a provoqué un épisode comparable en **Europe**. À la fin de l'épidémie, dont le foyer initial était l'Allemagne, les autorités sanitaires européennes faisaient état de plusieurs milliers de personnes intoxiquées et de 47 décès. Après enquête, des graines germées de fenugrec importées d'Égypte ont été désignées comme étant la source de l'épidémie.

L'incidence des infections par ECEH est variable selon les classes d'âge. Elle atteint son maximum chez les enfants de moins de 3 ans [14].

IV-2 -4 Transmission :

La transmission des pathogènes de type ECEH survient majoritairement lors de la **consommation d'aliments contaminés**. Les produits concernés sont généralement la viande crue ou insuffisamment cuite, les produits laitiers au lait cru, et plus rarement les produits végétaux crus. Le réservoir naturel des ECEH étant principalement le **tube digestif des bovins**, la contamination peut également survenir lors de la traite ou l'abattage de ces animaux. Les **matières fécales** des ruminants présents dans le sol, dans le fumier et dans l'eau (mares, ruisseaux) sont aussi une source possible de contamination.

La transmission interhumaine de ECEH est également possible, mais elle survient plus rarement. Dans la majorité des cas, elle a lieu de l'enfant à l'adulte, par exemple lors de la toilette de nourrisson [15].

IV-2 -5 Traitement :

La plupart des antibiotiques sont déconseillés pour traiter les infections à ECEH. En détruisant les bactéries, ces derniers entraînent la libération de Shiga-toxines dans l'organisme, ce qui peut aggraver le SHU. Pour éviter cette situation, la stratégie thérapeutique privilégiée consiste à **combler les déficiences occasionnées par les Shiga-toxines** (chute des globules rouges, des plaquettes, atteinte rénale) par transfusion, dialyse, et échanges plasmatiques. Les épisodes diarrhéiques sont, quant à eux, traités de manière symptomatique : les patients sont réhydratés, mais ne prennent pas d'anti-diarrhéiques, afin de permettre l'élimination de la bactérie et ses toxines dans les selles [15].

IV-3 STAPHYLOCOQUE :

Les staphylocoques sont des bactéries impliquées dans des pathologies variées et sont souvent responsables d'infections contractées dans les hôpitaux. Leur habitat naturel est constitué par les flores cutanées et les muqueuses humaines et animales. Ils sont également retrouvés dans l'environnement (eau, sol, air, aliments, objets). Le traitement est difficile car de nombreuses souches sont multirésistantes aux antibiotiques. Selon les services hospitaliers, ces dernières représentent entre 20 et 50% des souches. La figure IV-3 représente la forme « grappe de raisin » selon lequel se présente la bactérie staphylocoque [16].

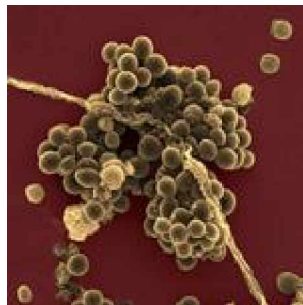


Figure IV-3 : Forme « grappe de raisin » de la bactérie Staphylocoque

IV-3-1 Définition :

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont des coques (cocci) à Gram positif, groupés en amas ayant la forme de grappes de raisin, immobiles. Parmi les 27 espèces du genre actuellement répertoriées, les principales sont *Staphylococcus aureus*, *S.epidermidis* et *S.saprophyticus* [16].

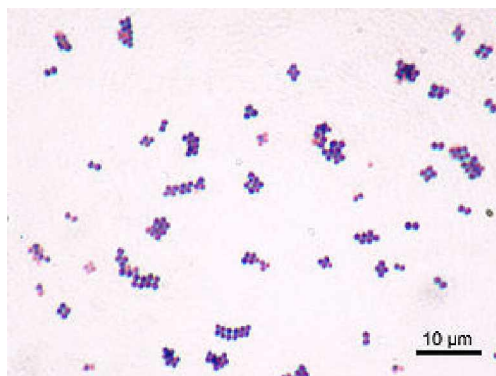


Figure IV-4 : Photo au microscope optique de bactéries Staphylocoques aureus en coloration de Gram

IV-3-2 Historique :

Observés par Pasteur en 1879 dans un pus de furoncle, les staphylocoques doivent leur nom à OGSTON (1881) qui les a mis en évidence dans des abcès aigus et chroniques. La *S.aureus* est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux (rhino-pharynx, intestin) ; cette bactérie peut survivre longtemps dans l'environnement [17].

