

N° d'ordre :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE & POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR & DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE DJILLALI LIABES
FACULTE DES SCIENCES EXACTES
SIDI BEL ABBÈS

THESE DE DOCTORAT DE 3^{ème} CYCLE

Présentée par : Khane Yasmina

Domaine : Science de la matière.

Filière : Chimie.

Intitulé de la formation : Chimie analytique et environnement.

Intitulée

*Effets antibactériens des poly(ester-amide)s
biodégradables*

Soutenue le : 24 novembre 2016

Devant le jury composé de :

Présidente : Mme. Harrache Djamila

- Professeur UDL Sidi Bel Abbès

Examineurs :

Mme. Bengharez Zohra

- Professeur UDL Sidi Bel Abbès

Mr. Boussalem Smain

- Professeur Centre UNIV BB de Ain Temouchent

Directeur de thèse : Mr. Mouffok Benali

- Professeur UDL Sidi Bel Abbès

Co-Directeur de thèse : Mr. Djahed Benyounes

- Professeur UDL Sidi Bel Abbès

Année universitaire : 2016/2017

"Ceux qui savent et ceux qui ne savent pas, sont-ils égaux ?

Seuls réfléchissent ceux qui se remémorent, ceux doués d'esprit"

[Sourate 39 - Verset 8/9]

Le Prophète صلى الله و عليه وسلم a dit : " Cherchez la connaissance du berceau
jusqu'à la tombe et allez jusqu'en Chine s'il le faut "

*« De toutes les sciences que l'homme peut et doit savoir, la principale,
c'est la science de vivre de manière à faire le moins de mal et le plus de bien
possible. »*

Léon Tolstoï

Remerciements

Au terme de ce travail je tiens à remercier Dieu tout puissant de m'avoir accordé la force, la santé et la volonté d'achever ce modeste travail.

Je tiens tout d'abord à exprimer mon profond respect et mes remerciements les plus sincères au Mr. Belarbi Lahcene Maître de Conférences A au Centre Universitaire d'Ain-Temouchent qui m'a proposé ce sujet de recherche si passionnant et intéressant et à qui je témoigne ma profonde reconnaissance pour le suivi constant et les conseils dont j'ai pu bénéficier au cours de ce travail.

Je tiens à remercier vivement professeur Mouffok Benali de m'avoir encadrée, aidée et de m'avoir laissée la liberté d'action et d'autonomie nécessaires à l'accomplissement de ces travaux de thèse. Je lui suis profondément reconnaissante de ses conseils, ses encouragements. Son expérience et son tempérament chaleureux ont été pour moi une source permanente d'enrichissement.

Je tiens à remercier sincèrement Mr. Djahed Benyounes Professeur à Université Djillali Liabès de Sidi Bel Abbès qui m'a honoré en acceptant de Co-encadrer cette thèse.

A Mme Harrache Djamila professeur à Université Djillali Liabès de Sidi Bel Abbès qui a bien voulu me faire l'honneur de juger ce travail en tant que président de mon jury de ma thèse de doctorat. Qu'elle trouve ici mes remerciements les plus respectueux.

Je voudrais remercier également Mme. Bengharez Zohra Professeur à Université Djillali Liabès de Sidi Bel Abbès et Monsieur Bousalem Smain Professeur au Centre Universitaire d'Ain-Temouchent pour m'avoir consacré leurs temps et l'intérêt pour juger mon travail.

Je suis très reconnaissante à Mr. Aissa Mamoune Sidi Mohammed, chef de département de Science et technologie d'Ain Témouchent, qui m'a permis d'effectuer les analyses de synthèses des polymères au sein du laboratoire de l'université.

Je remercie Mr Bousalem Smain et Mr. Bekhaled Mekhissi Professeur au Centre Universitaire d'Ain-Temouchent, pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant de lire et corriger mon article, leurs observations et commentaires ont été particulièrement enrichissants.

Je remercie également Mr Abbouni Bouziane et Madame Bachir Cherifa, pour leurs conseils et encouragements.

Ce travail n'aurait pas été complet sans l'aide de Mr. Bassou qui m'a beaucoup aidé et soutenu lors de ce parcours.

Je tiens à remercier également les techniciens du laboratoire de chimie du département de chimie de Centre Universitaire d'Ain-Temouchent pour leurs aides et leur disponibilité durant la réalisation des analyses de synthèses.

Un grand merci à mon amie Abiras hadjer Walaa pour sa disponibilité, son savoir et son soutien.

Je suis spécialement reconnaissant envers mes parents, vous avez su guider mes pas, m'aider à devenir ce que je suis. Ma joie de vivre, ma force et mes réussites c'est à vous que je les dois, merci d'être présent dans les moments de doute. Merci de me supporter et quoique je puisse vous dédier ça ne sera jamais assez.

Il faut reconnaître que je n'en serai pas arrivé à ce point sans le soutien constant de ma belle mère et mes frères.

Enfin, je tiens également à remercier tous les camarades de doctorat 3^{ème} cycle de Chimie Analytique et Environnement pour la bonne humeur et les bons moments passés ensemble.

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail :

A *la mémoire de ma très chère mère*

A *mon père qui sans lui je ne serais pas arrivé jusqu'à là. J'espère toujours rester fidèle aux valeurs morales que vous m'avez apprises.*

A *ma belle mère pour sa grande affection et ses encouragements.*

A *mes très chers frères Mohamed, Adda et Sofiane qui m'ont redonné du courage et épaulé lors des moments difficiles.*

A *toute ma famille.*

A *tous mes amies qui ont répondu présents à chaque fois que j'ai eu besoin d'eux : Abiras hadjer welaa, Chalabi Hanane, Ghazali Sara, Fatima Benhacheme, Fatima dar kebira, Belhadj Mamiya et Naima ...*

A *tous mes enseignants et mes collègues de travail.*

A *ceux qui me connaissent, et surtout qui m'aiment.*

Avec mes profonds sentiments.

** Yasmima **

SOMMAIRE

Introduction générale	1
Chapitre I : L'eau et l'environnement	
I. eau de consommation	6
I.1 Définition	6
I.2 La classification des eaux de consommation	7
I.4. Caractéristiques de l'eau de consommation	8
I.5. Normes de la qualité des eaux	9
II. Aspect microbiologique des eaux de consommation	9
II.1 Les microorganismes typiquement aquatiques	9
II.1.1 Les germes indicateurs de contamination fécale	10
II.1.1 Les germes pathogènes	11
II.2 Risques liés à la mauvaise gestion de l'eau	12
II.3 Evaluation des risques	13
III. Le traitement des eaux	14
III.1 Origines de l'eau	15
III. 2 Les procédés de traitement	15
Conclusion	19
Chapitre II : Les Polymères biodégradables	
I. Généralité sur les polymères	20
I.1. Introduction	20
I .2. Définition	20
I.3. Cycle de vie des polymères	22
I.4. préparation des polymères	23
II. Les polyesters	26
II.1. Généralité	26
II.1.1. Polyesters aliphatiques d'origine bactérienne	27
II.1.2. Polyesters aliphatiques de synthèse	27
II.2. Le poly(éthylène adipate)	28
III. Bisoxazolines	32
III.1. Généralité	32
III.2. Méthodes de synthèse des oxazolines	37
III.3. Réactions d'ouverture des oxazolines	42
IV. Polyesteramides	46

V. Polymère biodégradable	47
V.2. La dégradation des polymères biodégradables ou dits « biodégradables»	47
V.3. Influence de la nature des polymères sur la dégradation et la biodégradation	50
V.4. Méthodes de biodégradation	51
Chapitre III : Activité antimicrobienne des polymères	
I. Introduction	57
II. La diversité du monde bactérienne	57
III. Rétention polymère -bactérie	65
V. Les polymères à activité antimicrobienne	65
V.1. effet antibactériens des poly(ester-amide)s	
Partie Expérimentale	
Chapitre IV : Résultats et discussion	
I. Analyse de l'eau	71
II. Synthèse et caractérisation des polymères	85
II.1. Matériels et Méthodes	85
II.2. Méthodes d'analyses	90
II.2.1. Analyses chimiques	90
II.2.2. Analyses microbiologiques	91
Chapitre V : Résultats et discussion	
I. Les analyses d'eau de Sidi Bel Abbes	102
II. Caractérisation des polymères synthétisés	111
III. Résultats de la biodégradation	128
IV. Résultat et discussion d'activité antibactérienne	131
Conclusion générale	143
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des Figures

Figure 1. Chemin de consommation d'eau

Figure 2. Formation d'un polymère

Figure 3. Représentation schématiques des différentes structures moléculaires des polymères.

Figure 4. Synthèse du PEAd par polycondensation de l'acide adipique et du éthylène glycol en deux étapes a) Etape d'estérification b) Etape de polycondensation

Figure 5. Synthèse du PEAd par polycondensation du diméthyl adipate et d'éthylène glycol en deux étapes a) Etape de trans-estérification b) Etape de polycondensation.

Figure 6. Ouverture d'hétérocycle par un groupe carboxylique

Figure 7. Réaction de cycles iminoethers avec un acide carboxylique

Figure 8. Différents cycles oxazolines

Figure 9. Formation de cycle oxazoline par déshydratation d'un hydroxyethylamide.

Figure 10. Obtention de l'oxazoline par déshydratation du composé β -hydroxyalkylamide en présence de SOCl_2 .

Figure 11. Réaction de déshydrohalogénéation d'un β -halogéno-alkylamide.

Figure 12. Réaction d'un acide carboxylique avec aminoalcool

Figure 13. Réaction d'acide carboxylique avec l'aminoalcool en présence de triphénylphosphine

Figure 14. Réaction de diacides avec un aminoalcool

Figure 15. formation d'oxazoline par réaction d'un nitrile avec un époxyde

Figure 16. Réaction d'un nitrile avec un aminoalcool

Figure 17. Différentes réactions d'ouverture de cycle iminoether

Figure 18. Hydrolyse acide d'une oxazoline

Figure 19. Ouverture de la p-nitrophényl(2-oxazoline) par l'acide benzoïque

Figure 20. Réaction entre le copolymère (éthène-co-acide méthacrylique) et différentes oxazolines

Figure 21. Les schémas réactionnels menant au polyesteramides

Figure 22. Les deux phases essentielles de la biodégradation.

Figure 23. Classification des polymères biodégradables.

Figure 24. Modèle clef - serrure des complexes enzyme-substrat. D'après Louis Fischer.

Figure 25. Structure externe des bactéries

Figure 26. Structure interne des bactéries

Figure 27. Paroi d'une A) Gram positif. et B) Gram négatif.

Figure 28. La courbe de croissance bactérienne

Figure 29. Méthode de la diffusion en disque.

Figure 30. Pompe à filtration 06 postes

Figure 31. Recherche et dénombrement des coliformes et d'E. Coli.

Figure 32. Recherche et dénombrement des spores des Clostridium sulfito-réducteurs

Figure 33. Recherche et dénombrement des germes totaux.

Figure 34. Technique de recherche des *staphylocoques*

Figure 35. Les étapes de recherche des staphylocoques par la méthode de filtration

Figure 36. Bilan général de la réaction de formation de la bisoxazoline.

Figure 37. Bilan général de la réaction de formation du polyester.

Figure 38. Réaction de couplage de PEAd avec la BBO

Figure 39. Réaction entre l'acide adipique et la BBO.

Figure 40. Milieu liquide écoulé dans les tubes et milieu gélose écoulé dans les boîtes de pétri

Photo 41. Repiquage des souches pour ensemencement des milieux pour chaque souche testée

Figure 42. Ensemencement du milieu liquide à partir des souches dans une GN en tube à essai et le milieu solide en boîte à pétri.

Figure 43. Étalement de la suspension bactérienne dans le milieu TGEA à partir de la confiture noircie.

Figure 44. Milieu TGEA après ensemencement avec la suspension de la confiture noircie

Figure 45. Principe de la méthode de diffusion par disque

Figure 46. Photos montrant les témoins réalisés par la méthode d'aromatogramme.

Figure 47. Méthode de détermination de la CMI en milieu liquide

Figure 48. Détermination de la CMB en milieu solide

Figure 49. La turbidité des eaux

Figure 50. La température et le potentiel hydrogène

Figure 51. La Conductivité électrique des eaux

Figure 52. Taux de magnésium et de calcium dans les eaux

Figure 53. La teneur en bicarbonate, Chlorure et Sulfates dans les eaux

Figure 54. La teneur en phosphates, nitrites et nitrates dans les eaux de Sidi bel abbes

Figure 55. Le titre hydrotimétrique et le rapport de TA/TAC

Figure 56. Spectre IR de la BBO.

Figure 57. Spectre RMN¹H de la BBO dans DMSO.

Figure 58. Spectre RMN¹³C de la BBO dans DMSO

Figure 59 : spectre IR de la PEAd.

Figure 60. Spectre RMN¹H du PEAd dans le CDCl₃.

Figure 61. Spectre RMN¹³C de PEAd dans CDCl₃.

Figure 62. Spectre IR de la PEA1.

Figure 63. Spectre RMN¹H de produits de réaction entre la PEAd et la BBO (210°C, 120 min) dans DMSO.

Figure 64. Spectre RMN¹³C de produits de réaction entre la PEAd et la BBO (210°C, 120 min) dans DMSO.

Figure 65. Spectre IR de la PEA2.

Figure 66. Spectre RMN¹H du PEA2 dans le DMSO.

Figure 67. Spectre RMN¹³C d'acide Adipique

Figure 68. Spectre RMN¹³C de PEA2 (produit de réaction d'acide Adipique avec la BBO à 210°C) dans DMSO

Figure 69. La dégradation du polymère PEA1 dans le milieu liquide et solide.

Figure 70. La dégradation du polymère PEA2 dans le milieu liquide et solide

Figure 71. Les polymèresensemencés par les souches dans le milieu liquide (trouble dans les tubes)

Figure 72. PEA désintégré au bout de 3 jours

Photo 73. polyesteramide PEA2ensemencé par B.S zone d'hydrolyse très prononcée

Photos 74. L'envahissement observé montre un début de la dégradation du polymère PEA1 et PEA2.

Figure 75. Photos montrant l'activité antimicrobienne de la PEA1 à l'état pur par la méthode d'aromatogramme.

Figure 76. Photos montrant l'activité antimicrobienne de la PEA2 à l'état pur par la méthode d'aromatogramme.

Figure 77. Inhibition de la croissance de différentes concentrations de PEA1 et PEA2 contre différents microorganismes testés.

Figure 78. Concentration minimale inhibitrice du PEA1 vis-à-vis les trois souches dans le milieu solide.

Photo 79. Concentration minimale inhibitrice du PEA1 vis-à-vis les trois souches dans le milieu solide.

Figure 80. Courbe de croissance d'une population bactérienne non traitée (témoin)

Figure 81. Courbes de mort cellulaire sur 48 heures des souches bactériennes traitées avec une concentration en PEA1 égale à la CMI

Figure 82. Courbes de mort cellulaire sur 48 heures des souches bactériennes traitées avec une concentration en PEA2 égale à la CMI

Liste des Tableaux

Tableau 1. Représentation et dénomination des quatre polymères synthétiques les plus utilisés

Tableau 2. Comparaison entre une polymérisation en chaîne et une polymérisation par étapes

Tableau 3. Polyesters aliphatiques

Tableau 4. Structure des groupes à liaison multiples

Tableau 5. Structure des composés hétérocycliques pouvant être utilisés dans les réactions de couplage avec les extrémités carboxyliques.

Tableau 6. Rendement en oxazoline suivant les différents substituants

Tableau 7. Structure des oxazolines préparés à partir des nitriles

Tableau 8. Principales différences entre familles de micro-organismes.

Tableau 9. Les résultats des analyses microbiologiques de l'échantillon pour l'eau de robinet d'Oued Sefioune.

Tableau 10. Solubilité de la BBO dans différents solvants usuels

Tableau 11 : Attribution de déplacements chimiques des signaux en RMN¹H et ¹³C de la BBO

Tableau 12. Solubilité de la PEAd dans différents solvants usuels

Tableau 13. Attribution de déplacements chimiques des signaux en RMN¹H et ¹³C de la PEAd

Tableau 14. Solubilité de la PEA1 dans différents solvants usuels

Tableau 15. Attribution de déplacements chimiques des signaux en RMN¹H et ¹³C de la PEA1

Tableau 16. Solubilité de la PEA2 dans différents solvants usuels

Tableau 17. Déplacements chimiques et attribution des résonances RMN¹³C de produits de réaction d'acide adipique (AA) avec l'EBO.

Tableau 18. Activité antibactérienne des polymères : PEA1 et PEA2 après 24 h et 72 h.

Les chiffres indiquent les diamètres d'inhibition par mm.

Tableau 19. Concentration minimale inhibitrice (mg/ml) du PEA1 sur les trois souches dans le milieu liquide.

Tableau 20. Concentration minimale inhibitrice du PEA2 vis-à-vis les trois souches dans le milieu liquide.

Tableau 21. Concentration bactérienne minimale (CMB) de PEA1 en utilisant la méthode de dilution en bouillon contre les trois souches bactériennes.

Table 22. L'effet de CMI de PEA sur une population de $\sim 1 \times 10^8$ UFC de différentes souches bactériennes

Principales abréviations

AA : Acide Adipique

A. niger : *Aspergillus niger* (AN)

BBO: Bisoxazoline

B. subtilis : *Bacillus subtilis* (B.S)

CDCl₃ : Chloroforme deutéré

CHCl₃: Chloroforme

CMB : Concentration minimale bactéricide

CMI : Concentration minimale inhibitrice

D/C : double concentration

DMSO : Diméthyl sulfoxide

DO : Densité Optique (absorbance)

E. coli : *Escherichia coli*

EDTA : Sel dissodique d'acide éthylène diamine tetracétique

FTIR : Infra rouge à Transformée de Fourier

GN : gélose nutritive

HCl : Acide chlorhydrique

PEAd: Poly(éthylène adipate)

PEA: Poly(ester-amide)

NPP : nombre le plus probable

OMS : organisation mondiale de la santé

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*

PDA : Potato Dextrose Agar

PH : Potentiel d'hydrogène

Ppm : Parties par million

RMN : Résonance magnétique nucléaire

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

S/C : simple concentration

Tc : Température de cristallisation

Tf : Température de fusion

TGEA : glucose tryptonée à l'extrait d'agar

THF : Tetrahydrofurane

UNF ; unité formant une colonie

UV : Ultra Violet

Introduction générale

Au cours de la dernière décennie, les rappels hydriques causés par une contamination d'origine microbienne ont occupé une place importante dans les médias. Toute cette attention est justifiée par les risques de santé qu'implique la contamination des eaux par des espèces pathogènes.

Les maladies d'origine hydrique constituent la première cause de mortalité dans le monde devant la malnutrition (rapport mondial sur le développement humain). Dans les pays développés, bien que les maladies entériques aiguës atteignent des niveaux acceptables depuis la première partie du dernier siècle avec la mise en place de systèmes de désinfection et de contrôle de la qualité de l'eau, plusieurs épidémies récentes ont rappelé que ce risque de transmission de maladies par la consommation de l'eau potable reste très important.

À Walkerton au Canada, en mai 2000, par exemple, suite à la contamination par *E.coli* d'un puits desservant la communauté, près de la moitié de la population a été atteinte par une gastro-entérite aiguë, 65 personnes ont été hospitalisées, 27 ont présenté de graves complications et 6 sont décédées (étude de l'incidence des cas de gastro-entérite aiguë hospitalisés au Québec de 1991 à 1999).

En France, les deux dernières épidémies d'origine hydrique importantes ont été recensées dans l'Ain en 2003 (800 cas de gastro-entérites) et en Saône-et-Loire en 2001 (400 cas de gastro-entérites) (rapport sur la qualité de l'eau potable en France - septembre 2005).⁽¹⁾

Il est alors impératif que les processus de désinfection soient efficaces pour la production d'eau potable et le traitement des eaux usées.⁽¹⁾

Les techniques conventionnelles de désinfection, qu'elles soient chimiques (chloration ou ozonation) ou physiques (rayonnement ultraviolet) présentent un nombre non négligeable d'inconvénients : génération de sous-produits de désinfection parfois toxiques ou dépendance à la turbidité de l'eau traitée et générant des goûts et des odeurs. Ces procédés ne permettent le plus souvent que d'inactiver partiellement les microorganismes, ces derniers demeurent ainsi présents (parfois sous forme viable) dans l'eau distribuée et sont donc susceptibles de poser des problèmes de reviviscence dans le réseau de distribution.

Dans ce contexte, des polymères ayant des propriétés antimicrobiennes ont été développés ces dernières années. Certains polymères possèdent une activité antimicrobienne intrinsèque et peuvent donc être utilisés dans des membranes et des traitements des eaux.

Les polymères cationiques tels que le chitosane et le poly-L-lysine adhèrent facilement aux cellules microbiennes ⁽²⁾ puisque les amines chargées positivement agissent avec les charges négatives sur la membrane des cellules libérant ainsi les constituants intracellulaires.

Les alginates de calcium ont été aussi étudiés pour le développement de films antimicrobiens. Ils ont permis la réduction de la croissance de la flore naturelle et des coliformes sur des produits carnés ⁽³⁾. D'autre part, certains polymères nécessitent une modification afin d'augmenter leur activité antimicrobienne. Par exemple, le potentiel antimicrobien de polyamide traité par irradiation aux UV a permis d'augmenter leur activité antimicrobienne.

Dans le cadre de notre étude, il a été choisi d'étudier l'effet antibactérien des poly (ester-amide). Ce polymère est utilisé dans de nombreux secteurs d'activités.

Il est très utilisé en raison de ses propriétés mécaniques, optiques, thermiques intéressantes et la propriété d'être dégradés par les micro-organismes tels que les bactéries, les champignons et les algues.

Le caractère biodégradable implique que les macromolécules constituant le matériau polymère soient susceptibles de se dégrader sous une activité biologique par une diminution de leur masse molaire.

D'une manière générale, le polymère en question se décomposera sous forme d'eau, de dioxyde de carbone ou de méthane dans des conditions bien spécifiques (aérobie ou anaérobie) et donnera lieu à la création d'une nouvelle biomasse. Cette facette du matériau lui confère un réel avantage en termes de gestion des déchets.

Parmi les polymères biodégradables, la famille des polyesters est devenue majeure et représentative de la révolution écologique qui a eu lieu dans le domaine de la chimie des matériaux ⁽⁴⁾. La famille des polyesters comprend tous les polymères qui possèdent un squelette carboné composé de fonctions esters.

La synthèse de ces polyesters s'effectue selon deux voies principales :

La polycondensation (polymérisation par étapes) et la polymérisation par ouverture de cycle (polymérisation en chaîne). La synthèse directe par polycondensation de diacides carboxyliques aliphatiques et de comonomères diols à des températures supérieures à 250°C sous pression réduite ⁽⁵⁾ très attrayante largement utilisée dans l'industrie

Les polyesters aliphatiques tel que le poly (3-caprolactone) ou la poly (butylène adipate) sont complètement biodégradables, mais leurs propriétés physiques et/ou mécaniques ne sont pas suffisantes pour leur utilisation ultérieure. Les polyamides aliphatiques ne sont pas généralement biodégradables mais leurs propriétés physiques et/ou mécaniques ainsi que leurs degré de cristallinité sont excellents à cause de nombre de liaison hydrogène qui peuvent exister. Ces polymères peuvent être modélés grâce à leurs stabilités thermiques ⁽⁶⁾.

Les deux types de propriétés, en particulier la biodégradabilité des polyesters et la stabilité des polyamides peuvent être combinés en préparant des poly (ester-amide).

Les polycondensations classiques sont des réactions équilibrées. Il est difficile d'obtenir des polymères de masses molaires élevées à moins de travailler à température élevée, sous pression réduite pendant un temps de réaction très long, d'où l'existence de réactions secondaires et éventuellement de dégradations des polymères.

Pour contourner ces difficultés, différents procédés sont utilisés par des molécules appelées coupleurs de chaîne (CC) ou agents de condensation, capables de réagir en masse des oligomères bien définis à extrémités réactives, à une température supérieure à leur température de fusion, pour obtenir un produit de forte masse molaire. Les CC auxquels nous nous sommes intéressées sont, plus précisément, des bisoxazolines.

D'une façon particulière, les cycles iminoether réagissent avec les groupes carboxyliques par ouverture de l'hétérocycle entre l'atome de carbone et de l'atome d'oxygène donnant ainsi la formation d'une liaison amide ⁽⁶⁾.