IV-3-3 Infections staphylococciques :

- Formes cutanées : atteinte plus ou moins sévère du tissu sous-cutané (panaris, phlegmons). Certaines formes superficielles peuvent se compliquer de lésions bulleuses graves lorsque la souche de staphylocoque est productrice d'exfoliative.
- Formes muqueuses : otites, sinusites, mastoïdites, conjonctivites.
- Formes intestinales : soit intoxication alimentaire par absorption de toxine préformée dans des aliments contaminés par un staphylocoque producteur d'entérotoxines, soit entérocolite aiguë pseudo-membraneuse à staphylocoque.
- Syndrome de choc toxique décrit pour la première fois en 1978. Il associe une hypotension artérielle importante avec état de choc, de la fièvre (> 39 °C) et une atteinte pluriviscérale (digestive, musculaire, muqueuse, rénale, hépatique, neurologique, hématologique). Des syndromes similaires peuvent s'observer au cours d'infections par d'autres bactéries (ex. *Streptococcus A*) [17,18].



Figure IV-5 : Infection staphylococcique – forme cutanée

IV-4 TESTS BIOLOGIQUES:

Les matériaux préparés sont soumis à des tests biologiques afin d'évaluer leur pouvoir antibactérien contre deux souches pathogènes ; E.Coli et S.Aureus.

Les tests antibactériens ont été effectués dans différents laboratoires à savoir, laboratoires de biotechnologie USTO-MB et UGMO Sénia, laboratoire de bactériologie du CHU premier novembre Oran et un laboratoire privé-plateau Oran.

Les souches utilisées lors de notre étude sont des souches pathogènes prises de malades souffrant des infections **de E. Coli pathogènes dites entérohémorragiques (ECEH) et infections cutanées staphylococciques.**

IV-4-1 Protocole:

La souche pathogène est introduite dans un milieu physiologique (NaCl). Entretemps une quantité du milieu de culture MH (milieu Miller Hilton) est dissoute dans un bain Marie puis refroidie et écoulee sur la surface d'une boîte à pétrie de façon homogène. En suite, la bactérie est mise en contacte du milieu MH en recouvrant toute la surface disponible avant de déposer le matériau, sujet d'étude, au sein des bactéries. La boîte de Pétrie est recouverte puis mise à 37°C pendant 24h. Les milieux sont photographiés une fois récupérés.

Les matériaux encencés dans le milieu bactériologiques sont résumés dans le tableau IV-1.

Tableau IV-1: Différent matériaux utilisés pour tests antibactériens.

poudre	Billes	membranes
Magadiite-Na	Chitosane	Chitosane
Magadiite-Na/Cu	Chitosane, Magadiite-Na	Chitosane, Magadiite-Na
Magadiite-Na/Zn	Chitosane, Magadiite-Na/Cu	Chitosane, Magadiite-Na/Cu
	Chitosane, Magadiite-Na/Zn	Chitosane, Magadiite-Na/Zn
	Alginate	Alginate
	Alginate, Magadiite-Na	Alginate, Magadiite-Na
	Alginate, Magadiite-Na/Cu	Alginate, Magadiite-Na/Cu
	Alginate, Magadiite-Na/Zn	Alginate, Magadiite-Na/Zn

IV-4-2 Antibiotiques témoins utilisés avec la bactérie staphylocoque :

Avant de procéder aux tests antibactériens de nos matériaux avec le staphylocoque Aureus, un test préliminaire avec un antibiotique s'avère nécessaire. La figure IV-6 présente l'effet des

antibiotiques (**pyostacine, fucidine, oxacilline, pristinamycine, lincocine**) sur la S.Aureus, les halos claires autour des disques traduisent des zones inhibitrices importantes et témoignent de l'efficacité de ces produits contre la stimulation de cette bactérie. Ces photos seront utilisées comme témoins à la suite de ce travail.



Figure IV-6: Effet inhibiteur des antibiotiques sur la bactérie S.Aureus

IV-4-3 Antibiotiques témoins utilisés avec la bactérie E. Coli :

D'autres types d'antibiotiques sont utilisés pour la bactérie E.Coli ; à savoir : (**augmentin, nystatine, amoxicilline, penicilline, ampicilline**). La figure IV-7 présente le test antibactérien, Il s'est avéré que seul les deux antibiotiques **augmentin et nystatine** présentent un halo clair et donc un effet inhibiteur.



Figure IV-7: Effet des antibiotiques sur la bactérie E.Coli.

IV-4-4 Matériaux utilisés comme agents antibactériens:

Dans le chapitre III, nous avons présentés toute une série de produits à base de polysaccharides et de la magadiite. Il sont utilisés, dans cette partie, comme des agents antibactériens en raison de tester leurs sensibilités contre les deux bactéries choisies (E.coli, S.Aureus).

IV-4-4-1 Tests avec *S.Aureus*

les figures(IV-8, IV-9, IV-10) présentent l'effet de nos différents matériaux sur la bactérie *S.Aureus*.



Figure IV-8: effet des matériaux sur la bactérie *S.Aureus* (1: Chitosane, 2: Chitosane-Magadiite, 3: Chitosane-Magadiite-Na/Cu, 4: Chitosane-Magadiite-Na/Zn, 5: Alginate, 6: Alginate-Magadiite).



Figure IV-9: effet des matériaux sur la bactérie *S.Aureus* (7:Alginate-Magadiite-Na/Cu, 8: Alginate-Magadiite-Na/Zn, 9: Magadiite-Na/Zn, 10: Magadiite, 11: Magadiite-Na/Cu, 12: Chitosane-Cu, 13: Alginate-Cu).

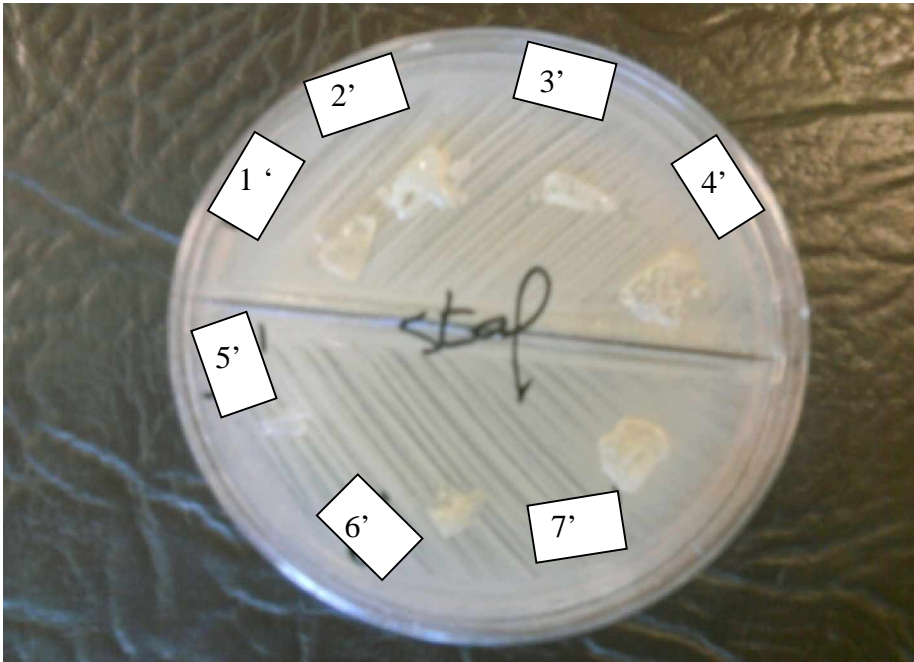


Figure IV-10: effet des matériaux sur la bactérie *S.Aureus* (1' : Alginate (membrane), 2' : Alginate-MagadiiteNa/Zn (membrane), 3' : Alginate-MagadiiteNa/Cu, 4' : Alginate-Magadiite, 5' : Chitosane(membrane), 6' : Chitosane-Magadiite (membrane), 7' : Chitonae-MagadiiteNa/Cu (membrane)).