Dans cet objectif, l'étude concernée par nos travaux consiste en la synthèse de nouveaux poly (ester-amide)s à partir de polycondensation de poly(éthylène adipate) et l'acide adipique avec le coupleur de chaîne du type bisoxazoline, permettant ainsi l'augmentation des masses molaires des polyesters et l'amélioration de leurs propriétés physico-chimique et rhéologiques.

Le compte rendu de ces recherches sera présenté dans ce manuscrit en cinq chapitres :

La partie concernant les rappels bibliographiques est divisée en trois chapitres :

Le premier se concentrera sur l'eau et l'environnement

Le deuxième sera consacré sur les polymères biodégradables et sur la dégradation. Plusieurs points sont abordés : généralité sur les polymères (polyester, bizoxazoline et les poly (ester-amide)s), les acteurs et facteurs de la dégradation, les différents types de tests de mesure de la biodégradabilité.

Le troisième entame l'étude détaillée sur le monde bactérienne et les polymères antibactériens.

Le quatrième chapitre comprend quatre parties :

La première partie Une étude quantitative et qualitative des analyses physico-chimiques et bactériologiques des eaux de Sidi Bel Abbes.

La deuxième partie est dévolu à la synthèse et la caractérisation de coupleur de chaîne de type : bizoxazoline, le polyester de type : poly (éthylène adipate) et des poly (ester-amide)s ainsi que les analyses spectroscopiques (IR et RMN).

La troisième partie présente la stratégie du travail et les protocoles expérimentaux des tests de biodégradation des poly (ester-amide) en milieu liquide et solide.

La quatrième partie est réservé à l'étude de l'activité antibactérienne des polymères de synthèse : PEA1 ; PEA2.

Pour finaliser cette étude, dans le cinquième chapitre, les résultats expérimentaux de nos études seront présentés et discutés.

Enfin, la conclusion de ce manuscrit présente une synthèse des principaux résultats ainsi que les perspectives qui découlent de ce travail de thèse.

Chapitre I

L'eau et l'environnement

Introduction

L'eau est un élément essentiel pour la vie et le développement. Le corps humain d'un adulte se compose de 60% d'eau et une consommation minimale de 1,5 litre d'eau par jour lui est nécessaire ⁽⁷⁾.

La qualité de l'eau d'alimentation est régulièrement mise en question ces dernières années⁽⁸⁾. Considérée comme un symbole de pureté, l'eau est progressivement devenue le produit alimentaire le plus surveillé, et soumise aux normes de qualité les plus sévères⁽⁹⁾.

L'eau joue un rôle important pour la vie, la santé, l'accès à l'hygiène et au confort. Cependant elle constitue un vecteur important dans la transmission de nombreuses maladies telle la brucellose, la tuberculose, la fièvre typhoïde, le choléra et les diarrhées, ces quelques maladies tuent des milliers de personnes chaque année à travers le monde⁽¹⁰⁾. En raison de son caractère vital, l'eau doit être mise à la disposition des populations sous forme potable et donc de bonne qualité sanitaire.

La qualité de l'eau correspond à un ensemble de critères physico chimiques qui détermine son degré de pureté et par conséquent sa vocation aux divers usages alimentaires, domestiques, agricoles, ou industriels. ⁽¹¹⁾ cette étude s'intéressera spécifiquement à l'eau potable (E.P).

A l'heure actuelle, la disponibilité en eau de bonne qualité est indispensable pour le bien être de l'homme. Or actuellement il est difficile de trouver de l'eau en adéquation avec les exigences qualitatives définies pour l'eau potable destinée à la consommation et au développement économique. Une exigence essentielle pour sa pureté et solubilité, ainsi que l'absence de matières toxiques, de microorganismes et autres paramètres indésirables. ⁽¹²⁾ La qualité de l'eau potable s'apprécie selon différents paramètres regroupés comme suit:

- La qualité physique et gustative : Claire, incolore, inodore,
- La qualité microbiologique : Aussi pauvre que possible en germes microbiens,
- La qualité chimique : elle ne doit pas contenir de substances chimiques reconnues dangereuses et pouvant provoquer des maladies,
- Ne pas contenir des substances la rendant inutilisable pour la cuisine,
- Les substances «indésirables » leur présence est tolérée tant qu'il reste inférieur à une certaine limite.

- Indemne de substances reconnues pour leurs propriétés agressives vis-à-vis des canalisations (métaux, ciments)⁽¹³⁾.

I. L'eau de consommation

I.1 Définition

Est considérée comme eau de consommation, toute eau soit en l'état, soit après traitement destinée à la boisson, à la cuisson, à la préparation d'aliments ou à d'autres usages domestiques quelles que soit leur origine et qu'elles soient fournies par un réseau de distribution, à partir de citernes, en bouteille ou en conteneur.⁽¹⁴⁾

Ces eaux en particulier l'eau de boisson doivent être exemptes d'organismes pathogènes et de tous polluants dangereux pour la santé des consommateurs. Mukerjee⁽¹⁵⁾, cité par Soumare⁽¹⁶⁾ donne une définition de l'eau potable comme une eau limpide, pure, sans goût ni odeur désagréable et adaptée à une bonne et rapide cuisson des aliments.

Les eaux destinées à la consommation domestiques ont connues une extraordinaire croissance de la demande suite au développement démographique et à l'amélioration des conditions de vie des populations.

Même si ce n'est qu'une petite quantité qui va être bue, ces eaux ne sont distribuées qu'après avoir subi un traitement, trois facteurs déterminent le choix de ce traitement:

- **La quantité** : La source doit couvrir la demande, en toute circonstance.
- **La qualité** : La qualité de l'eau brute dont on dispose doit être compatible avec la législation en vigueur.
- **L'économie** : Le coût d'investissement et de fonctionnement du procédé de traitement relatif à chacune des ressources disponibles est déterminant lors de la prise d'une décision.

Il faut signaler que les établissements distributeurs des eaux de consommation sont responsables de la conformité de ces eaux aux normes jusqu'à leurs arrivées au consommateur.

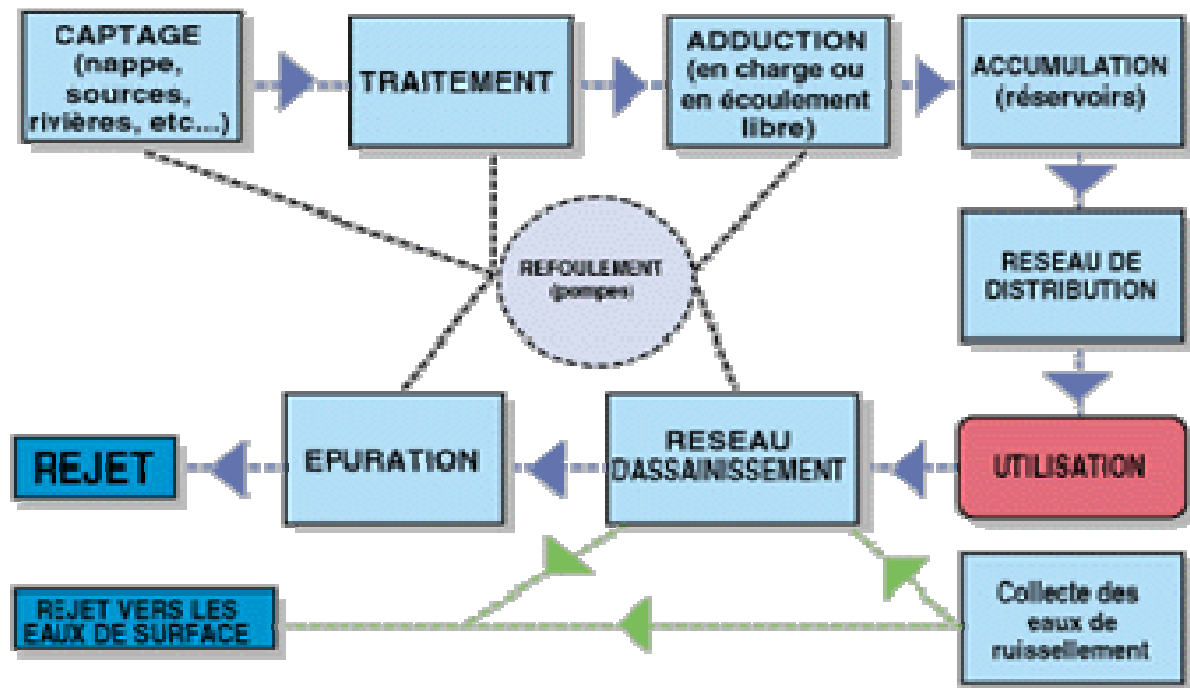


Figure 1. Chemin de consommation d'eau

I.2 La classification des eaux de consommation

I.2.1 Les eaux de boisson

I.2.1.1 Les eaux de distribution publique ou eaux du robinet

Ces eaux proviennent de captage d'eaux superficielles (cours d'eau, lac etc.), de nappes ou de sources souterraines. Ces eaux subissent plusieurs traitements avant leur distribution⁽¹⁷⁾ et une désinfection totale capable de détruire les germes pathogènes.

I.2.1.2 Les eaux de captage individuel

Les eaux de captage individuel proviennent du captage de sources ou de gisements souterrains, généralement sont destinées à l'approvisionnement des maisons surtout en zone rurale, des hameaux et des industries non desservies par l'eau du robinet. Ces eaux sont souvent utilisées sans un traitement préalable.

I.2.1.3 Les eaux embouteillées

Elles doivent provenir de nappes souterraines très protégées et mises à l'abri de toute contamination⁽¹⁷⁾. Elles sont mises dans des bouteilles en plastique ou en verre et sont de 2 (deux) catégories :

- Les eaux minérales naturelles : ces eaux ne respectent pas forcément l'ensemble des critères de potabilité. Elles possèdent des caractéristiques qui sont de nature à leur conférer des propriétés médicamenteuses⁽¹⁸⁾.
- Les eaux de source : les eaux de source répondent aux mêmes exigences de qualité que les eaux potables.

I.2.2 Les eaux non destinées à la boisson

Ces eaux regroupent les eaux de baignade, celles utilisées par les industries agroalimentaires et pour les travaux domestiques. Elles doivent être conformes aux critères de qualité.

I.3. Caractéristiques de l'eau de consommation

I.3.1 Les paramètres organoleptiques

La couleur, l'odeur et la saveur font partie des paramètres organoleptiques les plus suivies lors des traitements des eaux destinés à la consommation. La couleur de l'eau est due à la présence des matières organiques et de sels de fer et de manganèse, par contre l'odeur et la saveur sont dues à la présence de matières organiques en décomposition ⁽¹⁹⁾.

- la couleur : il est souhaitable, que l'eau de boisson soit incolore, la valeur indicative est fixée au maximum 15mg /l de platine (en référence à l'échelle platine /cobalt.

- le goût et l'odeur : une eau destinée à l'alimentation, doit être inodore. En effet, toute odeur est un signe de pollution, ou de la présence des matières organiques due à une augmentation d'activité biologique en décomposition ; le goût est un ensemble des sensations gustatives, olfactives et de sensibilité chimique ayant pour origine la pollution industrielle. ⁽¹⁹⁾

- la turbidité : une turbidité importante, peut mettre les micro-organismes, à l'abri des effets de la désinfection, stimule la croissance bactérienne et entraîne une demande élevée en chlore, chaque fois qu'on a recours à la désinfection. il faut qu'elle soit efficace, et la turbidité soit systématiquement faible ⁽²⁰⁾.

La régularité des maladies d'origine hydrique dues aux pathogènes microbiologiques peut avoir des manifestations rapide et/ou à court terme suivant le type de microbe.

I.3.2. Les paramètres physico chimiques

Les contaminants chimiques de l'eau peuvent engendrer aussi des épidémies mais ne sont en majorité détectable qu'après une longue période de la contamination du point d'eau, tel le cas de l'arsenic.

Le suivi de la qualité physico-chimique de l'eau destinée à la consommation est nécessaire pour s'assurer que leur teneur demeure en deçà des valeurs pouvant engendrer une toxicité chez l'homme et les animaux comme stipulé par les normes de

qualité des eaux potable de l'OMS. Les paramètres régulièrement suivi lors des contrôles de qualité physico-chimiques comprennent : la turbidité, le pH, la température, les teneurs en pesticides et en minéraux qui présentent des risques néfastes pour la santé tels que les nitrates, l'arsenic, le plomb, et les ions métalliques en solution.

I.3.3 Les paramètres microbiologiques

La qualité physico chimique de l'eau, doit être complétée par la qualité dite microbiologique. L'eau ne doit pas contenir de parasites, virus, et bactéries pathogènes. Aussi le contrôle de la qualité microbiologique de l'eau repose essentiellement, sur la recherche des germes, que l'on retrouve dans l'intestin de l'homme, et des mammifères (*coliformes*, flore intestinale, *streptocoques*). Leur présence dans l'eau, peut être le signe d'une contamination, d'origine fécale, et peut donc indiquer la présence d'autres germes susceptibles de provoquer des épidémies et maladies (choléra, typhoïde et autres). Les normes en vigueur, imposent l'absence totale de ces germes. ⁽²⁰⁾

I.4. Normes de la qualité des eaux

Les normes de potabilité sont l'ensemble de critères organoleptiques, physiques, chimiques, toxiques, éléments indésirables et bactériologiques à respecter dans une eau avant sa mise à la consommation humaine⁽²⁰⁾.

I.4.1. La réglementation Algérienne

Les normes de potabilité des eaux de consommation sont promulgués au journal officiel de la république Algérienne (textes N°3517-Aoul Safar 1419/27 Mai 1998) (Annexe 1). La norme a pour objet de fixer les spécifications organoleptiques, bactériologiques, physico-chimiques et toxicologiques des eaux destinées à la consommation.

Cette norme algérienne NA 6360-1992 est inspirée des normes de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) relatives aux eaux et des normes prescrites dans les directives de l'union Européenne (UE).

II. Aspect microbiologique des eaux de consommation

II.1 Les microorganismes typiquement aquatiques

Les eaux douces de surface abritent des populations microbiennes nombreuses et variées : algues microscopiques, protozoaires, mycètes, bactéries et virus. ⁽²³⁾

Les bactéries appartiennent le plus souvent aux genres *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Achromobactérium*, *Chromobactérium*, *Corynébactérium* ⁽²⁴⁾.

II.1.1 Les germes indicateurs de contamination fécale

Dans le domaine de la qualité des eaux de boisson, les analyses bactériologiques concernent non pas des microorganismes pathogènes mais des germes jouant un rôle d'indicateur⁽²⁵⁾. Ces germes sont spécifiques de la flore intestinale et ne sont pas nécessairement pathogènes. En plus de leur rôle d'appréciation du risque d'une contamination par des matières fécales pouvant véhiculer des organismes pathogènes, permettent également d'évaluer d'un traitement de désinfection de l'eau. ⁽²²⁾ un bon indicateur doit être présent en même temps que les autres pathogènes et en plus grand nombre qu'eux dans l'échantillon.

Doit avoir une croissance supérieure à celle des pathogènes éventuellement présent dans l'échantillon et facile à isoler, à identifier et à énumérer en analyse de routine.

Doit être plus résistant aux agents de désinfection et au milieu aquatique que les pathogènes, afin que sa destruction marque avec certitude celle des pathogènes⁽²³⁾.

Plusieurs groupes de bactéries répondent à ces critères :

- **Les coliformes totaux** : Ce sont des bâtonnets aéro-anaérobies facultatifs, Gram négatif, non sporulant, oxydases négatifs, capables de se multiplier en présence de sels biliaires ou d'autres agents de surface ayant des propriétés équivalentes (inhibitrices) et capables de fermenter le lactose avec production de gaz à 35-37°C. Sont présent en grand nombre dans les excréments humains et animaux, mais peuvent proliférer dans les sols et les milieux aquatiques⁽²⁶⁾.

Ce sont des germes qui se développent dans des conditions aérobies. Leur présence est indicatrice de pollution bactérienne. Leur dénombrement donne une information sur la qualité hygiénique de l'eau destinée à la consommation humaine⁽²⁶⁾. Ainsi, ils renseignent sur le degré de protection des nappes souterraines d'où provient l'eau à analyser⁽²⁰⁾.

- **Les Coliformes thermo-tolérants (ou fécaux)**

Présentent les mêmes caractéristiques que les coliformes totaux après incubation à 44 à 45°C⁽²⁷⁾. *Escherichia coli* est sans doute le plus spécifique de tous les germes de contamination fécale. Le terme « *Escherichia coli* présumé » correspond à des

coliformes thermo-tolérants qui produisent de l'indole à partir du tryptophane à 44 °C et ont des caractères biochimiques propres à cette espèce⁽²⁶⁾.

Les coliformes fécaux ne se trouvent que chez les animaux à sang chaud, ce qui fait d'eux un indicateur intéressant. Leur présence dans l'eau indique donc nécessairement une contamination fécale.

▪ Les Entérocoques intestinaux (ou Streptocoques fécaux)

Sous la dénomination générale de «*Streptocoques fécaux*», il faut entendre l'ensemble des streptocoques possédant une substance antigénique caractéristique du groupe D de Lancefield ⁽²⁰⁾. Sont des bactéries sphériques groupées en paires ou en chaînes, Gram positif, catalase négatif et anaérobies facultatives. Elles ne forment pas d'endospores et certaines espèces font preuve de mobilité.

Ce groupe est récemment divisé en 2 (deux) sous groupes : celui des *Entérocoque* capable de croître en présence de NaCl 6,5% et celui des Streptococcus (*Streptococcus bovis* et *Streptococcus equinus*).

Les streptocoques fécaux se multiplient rarement dans l'eau, cependant avec les spores de Clostridium sulfito-réductrices dont le type est *Clostridium perfringens* sont moins nombreux que les coliformes dans les eaux contaminées par des matières fécales mais ont un plus grand pouvoir de survie ⁽²⁸⁾.

▪ Clostridium sulfito-réducteurs

Clostridium sulfito-réducteurs sont souvent considérés comme des témoins de pollution fécale ancienne ou intermittente. Leur persistance dans le milieu marque la défaillance en un point donné du processus de filtration naturelle⁽²⁹⁾. Ce sont des bacilles Gram positifs, anaérobies stricts, isolés ou en chaînettes, mobiles, catalase positif, réduisent le sulfite de sodium en sulfure.

La forme sporulée des Clostridium sulfito-réducteurs est beaucoup plus résistante que les formes végétatives. ⁽²⁶⁾

II.1.2 Les germes pathogènes

La plupart de ceux qui sont ingérés font courir un risque sérieux de maladies dès qu'ils sont présents dans l'eau de boisson et leur élimination doit être une priorité. Parmi eux, *E. coli*, *salmonella*, *vibrio cholerae*, *Yersinia enterocolilica*, *campylobacter jejuni*, les virus (virus de l'hépatite A, entérovirus, rotavirus, virus de Norwalk..) et des parasites (*Giardia lamblia*, *Cryptosporidium pavum*, *Entamoeba hystolitica*, et *Dracunculus*

medinensis)⁽³⁰⁾. Lorsque la défense est affaiblie des germes habituellement inoffensifs tels que *pseudomonas*, *Flaviobactérium*, *Acinétobacter*, *klebsiella* et *Serratia* peuvent devenir pathogènes.

II.2. Risques liés à la mauvaise gestion de l'eau

L'eau contaminée par les excréments est susceptible de transmettre les maladies gastro-intestinales. En effet la pollution fécale peut introduire dans l'eau de boisson des risques :

- A court terme lorsque les sources de pollution sont urbaines, il s'agit du déversement incontrôlé de teinture, des eaux domestiques etc.... Il peut arriver que ces eaux soient évacuées vers des puisards qui sont en communication directe avec la nappe.
- A moyen terme lorsque les sources de pollution sont industrielles. Il peut s'agir des industries polluantes par leurs déchets.
- A long terme avec le développement agricole, les produits utilisés dans le but d'améliorer les rendements agricoles. On peut citer : les engrais, les pesticides etc.

II.2.1 Les différents risques de l'eau sont : Le risque d'ingestion ou risque directe, soit par contact ou risque indirect. La matière fécale pollue l'eau lorsque les excréments se retrouvent dans les ressources aquatiques, directement lorsque celles-ci sont de surface (rivière, lac, ...), ou par infiltration dans la nappe phréatique. Le ruissellement des eaux de pluies, lessivant les sols, la collecte ou le stockage de l'eau de boisson peuvent aussi être des occasions de souillure de l'eau. Les pathologies liées à l'eau peuvent être d'origine bactérienne, virale, parasitaire, ou liées à la présence de substance chimique dans l'eau⁽³¹⁾:

a. Maladies d'origine bactérienne : Les eaux peuvent transmettre un certain nombre de maladies d'origine bactérienne. On les cite avec les différents germes en cause :

- Le choléra (*vibrio cholerae*)
- La fièvre typhoïde et gastro-entérite (*salmonella typhi* et *E. Coli*)
- Schigellose (*shigella spp*)
- La tuberculose (*mycobacterium tuberculosis*).

b. Maladies d'origine virale: Aux cotés des maladies d'origines bactériennes, nous avons des maladies virales.

Il est possible d'admettre selon Foliguet que les virus isolés des eaux ont des caractéristiques telles qu'ils peuvent être considérés comme une entité propre dénommée hydro virus⁽³²⁾.

Il est essentiel de bien différencier la notion de danger et la notion de risque :

- Le danger concerne les effets toxiques susceptibles d'être induits par un agent éventuellement toxique.
- Le risque est la probabilité d'apparition de ces effets en fonction des conditions d'exposition au danger.

L'importance du milieu hydrique comme voie de transmission de maladies à virus est en pratique, relativement difficile à cerner du fait, d'une part, de la sous-estimation des résultats des analyses virologiques dues au faible rendement des techniques analytiques d'extraction et de concentration des virus, d'autre part, des limites des méthodes épidémiologiques. En ce qui concerne la surveillance du milieu hydrique, celle-ci pour être efficace, devrait évoluer et être fondée non plus sur l'isolement des bactéries témoins de contamination fécale mais sur la mise en évidence d'un indicateur véritablement spécifique d'une contamination virale⁽³³⁾. On peut citer :

- la poliomyélite
- les hépatites virales et entérovirus.

c. Maladies d'origine parasitaire : En plus des maladies d'origine bactériennes et virales, on trouve les épidémies d'origine hydrique dues à des parasites exemples l'ankylostomiase, la dracunculose, le téniasis etc....

d. Manque d'eau: L'absence ou la rareté de l'eau est à l'origine de nombreuses pathologies. L'hygiène défectueuse favorise la multiplication et la transmission des poux, de la gale. Elle crée aussi des conditions favorables pour certaines pathologies cutanées muqueuses.

e- Maladies liées à la présence de substance chimique dans l'eau : La fluorose qui est due à une intoxication chronique par le fluor. Le saturnisme qui est l'ensemble des manifestations dues à une intoxication par le plomb. L'hyperthyroïdie, et la méthémoglobine provoquent des troubles graves, par altération de l'hémoglobine du sang et formation de metha-hemoglobine toxique pouvant conduire à l'asphyxie et la morts 'il n'y a pas de traitement.

II.3. Evaluation des risques

Pour évaluer ces risques, un certain nombre d'indicateurs de contamination fécale ont été retenus. On cite les organismes coliformes qui sont les coliformes totaux et les coliformes fécaux (thermo-tolérant).

Coliformes totaux : Il s'agit de citrobacter, enterobacter et Klebsiella. Il ne devrait pas y avoir de coliformes dans les eaux épurées.

Si tel était le cas, il faut envisager deux possibilités: soit un traitement inefficace, soit une contamination postérieure au traitement.

Coliformes fécaux (thermo-tolérant): ce sont des coliformes capables de fermenter à 44°C du genre *Escherichia* et, dans une moindre mesure des souches occasionnent telles les Enterobacter, nitrobacter et de Klebsiella.

Les *coliformes fécaux* sont intéressants car un très grand nombre d'entre eux vivent en abondance dans les matières fécales des animaux à sang chaud et de ce fait, constituent des indicateurs fécaux de la première importance.

Par ailleurs, leur résistance aux agents antiseptiques et notamment le chlore et à ses dérivés est voisine de la résistance des bactéries pathogènes vis-à-vis desquelles ce type de traitement est instauré.

Il s'en suit que la présence, de ces microorganismes soit considérée comme suffisante pour affirmer la nature fécale et leur présence dans l'eau de puits doit être interprétée comme l'indice d'une situation dangereuse.

C'est pourquoi, du point de vue pratique, il faut considérer jusqu'à preuve du contraire que tous les coliformes observés sont d'origine fécale⁽³⁴⁾

III. Le traitement des eaux

L'objectif fondamental du traitement de l'eau est de protéger les consommateurs des micro-organismes pathogènes et des impuretés désagréables ou dangereuses pour la santé.