IV-4-4-1 Tests avec *S.Aureus*

Les figures (IV-11, IV-12, IV-13) présentent les résultats des tests sur la *E.Coli*.

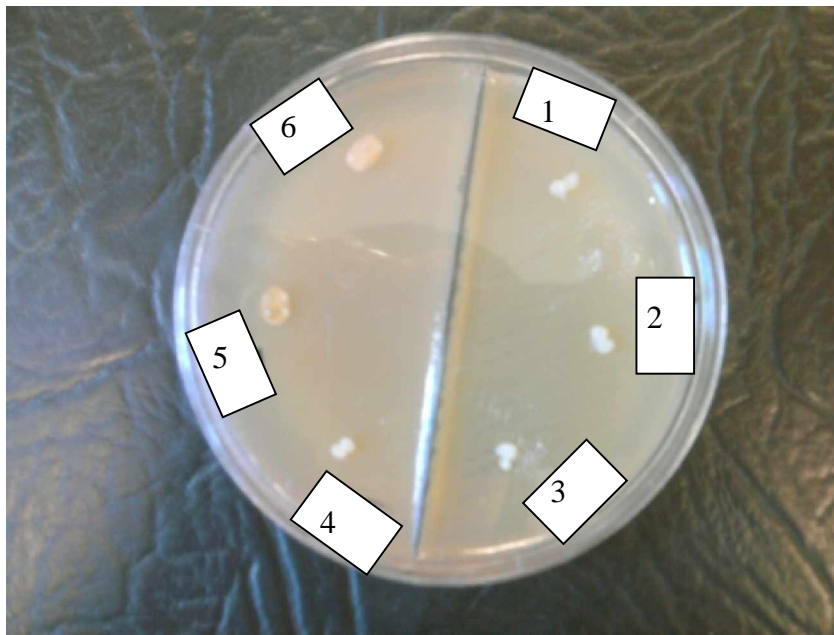


Figure IV-11: effet des matériaux sur la bactérie *E.Coli* (1: Chitosane, 2: Chitosane-Magadiite, 3: Chitosane-Magadiite-Na/Cu, 4: Chitosane-Magadiite-Na/Zn, 5: Alginate, 6: Alginate-Magadiite).

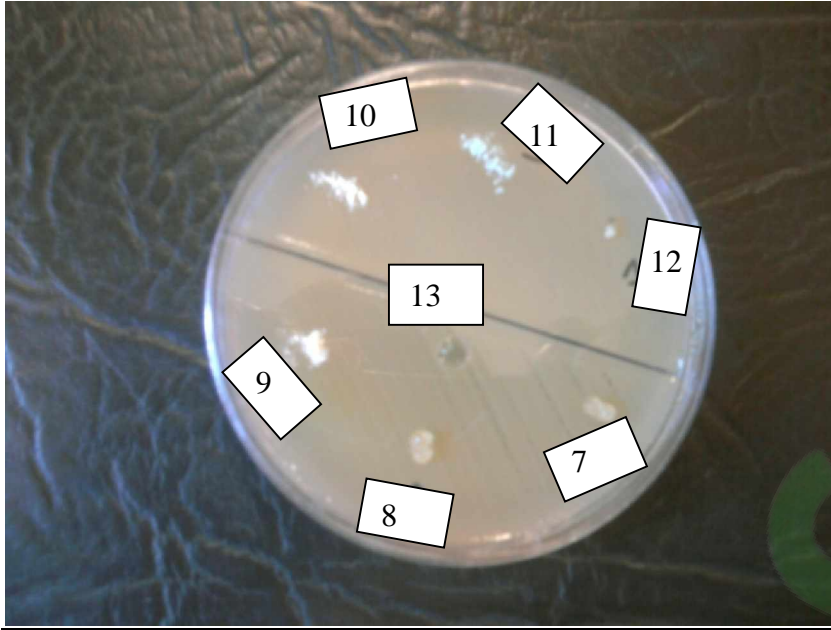


Figure IV-12: effet des matériaux sur la bactérie E.Coli (7:Alginate-Magadiite-Na/Cu, 8: Alginate-Magadiite-Na/Zn, 9: Magadiite-Na/Zn, 10: Magadiite, 11: Magadiite-Na/Cu, 12: Chitosane-Cu, 13: Alginate-Cu).