Qu'elles soient d'origine souterraines ou superficielles, les eaux utilisées pour l'alimentation humaine sont rarement consommables telles quelles. Il est souvent nécessaire de leur appliquer un traitement plus ou moins approprié⁽³⁵⁾.

Si une protection continue de la source aux consommateurs ne peut être garantie, il sera impératif de procéder à une désinfection et de maintenir une concentration de chlore résiduel suffisante⁽³⁶⁾.

III.1 Origines de l'eau

III.1.1 Les eaux de surface

Ce sont les eaux issues des rivières ou des lacs et qui subissent des traitements rigoureux selon les cas dans des usines de traitement suivant un processus en cinq étapes : un prétraitement, une décantation, une filtration, un affinage puis une désinfection⁽³⁷⁾.

III.1.2 Les eaux souterraines

Ce sont les eaux qui sont protégées par le sol et sont souvent bonnes pour une consommation sans traitement particulier, si ce n'est d'éventuels traitements physicochimiques en vue de corriger certaines teneurs (fer, fluor, nitrates ...) pour les rendre conformes aux normes. Une désinfection au chlore est toujours effectuée pour garantir une qualité bactériologique jusqu'au robinet.

III.2 Les procédés de traitement

III. 2.1 Les procédés physico-chimiques ou physiques

Ces procédés ont pour but d'éliminer mécaniquement les microorganismes et comportent plusieurs étapes :

Le prétraitement : débute par le dégrillage pour écarter les gros déchets, suivis du tamisage pour les plus petits puis éventuellement d'une pré-chloration visant à oxyder les matières organiques ou minérales (oxydables).

La décantation : par ajout de réactif chimique ou flocculant (sulfate d'alumine) qui entraîne la formation de précipités insolubles ou floccs, constitués de particules chargées positivement qui en se déposant entraînent toutes les substances organiques de l'eau. Cette étape peut éliminer jusqu'à 99% des bactéries présentes⁽³⁸⁾.

La filtration lente : se fait sur une couche de sable fin

L'affinage : c'est une filtration sur charbon actif en grain et a pour effet l'absorption de certains micropolluants, améliore ainsi la qualité organoleptique de l'eau (saveur, odeur, limpidité) ⁽³⁴⁾.

III.3.2.2 Les procédés chimiques ou désinfections

Suivent les étapes physiques et utilisent des désinfectants tels que le chlore et ses dérivés. Cette étape permet d'éviter toute prolifération bactérienne pendant le voyage de l'eau dans les réseaux de distribution. La désinfection peut également se faire par ozonation ou par utilisation des rayons ultraviolets.

III.3.2.3 Les problèmes rencontrés

Il est fréquent qu'une pollution de l'eau de boisson distribuée à l'utilisateur provienne de la pratique consistant à interrompre par rotation le fonctionnement de différentes sections du réseau. Ceci pose un problème particulier au niveau des banlieues en expansion rapide en ce qui concerne le maintien de la qualité de l'eau. Même si ces secteurs se trouvent à l'intérieur d'un réseau de distribution, la densité de la population, le nombre insuffisant de raccordement, l'intermittence du service, les baisses de pression, les fuites et l'absence de systèmes d'égouts peuvent engendrer un système de distribution de l'eau à haut risque ⁽³⁹⁾.

III.3.3 Le contrôle

III.3.3.1 Les différents modes de contrôle

Deux types de contrôles se pratiquent généralement

➤ Les contrôles de routine

Effectués quotidiennement ont pour but de fournir de manière régulière des informations sur les qualités organoleptique et microbiologique des eaux ainsi que sur l'efficacité du traitement notamment la désinfection ⁽⁴⁰⁾ par dosage du chlore résiduel.

➤ Les contrôles complets

Leur objectif est de fournir les informations nécessaires pour déterminer si l'ensemble des autres exigences de qualité fixées par le code de la santé publique sont respectées, depuis la source jusqu'au consommateur.

III.3.3.2 Aspect réglementaire

La réglementation algérienne concernant les eaux naturelles est dictée par l'arrêté du 24 rabie ethani 1421 correspondant au 26 juillet 2000 relatif aux spécifications des eaux de boisson préemballées et aux modalités de leur présentation, donne quelques précisions concernant les eaux minérales naturelles et les eaux de source, suivant les articles cités.

Article 9 : l'eau de source est une eau d'origine exclusivement souterraine, microbiologiquement saine et protégée contre les risques de pollution, apte à la consommation humaine sans traitement ni adjonction autres que ceux autorisés conformément à l'article 11 ci-dessous.

Elle doit être introduite au lieu de son émergence, telle qu'elle sort du sol, dans des récipients de livraison au consommateur ou dans canalisations l'amenant directement dans ces récipients.

Article 10 : les caractéristiques de qualité des eaux de sources doivent être conformes à l'annexe 1 du présent arrêté.

Article 11 : les eaux de sources peuvent faire l'objet de traitements ou d'adjonctions relatifs à:

- La séparation des éléments instables et à la sédimentation des matières en suspension par décantation ou filtration. Ce traitement qui accélère le processus d'évolution naturelle ne doit pas avoir pour but ou effet de modifier la composition de l'eau.
- L'incorporation de gaz carbonique.

Ces traitements aux adjonctions sont réalisés à l'aide de procédés physiques, mettant en œuvre des matériaux inertes, précédés le cas échéant d'une aération. Ils ne doivent pas avoir pour but ou effet de modifier les caractéristiques microbiologiques de l'eau de source.

Article 12: les eaux de sources préemballées sont mises à la consommation sous l'une des dénominations suivantes:

- Eau de source.
- Eau source gazéifiée désigne une eau de source effervescente par addition de gaz carbonique.
- Réglementation algérienne concernant les critères microbiologiques des eaux naturelles

L'arrêté interministériel du 22 Dhou E! Hidja 1426 correspondant au 22janvier 2006 fixant les proportions d'éléments contenus dans les eaux de source ainsi que les conditions de leur traitement ou les adjonctions autorisées, fixe dans l'article 5 les examens concernant les critères microbiologiques qui doivent comporter les eaux minérales naturelles et/ou de source:

- L'absence de parasites et de micro-organismes pathogènes.
- La détermination quantitative des micro-organismes revivifiés de contamination fécale.
- L'absence d'*Escherichia coli* et d'autres coliformes dans 250ml à 37°C et 44.5°C.
- L'absence de streptocoques fécaux dans 250 ml.

- L'absence d'anaérobies sporulés sulfite réducteurs dans 50 ml.

Conclusion

L'eau est synonyme de vie et santé, toutefois elle peut devenir source de maladies mortelles d'épidémies et de nuisances. En fait l'alimentation en eau pose un double problème de par la quantité et sa qualité en même temps.

Il est établi que le manque d'eau freine le développement des populations et réduit leur production alimentaire. L'eau est en passe de devenir le facteur limitant de développement de l'humanité. ⁽⁴¹⁾

En effet, l'eau représente un facteur de salubrité et de progrès pour la population, mais aussi le véhicule le plus important pour la transmission de plusieurs types de maladies, dites maladies à transmission hydriques.

Ce groupe de maladies est relativement contrôlé et maîtrisé dans les pays développés, à l'opposé, dans les pays en voies de développement, les affections hydriques restent très répandues, avec une charge de morbidité et de mortalité très élevée particulièrement pour les enfants en bas âge.

Selon le Centre des Nations Unies pour les établissements humains, plus d'un tiers des décès sont dus, dans les pays en voie de développement, à l'ingestion d'eau contaminée. ⁽⁴²⁾

En terme socio-économique, le dixième du temps productif de chaque individu, est perdu à cause des maladies à l'eau. ⁽⁴³⁾

Les maladies liées à l'eau sont une tragédie humaine. On peut les répartir en trois catégories :

- Les maladies à transmission hydrique causées par les micro-organismes fécaux oraux et les substances toxiques.
- Les maladies à support hydrique dues aux organismes aquatiques (Bilharziose).
- Les maladies transmises par les nombreux vecteurs vivant dans l'eau (moustique, mouche tsé-tsé ...), dont les plus graves affections sont représentées par le paludisme et la fièvre jaune.

L'organisation Mondiale de la Santé estime que plus d'un milliard de personnes à travers le monde n'ont pas accès à un approvisionnement en eau potable.

Ces maladies peuvent être d'origine bactériennes comme certaines maladies diarrhéiques, entériques, la fièvre paratyphoïde, la dysenterie bacillaire soit d'origine parasitaire, soit d'origine virale telle que la poliomyélite, l'hépatite A, B, et C.

De manière générale, la santé de l'homme est altérée s'il ne dispose pas d'eau pour boire et se nourrir, mais aussi, si l'eau dont il dispose est de mauvaise qualité ou bien si elle est polluée par des substances toxiques ou des agents pathogènes.

Actuellement, on remarque que les maladies liées à l'eau sont de plus en plus répandues et qu'elles présentent des variations considérables sur le plan de leur nature et de leur mode de transmission.

Chapitre II

Les Polymères biodégradables



I. Généralité sur les polymères

I.1. Introduction

Les polymères sont davantage présents dans la vie quotidienne depuis la découverte des hydrocarbures. Les polymères sont devenus des matériaux utilisés couramment dans toutes les industries et connaît durant ces dernières décennies un développement intensif.

Ces substances peuvent être naturelles comme le caoutchouc naturel, le coton, les protéines, ou synthétique comme les fibres synthétiques et cellophanes. Les polymères sont appliqués dans de nombreux domaines comme l'adhésion, la stabilité colloïdale, la conception de matériaux composés et de matériaux biocompatibles, cette application exige l'étude et la compréhension des propriétés physico-chimiques tels que : la structure chimique, l'état de phase et la composition des surfaces voisines agissantes réciproquement.

I.2. Définition

Le mot polymère est dérivé du mot grec signifiant plusieurs parties (poly : plusieurs et mères : particules). Il est formé par la jonction de plusieurs petites unités chimiques connues sous le nom de monomères (partie unique) ^(44,45).

Un polymère peut être défini comme un système formé par un ensemble de macromolécules. La notion de polymère a été définie pour la première fois par Staudiger dans les années 1920, et la notion de macromolécules s'est imposée dans les années 1930 après s'être opposée à la théorie « micellaire ». Une macromolécule est une « grande » molécule d'origine naturelle ou synthétique, contenant généralement des atomes de C, H, O, N... en grand nombre.

Dans le cas des polymères de synthèse, cet assemblage est obtenu par un procédé de polymérisation, qui consiste à préparer la macromolécule en établissant des liaisons covalentes entre les monomères à l'aide d'une réaction chimique. Le polymère peut alors être représenté en indiquant uniquement la structure chimique du motif de répétition et le nombre de motifs.

Le nombre moyen de ces unités dans les macromolécules est le degré de polymérisation, si ce degré est élevé on parle de hauts polymères, lorsqu'il est faible, le polymère est dit oligomère ⁽⁴⁴⁾.

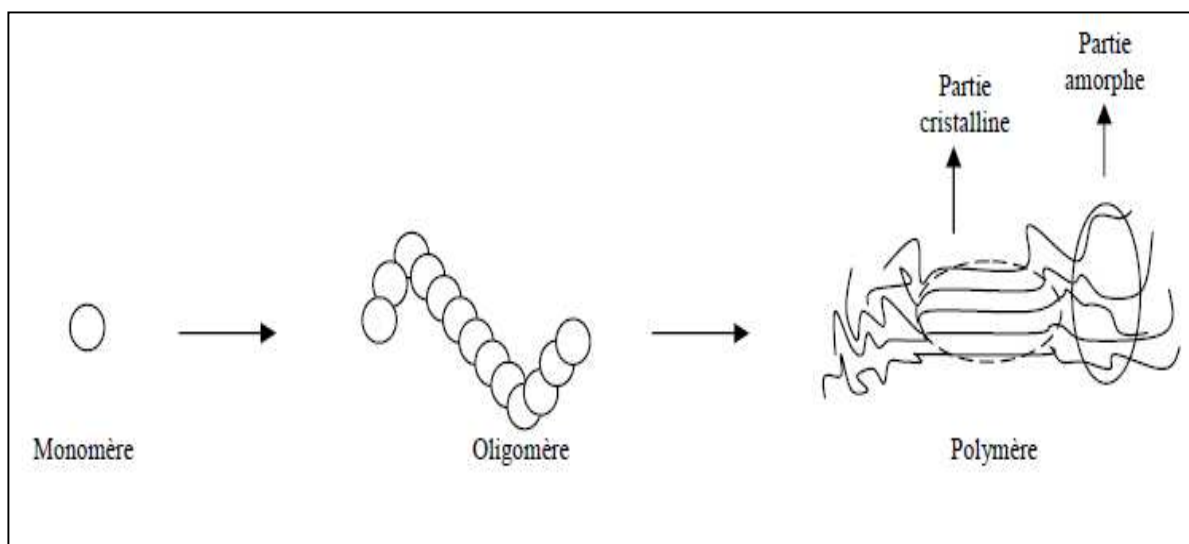


Figure 2. Formation d'un polymère⁽⁴⁴⁾.

Les monomères sont composés d'un petit nombre d'atomes légers, parmi lesquels, on trouve toujours le carbone et l'hydrogène, souvent l'oxygène, l'azote, et parfois le chlore et certains autres éléments.

Bien que dans des conditions optimales, certains polymères peuvent être constitués de macromolécules de même taille, en pratique dans les procédés industriels les plus courants, les chaînes obtenues seront de tailles très variées. Le polymère sera donc généralement poly moléculaire.

Tableau 1. Représentation et dénomination des quatre polymères synthétiques les plus utilisés.

Monomère	Polymère	Nom IUPAC	Nom courant	Abréviation
$\text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2$	$\cdot\left(\text{CH}_2-\text{CH}_2\right)_n\cdot$	polyméthylène	polyéthylène	PE
$\text{H}_2\text{C}=\text{CH}-\text{CH}_3$	$\cdot\left(\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_3\right)_n\cdot$	poly(1-méthyléthylène)	polypropylène	PP
$\text{H}_2\text{C}=\text{CH}-\text{Cl}$	$\cdot\left(\text{CH}_2-\text{CH}-\text{Cl}\right)_n\cdot$	polychloroéthylène	Polychlorure de vinyle	PVC
$\text{H}_2\text{C}=\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_5$	$\cdot\left(\text{CH}_2-\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_5\right)_n\cdot$	poly(1-phényléthylène)	polystyrène	PS

I.3. Cycle de vie des polymères ⁽⁴⁶⁾

➤ **Elaboration** : Les polymères sont synthétisés en reliant entre elles par des liaisons covalentes des petites molécules, appelées molécules de monomère, ou plus simplement monomères.

➤ **Formulation**

Après leur synthèse, les polymères ne sont jamais utilisés tels quels. On leur ajoute diverses substances qui modifient leur comportement, en remplissant différentes fonctions :

Stabilisants : le polymère « pur » est fragile. Il peut subir sous l'action de divers agents (chaleur, lumière, eau, radiations ionisantes, actions mécaniques lors de la transformation, etc.) des réactions de dégradation, qui se traduisent par une modification de la structure chimique (oxydation) et/ou une diminution de la masse molaire, et entraînent une altération des propriétés physiques. L'emploi de stabilisants permet de limiter ces phénomènes.

- Additifs pour faciliter la transformation : lubrifiants, agents de démoulage, etc.
- Colorants : pigments minéraux (dioxyde de titane) ou organiques (noir de carbone).
- Plastifiant : pour rendre le matériau plus souple.
- Charges (carbone de calcium, mica, talc) et renforts (fibres de verre) : l'objectif peut être une réduction du coût, mais on cherche en général une amélioration des propriétés mécaniques (augmentation du module d'élasticité).
- Renforcement au choc : nodules de caoutchouc.
- Additifs anti-combustion, etc.

➤ **Mise en œuvre** : Elle peut se faire à partir de poudres (revêtements), de solutions ou d'émulsions (peintures, colles et adhésifs, fibres Kevlar), de l'état fondu (cas le plus fréquent), de l'état caoutchouc (soufflage de bouteilles) ou de l'état solide (étirage de fibres et de films, usinage de pièces mécaniques).

➤ **Utilisation, mettant à profit les propriétés des polymères** : Faible coût, faible masse volumique (en général de 0,9 à 1,5 g/cm³ et pouvant descendre à 0,4 g/cm³ dans le cas de mousses), propriétés mécaniques (résistance au choc), optiques

(transparence), thermiques et électriques (caractère isolant), physico-chimiques (effet barrière résistance à la corrosion).

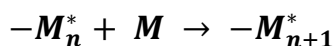
➤ **Devenir après usage :** Élimination (mise en décharge), réutilisation ou valorisation (recyclage).

I.4. préparation des polymères

On distingue deux grandes catégories de réactions chimiques permettant la préparation des polymères :

I.4.1. Polymérisation en chaîne appelée aussi polyaddition

Une réaction de polymérisation en chaîne, est une réaction conduisant à la formation de polymères par additions successives de monomères sur une extrémité active de la chaîne macromoléculaire (centre actif noté *) ⁽⁴⁷⁾. On peut la schématiser par :



La « chaîne cinétique » commence par l'élaboration du centre actif qui est le site d'amorçage, capable d'attaquer une première molécule de monomères.

L'ensemble de ces deux événements constitue la réaction d'amorçage proprement dite. La molécule formée reste porteuse d'un centre actif de même nature et est donc capable d'attaquer une nouvelle molécule de monomère, et ainsi cette nature, dites réaction de propagations.

Elle se termine par la destruction du centre actif, dite réaction de terminaison. Ces différentes étapes sont schématisées ci-dessous :

$M \rightarrow M^0$	Amorçage
$M^0 + M \rightarrow MM^0$	Propagation
$M_n^0 + M^0 \rightarrow M_{n+1}^0$	
$M_{n+1}^0 \rightarrow \text{Espèces inactives}$	Terminaison

Le centre actif peut être un radical libre (Polymérisation radicalaire), un carbocation (Polymérisation cationique) ou un carboanion (Polymérisation anionique).

Cette voie de synthèse représente à elle seule plus de 90 % de la production mondiale des matières plastiques. La majorité des polymères tels que le

polyéthylène, le polypropylène, le polybutadiène, le polystyrène, le polyméthacrylate de méthyle, le polychlorure de vinyle, le poly (acétate de vinyle) et le polyacrylonitrile sont produits par polymérisation en chaîne.

I.4.2. polymérisation par étape connue aussi sous le nom de polycondensation⁽⁴⁷⁾

Dans ce type de polymérisation, les macromolécules résultent de réactions successives entre les fonctions antagonistes portées par des molécules plurifonctionnelles (fonctionnalité ≥ 2). La réaction dans les conditions où réagissent habituellement les fonctions organiques concernée, par simple chauffage ou en présence d'un catalyseur convenable.

Les condensations qui, généralement, éliminent à chaque étape un tiers constituant, comme l'eau, un alcool ou un hydracide, interviennent au départ entre les molécules monomères puis, au fur et à mesure de l'avancement de la réaction, entre les molécules polymères formées, pour conduire (théoriquement) au stade ultime de l'unique macromolécule.

On distingue trois types de réactions de polycondensation :

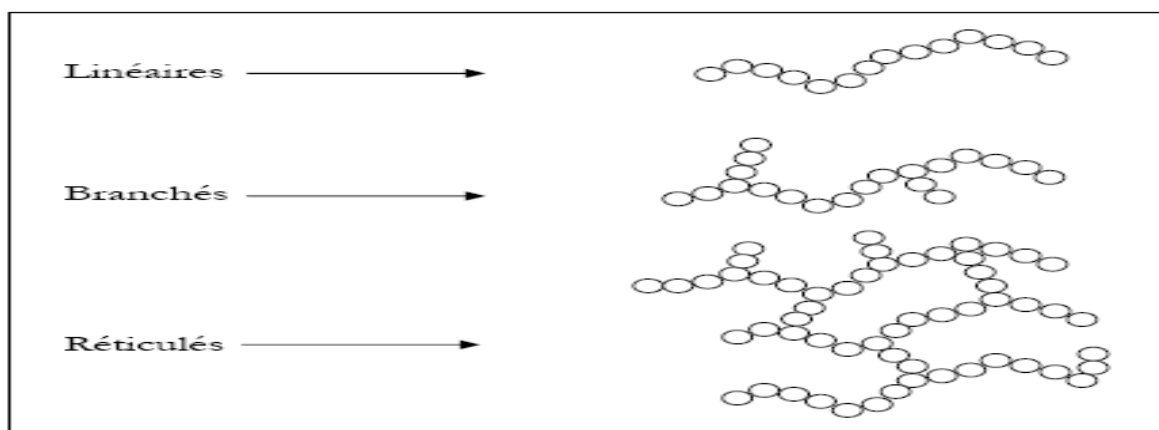
- Réactions qui se font avec élimination du produit de condensation.
- Réactions sans formation de produit secondaire de réaction.
- Polymérisation par recombinaison des radicaux.

Elle représente moins de 10 % de la production mondiale des matières plastiques. Les polycondensats fournissent un ensemble de molécules dotées de propriétés nouvelles et à grande valeur ajoutée : matériaux à haute résistance thermique ou chimique, fibres à haute ténacité, mousses rigides à porosité contrôlée, etc. La plupart des polymères techniques comme les polyesters, polyamides, polyuréthanes, polycarbonates, polyimides et polysiloxanes, les polymères cristaux liquides, les polysulfones, et la plupart des thermodurcissables (époxides, phénolformaldéhyde) sont produits par polycondensation.

Table 2. Comparaison entre une polymérisation en chaîne et une polymérisation par étapes

Polymérisation en chaîne	Polymérisation par étapes
1. Les monomères s'ajoutent un à la fois à un nombre limité de centres actifs	1. La réaction a lieu entre deux n-mères prises au hasard
2. La concentration en monomère diminue exponentiellement avec le temps de réaction	2. Le monomère disparaît très vite dès le départ (1% pour $p = 0.90$, 0.01% pour $p = 0.99$, p étant le degré d'avancement de la réaction ou taux de groupes fonctionnels qui ont réagis).
3. De très grandes molécules sont formées dès le début de la réaction, le poids moléculaire ne change que très peu en cours de réaction	3. Le degré de polymérisation augmente continuellement avec le temps de réaction
4. Des temps de réaction longs augmentent le rendement sans changer le degré de polymérisation.	4. Un temps de réaction long est nécessaire pour obtenir de hauts polymères.
5. Une polymérisation radicalaire nécessite en général un agent amorceur qui engendre un petit nombre d'espèces très réactives: les radicaux libres, qui se propagent ensuite rapidement par une réaction en chaîne.	5. Une polycondensation, au contraire, met en jeu des groupes fonctionnels présents dans chaque monomère. A tout moment, chacun des groupes fonctionnels présents dans les molécules de départ peut participer à la réaction.

Les polymères peuvent être linéaires (les chaînes), ramifiés ou tridimensionnels. La structure du motif et la taille de la chaîne sont deux éléments clés qui permettent de définir la structure chimique d'un polymère.

**Figure 3.** Représentation schématisques des différentes structures moléculaires des polymères. ⁽⁴⁸⁾

II. Les polyesters

II.1. Généralité

Les polyesters sont des polymères de condensation résultant de l'action de diacides carboxyliques sur des diols. Parmi ces polyesters nous retrouvons les polyesters aliphatiques qui sont des polymères synthétiques en particulier le poly (lactide) (PLA), le poly (glycolide) (PGL), la poly(ϵ -caprolactone) (PCL) et leurs copolymères. Ces polymères ont fait et font toujours l'objet de très nombreuses études.

Ces dernières années, ces polymères ont trouvé de nouvelles applications comme substituts à certains « plastiques » de commodité, qui génèrent à l'heure actuelle un volume important de déchets, et apparaissent comme une solution prometteuse pour faire face aux problèmes liés à l'environnement.

Les polyesters aliphatiques appartiennent à une famille de polymères qui comprend à la fois des composés d'origine naturelle produits par voie bactérienne, les poly(β -hydroxyacides), et des composés synthétiques obtenus soit par polycondensation d'hydroxyacides ou de diacides et diols, soit par ouverture d'hétérocycles de type lactone. Le Tableau 3 donne les principales structures polyesters aliphatiques existantes. ⁽⁴⁹⁾

Tableau 3. Polyesters aliphatiques ⁽⁵⁰⁾

Type de polyesters aliphatiques	Polymères	Structures
Poly(α -hydroxyacides)	Poly(acide glycolique) PGA	$\left[\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2 \right]_n$
	Poly(acide lactique) PLA	$\left[\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\underset{\text{CH}_3}{\underset{ }{\text{CH}}} \right]_n$
Poly(β -hydroxyacides)	Poly(hydroxybutyrate) PHB	$\left[\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2-\underset{\text{CH}_3}{\underset{ }{\text{CH}}} \right]_n$
	Poly(hydroxyvalérate) PHV	$\left[\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2-\underset{\text{H}_3\text{C}}{\underset{ }{\text{CH}}} \right]_n$
	Poly(β -acide malique) PMLA	$\left[\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2-\underset{\text{COOH}}{\underset{ }{\text{CH}}} \right]_n$

Poly(γ -hydroxyacides)	Polyvalérolactone PVL	$\left[\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\left(\text{C}_{\text{H}_2} \right)_4 \right]_n$
Poly(ϵ -hydroxyacides)	Poly(ϵ -caprolactone) PCL	$\left[\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\left(\text{C}_{\text{H}_2} \right)_5 \right]_n$
	Poly(ϵ -décalactone) PDL	$\left[\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\left(\text{C}_{\text{H}_2} \right)_4-\text{CH} \begin{array}{c} \diagup \\ \diagdown \end{array} \right]_n$
Autres	Poly(1,4-dioxane-2,3-dione)	$\left[\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-\left(\text{C}_{\text{H}_2} \right)_2 \right]_n$
	Poly(para-dioxanone) PDS	$\left[\text{O}-\text{C}_{\text{H}_2}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-\left(\text{C}_{\text{H}_2} \right)_2 \right]_n$

II.1.1. Polyesters aliphatiques d'origine bactérienne

Ces polymères sont produits par une fermentation bactérienne contrôlée impliquant des organismes présents dans la nature. Cette famille comprend entre autres l'homopolymère PHB, ainsi que ses copolymères avec d'autres β -hydroxyacides dont la composition peut être ajustée (0-95% de 3-hydroxybutyrate) par contrôle de la source carbonée fournie aux microorganismes ⁽⁵¹⁾.

Ces polymères se biodégradent dans le sol et les boues activées lorsque les microorganismes appropriés sont présents. En revanche, ils subissent une dégradation hydrolytique relativement lente en milieu tampon phosphate et *in vivo* du fait de l'absence d'enzymes nécessaires. D'un point de vue industriel, des copolymères PHB-*co*-PHV sont proposés sous la marque Biopol™ par Metabolix pour des applications dans le domaine de l'emballage, des fibres, des adhésifs... ⁽⁵²⁾.

II.1.2. Polyesters aliphatiques de synthèse

Comme on l'a évoqué plus haut, les polyesters de synthèse peuvent être obtenus soit par polycondensation d'hydroxyacides ou de diacides et diols, soit par ouverture d'hétérocycles de type lactone.

Concernant les premiers, on se référera à la revue rédigée par Edlund et Albertsson ⁽⁴⁶⁾ qui présente l'ensemble des composés polyesters obtenus par polycondensation de diacides ainsi que leurs applications en tant que polymères dégradables ou non et leurs copolymères poly(ester-amides), imides et uréthanes. A titre d'exemple, on

citera seulement les homo- et copolyesters d'éthylène glycol ou 1,4-butanediol et d'acide succinique ou adipique qui sont biodégradables. C'est le cas des poly(butylène succinate-*co*-butylène adipate), commercialisés sous le nom Bionolle™, et utilisés sous forme de pots pour plantes vertes.

Le problème commun des polycondensations étant de conduire à des masses molaires faibles, le recours à des agents de couplage est quasi obligatoire pour augmenter ces masses et obtenir ainsi des propriétés mécaniques acceptables. ⁽⁵⁰⁾

II.2. Le poly(éthylène adipate)

II.2. 1. Monomères utilisés

Le poly(éthylène adipate), ou PEAd, est un polymère produit actuellement majoritairement à partir de monomères pétro-sources.

Ce polyester est synthétisé à partir de deux monomères, l'acide adipique et l'éthylène glycol.

➤ L'acide Adipique, connu également sous le nom d'acide 1,6-hexanedioïque, est un diacide carboxylique aliphatique. Il est l'un des deux produits intermédiaires de base dans la fabrication du "Polyamide 6,6", encore appelé " NYLON 6,6 ". Le "Polyamide 6,6" est un produit technique dont les débouchés principaux sont l'automobile, les produits électriques, l'habillement et les produits de loisirs. C'est également un additif alimentaire (E355) utilisé pour acidifier des boissons non alcoolisées ou contrôler l'acidité des cosmétiques. Il contribue aussi au goût acide des betteraves. ⁽¹⁷⁸⁾

S'il existe à l'état naturel, l'acide adipique est aussi synthétisé chimiquement.

Cet acide est aussi utilisé dans la production de polyesters polyols pour le domaine des polyuréthanes ou d'adipates (esters de l'acide adipique) utilisés dans les plastifiants. Jusqu'alors, l'acide adipique était obtenu exclusivement sur base fossile.

➤ L'éthylène glycol est le second monomère nécessaire à la synthèse du PEAd, qui peut être obtenu de différentes façons.

L'éthylène glycol dont le nom officiel est 1,2-éthane-diol, est le plus simple des diols, composés possédant deux fonctions alcool. C'est un produit organique employé en synthèse de polyesters, en tant que réfrigérant des véhicules à moteur et

dégivrant pour le transport aérien. C'est un liquide inodore, incolore, sucré, mais attention : il est toxique, et son ingestion peut être mortelle.⁽¹⁷⁹⁾

Charles Adolphe Wurtz fut le premier à le préparer, notamment par hydrolyse de l'oxyde d'éthylène : $C_2H_4O + H_2O \longrightarrow C_2H_6O_2$

Sa production industrielle, si elle débuta en 1925, ne se développa véritablement qu'à partir de 1937 avec la mise au point de procédés de plus en plus efficace de production de l'oxyde d'éthylène.

C'est un grand produit industriel : plus de 10 millions de tonnes sont fabriquées annuellement, dont près des deux tiers utilisés pour l'obtention de polyesters, principalement le polyéthylène téréphtalate (PET) qui est transformé en fibres textiles (par exemple, Dacron®, Tergal®, etc.) et matières plastiques pour la fabrication des bouteilles de boissons gazeuses et eaux minérales⁽⁵³⁾.

II.2. 2. Principales voies de synthèses du PEAd

Carothers fut le premier en 1930 à travailler sur la synthèse de polyesters aliphatiques à base d'acide succinique⁽⁵⁴⁾. En éliminant l'eau grâce à un procédé de distillation continu, les polymères obtenus possédaient des masses significativement plus élevées que ceux qui avaient pu être synthétisés auparavant. Cependant, les masses molaires n'excédant pas 5000 g/mol, les matériaux étaient cassants. En 1946, Flory a proposé une synthèse améliorée des polyesters aliphatiques à partir de chlorure de diacide⁽⁵⁵⁾.

Différentes voies de synthèse peuvent être envisagées pour produire du PEAd, dont les principales sont abordées ci-après.

II.2. 2. 1. Polycondensation directe

➤ Polycondensation directe en voie fondue

La polymérisation directe en voie fondue est la méthode la plus répandue car elle est simple, conduisant à la formation de PEAd à partir de l'acide adipique et de l'éthylène glycol et permettant d'obtenir des masses molaires élevées. La synthèse du PEAd par cette méthode a lieu en deux étapes.

La première étape correspond à une réaction d'estérification, à une température comprise entre 150 et 200°C à pression atmosphérique ou sous vide léger. Lors de la seconde étape, la polycondensation ou trans-estérification a lieu en présence d'un catalyseur et sous un vide important, afin d'éliminer le éthylène glycol formé du

mélange réactionnel, et à une température plus élevée que précédemment, de l'ordre de 220 à 240°C. Les deux étapes de cette synthèse sont réalisées sous azote de façon à éviter les réactions d'oxydation. ⁽⁵⁶⁾

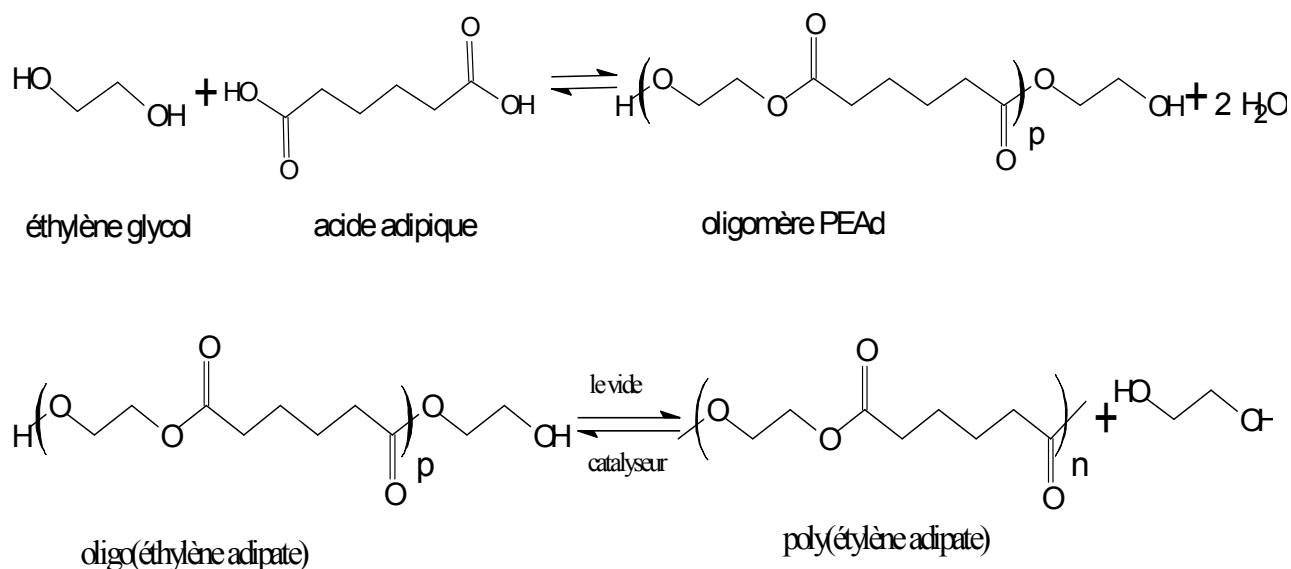


Figure 4. Synthèse du PEAAd par polycondensation de l'acide adipique et de l'éthylène glycol en deux étapes
a) Etape d'estérification b) Etape de polycondensation.

Plusieurs paramètres sont déterminants pour obtenir un PEAAd de haute masse molaire. Au cours de l'étape d'estérification, l'eau formée doit être éliminée du système pour déplacer l'équilibre de la réaction vers la formation des oligomères de PEAAd. L'estérification dépend également de la température choisie puisque la vitesse de réaction augmente avec la température, mais celle-ci doit être optimisée afin de ne pas conduire à la formation de sous-produits tels que le tétrahydrofurane, obtenu par cyclisation de l'éthylène glycol. Lors de l'étape de polycondensation, le vide doit être assez important pour pouvoir éliminer l'éthylène glycol et l'eau formés du système. Enfin, un catalyseur présentant une bonne réactivité doit être choisi pour obtenir un PEAAd de masse molaire élevée et diminuer le temps de réaction. De nombreux auteurs ont mis en évidence le caractère catalytique important de composés à base d'antimoine, d'étain et de titane et les plus utilisés sont généralement le titanate de tetrabutyle et d'isopropyle ^(57,58).

➤ Polycondensation directe en voie solvant

La polymérisation en solution a lieu après dissolution des monomères dans un solvant tel que le xylène ou le décahydronaphtalène (décane). Ishii *et al.* ⁽⁵⁹⁾ ont

réalisé la synthèse du PBS par cette méthode. Leur procédé consiste à mélanger le 1,4-butanediol et l'acide succinique avec le catalyseur, le 1-chloro-3-hydroxy-1,1,3,3-tetrabutyl-distannoxane, à 120°C pendant une heure dans un premier temps, puis d'ajouter lentement le solvant, la décaline, et chauffer à reflux (186°C) de 24 à 72h. Les auteurs expliquent que le solvant est choisi de façon à éviter la dissolution du polymère formé, conduisant à un système à deux phases lors de la polymérisation : les réactifs, solubles dans la phase solvant d'une part, et le polymère fondu d'autre part. La distillation de l'eau dans les conditions azéotropiques permet de conserver une concentration élevée en réactifs et favorise la formation de polymères de hautes masses molaires. Les auteurs ont alors réussi à synthétiser un PBS avec une masse molaire très élevée après un temps de réaction de 72h en présence de 0,001% mol de distannoxane.

Cette voie de synthèse a par la suite été étudiée par Zhu *et al.* ⁽⁶⁰⁾, qui ont réussi à améliorer l'élimination de l'eau en utilisant un tamis moléculaire, ainsi que par Sun *et al.* ⁽⁶¹⁾, qui ont examiné l'effet de différents catalyseurs et ont conclu à une bonne efficacité du SnCl_2 .

D'autres auteurs ont utilisé cette méthode pour synthétiser le PEAd par mélange de l'éthylène glycol et d'acide adipique en présence d'un catalyseur.

II.2. 2. 2. Polycondensation par transestérification

La polymérisation par transestérification est une méthode utilisée dans la synthèse du poly(éthylène téréphtalate) (PET). Par cette voie de synthèse, le PEAd est synthétisé en masse à partir de l'éthylène glycol et de l'acide adipique, en quantités stœchiométriques ou avec un léger excès de l'acide adipique n'excédant pas 10%. Comme dans le cas de la polymérisation directe en masse, cette synthèse a lieu en deux étapes et en présence d'un catalyseur tel que le titanate de tetrabutyle ou d'isopropyle.⁽⁵⁶⁾

La première étape est une réaction de transestérification conduisant à la formation de méthanol, réalisée à une température comprise entre 150 et 190°C sous azote. La seconde étape est également une réaction de transestérification, généralement appelée polycondensation, sous vide à une température plus élevée, 200°C, afin d'éliminer l'acide adipique formé et ainsi conduire à la polymérisation des oligomères en polymère. L'avantage de cette polymérisation par transestérification

est l'utilisation de diester, plus facilement purifiés que leurs équivalents diacides carboxyliques. Par cette méthode, Tserki *et al.* ⁽⁶²⁾ ont pu synthétiser un PBS avec des masses molaires M_n de 59 500 et M_w de 104 100 g/mol.

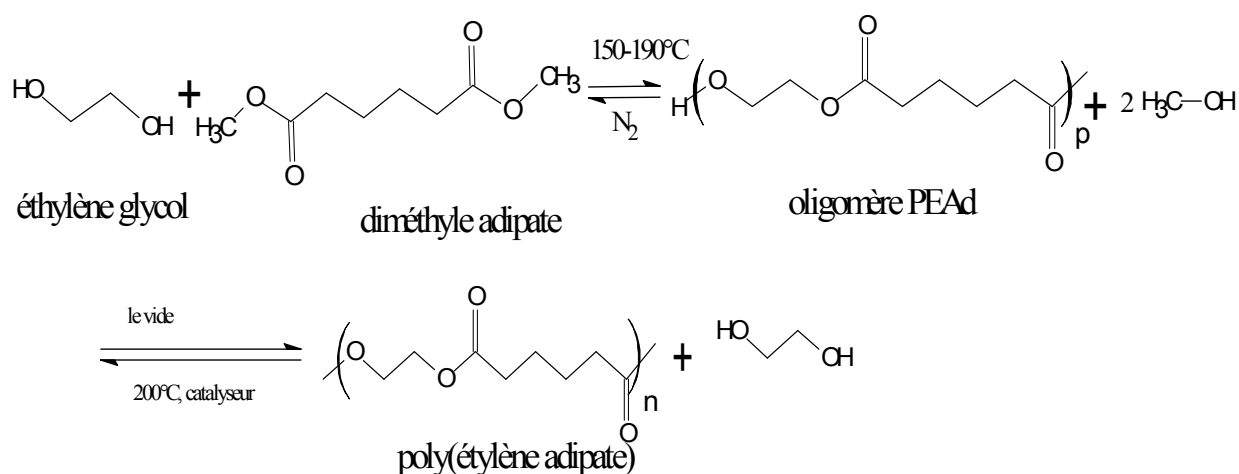


Figure 5. Synthèse du PEAd par polycondensation du diméthyladipate et d'éthylène glycol en deux étapes a) Etape de transestérification b) Etape de polycondensation.

II.2. 2. 3. Polycondensation directe et allongement de chaines

La synthèse de PEAd par polycondensation peut être suivie d'une extension de chaines, qui peut s'avérer être une méthode efficace pour obtenir un PEAd de haute masse molaire. Dans le cas d'une polycondensation directe en masse, de nombreux paramètres doivent être optimisés pour réussir à obtenir un polymère avec une masse molaire importante, alors que la méthode d'allongement de chaines permet d'obtenir de hautes masses molaires à partir de PEAd de masses molaires moyennes.

Un allongeur de chaîne possède deux groupes fonctionnels capables de réagir avec les fonctions acides carboxyliques ou alcool du PEAd. La quantité de cet agent doit être optimisée de façon à coupler deux chaines de PEAd.

De nombreux allongeurs de chaines sont utilisés dans les polyesters pour augmenter leur masse molaire, tels que les diépoxy ⁽⁶³⁻⁶⁵⁾ et les bisoxazolines ⁽⁶⁶⁻⁷¹⁾ qui réagissent préférentiellement avec les fonctions acide carboxylique, et les diisocyanates ^(62, 72), les biscaprolactames ^(73, 74) et les dianhydrides ⁽⁷⁵⁾ qui réagissent avec les fonctions alcool.

III. Bisoxazolines

III.1. Généralité

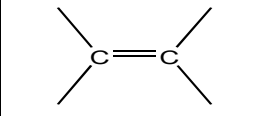
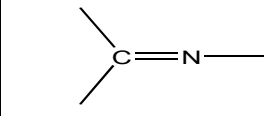
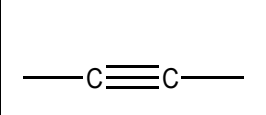
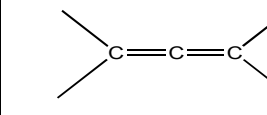
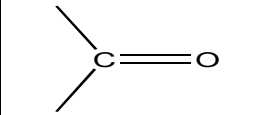
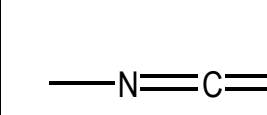
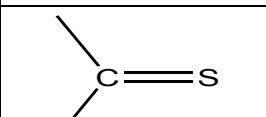
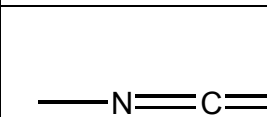
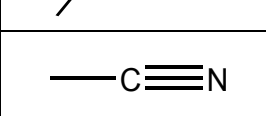
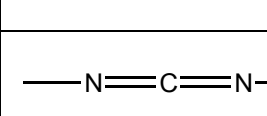
Les coupleurs de chaîne que nous recherchons sont des composés difonctionnels, stables entre 150 et 250°C aux températures de fusion des oligoesters, très réactifs vis-à-vis des groupes carboxyles et ne donnant pas de réaction avec élimination de sous-produits. Une dernière condition est imposée par une éventuelle application industrielle : les coupleurs doivent pouvoir être préparés sans difficultés excessives. Deux types de composés peuvent répondre à la question : les composés linéaires à liaisons multiples et les composés cycliques, principalement hétérocycliques ⁽⁶⁶⁾.

III.1. 1. Composés à liaisons multiples

De nombreux composés à liaisons multiples peuvent donner des réactions d'addition avec les acides carboxyliques (Tab. 4)

Les deux premiers types de composés, alcynes et alcènes peuvent réagir avec les groupes carboxyliques mais leur application comme coupleurs de chaînes se trouve limitée car ces composés peuvent facilement dimériser ou polymériser thermiquement.

Tableau 4. Structure des groupes à liaison multiples

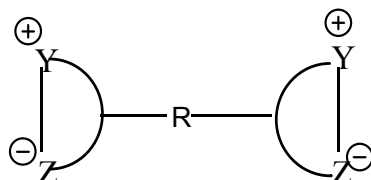
	Alcène		Imine
	Alcyne		Cétènes
	carbonyle		isocyanates
	thiocarbonyle		Thioisocyanates
	Nitrile		carbodiimides

Les quatre derniers composés cétones, thiocétones, nitriles et imines ne sont pas assez réactifs vis-à-vis des groupes carboxyliques dans des réactions d'addition.

Les cétones, les isocyanates et les isothiocyanates et les carbodiimides sont des composés très réactifs vis-à-vis des acides carboxyliques mais ils sont peu stables à haute température et la réaction d'addition serait inévitablement accompagnée de réactions secondaires. ⁽⁶⁾

III.1. 2. Composés hétérocycliques

De nombreux composés hétérocycliques peuvent donner des réactions d'addition avec les groupes carboxyliques. Un coupleur difonctionnel hétérocycliques peut s'écrire schématiquement :



La réaction d'addition se fait par ouverture du cycle entre l'hétéroatome attracteur Z ($Z = O, NH, S$ par exemple) et l'atome Y ($Y = C$).

Deux enchaînements différents peuvent être obtenus selon que le groupe carboxy réagira comme nucléophile ou comme électrophile respectivement :

Y, Z étant respectivement des atomes accepteurs et donneurs d'électrons

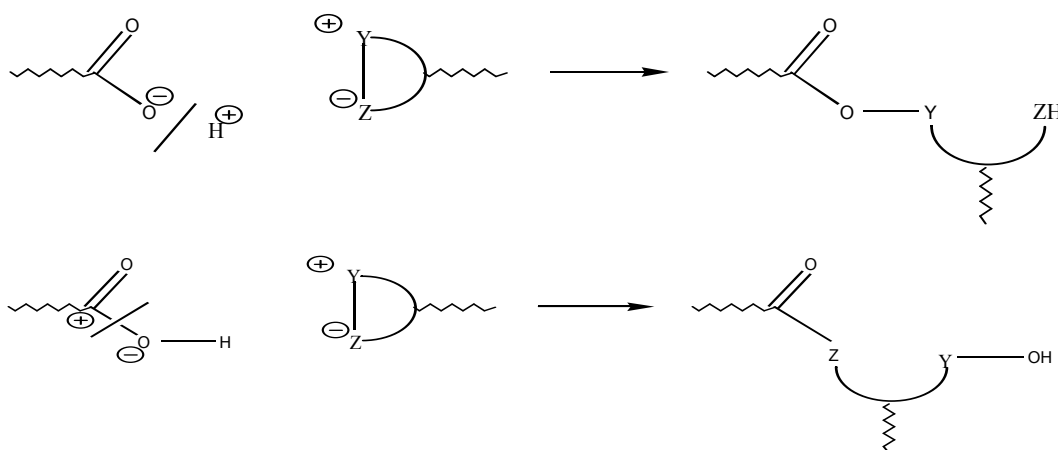
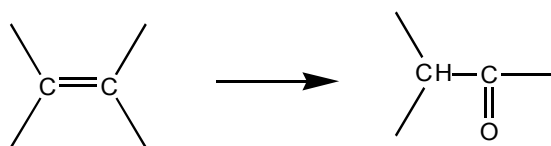
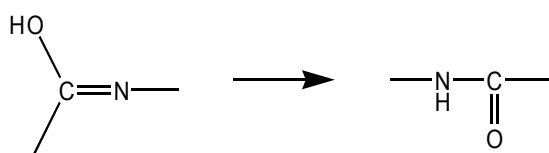


Figure 6. Ouverture d'hétérocycle par un groupe carboxylique

L'enchaînement résultant possède donc dans tous les cas des groupes latéraux OH, SH ou NH_2 , peu stables ou susceptible de conduire à des branchements par réaction à haute température avec les groupes carboxy.

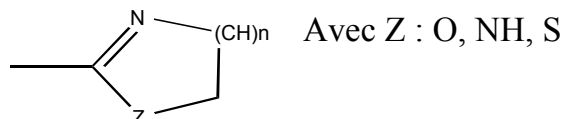
Cependant s'ils sont attachés à un carbone ayant un double liaison, ces groupes se convertissent immédiatement en fonctions plus stables par exemple :





Dans le premier cas, le coupleur de départ doit posséder un groupe peu stable éther ou thoéther vinylique.

Dans le dernier cas, en revanche les coupleurs seront de type imine $-C=N-$:



Ces groupes sont thermiquement stables, réactifs vis à vis des groupes carboxyliques et relativement faciles à préparer. Ils sont donc particulièrement intéressants.

Tableau 5. Structure des composés hétérocycliques pouvant être utilisés dans les réactions de couplage avec les extrémités carboxyliques.