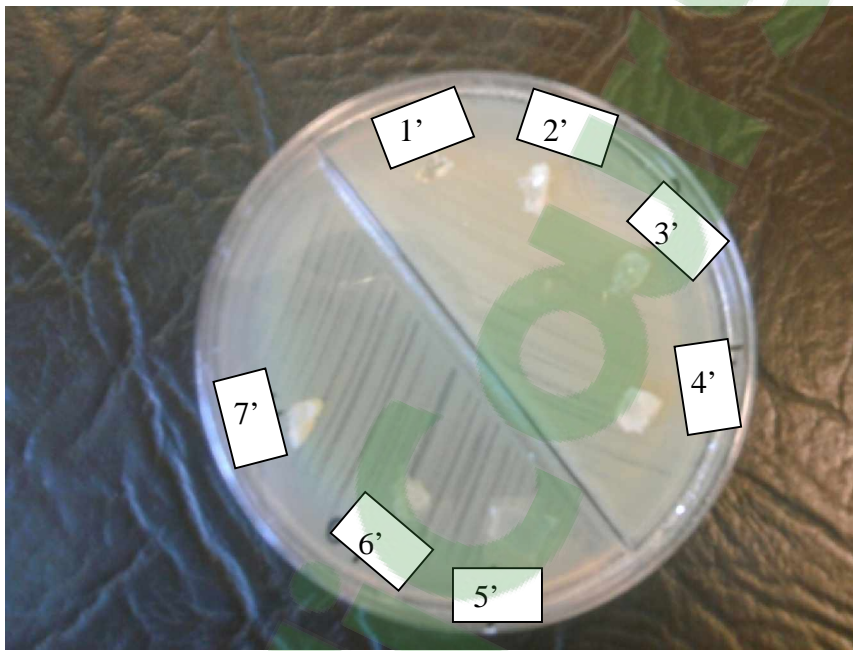


Figure IV-13: effet des matériaux sur la bactérie E.Coli (1' : Alginate (membrane), 2' : Alginate-MagadiiteNa/Zn (membrane), 3' : Alginate-MagadiiteNa/Cu, 4' : Alginate-Magadiite, 5' : Chitosane(membrane), 6' : Chitosane-Magadiite (membrane), 7' : Chitonae-MagadiiteNa/Cu (membrane)).

IV-4-5 Discussion des résultats :

Les tests antibactériens ont visé deux types de bactéries pathogènes à savoir E. Coli et S. Aureus. Les tests ont été effectués dans différents laboratoires (Sénia, USTO, CHU 1^{er} Novembre et Laboratoire privé), les souches utilisées ont été prélevées directement des patients souffrant des infections.

Les photos numériques présentées sur les figures IV-8 jusqu'au IV-13 ne montrent aucun effet bactéricide de nos produits sur les deux espèces utilisées. En fait, un test positif, c.-à-d. inhibition, doit être illustré par des halos claires tout autour du produit testé alors que des zones sombres témoignent d'un phénomène de stimulation des bactéries. Nos produits ne montrent aucun de ces deux effets et donc ne se présentent pas comme le meilleur candidat pour l'inhibition. Néanmoins, les différents matériaux ne stimulent pas, de même, la croissance des bactéries, ce qui assure leur neutralité.