Bisoxazoline		Bis iminocarborate	
Bisoxazine		Bis N-acyl-aziridine	
Bisthiazoline		Bisépoxy	
Bisimidazoline			

III.1. 3. Coupleurs de type oxazoline

D'une façon générale, les cycles iminoether réagissent avec les groupes carboxyliques par ouverture de l'hétérocycle entre l'atome de carbone et l'atome d'oxygène ou l'atome de soufre, les groupes carboxyliques réagissent comme nucléophiles.

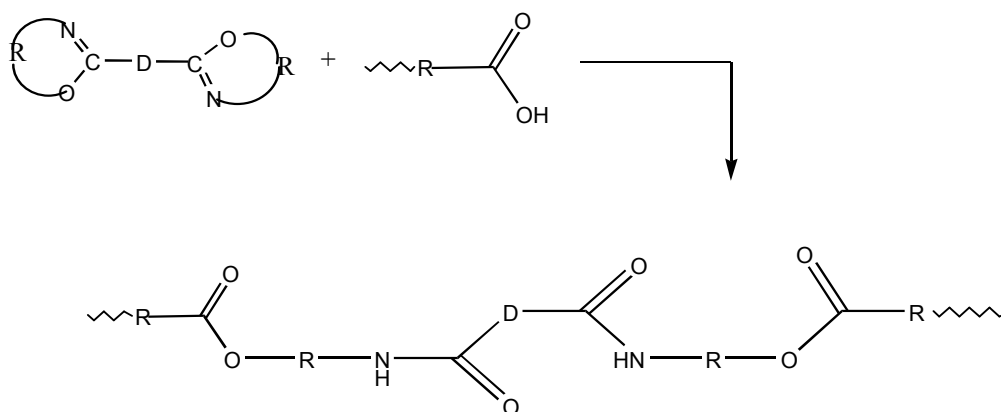


Figure 7. Réaction de cycles iminoethers avec un acide carboxylique

La stœchiométrie est nécessaire pour qu'une augmentation de la masse molaire et qu'une diminution de la teneur en groupes carboxy soient élevées.

Dans le cas de polyamides qui contient des groupements terminaux acides carboxylique et amines, les coupleurs de chaînes tels que les époxydes, les isocyanates, les carbomides et les oxazolines peuvent réagir ⁽⁷⁶⁾.

Les oxazolines sont des composés hétérocycliques à cinq membres contenant une double liaison. La double liaison peut être localisée dans l'une des trois positions, donc la possibilité d'existence de trois différents cycles oxazolines.

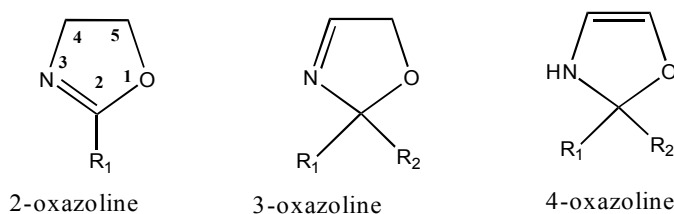


Figure 8. Différents cycles oxazolines

Dans la suite de ce travail, nous nous intéressons exclusivement à la structure 2-oxazoline, la plus usuelle et qui permet d'atteindre la structure amide-ester dans la chaîne principale par réaction d'ouverture de cycle avec un acide carboxyle.

Les oxazolines sont préparées à partir de différents composés, des revues détaillées de chacune des méthodes de synthèse sont proposées par Elderfield⁽⁷⁷⁾ et Frump⁽⁷⁸⁾. Ces différentes méthodes peuvent être résumées en quatre synthèses principales :

- Déshydratation de β -hydroxyalkylamides.
- déshydrohalogénéation des composées de β -halogénoalkylamides.

- A partir d'un acide avec un aminoalcool avec les deux groupes hydroxyle et amine sur deux atomes de carbone adjacents.
- Réaction de nitriles, soit avec un époxyde, soit avec un aminoalcool.

III.2. Méthodes de synthèse des oxazolines

III.2. 1. Synthèse par déshydratation de β ou γ hydroxyalkylamides

La conversion des hydroxyethylamides en oxazoline ou en oxazines peut également se faire par déshydratation selon la réaction suivante :

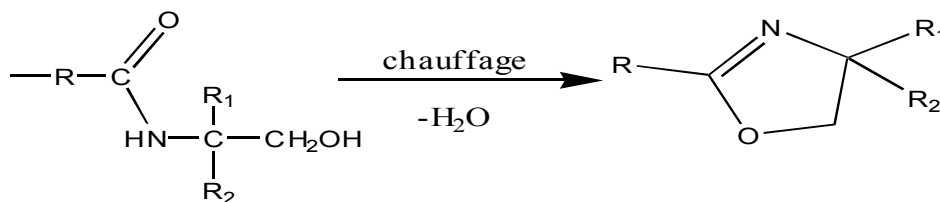
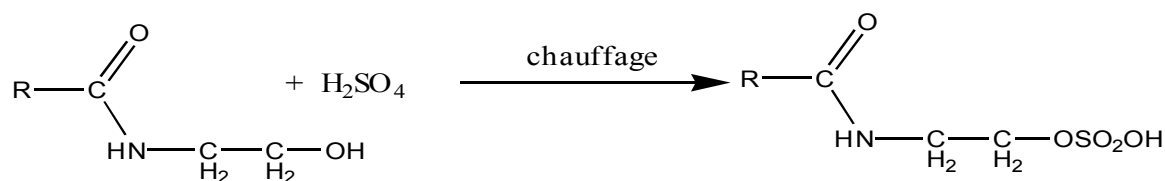


Figure 9. Formation de cycle oxazoline par déshydratation d'un hydroxyethylamide.

L'élimination de l'eau se fait soit par azéotrope (toluène ou le xylène) ; soit par distillation sous vide ⁽⁷⁹⁾. Cette déshydratation peut aussi être réalisée en présence d'agents de déshydratation ^(80,81) comme l'acide sulfurique, le chlorure de thionyle, le pentoxyde, de phosphore et l'oxychlorure de phosphore.

Ces agents de déshydratation permettent de passer par une forme activée du β -hydroxyamide, ce composé intermédiaire n'est pas isolé. Par exemple l'action de H_2SO_4 donne un sulfate de β -halogénoalkylamide qui, par lavage basique donne l'oxazoline correspondante.



Dans le cas de la déshydratation par SOCl_2 , le composé intermédiaire attendu est le β -hydrogéoalkylamide, mais c'est le sel chloré de l'oxazoline qui est observé.

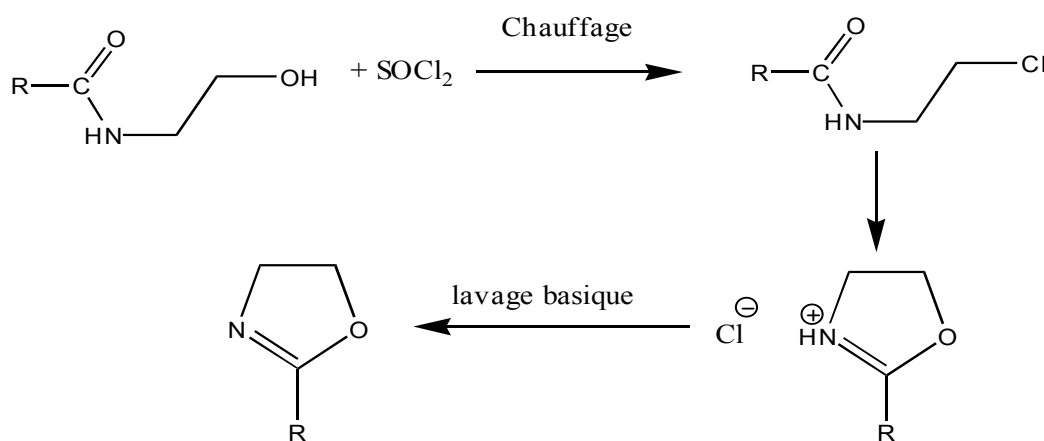


Figure 10. Obtention de l'oxazoline par déshydratation du composé β -hydroxyalkylamide en présence de SOCl_2 .

Généralement les dérivés hydroxylamide sont traités par SOCl_2 , RSO_2Cl , COCl_2 ou $\text{PO}(\text{OR}_2)\text{Cl}$ afin de remplacer le groupement hydroxyle par un groupement halogéné qui peut être plus facilement éliminé⁽⁸¹⁾.

III. 2. 2. Synthèse par déshydrohalogénéation des composés β -halogéno-alkylamides.

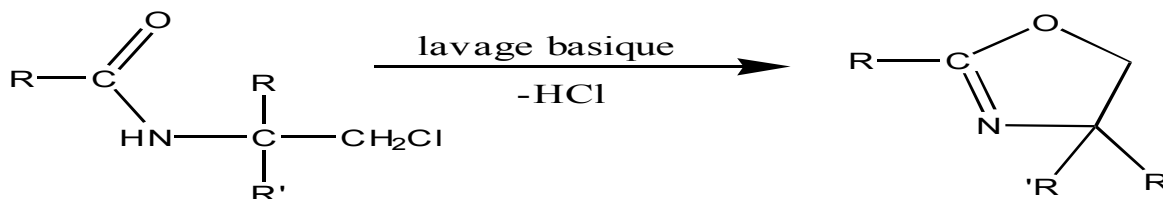


Figure 11. Réaction de déshydrohalogénéation d'un β -halogéno-alkylamide.

Le dérivé chloré est obtenu par action de SOCl_2 sur l'hydroxylamide dans certaines conditions^(77, 81, 82, 83) ; puisque cette voie conduit également au sel chloré. (Fig. 10). La formation de dérivé chloré est favorisée quand le mélange réactionnel est porté à reflux alors que l'obtention du sel est favorisée en présence d'un large excès de SOCl_2 à basse température.

La déshydrohalogénéation se fait dans la majorité des cas en milieu basique soit en solution aqueuse, soit en milieu alcoolique.

III.2. 3. Par réaction d'un acide carboxylique avec aminoalcool

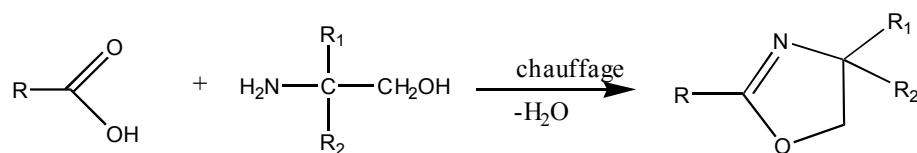


Figure 12. Réaction d'un acide carboxylique avec aminoalcool

L'élimination de l'eau se fait soit par azéotrope, soit par distillation sous vide^(78,85). Quand l'aminoolcool est disubstitué sur le carbone porteur du groupe amino, la cyclisation devient facile^(75,82), La réaction est douce et le composé intermédiaire (hydroxyamide) n'est pas isolé. Par contre, si l'aminoolcool est non- substitué, la cyclisation n'aura pas lieu spontanément et le dérivé hydroxyamide est obtenu (Fig. 10).

Cette déshydratation à haute température ne peut être réalisée pour les composés qui ont des fonctions sensibles à la chaleur. La cyclisation peut se faire alors dans des conditions plus douces décrite par Verbruggen⁽⁸⁶⁾ c'est à dire en présence de triphénylphosphine. Soit directement à partir de l'aminoolcool et de l'acide, soit à partir du dérivé hydroxamide.

Quelques résultats expérimentaux sont résumés dans le tableau suivant.

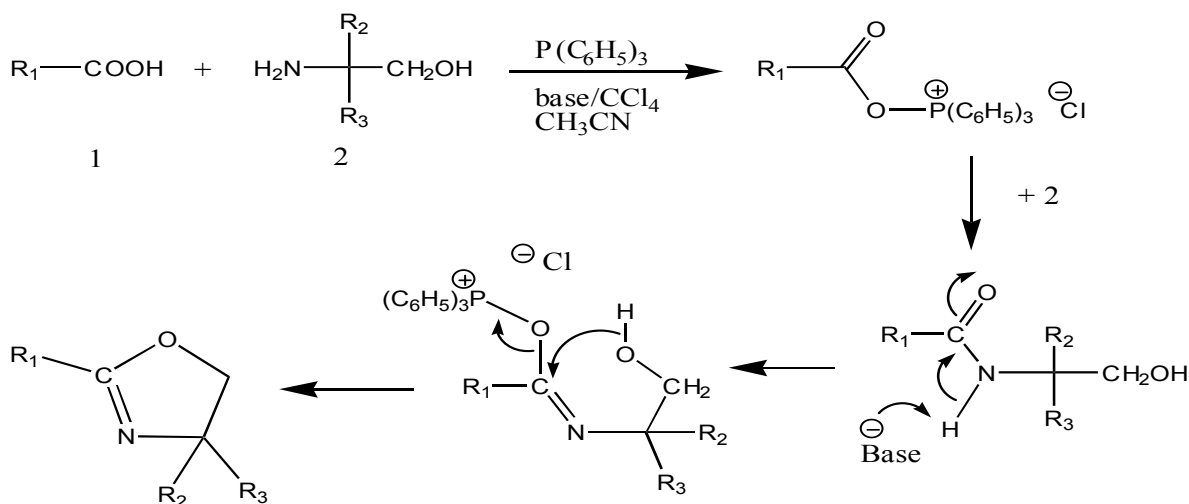
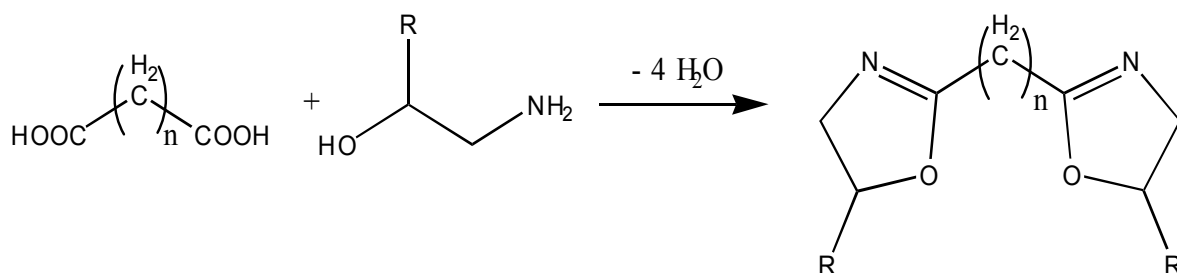


Figure 13. Réaction d'acide carboxylique avec l'aminoolcool en présence de triphénylphosphine⁽⁸⁶⁾

Tableau 6. Rendement en oxazoline suivant les différents substituants⁽⁸⁵⁾.

R 1	R 2	R 3	Rdt en %
C ₆ H ₅	H	H	71
C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	H	64
Benzyl	CH ₃	CH ₃	68,7
3- pyridyl	CH ₃	CH ₃	73,8

Les acides carboxyliques peuvent être transformés en oxazoline en seule étape, par chauffage à reflux, donnant des rendements variant entre 50 et 75%. Cette méthode a permis de synthétiser des bis (2-oxazolines) à partir d'acides dicarboxyliques et d'aminoalcools secondaires⁽¹⁰⁰⁾ en une seule étape par chauffage à reflux. Une fois que toute l'eau est distillée, le résidu fluide est distillé sous pression réduite pour conduire à la bis-oxazoline avec des rendements élevés. Le schéma réactionnel peut s'écrire de la façon suivante (Fig. 14).



R : peut être un groupe phényle ou alkyle et n est compris entre 4 et 8

Figure 14 : Réaction de diacides avec un aminoalcool

Les acides dicarboxyliques utilisés pour cette synthèse sont l'acide adipique, l'acide pimélique, l'acide azélique et l'acide sébacique.

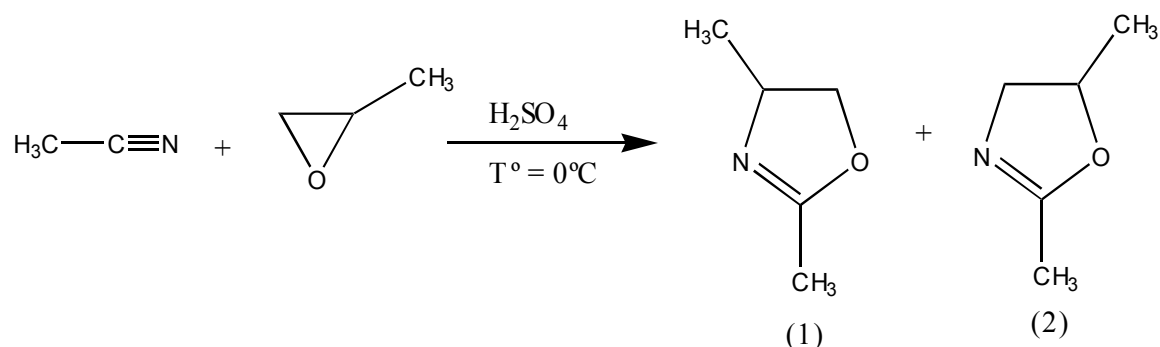
III.2. 4. Synthèse à partir d'un nitrile :

La formation de 2-oxazoline à partir d'un dérivé nitrile se fait par condensation de ce dernier avec, soit un époxyde^(73, 83,84), soit un aminoalcool^(82, 85,95). Seeliger et al.^(83, 92,93) ont fait de nombreuses études sur ces deux méthodes d'obtention des oxazolines à partir de nitriles.

La voie à partir des aminoalcools est moins complexe que celle à partir des époxydes et de meilleurs rendements sont obtenus.

III.2. 4.1. Réaction d'un nitrile avec époxyde

Les rendements obtenus par cette voie sont très faibles ⁽⁸⁸⁾, de plus quand l'époxyde est substitué, un mélange d'isomères est obtenu.



(1) : 2,4-diméthyl-2-oxazoline

(2) : 2,5-diméthyl-2-oxazoline

Figure 15 : formation d'oxazoline par réaction d'un nitrile avec un époxyde

III.2. 4.2. Réaction d'un nitrile avec un aminoalcool

C'est la plus utilisée actuellement. Cela s'explique par un rendement de la réaction plus élevée que celui obtenu par les méthodes précédentes et par l'utilisation de matériaux peu onéreux ⁽⁹³⁾. Le mécanisme réactionnel est le suivant :

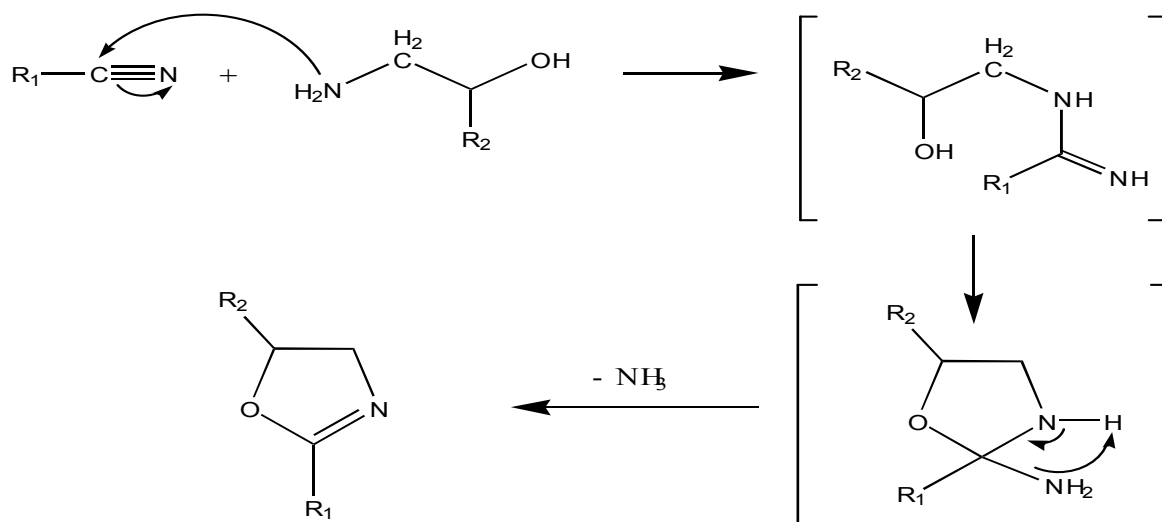


Figure 16 : Réaction d'un nitrile avec un aminoalcool

La réaction est réalisée en masse et en chauffant à 100-130°C, des meilleurs rendements sont obtenus avec une quantité catalytique de sel métallique ⁽⁸²⁾. Les principaux catalyseurs sont le chlorure de zinc ZnCl_2 , l'acétate de cadmium $\text{Cd}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, l'acétate de zinc $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ et le sulfate de cuivre CuSO_4 .

Dans le cas des nitriles aromatiques l'ajout de chlorobenzène peut être envisageable. Les rendements sont supérieurs à 60% alors que ceux obtenus par la voie des époxydes sont nettement inférieurs, de plus, la formation d'isomères est évitée.

Les composés pouvant être préparés à partir de nitriles sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 7. Structure des oxazolines préparés à partir des nitriles

R ₁	R ₂	Catalyseur	Rendement %
CH ₃	H	A	73
Cyclohexane	H	B	62
n-C ₁₁ H ₂₃	H	A	77
n-C ₁₇ H ₃₅	H	A	77
C ₆ H ₅	H	A	85
C ₆ H ₅	CH ₃	C	76
C ₆ H ₅	H	C	72

A: Cd(CH₃COO)₂.2H₂O; *B:* Zn (CH₃COO)₂.2H₂O; *C:* ZnCl₂

Pour obtenir des bis-oxazolines, la synthèse est réalisée dans les mêmes conditions opératoires mais à partir d'une mole de dinitrile avec deux moles d'aminoalcool toujours en présence d'un catalyseur.

Une autre publication fait référence à ces travaux⁽⁹⁵⁾ mais pour éviter l'obtention de bisimidines observées avec le 1,2 phtalonitrile, la synthèse de bis-oxazoline a été réalisée en présence d'excès d'éthanolamine.

III.3. Réactions d'ouverture des oxazolines

Les oxazolines peuvent réagir avec de nombreux composés comme les acides, les anhydrides, les aldéhydes, les isocyanates, les époxydes, les amines et les thiols⁽¹⁰²⁾.

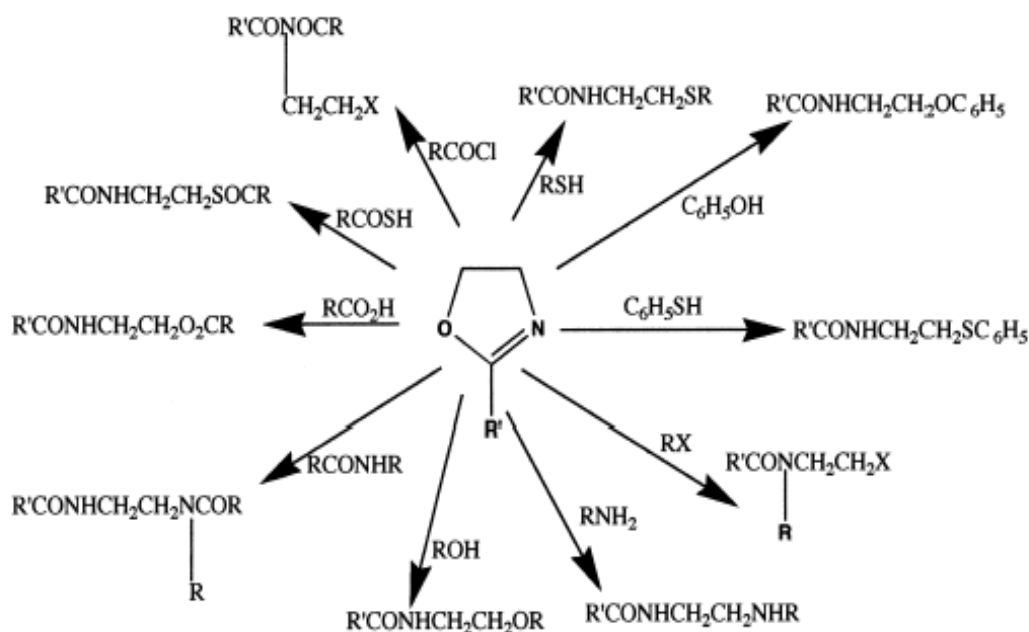


Figure 17. Différentes réactions d'ouverture de cycle iminoether ⁽⁶⁾

Nous allons plus particulièrement nous intéresser aux réactions d'ouverture de cycles notamment à la réaction d'hydrolyse (réaction à éviter lors des polycondensations) et à la réaction d'ouverture des oxazolines par les acides carboxyliques.

III.3.1. Hydrolyse

Les oxazolines sont stables aux solutions basiques aqueuses ou alcooliques ainsi qu'aux agents déshydratants tels que l'acide sulfurique, le chlorure de thionyle et le pentoxyde de phosphore⁽⁸¹⁾. Les oxazolines ne sont pas facilement hydrolysables.

Ces cycles peuvent être hydrolysées donnant de β -hydroxyalkylamide. Cette réaction est réalisée à reflux par des solutions aqueuses diluées d'acide minérales (HCl, HBr,...). Les mêmes conditions mais à température ambiante n'ont pas d'effet sur la plupart des oxazolines. Dès les années quarante ⁽⁸¹⁾, il a été démontré que l'ouverture des oxazolines dépendait de la concentration en acide. En effet, le β -hydroxyalkylamide est observé quand la réaction est réalisée avec un excès d'acide, alors qu'avec une quantité équimolaires d'acide, le produit obtenu est un β -aminoester.

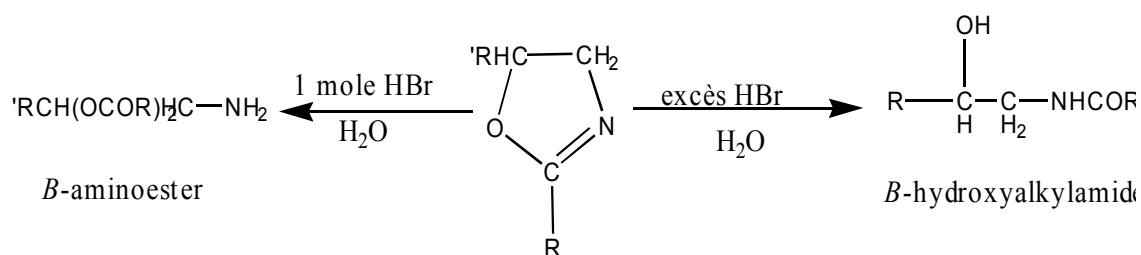
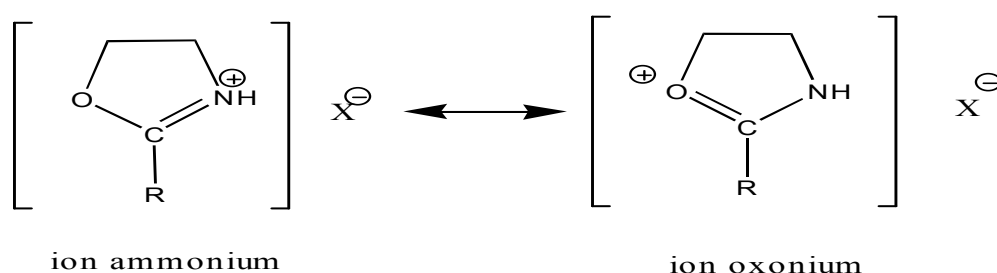


Figure 18. Hydrolyse acide d'une oxazoline

Ces remarques ont été confirmées par la suite⁽⁹⁶⁾ et expliquées par le fait que la réaction d'ouverture en position 2 ou en position 5 est due à un équilibre entre l'ion intermédiaire oxonium et l'ion ammonium.



L'ouverture des cycles oxazolines par attaque d'un nucléophile serait surtout en fonction des substituant alkyle ou aryle sur la 2-oxazoline, et les conditions d'ouverture varient selon le type et le degré de substitution⁽⁹⁷⁾

III.3. 2. Ouverture par des acides carboxyliques

Les oxazolines donnent par réactions d'ouverture avec des acides carboxyliques ; un enchaînement de type esteramide ^(78, 99, 10).

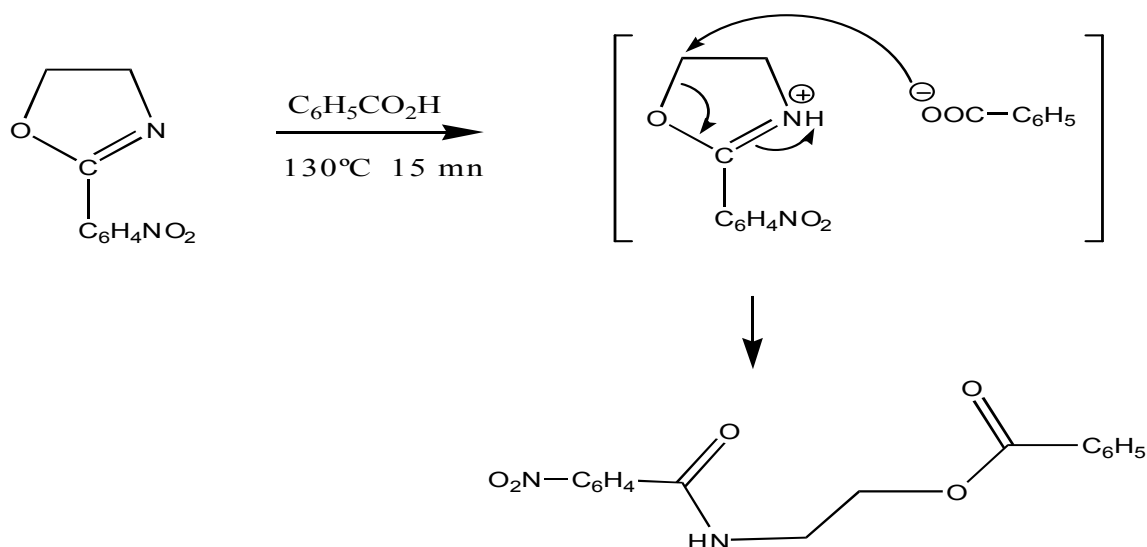


Figure 19. Ouverture de la p-nitrophényl (2-oxazoline) par l'acide benzoïque⁽¹⁰³⁾

La réaction d'ouverture du cycle 2-oxazolines par les acides carboxyliques se fait par la rupture de la liaison C₅-O (Fig. 29). Elle passe aussi par un intermédiaire de type ammonium et tout comme la réaction d'hydrolyse les conditions opératoires sont à modifier selon le type et le degré de substitution. En effet plus les deux positions 4 ou 5 de l'oxazoline sont substituées, plus la température de la réaction sera élevée.

Dans un autre travail⁽⁹³⁾, il a été montré que cette réaction d'ouverture peut se faire aussi à partir de polymères possédant des groupements acide en chaîne latérale. Ces résultats montrent que la réactivité des cycles oxazolines vis-à-vis des acides carboxyliques est très importante à haute température.

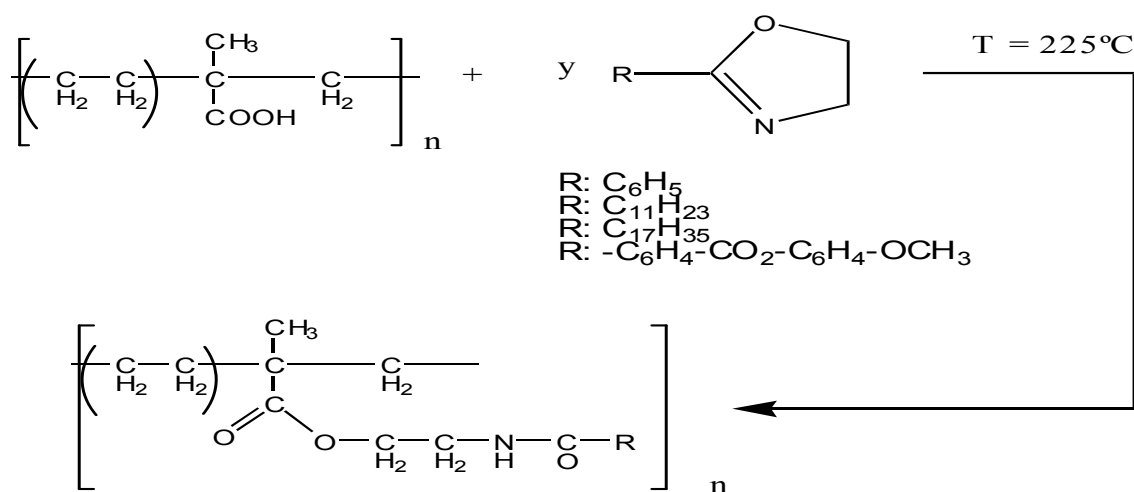


Figure 20. Réaction entre le copolymère (éthène-co-acide méthacrylique) et différentes oxazolines⁽⁹⁷⁾

La réaction a été réalisée en masse à 225°C pendant quelques minutes. Des modélisations avaient été effectuées au préalable sur les mêmes oxazolines mais avec des monoacides comme l'acide caproïque et l'acide benzoïque. L'évolution de la réaction a été suivie par titrage des groupes oxazolines par une solution de HClO₄/AcOH, et les résultats expérimentaux montrent que 90 à 100% de l'oxazoline de départ disparaît en moins de 5 minutes. La réactivité des cycles oxazoline vis-à-vis des acides carboxyliques, à haute température, semble donc très importante.

III.3. 3. Ouverture de bis-oxazoline par des diacides carboxyliques.

Tout comme les 2-oxazolines, les bis-oxazolines donnent par réaction d'ouverture de cycle avec les diacides, des poly (ester- amide) linéaires⁽⁷⁸⁾.

Ces polymères à enchaînement ester-amide dans la chaîne principale ont fait l'objet de nombreuses publications⁽¹⁰¹⁻¹⁰³⁾.

IV. Polyesteramides

IV.1. Introduction

La nouvelle classe des poly(ester-amide)s est préparé par réaction d'une bis (2-oxazoline), d'un anhydride et ou avec un diol de structures différentes.

La polymérisation est produite à travers la formation d'un ester à terminaisons carboxyles et cela par réaction de deux molécules d'anhydrides avec une molécule de diol et ultérieurement l'ouverture du cycle de 2-oxazoline qui est attaqué par l'ester dicarboxylique. Dans l'ensemble le procédé conduit à un poly(ester-amide).

IV.2. Différentes réactions menant au poly(ester-amide)⁽¹⁰⁴⁾

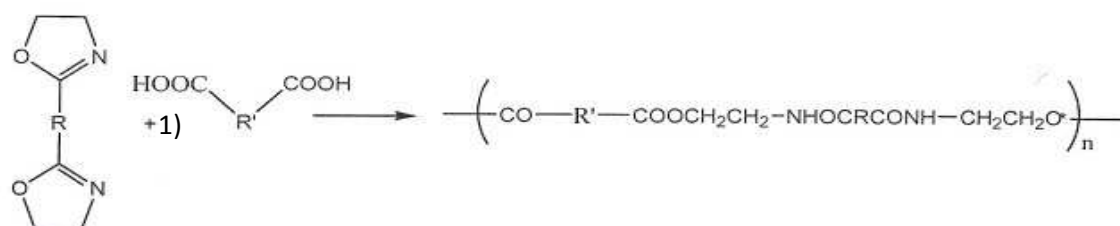
les bis(imino éther)s nommés aussi , bis(2-oxazoline)s ou bis(5,6 –dihydro-4 H-1,3 –oxazine)s sont des cycles souples bifonctionnels très réactifs en vers des molécules contenant divers groupes assez réactifs.

Divers travaux décrivent l'utilisation bifonctionnelle de 2-oxazoline comme monomère de synthèse des poly(N-acylimine)s à travers une polymérisation cationique. Elles peuvent être aussi copolymérisées avec des comonomères électrophiles pareil que β -méthylhydrogène-itaconate, anhydride succinique anhydride phtalique ou l'acide acrylique.

Les étapes de polymérisation de la bis(2-oxazoline)s avec les monomères acides (les thiols) et les diphénols mènent à des polymères linéaires contenant un groupe amide.

La réaction de la bis(2-oxazoline)s avec les diacides reportée dans la figure 21 où (R,R' des radicaux divalents) conduit à des étapes de propagation avec un mécanisme d'addition où il en résulte des polyesteramides linéaires.

Cependant, les anhydrides eux même sont réactifs en vers les 2-oxazolines, A: un radical divalent et Q un radical monovalent) si l'oxazoline bifonctionnelle réagit avec un mono anhydride, un polymère réticulé sera obtenu contenant des groupes, ester, imide, imine et des groupements d'anhydride) suivant le schéma 21 où A et R sont des radicaux divalents.⁽¹⁰⁵⁾



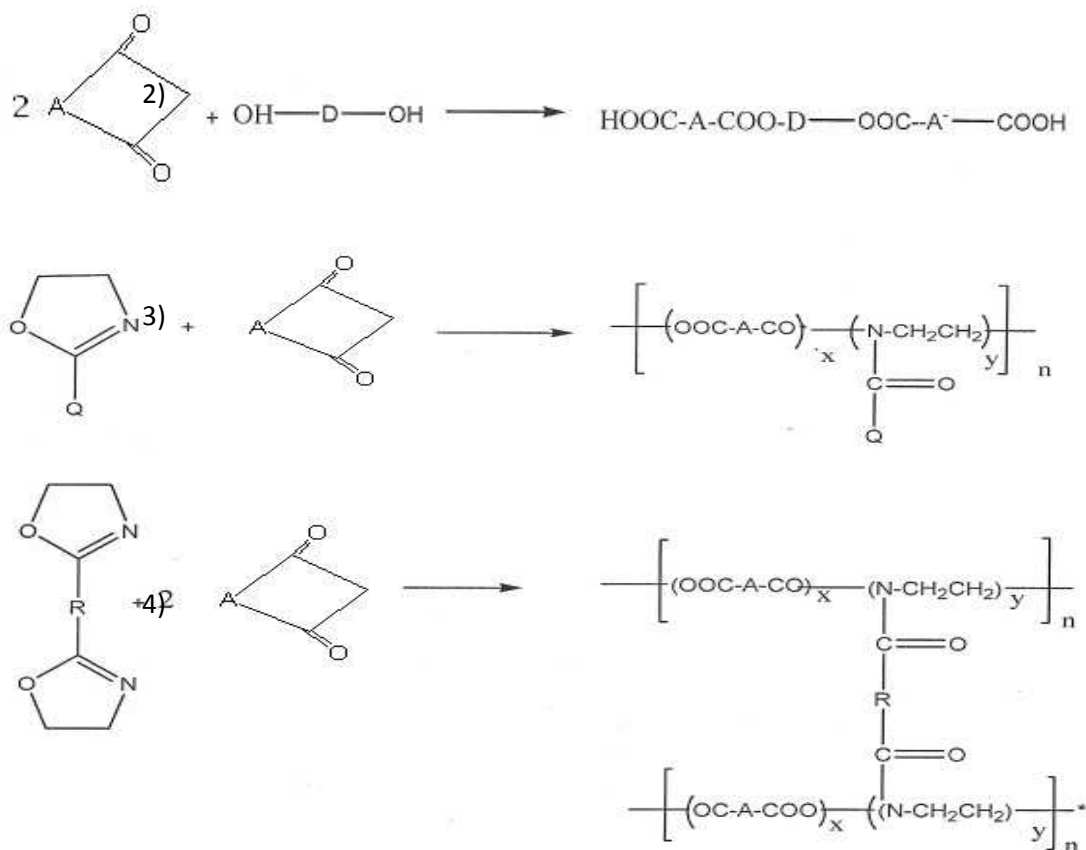


Figure 21. Les schémas réactionnels menant au polyesteramides⁽¹⁰⁶⁾

Tous les mécanismes décrits sont compétitifs dans la polymérisation des bis (2-Oxazoline)s avec les anhydrides et les diols ainsi cela ne mène, pas droit à prévoir la structure et les propriétés du polymère obtenu à travers ses réactions. La première étude de cette réaction de polycondensations a été réalisée à la fin des années 50 par A. Jaeger⁽¹⁰¹⁾ la réaction a été réalisée en masse à 230-240°C pendant 45 min, entre la 1,4 - bis(2 - oxazolines -2 yl) benzène et l'acide adipique. Aucune caractéristique du polymère n'est donnée.

V. Polymère biodégradable

V.1. Définition de la biodégradabilité

Un produit est dit biodégradable si après usage il peut être décomposé (digéré) naturellement par des organismes vivants. La biodégradabilité est un des paramètres les plus importants pour caractériser l'impact environnemental d'un produit organique.

La biodégradation se traduit chimiquement par un processus de simplification progressive de la structure chimique d'un composé organique avec la minéralisation du carbone (sous forme de dioxyde de carbone) et l'obtention de métabolites de plus

faible poids moléculaire dès lors disponibles pour la synthèse de constituants cellulaires (croissance du vivant). ⁽¹⁰⁷⁾

V.2. La dégradation des polymères biodégradables ou dits «biodégradables »

Selon le Comité Européen de Normalisation (CEN), les notions de «dégradation » et de« matériau dégradable » sont décrites comme suit ⁽¹⁰⁸⁾: « La dégradation est un processus irréversible entraînant un changement significatif dans la structure du matériau ; ce changement est classiquement caractérisé par une perte des propriétés initiales (masse molaire, structure moléculaire, résistance à la traction) et/ou une fragmentation.

La dégradation est affectée par les paramètres environnementaux et se déroule en une ou plusieurs étapes. ». Le terme dégradation rassemble donc les phénomènes biotiques et abiotiques que le matériau subit lorsqu'il est placé dans un milieu particulier pour être traité en fin de vie, sans distinction d'origine. D'une manière plus spécifique, le CEN aborde également la notion de « *biodégradation* » et la définit comme étant « un type de dégradation engendrée par une activité biologique, particulièrement des attaques enzymatiques, entraînant un changement significatif dans la structure chimique du matériau ». La biodégradation se décompose en trois étapes successives et/ou concomitantes ⁽¹⁰⁸⁾:

- La fragmentation qui regroupe l'ensemble des phénomènes physiques et/ou chimiques et/ou biologiques concomitants et/ou successifs aboutissant à une désagrégation d'un matériau en morceaux de plus en plus petits (micro-fragments). Cette étape est susceptible d'aboutir à une séparation partielle ou totale des constituants du matériau ainsi qu'à une perte plus ou moins grande des caractéristiques physico-chimiques initiales de ce dernier.
- la bioassimilation définie comme le phénomène par lequel la (micro) faune et/ou la (micro) flore, constituants élémentaires de la biomasse, utilise(nt) un matériau comme nutriment. Les molécules ou les fragments de molécules sont incorporés par les voies métaboliques des micro-organismes.
- La minéralisation au cours de laquelle les composés assimilés sont minéralisés ; ils sont transformés par les micro-organismes en eau et en dioxyde de carbone dans des conditions aérobies ou en eau et méthane dans des conditions anaérobies.

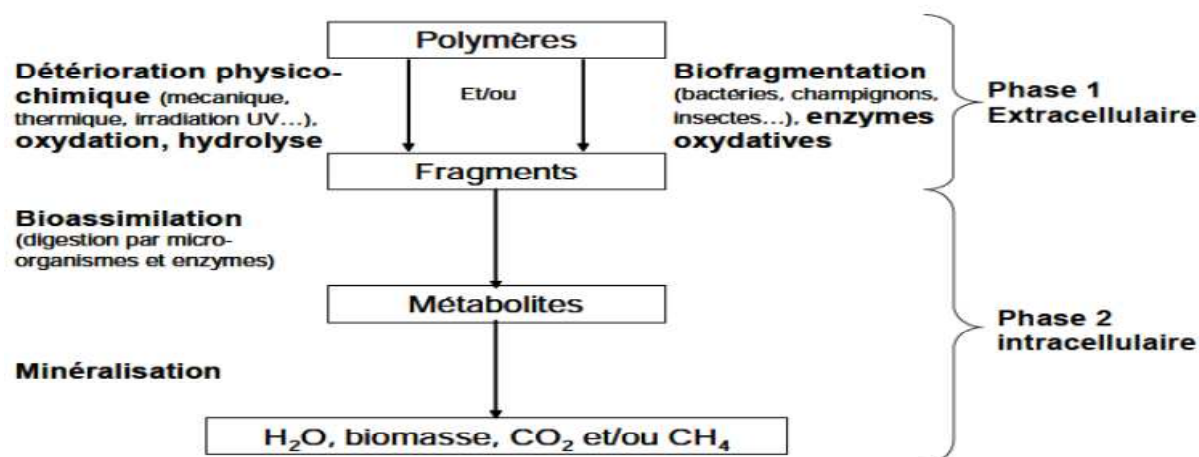


Figure 22. Les deux phases essentielles de la biodégradation ⁽¹⁰⁸⁾.

V.2.1. Classification des polymères biodégradables

Différentes sources de polymères peuvent être utilisées pour produire de tels matériaux. Ainsi, selon l'origine des matières premières et des voies de synthèse, on distingue deux possibilités de production des matériaux biodégradables : la voie issue de l'industrie pétrochimique et celle issue de ressources renouvelables. Le tableau 1 donne un classement des différents matériaux biodégradables du marché actuel ⁽¹⁰⁷⁾:

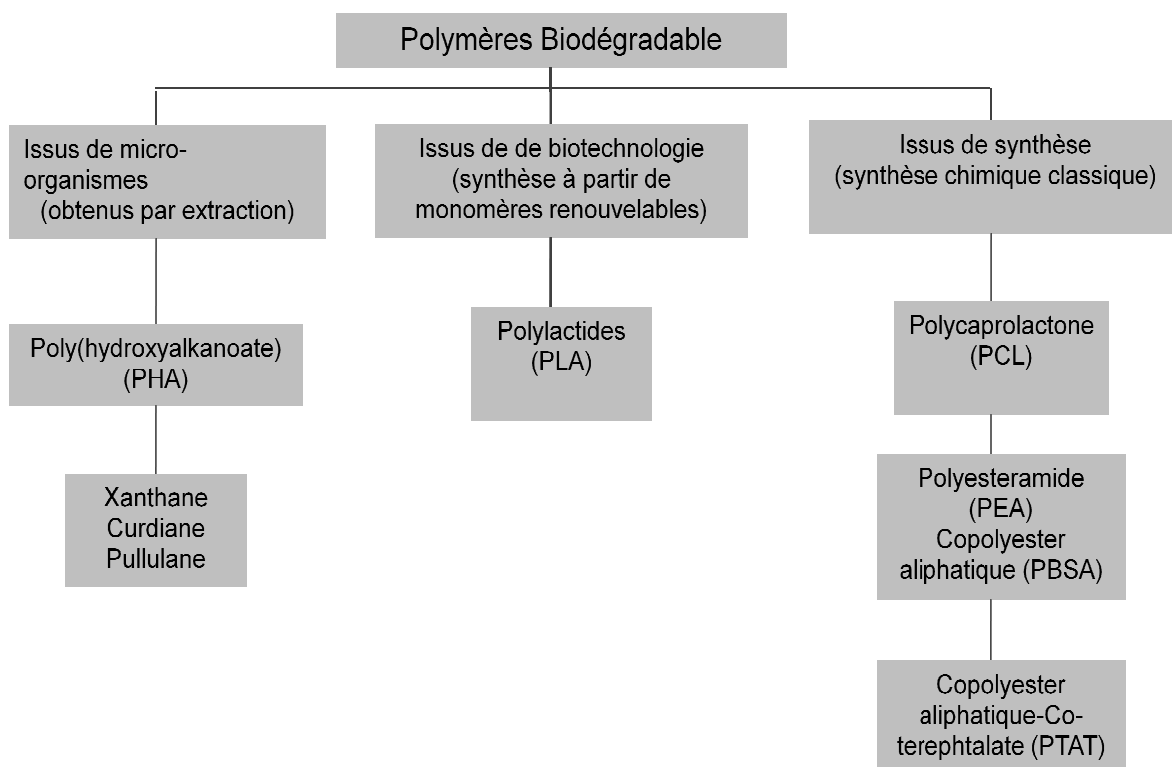


Figure 23. Classification des polymères biodégradables.

V.3. Influence de la nature des polymères sur la dégradation et la biodégradation

Etant donné que les structures moléculaires doivent d'abord se dégrader puis être métabolisées après avoir traversé la membrane cellulaire des micro-organismes, les propriétés intrinsèques du matériau influencent fortement sa biodégradabilité ^(109,110).

V.3.3. Effet de la composition chimique

Les polymères naturels, comme les protéines, la cellulose, l'amidon, etc., sont généralement dégradés dans les systèmes biologiques par hydrolyse puis oxydation ⁽¹¹¹⁾.

Le rapport sites hydrophobes/sites hydrophiles des polymères synthétiques affecte fortement leur biodégradabilité ⁽¹¹²⁾. Les enzymes sont peu ou pas actives dans les parties hydrophobes des polymères.

De même le développement de biofilm et l'absorption des micro-organismes à la surface du polymère seront favorisés par les matrices hydrophiles ⁽¹⁰⁸⁾.

V.3.3. Effet de la morphologie

Une des principales différences entre protéines et polymères synthétiques concerne leurs unités constitutives. En effet, contrairement aux polymères, les protéines ne possèdent pas d'unités se répétant régulièrement le long des chaînes polypeptidiques. Cette irrégularité rend les chaînes macromoléculaires protéiques moins cristallisables et fortes probablement biodégradables. Au contraire, les polymères synthétiques sont formés généralement d'unités de répétition courtes d'où une régularité favorisant la cristallisation et rendant les groupes hydrolysables moins accessibles aux enzymes ^(111, 112).