Des travaux antécédents ont montré l'effet inhibiteur de la magadiite-Cu et magadiite-Zn sur des bactéries type Staphylocoque dorée et E. Coli [2]. Toute fois, la souche utilisée dans notre étude est une souche de Staphylocoque Aureus, une variété très pathogène et plus virulente. Pour la souche E. Coli nous pensons qu'une étude plus détaillée est nécessaire pour trancher quant à l'efficacité de tels produits.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES:

- [1] Journal of Bacteriology. **1994**, 176 1-6
- [2] Applied and Environmental Microbiology. 70, **2004**, 550-557
- [3] Proceedings of National Academy of Science of the USA. 94, **1997**, 277-282
- [4] Reviews in Medical Microbiology. **1996**, 123-131
- [5] Journal of Clinical Microbiology. 42, **2004**, 1370-1372
- [6] Bacteria in Biology, Biotechnology and Medicine, 6th edition. **1999**.
- [7] science. 291, **2001**, 1790-1792.
- [8] Journal of Bacteriology
- [9] Guo Tong, Ma Yulong, Guo Peng, Xu Zirong. Veterinary Microbiology 105, **2005**, 113–122.
- [10] Hu. C.H, Xu Z.R, Xia. M.S. Veterinary Microbiology 109, **2005**, 83–88
- [11] Bremer.H et Dennis.P.P, « Modulation of chemical composition and other parameters of the cell by growth rate », dans Neidhardt.F.C, Curtiss.R, III, Ingraham.J.L, Lin.E.C.C, Low.K.B, Magasanik.B, Reznikoff.W.S, Riley.M, Schaechter.M et Umbarger.H.E, Escherichia coli and Salmonella typhimurium Cellular and Molecular Biology, Washington, DC, ASM Press, **1996**, p. 1553-1569 [12] Minor.L, Nicolle.P, Buttiaux.R, Chabbert.Y et Minor.S, « Studies on Escherichia coli Isolated in Infantile Gastroenteritis », dans Ann. Inst. Pasteur, vol. 86, **1954**, pp. 204-226 et vol. 87, **1954**, pp. 175-184.
- [13] Le Minor.L, Buttiaux.R, Gaudier.B, Le Minor.S et Nicolle.P, « Epidemiologic Research on Gastroenteritis Due to Escherichia coli in a Hospital in Northern France », dans Arch. Mal. Appar. Dig. Mal. Nutr., vol. 45, **1956**, pp. 225-247.
- [14] Stewart.E et al. PLoS Biology, February **2005**.
- [15] Blattner.FR, Plunkett.G, Bloch.CA, NT Perna, Burland.V, Riley.M, J Collado-Vides.J, Glasner.JD, CK Rode, Mayhew.GF, Gregor.J, Davis.NW, Kirkpatrick.HA, Goeden.MA, Rose.DJ, Mau.B et Shao.Y, « The complete genome sequence of Escherichia coli K-12. », Science, vol. 277, **1997**, p. 1453-1462.
- [16] Bohn.C & al, « Experimental discovery of small RNAs in Staphylococcus aureus reveals a riboregulator of central metabolism », Nucleic Acids Research, mars **2010**.

[17] Fowler.VG, Allen.KB, Moreira.ED et al. Effect of an investigational vaccine for preventing staphylococcus aureus infections after cardiothoracic surgery [archive], JAMA, 309,2013,1368-1378.

[18] Matheso.EM et al. « Tea and coffee consumption and MRSA nasal carriage » Annals of Family medicine 2011, 299- 304.

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

Dans ce présent travail, nous avons réalisé la synthèse et la caractérisation de plusieurs produits à base de biopolymères, chitosane et alginate, et de la magadiite. Notre étude est divisée en trois grandes parties : préparation des matériaux précurseurs et produits hybride, caractérisation structurale des différents solides obtenus et enfin tests antibactériens in vitro.

Au terme de cette investigation nous avons pu relever les constatations et conclusions suivantes :

Dans la partie synthèse, nous avons commencé par la préparation des billes de chitosane par dissolution du chitosane dans une solution acide diluée et gélification dans une solution basique concentrée 1M. Le diffractogramme obtenu et le spectre infrarouge enregistré ont confirmé l'obtention de ce biopolymère. Les photos MEB du chitosane aérogel ont permis de constater le réseau fibreux du polysaccharide. Les billes alginate sont synthétisées par dissolution de l'alginate 2% pds dans de l'eau distillée et agrégation dans une solution de CaCl_2 0,2 M. La diffraction des rayons X donne deux pics caractéristiques à 15 et 18°. Le spectre infrarouge montre toutes les bandes caractéristiques des groupements carboxylate, hydroxyle et groupements C-O-C. Les clichés MEB des billes présentent un réseau libre important.