V.3. 3. Effet des radiations et des traitements chimiques

Une photolyse sous UV et l'irradiation par rayonnement γ d'un polymère génèrent la formation de radicaux et/ou d'ions qui conduisent souvent à la rupture des chaînes ⁽¹¹³⁾. Une oxydation se produit car l'exposition à la lumière est rarement effectuée en absence de dioxygène. Généralement, ces modifications au sein du polymère le rendent susceptible à la dégradation. La formation de groupements carbonyle et ester est responsable de la dégradation ⁽¹⁰⁸⁾.

I.2.3. Effet de la masse molaire

Les micro-organismes peuvent produire deux types d'enzymes : des exo et des endo-enzymes. Les exo-enzymes hydrolysent spécifiquement les liaisons ester situées en bout de chaîne, libérant ainsi des monomères ; la masse molaire moyenne du polymère varie lentement avec une perte de masse globale. Les endo-enzymes provoquent la rupture statistique des liaisons ester de la chaîne carbonée du polyester libérant ainsi des polymères de masse molaire plus faible ; cela se traduit par une diminution significative de la masse molaire moyenne du polymère résiduel. La dégradation du polymère par des exo-enzymes est plus affectée par la masse molaire que celle engendrée par des endo-enzymes. Les polymères restent relativement peu sensibles aux attaques microbiennes lorsque leur masse molaire est élevée ⁽¹¹⁰⁾.

V.4. Méthodes de biodégradation ⁽¹¹⁴⁾

V.3. 1. Méthodes Microbiologiques

Ce sont des méthodes qui se basent sur le développement microbien pour déterminer la capacité des microorganismes (Bactéries ou Champignons) à dégrader un polymère particulier. Pour se faire, la croissance de ces microorganismes est mise en évidence en utilisant le polymère comme source de carbone. Ces méthodes sont dites qualitatives.

Des travaux ont cependant montré l'influence de grandes classes de micro-organismes sur la biodégradation de quelques polymères biodégradables. Par l'utilisation de deux inoculums différents, l'un riche en champignons et actinomycètes et l'autre pas, on peut montrer le rôle prépondérant que jouent ces deux grandes classes de micro-organismes (les thermophiles en particulier) dans la biodégradation du poly(ϵ -caprolactone) en milieu compost ⁽¹¹⁵⁾.

Constatation similaire pour Nishide et coll., 1999, lors d'un test de dégradation par enfouissement, qui ont ajouté un fongicide dans le milieu et stoppé ainsi toute activité de dégradation du poly(ϵ -caprolactone) mais également du PHB/HV (Le poly(3-hydroxybutyrate)/ hydroxyvalérate). Au contraire, l'ajout d'un bactéricide (streptomycine) n'a pas affecté significativement le déroulement de la biodégradation.

Les bactéries capables de dégrader les molécules de type polyester aliphatique sont principalement présentes dans le sol et l'eau. Les actinomycètes sont actifs dans la biodégradation des polyesters aliphatiques et aromatiques ⁽¹¹⁶⁾.

V.3. 2. Méthode des zones claires

C'est une méthode utilisée pour les tests réalisés sur un milieu gélosé. Le polymère constitue la seule source de carbone dans le milieu de culture et il peut être déposé à la surface sous forme de film ⁽¹¹⁷⁾ ou ajouté à la gélose ⁽¹¹⁸⁾ sous forme de poudre, ce qui rend dans ce cas la gélose opaque. Après inoculation et incubation, le développement d'une souche microbienne capable de dépolymériser le polymère créera l'apparition d'une zone claire dans la gélose ⁽¹⁰⁸⁾ avec le surnageant d'une boue active ou d'un sol, la croissance des souches ayant le pouvoir de dégrader le polymère provoquera l'apparition de zones claires. En utilisant cette méthode, Jarerat et al. ⁽¹¹⁹⁾ ont isolé *Saccharothrix waywayandensis* qui a eu la capacité de dégrader jusqu'à 95% du PLA après 7 jours d'incubation dans un milieu liquide.

En 2001, Tokiwa et ses collaborateurs ⁽¹¹⁵⁾ ont testé la capacité d'échantillons microbiens issus de sol d'eau ou de compost à dégrader quatre polyesters couramment considérés comme biodégradables (PCL, PHBV, PLA et Poly(buthylène succinate) par la méthode dite de la « zone claire » en boîte de Pétri. Ils ont pu observer que le nombre de micro-organismes capables de dégrader chaque polymère est inversement proportionnel à la température de fusion du polymère. En effet, pour le PCL et le PHBV dont les températures de fusion sont respectivement de 60°C et 113°C les souches microbiennes pouvant les dégrader sont très largement répandues, alors qu'elles sont beaucoup moins nombreuses pour le PBS ou le PLA dont les températures de fusion sont de 175°C et 180°C. Ces observations sont valables que le test de la zone claire soit effectué à 30°C ou à 50°C.

V.3. 3. Méthode d'envahissement

L'envahissement des polymères par les microorganismes permet de mettre en évidence la sensibilité des matériaux étudiés à l'attaque microbienne. Le film plastique est déposé à la surface d'un milieu gélosé après étalement de la suspension microbienne (concentration de 10^7 microorganismes/ml de milieu ⁽¹²⁰⁾). La souche

appartenant au genre *Amycolatopsis* est capable de dégrader 50% d'un film de PLA après 8 semaines d'incubation à 30°C ⁽¹¹⁾.

L'estimation de la biodégradabilité basée sur la méthode d'envahissement est fondée sur l'observation directe du matériau envahie par les microorganismes.

Que ce soient les zones claires ou l'envahissement, ces méthodes sont seulement d'ordre qualitatif mais facile à mettre en œuvre. Elles constituent un test rapide qui permet l'orientation des formulations polymériques vers du biodégradable et la sélection des souches biodégradant les matériaux.

V.3.4. Méthode respirométrique

Les mesures respirométriques permettent de quantifier, en condition aérobie, la dégradation du matériau plastique jusqu'à sa disparition complète du milieu, grâce à son assimilation par des microorganismes.

V.3.4.1. Mesure de la consommation d'oxygène

Les microorganismes aérobies consomment de l'oxygène pour oxyder le carbone du polymère sous forme de dioxyde de carbone. La mesure de la quantité d'oxygène consommée permet d'évaluer le pourcentage de minéralisation. Cette quantité peut être mesurée par une électrode à oxygène en l'introduisant dans le milieu de culture ⁽¹¹⁵⁾ ou par un respiromètre ⁽¹¹⁴⁾. Dans le premier cas, le pourcentage de minéralisation (DTM) est calculé en utilisant la formule [1].

$$DTM = \frac{\text{Net BOD}}{\text{Total ThOD}} \times 100 \quad [1]$$

BOD : La différence entre quantité d'oxygène consommé dans le flacon contenant le matériau et le blanc.

Total ThOD : La demande d'oxygène théorique

V.3.4.2. Mesure de la production de dioxyde de carbone

La mesure de la quantité de dioxyde de carbone produit pendant la respiration des microorganismes en utilisant le matériau comme seule source de carbone est la technique la plus utilisée pour les tests de respirométrie. Le dioxyde de carbone issu de la biodégradation du polymère est utilisé pour le calcul du pourcentage de la minéralisation. Lors de cette méthode, l'inoculum microbien utilisé produit naturellement du dioxyde de carbone pendant la respiration endogène, cette valeur

doit être retranchée en utilisant un témoin sans polymère. De nombreux dispositifs pilotes ont été développés pour la mise en place de ce test de biodégradation ⁽¹¹⁴⁾.

V.3. 4.3. Mesure de CO₂ par piégeage chimique

C'est le moyen le plus simple de capter le CO₂ libéré pendant la minéralisation durant la biodégradation d'un polymère. Le CO₂ est piégé dans une solution alcaline de soude ⁽¹²⁶⁾ ou d'hydroxyde de baryum ⁽¹²⁷⁾ en large excès de concentration connue. Le dosage acido-basique de la solution permet de quantifier la soude ou l'hydroxyde de baryum n'ayant pas réagi avec l'acide. Par conséquent, la quantité totale de CO₂ dégagée déduite permet de calculer le pourcentage de minéralisation.

V.3. 4.4. Des changements de morphologie et de poids du polymère

La mesure de la biodégradabilité par perte de poids consiste à peser la masse de l'échantillon avant et après son incubation. Pour avoir des résultats satisfaisants, il est nécessaire de soumettre le polymère à un nettoyage parfait pour ne pas fausser la mesure de la masse. Le polymère est susceptible d'absorber de l'eau, il est donc nécessaire de le sécher avant la pesée ⁽¹²⁸⁾. Il est important de noter que cette mesure reste valable tant que l'intégrité du matériau est conservée.

Une comparaison de la structure de surface d'un film plastique avant et après le test donne une information sur la dégradation de la morphologie liée à l'action des microorganismes. Le microscope électronique à balayage permet de confirmer le développement des colonies microbiennes provoquant ainsi une dégradation importante au niveau de la surface ⁽¹²⁹⁾.

V.3.5. Méthode enzymatique

C'est une méthode qui permet de donner des informations sur la susceptibilité du substrat à l'attaque enzymatique. Elle est basée sur l'utilisation directe d'enzymes pures ou d'un surnageant issue d'une culture microbienne ayant démontré la capacité de dégrader le polymère.

La sélection des souches est effectuée par la méthode des zones claires. Une fois que l'isolement de la colonie formant la zone la plus grande est identifié, l'hydrolyse enzymatique du polymère peut être réalisée seulement en utilisant le surnageant de la culture microbienne ⁽¹³⁰⁾ ou l'application de l'enzyme après sa purification.

Pour la méthode enzymatique, l'évaluation de la biodégradabilité se base sur le dosage des produits d'hydrolyse par chromatographie à haute performance (HPLC),

chromatographie à phase gazeuse (CPG) ou l'identification de la structure des différents composés solubles par RMN.

En ce qui concerne les polymères à base d'amidon ou de cellulose, le pourcentage de biodégradabilité est évalué par dosage des sucres réducteurs ⁽¹³¹⁾ après une hydrolyse enzymatique. La méthode de DNS (Dinitrosalicylique) est la plus utilisée pour doser les oses réducteurs présents dans le milieu ⁽¹³²⁾. Mais cette méthode ne permet pas d'identifier la nature de ces oses, pour cela une HPLC couplée à un réfractomètre est généralement utilisée. La quantité des sucres réducteurs révélés en utilisant le DNS passe de 0% à 16% après 100 jours, grâce à une hydrolyse enzymatique d'un polymère à base d'amidon de maïs avec une α amylase ⁽¹³³⁾. Après 48 jours de réaction enzymatique, le pourcentage d'hydrolyse du TPS (amidon thermoplastique) avec l'amylase et l'amyloglucosidase atteint 58% ⁽¹³⁴⁾.

% de biodégradabilité

$$= \frac{\text{Nombre de moles d'équivalent glucose produit}}{\text{Nombre de moles d'équivalent glucose théorique}} \times 100$$

- La dégradation enzymatique a été élaborée au sein du laboratoire LCOPM avec des souches différentes afin de tester l'effet du type de ses bactéries pouvant dégrader nos polymères ⁽¹³⁵⁾ ; on a pris cinq souches différentes isolées à partir du sol.

La biodégradation a été menée dans deux milieux différents le milieu liquide et le milieu solide.

V.3.5.1. Milieu solide

La méthode utilisée pour le milieu solide et celle citée en littérature (le test sur milieu gélosé). Cet examen consiste à tester le polymère en boîte de Pétri sur milieu gélosé, le polymère employé peut se présenter sous la forme d'un film ou d'une éprouvette d'épaisseur réduite, ou encore sous forme de poudre intégrée ou non à la gélose. Dans le cas d'un film, l'estimation des attaques microbiennes se fera visuellement par estimation du développement microbien au microscope sur et à proximité du film. Il est également possible et recommandé de pousser l'investigation par l'analyse des propriétés physico-chimiques et mécaniques du film afin d'appuyer les conclusions avec des valeurs. De ce fait on évaluera le taux de biodégradation par perte de masses viscosimétriques qui à notre connaissance ce

procédé n'a pas été étudié auparavant. Ces résultats doivent cependant être interprétés avec prudence car les conditions d'incubation, notamment la température est susceptible d'être responsable d'une modification des propriétés intrinsèques du matériau. Pour une poudre, l'utilisation de la méthode de la zone claire, permet de mettre en évidence facilement un développement microbien. Dans ce cas, la méthode de conditionnement du polymère dans la gélose est également à prendre en considération. Par exemple, si la poudre est intégrée à la gélose avant la stérilisation des boîtes, cette étape peut provoquer des ruptures de chaînes qui vont libérer des substrats disponibles pour les micro-organismes, alors que ceux-ci pourraient être capables de se développer au dépends du polymère s'il n'avait pas subi une première altération. ⁽¹⁰⁴⁾

Ces tests en boîte de Pétri permettent notamment de rechercher les souches microbiennes capables de dégrader un polymère particulier et donc par la suite de comprendre les mécanismes de biodégradation mis en jeu.

V.3.5.2. Milieu liquide

Le milieu utilisé est un milieu synthétique ou juste la biodégradation du PEA a été testée par cette méthode où elle portera une information très importante sur la biodégradation de ce polymère. Cette méthode est utilisée en parallèle avec le milieu solide afin de confirmer la biodégradation.

Dans les deux milieux le résultat sera que visuel, le changement du milieu au fur et à mesure sera un indicateur du début de la biodégradation est la mesure de l'absorbance confirmera l'évolution de ce phénomène ⁽¹⁰⁴⁾.

Chapitre III

Activité antimicrobienne des polymères

Introduction

L'organisme humain, constamment exposé à une multitude de microbes, bactéries, virus, parasites, champignons), possède un système complexe de défense qui lui permet d'acquérir ou d'héberger des microbes sans leur permettre d'envahir ses tissus ^(136,137). Cependant, dans certaines conditions, l'infection peut entraîner une maladie infectieuse grave ⁽¹³⁸⁾.

Les maladies infectieuses causées par les bactéries et les champignons affectent des millions de personnes dans le monde entier, et causent de lourdes pertes au niveau économique. Aux Etats Unis seuls, ces pertes sont d'environ 20 billions de dollars par an. De nombreux programmes ont été conduits pour découvrir et développer de nombreux agents antibactériens ⁽¹³⁹⁾.

La contamination des eaux par des microorganismes est un problème important. L'utilisation de polymères comme agents antimicrobiens et/ou antiadhésifs a été largement explorée. En effet, les antimicrobiens de faible masse molaire peuvent être toxiques pour l'être humain et pour l'environnement.

I. La diversité du monde bactérienne

I.1. Définition

Les micro-organismes sont des êtres vivants microscopiques, invisibles à l'œil nu : ils doivent être observés au microscope. Ils peuvent être classés en cinq grandes familles de tailles et structures cellulaires différentes : les virus, les bactéries, les mycètes (plus communément appelées champignons), les protozoaires et certaines algues (tableau 8). ⁽¹⁴⁰⁾

Tableau 08. Principales différences entre familles de micro-organismes. ⁽¹⁴⁰⁾

Micro-organisme	Taille approximative	Structure cellulaire
Virus	0,01- 0,25 nm	Acellulaire
Bactéries	0,1- 10 µm	Procaryote
Mycètes	1 µm- plusieurs centimètres	Eucaryote
Protozoaires	2-1000 µm	Eucaryote
Algues	1 µm- plusieurs mètres	Eucaryote

Bactérie. Ce mot dérive du grec baktêria, qui signifie bâton. Ce sont de microorganismes unicellulaires dépourvus de noyau, ils sont classés parmi les

procaryotes car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire, leur diamètre est inférieur à $1\mu\text{m}$.

I.2. L'anatomie des bactéries

Les bactéries sont des procaryotes à structure cellulaire très simples, sans noyau organisé ni de chloroplastes. Leur photosynthèse est anaérobie. L'énergie nécessaire à leur métabolisme est fournie par des réactions d'oxydo-réduction des substances organiques.

I.2.1. Morphologie, structure et ultra structure de la cellule bactérienne

➤ taille et forme

Forme : On classe les bactéries selon trois formes

- Sphérique ou ovale : regroupant des Cocci (ou coques),
- Allongée (en bâtonnet) : regroupant les bacilles
- Spirale : regroupant les spiridilles

Les coques

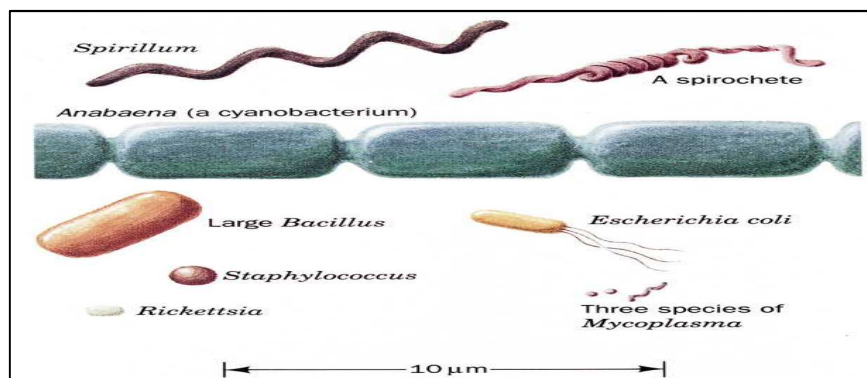
Elles sont presque sphériques, soit individuelles, soit par paire (diplocoques), soit en chaîne quand les cellules restent attachées après plusieurs divisions cellulaires (*streptococcus*, *enterococcus*, *lactococcus*).

Les bacilles

- Coccobacilles : courts et larges, la forme des extrémités varie selon les espèces peuvent être plates, arrondies ou bifurquées. Sont souvent solitaires mais peuvent former des chaînes après plusieurs divisions cellulaires.
- Vibrions : bâtonnets incurvés comme des virgules.

Les spiridilles

Beaucoup de bactéries ont une forme de long bâtonnet tordue en spirale ou hélice : *spirile* (formes rigides) ou *spirochète* (formes flexibles).



II.2.2. Structure d'une bactérie

I.2.2. 1. Les structures externes

La paroi cellulaire : est une enveloppe rigide plus ou moins épaisse présente chez toutes les bactéries. Elle constitue le squelette externe et est responsable de la forme de celle-ci. La bactérie étant très riche en solutés, sa pression osmotique interne est très élevée. La paroi évite donc l'éclatement de la cellule.

La capsule : est une substance visqueuse, plus ou moins épaisse qui entoure la paroi. Elle permet à la bactérie d'adhérer plus facilement aux autres êtres vivants tout en la protégeant de la phagocytose.

Les flagelles: sont des filaments longs et très fins servant au déplacement de plusieurs sortes de bactéries. Le nombre et la position des flagelles constituent un critère de classification des bactéries à flagelles

Les pili: sont des filaments relativement courts possédés par beaucoup de types de bactéries. Il y a les pili communs, rigides et servant de moyen de fixation à différentes surfaces, d'où la bactérie peut tirer sa nourriture. Les pili sexuels servent au transfert de matériel génétique entre bactéries au cours d'un processus appelé conjugaison. ⁽¹⁴⁰⁾

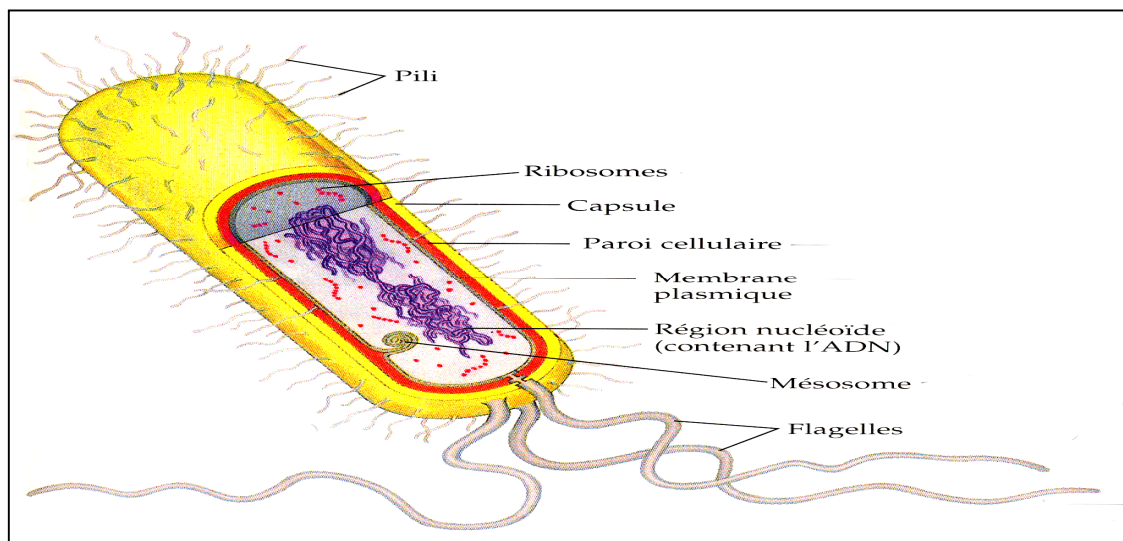


Figure 25. Structure externe des bactéries

I.2.2. 2. Les structures internes

L'appareil nucléaire (matériel nucléaire): a la forme d'une ou de quelques régions claires dans le cytoplasme. Il représente le matériel génétique de la bactérie qui est formé d'un seul chromosome en forme d'anneau.

Le mésosome : est une structure cytoplasmique dense qui constitue un prolongement de la membrane cytoplasmique. Il participe à la séparation du matériel nucléaire au cours de la division cellulaire. De plus il intervient dans la formation de la paroi transversale qui sépare les cellules filles après la division cellulaire.

Les ribosomes : sont de très fines granulations servant à la synthèse des protéines bactériennes.

Les endospores : sont des structures formées par les bactéries quand les conditions leur sont défavorables. Ces structures à paroi épaisse et résistante renferment du matériel génétique ainsi qu'un peu de cytoplasme. Elles sont très résistantes aux températures extrêmes, à la déshydratation, à différentes substances chimiques, aux radiations et les différents antibiotiques et antiseptiques (mais non au formol).

La membrane plasmique : semi-perméable contrôle l'entrée et la sortie de différentes substances. Le passage des substances à travers la membrane s'effectue par diffusion, osmose et transport actif.

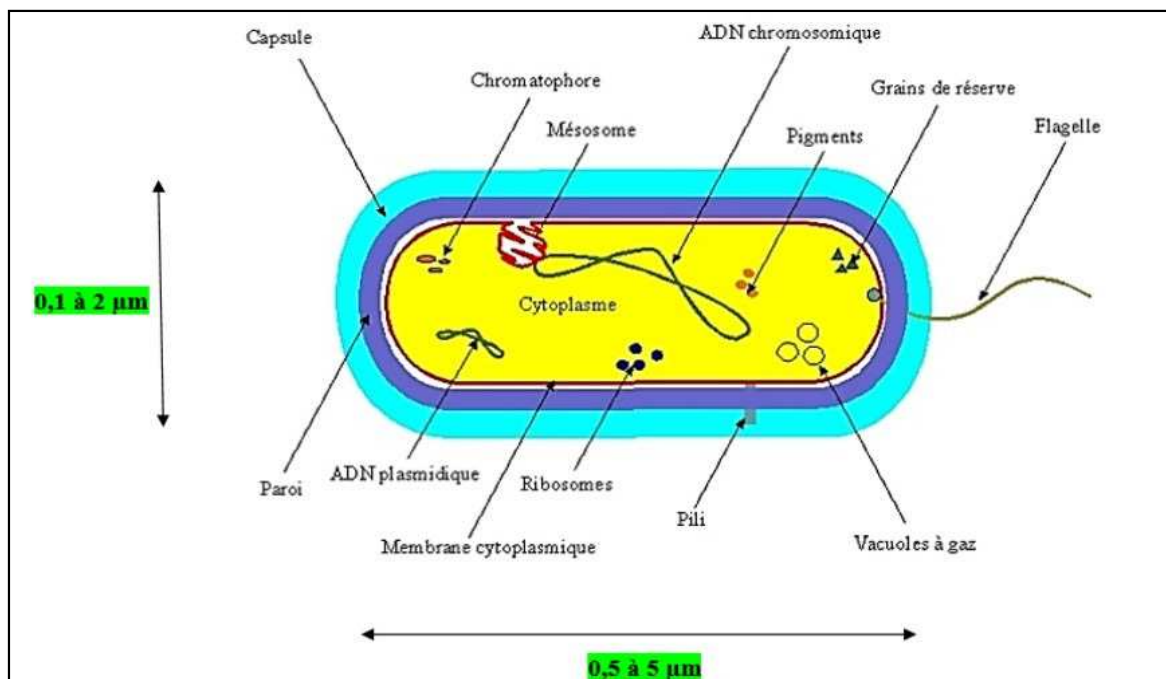


Figure 26. Structure interne des bactéries

Pour différencier entre les bactéries au microscope optique, une méthode importante et largement utilisée en bactériologie, c'est "la coloration de Gram». Elle consiste à traiter des bactéries fixées à la chaleur, par un colorant basique (violet de gentiane) puis une solution iodo-iodurée (mordançage), toutes les cellules se colorent en

violet. Soumises ensuite à l'action de l'alcool éthylique elles se répartissent en : cellules qui conservent la coloration violette dites à gram positif et qui sont décolorées, appelées à gram négatif. Pour mieux distinguer ces deux catégories, le frottis bactérien est finalement traité par de la fuchsine basique, les bactéries à gram négatif sont roses et celles à gram positif restent violettes ⁽¹⁴¹⁾.