La membrane du chitosane est obtenue par pulvérisation d'une solution NaOH sur une solution de chitosane préalablement préparée. La diffusion de la solution alcaline au sein du chitosane, bien que un peu lente, permet sa gélification et la formation d'une membrane homogène. La membrane d'alginate est obtenue par la même technique en pulvérisant une solution de CaCl_2 sur l'alginate dissout dans de l'eau distillée.

Le matériau inorganique utilisé dans cette étude est la magadiite. La spectroscopie infrarouge donne des bandes de vibrations asymétriques Si-O-Si entre 1238 et 1080 cm^{-1} et des bandes de vibrations symétriques Si-O-Si entre 1075 et 780 cm^{-1} . Les vibrations Si-O sont enregistrées entre 700 et 500 cm^{-1} . Le produit ainsi formé est bien cristallisé.

L'échange des différents échantillons avec le cuivre et le zinc leur confère de nouvelles propriétés. La préparation des échantillons échangés (chitosane-Cu, Alginate-Cu et Magadiïte-Cu, chitosane-Zn, Alginate-Zn et Magadiïte-Zn) est faite avec succès.

Les composites magadiïte-chitosane et magadiïte-alginate sont préparés soit par pulvérisation soit par dispersion pour obtention des billes ou membranes respectivement. Le couplage des propriétés de matériaux polymères et minéral avait pour but la recherche d'effets de synergie possibles entre les deux espèces.

Les tests antibactériens visant deux types différents de bactéries : *Escherichia coli*, et le staphylocoque *Aureus* ont permis de sonder les propriétés biologiques de nos différents produits. Bien que ces tests, effectués sur des souches pathogènes, n'aient pas donné les résultats souhaités, nous pensons qu'un élargissement de la gamme de bactéries à étudier pourrait mettre en exergue d'autres usages intéressants de nos produits et aboutir à des résultats plus concluants.

Résumé

Thème : synthèse de la magadiite et des composites magadiite-polysaccharides, test antibactérien

Le travail consiste à préparer des échantillons composites à base des deux matériaux magadiite et polysaccharides : afin de tester leur capacités antibactériennes vis-à-vis de deux types de bactéries ; *Escherichia coli* et le *Staphylocoque Aureus*. Le premier chapitre présente une bibliographie détaillée sur la magadiite, le deuxième volet décrit les polysaccharides testés, le troisième chapitre concerne la partie pratique de notre travail, ainsi les méthodes de synthèse de toute une série de matériaux échangés, les modes de préparation des composites, dans la dernière partie nous donnons un aperçu globale sur les bactéries et les tests antibactériens. Une conclusion générale clôturera cette étude.

Mots clés : Magadiite, Chitosane, Alginate, composite (magadiite, polysaccharides), caractérisation, *Staphylocoque*, *Escherichia coli*, antibiotique, agents antibactériens, test antibactérien.

Résumé

Le travail consiste à préparer des échantillons composites à base des deux matériaux magadiite et polysaccharides : afin de tester leur capacités antibactériennes vis-à-vis de deux types de bactéries ; Escherichia coli et le Staphylocoque Aureus. Le premier chapitre présente une bibliographie détaillée sur la magadiite, le deuxième volet décrit les polysaccharides testés, le troisième chapitre concerne la partie pratique de notre travail, ainsi les méthodes de synthèse de toute une série de matériaux échangés, les modes de préparation des composites, dans la dernière partie nous donnons un aperçu globale sur les bactéries et les tests antibactériens. Une conclusion générale clôturera cette étude.

Mots clés :

Magadiite; Chitosane; Alginate; Composte (Magadiite, Polysaccharides);
Caractérisation; Staphylocoque; Escherichia Coli; Antibiotique; Agents
Antibactériens; Test Antibactérien.