Après leur réaction avec les différents colorants utilisés par cette méthode, les bactéries se divisent en deux groupes majeurs : bactéries à gram positif (colorées en violet), bactéries à gram négatif (colorées en rose). Cette distinction de réponse à la coloration de gram est due à la différence qui existe dans la composition des parois bactériennes, celles des bactéries à gram négatif laissent passer la solution alcoolique, tandis que celles des bactéries à gram positif représentent une véritable barrière que la solution alcoolique ne peut franchir (Fig. 27) ^(141,142).

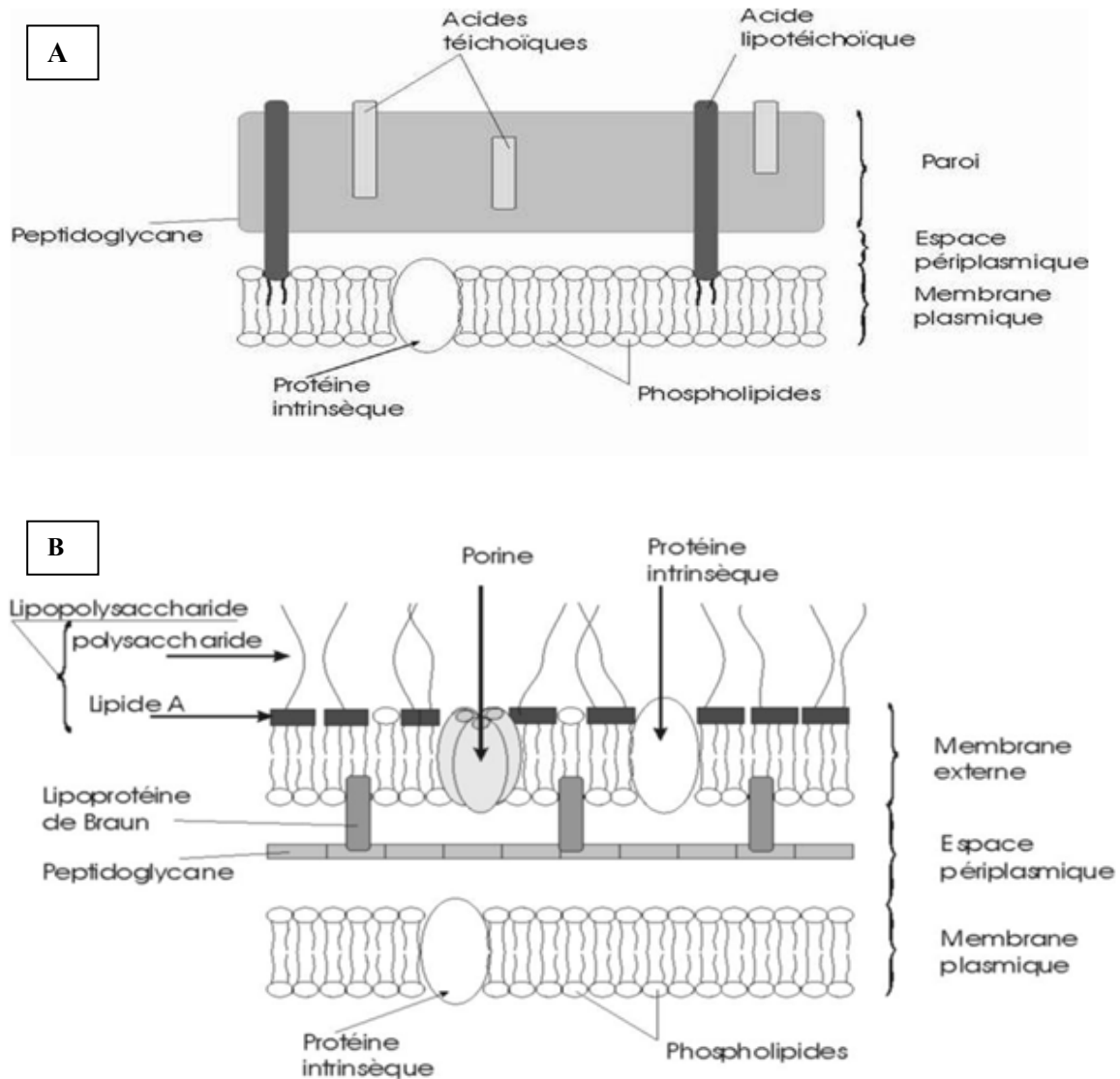


Figure 27. Paroi d'une A) Gram positif et B) Gram négatif.

a. Bactéries à gram négatif

Le genre *Escherichia* fait partie de la famille des entérobactéries et comprend cinq espèces dont une seule, l'*Escherichia coli*, est utilisée à titre d'indicateur de la qualité des eaux. La presque totalité des souches de *l'Escherichia coli* ne sont pas pathogènes puisque cette bactérie est un hôte normal de l'intestin des mammifères ⁽¹³⁵⁾. *L'Escherichia Coli* est le seul qui soit sans équivoque toujours d'origine fécale et, à ce titre, il est de plus en plus considéré comme l'organisme indicateur spécifique d'une pollution fécale.

Pseudomonas aeruginosa, connu sous le nom de bacille pyocyanique, bacille du pus bleu, est une bactérie gram-négative du genre *Pseudomonas*. Les bacilles sont fins, droits et très mobiles grâce à un flagelle polaire : ciliature monotriche, dépourvus de spores et de capsules. Ils apparaissent la plupart du temps isolés ou en diplobacilles. Elle peut, dans certaines conditions, être pathogène. Très résistante, elle est avec d'autres bactéries à gram-négatif de plus en plus souvent responsable d'infections nosocomiales. C'est l'une des bactéries les plus difficiles à traiter cliniquement. Le taux de mortalité atteint 50 % chez les patients vulnérables (immunodéprimés) ⁽¹⁴³⁾.

b. Bactéries à gram positifs

Staphylococcus aureus ce sont des bactéries sphériques, qui se divisent sur plusieurs plans pour former des amas réguliers ou irréguliers en grappe de raisin, d'où leur nom (en grec staphylos), ils sont immobiles et se cultivent sur des milieux contenant 5% de NaCl et pour certains jusqu'à 10 voir 15%. Ils sont aérobies ou anaérobies facultatifs.

Le staphylococcus est responsable d'intoxications alimentaires, d'infections localisées suppurées et, dans certains cas extrêmes, de septicémies physiques (greffe, prothèses cardiaques). *S. aureus* se présente comme une coque en amas (grappes de raisin), Gram positif et catalase positif. Sa teneur en caroténoïdes lui confère une couleur dorée à l'origine de son nom ⁽¹⁴⁴⁾.

I. 3. La physiologie bactérienne**I. 3. 1. La nutrition bactérienne**

C'est à partir de substances organiques simples (acides aminés, glucides, acides gras, vitamines, hydrocarbures, etc.) et de certaines substances inorganiques

(phosphates, soufre, nitrates, etc.) que les bactéries se nourrissent. Plusieurs types de bactéries sécrètent des enzymes digestives qui leur permettent d'absorber certains constituants alimentaires plus ou moins complexes.

I. 3. 2. La croissance bactérienne

La croissance bactérienne correspond à l'accroissement du nombre de bactéries et non à l'augmentation de la taille d'une bactérie. On mesure l'accroissement d'une population bactérienne à partir du calcul du temps de génération, correspondant au temps nécessaire au doublement d'une population ou au temps de vie moyen d'une génération de bactéries.

La croissance des bactéries est influencée par différentes conditions physico-chimiques du milieu. Les facteurs qui influencent le plus cette croissance sont l'humidité, la température, l'oxygène et le pH.

I. 3. 3. La courbe de croissance

Les micro-organismes sont cultivés en milieu liquide dans un système fermé. La quantité d'éléments nutritifs baisse et la concentration des déchets augmente.

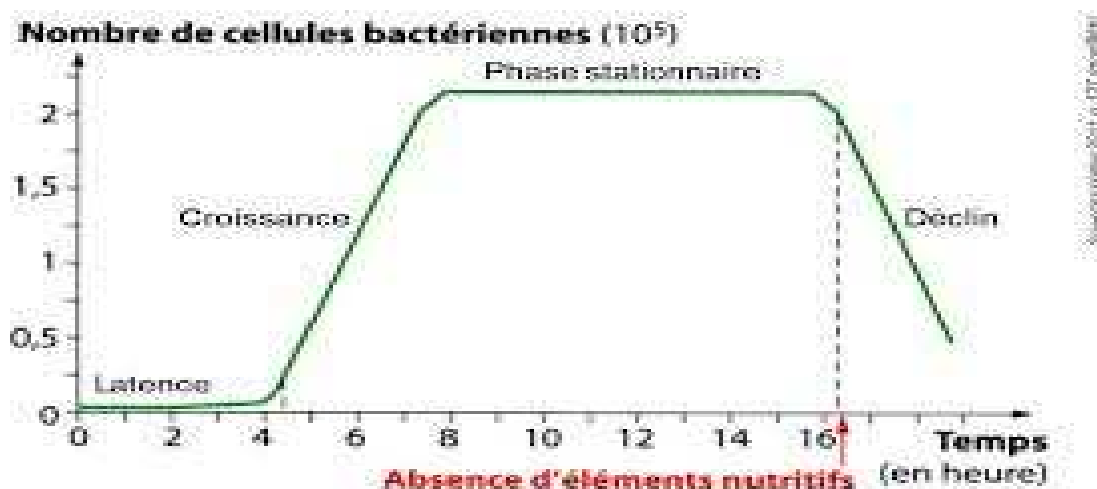


Figure 28. La courbe de croissance bactérienne

La croissance d'une bactérie s'étudie en milieu liquide. Il existe 4 phases dont l'ensemble constitue la courbe de croissance.

- Latence : pas de développement, pas d'augmentation de masse mais de nouveaux constituants cellulaires sont synthétisés (ATP, cofacteurs, ribosomes, enzyme)

Sa durée varie en fonction de l'âge de la culture, la composition du milieu.

- Exponentielle : les micro-organismes se divisent et se développent à une vitesse maximum et à intervalle de temps régulier. Il y a doublement de la population bactérienne.
- Stationnaire : la multiplication s'arrête, le nombre de micro organismes viables reste constant : soit il résulte d'un équilibre entre le nombre de division et le nombre de mort cellulaire, soit la pop cesse de se développer et reste métaboliquement active. L'entrée en phase stationnaire peut être due à la réduction de la disponibilité en O₂ pour les microorganismes aérobies, d'accumulation de déchets toxiques, limitation des éléments nutritifs.
- Déclin : baisse du nombre de cellules viables due à un changement nuisible de l'environnement (carence en nutriment, accumulation de déchets toxiques...)

La phase de multiplication correspond à l'intervalle de temps permettant un doublement de la population bactérienne dite phase exponentielle. Elle varie en fonction de l'espèce bactérienne et des conditions de l'environnement (1 mn à plusieurs jours).

I.4. Survie des bactéries dans l'eau

Dans l'environnement, les bactéries sont essentiellement fixées sur des supports en constituant des colonies microscopiques. Certaines bactéries n'existent que fixées à des supports, mais la plupart sont capables d'une vie libre dans un environnement liquide ⁽¹⁴⁵⁾ tel que l'eau.

Les eaux de surface véhiculent de nombreux microorganismes comme les bactéries on compte entre 5 à 20 millions de bactéries par millilitre d'eau, une grande partie d'entre eux sont naturellement présents dans le milieu aquatique où elles se multiplient, parmi ces bactéries on compte celles qui sont d'origine fécale⁽¹⁴⁶⁾ et puisque les écosystèmes aquatiques s'enrichissent de matières organiques et minérales lors de son cycle ainsi que d'oxygène, cela va stimuler la croissance et la prolifération des bactéries ⁽¹⁴⁷⁾.

Cette présence peut être fatale, elle endommage le corps humain en provoquant des infections suite à l'action des toxines qu'elle produise.

Les bactéries trouvées dans l'eau ont pour origine un contact avec l'air, le sol et les excréments des animaux⁽¹⁴⁸⁾.

L'eau peut être aussi un milieu hostile pour la survie des microorganismes pathogènes, qui varie selon la nature de la bactérie, les conditions de croissance et des conditions physiques (température, radiations,...) ou chimiques (PH, antibiotiques...) ⁽¹⁴⁹⁾.

II. Rétention polymère -bactérie

II.1. L'adhésion

L'adhésion est un phénomène d'une portée générale qui régit l'évolution des micro-organismes et leur interaction dans tous les milieux où ils se trouvent, c'est-à-dire dans la totalité de la biosphère. L'élucidation des mécanismes au niveau moléculaire de l'adhérence bactérienne sur les surfaces pleines n'a pas été entièrement accomplie ⁽¹⁵⁰⁾.

Dans les milieux naturels comme l'eau, les populations de bactéries « libres » ne constituent qu'une fraction infime de la population totale; la plupart des micro-organismes, qu'il s'agisse des bactéries, des algues, des champignons, ou des protozoaires, sont en effet fixés sur des supports organiques (phytoplancton ou zooplancton, végétaux...), ou inorganiques (argiles, oxydes métalliques...).

Le phénomène d'adhésion met en jeu des facteurs non spécifiques de différents types (liaisons ionique, dipolaire, hydrophobe, liaisons hydrogène) entre les macromolécules qui se trouvent à la surface des micro-organismes et celles du support ^(143,144) et d'autres facteurs spécifiques d'ordre stéréochimique font intervenir des groupements chimiques complémentaires interactifs.

II.2. Mécanismes d'adhérence des micro-organismes.

II.2. 1. Caractères macroscopiques de la surface

Ils sont au nombre de trois : énergie de surface, potentiel zêta (ζ) et hydrophobie.

II.2. 1.1. Énergie de surface

La tension critique de surface (ou énergie libre inter-faciale de surface) fournit la force motrice nécessaire à l'adhérence initiale des bactéries aux surfaces solides; elle dépend des angles de contact entre substrat et bactérie *in vitro*, l'adsorption ne se produit que si la tension de surface du substrat est moyenne (une surface trop hydrophile ou trop hydrophobe inhibe l'adhérence).

II.2. 1.2. Potentiel zêta

Ce potentiel a une valeur maximale à la surface de la particule et décroît avec la distance à partir de la surface. Cette décroissance est affectée par les caractéristiques de la couche diffuse, ainsi que par le nombre et le type d'ions dans la solution chargée. A une force ionique élevée, le potentiel électrique décroît vers zéro dans une courte distance ⁽¹⁵³⁾.

Il est déterminé par la nature et le nombre de groupements ionisants en surface des bactéries et dépend du pH et de la forme ionique du milieu. Une charge négative faible favorise l'adhérence.

II.2. 1.3. Hydrophobie des micro-organismes

Elle conditionne leur attirance pour les surfaces minérales, par répulsion de la phase aqueuse. Les liaisons ioniques, bipolaires ou hydrogène, sont stabilisables par des liaisons hydrophobes : la capacité de pontage (entre bactéries et une surfaces) relève de ce phénomène. L'acide lipoteïcoïque (ALT) peut lui aussi conférer cette hydrophobie à la surface des bactéries : les streptocoques hydrophobes (comme *S. mutants*) adhèrent mieux (in vitro) à l'hydroxyapatite que les souches moins hydrophobes.

II.3. Facteurs influents l'adhésion bactérienne.

Tout comme pour l'adsorption de molécules organiques, de nombreux facteurs peuvent influencer l'adhésion bactérienne par modification des caractéristiques du microorganisme ou de la surface solide. Les différents facteurs qui peuvent modifier l'adhésion bactérienne sont comme suit ;

II.3.1. Les facteurs liés au micro-organisme.

Chaque famille de micro-organisme possède des propriétés physico-chimiques qui lui sont propres. Toute modification des caractéristiques énergétiques de surface des microorganismes peut entraîner une augmentation ou une diminution de l'adhésion bactérienne ⁽¹⁵⁴⁾. Grivet et al ont par exemple mis en évidence que l'adhésion de quatre souches de *Streptococcus* dépend de leurs caractéristiques énergétiques, la souche la plus hydrophile présentant les plus faibles taux d'adhésion.

II.3.2. Facteurs liés à la surface solide.

Pour étudier l'adhésion bactérienne sur les matériaux, il est important de prendre en compte le type de matériau, l'hydrophobicité, la rugosité de surface, les procédures de nettoyage⁽¹⁵⁵⁾ et la présence ou non d'un film organique.

La composition chimique de la surface solide étudiée (chrome, fer, nickel, Cuivre, verre, PTFE...), les différents types de matériaux présentant des caractéristiques physico-chimiques dissemblables, peut conduire à d'importantes différences d'adhésion bactérienne⁽¹⁵⁶⁾.

III. Les polymères à activité antimicrobienne

III.1. définition des agents antibactérienne

Il est essentiel de détruire les micro-organismes ou inhiber leur développement de manière à minimiser leurs effets indésirables tels que la détérioration de la nourriture et les maladies.

Stérilisation : procédé par lequel on détruit ou élimine toutes les cellules vivantes : spores et virus.

Désinfection: destruction, inhibition ou élimination des microorganismes pathogènes.

Décontamination : réduction de la population microbienne à des niveaux considérés sans danger par les normes de santé publique.

L'efficacité d'un agent antimicrobien est conditionnée par 6 facteurs :

- La taille de la population
- composition de la population (cellules, endospores ...)
- concentration ou intensité de l'agent antimicrobien
- durée d'exposition
- Température
- Environnement local (pH, nourriture)

III.2. effet antibactériens des poly(ester-amide)s

Actuellement, il existe un grand nombre de polymères synthétiques présentant des propriétés assez variées pour des applications médicales. Les polymères synthétiques offrent un grand nombre de possibilités, bien spécifiques pour chacune des applications requises, concernant : rigidité, souplesse, dureté, mollesse, stabilité à court-terme ; long-terme, Toutefois, il réside toujours un problème général lié à l'interaction entre le polymère et les cellules du milieu qui entrent en contact avec sa surface. Cette approche vise à contrôler les interactions entre les cellules et le support polymère.⁽¹⁵⁷⁾

Les polymères antimicrobiens agissent sur des surfaces des cellules microbiennes, peuvent montrer leur activité antimicrobienne seulement à un contact avec les cellules microbiennes sans permutation dans les cellules.

Si un agent insoluble a une activité antimicrobienne, un tel agent sera un désinfectant plus approprié pour des liquides parce qu'il n'y a aucun problème de la toxicité résiduelle de l'agent. Si oui, de tels agents ne peuvent pas perdre leur activité d'insolubilisation. De ce point de vue, beaucoup de chercheurs ont déjà examinés quelques agents et ont trouvés des agents insolubles avec les activités antimicrobiennes. ⁽¹⁵⁸⁾

Ils ont également essayé de quaternisés des polymères pour obtenir des sels d'ammonium par des liaisons ioniques⁽¹⁵⁹⁾, ou covalentes⁽¹⁶⁰⁾. La longévité de leur activité était pauvre en raison de leur adsorption d'air dissous, et également l'adsorption de cellules par eux a causé leur apparente activité antimicrobienne et la perte de leur activité. Walters et al. Présument que les sels insolubles d'ammonium quaternaire ont eu l'activité microbicide, ils ont insolubilisés un sel d'ammonium quaternaire sur de divers matériaux.

III.3 Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne

III.3.1 Technique en milieu solide (la diffusion en disque) ⁽¹⁶¹⁾

La diffusion de l'agent antimicrobien dans le milieu de culture ensemencé résulte d'un gradient de l'antimicrobien. Quand la concentration de l'antimicrobien devient si diluée qu'il ne peut plus inhiber la croissance de la bactérie testée, la zone d'inhibition est démarquée. Le diamètre de cette zone d'inhibition autour du disque de l'antimicrobien est corrélée avec la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour la combinaison particulière bactérie/antimicrobien, la zone d'inhibition correspond inversement à la CMI de l'essai.

Généralement, plus la zone d'inhibition n'est importante, plus la concentration d'antimicrobien nécessaire pour inhiber la croissance bactérienne des organismes est faible. La mesure manuelle des zones d'inhibition peut prendre du temps. Les dispositifs automatisés avec zone de lecture sont disponibles et peuvent être intégrés avec le rapport de laboratoire et les systèmes de manipulation de données. Les disques devraient être distribués également de sorte que les zones d'inhibition autour des disques antimicrobiens dans l'essai de diffusion en disque ne se

chevauchant pas et qu'ainsi la zone d'inhibition puissent être déterminées. Généralement cela peut être effectué si les disques sont distants d'au moins 24 mm de centre à centre, bien que cela dépende de la concentration du disque et de la capacité de l'antimicrobien à diffuser dans la gélose (Fig.13) pas et qu'ainsi la zone d'inhibition puisse être déterminée. Généralement cela peut être effectué si les disques sont distants d'au moins 24 mm de centre à centre, bien que cela dépende de la concentration du disque et de la capacité de l'antimicrobien à diffuser dans la gélose (Fig.28).

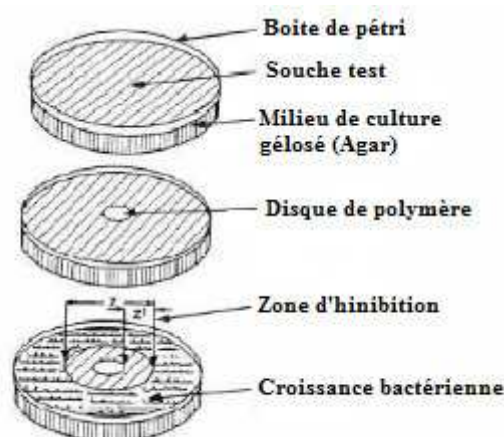


Figure 29. Méthode de la diffusion en disque.

III.3. 2. Technique en milieu liquide (méthode de dilution)

Le but des méthodes de dilution en bouillon et en gélose est de déterminer la concentration la plus faible de l'antimicrobien testé qui inhibe la croissance de la bactérie testée (la CMI, habituellement exprimée en mg/ml ou mg/L). Cependant, la CMI ne représente pas toujours une valeur absolue. La « véritable » CMI est un point entre la plus basse concentration qui empêche la croissance de la bactérie et la concentration inférieure immédiate. Concernant les huiles essentielles, les techniques de détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI sont décrites par plusieurs études ^(160,163).

III.3. 2.1 La dilution en bouillon

La dilution en bouillon est une technique dans laquelle une suspension bactérienne (à une concentration optimale ou appropriée prédéterminée) est testée contre des concentrations variables d'un agent antimicrobien dans un milieu liquide. La méthode de dilution en bouillon peut être effectuée dans des tubes contenant un

volume minimum de 2 ml (macro dilution) ou dans de plus petits volumes à l'aide de plaques de micro titration (micro dilution). L'utilisation de ces plaques avec un protocole documenté, y compris les précisions sur les micro-organismes de référence approprié, peut faciliter la comparaison des résultats entre analyses.

III.3. 2.2 La dilution en gélose

La dilution en gélose implique l'incorporation d'un agent antimicrobien dans un milieu gélosé à des concentrations variables, en général une dilution en série de 2 en 2, suivie de l'ensemencement d'un inoculum bactérien défini à la surface de la gélose de la boîte.

III.3. 2.3 Méthode bio-autographique

La méthode bio autographique consiste en l'isolement des constituants actifs à travers une cible après dilution rapide. Les chromatogrammes sont recouverts d'un milieu de culture incorporé de microorganismes. Après une incubation pendant 24 heures à 37 °C, un révélateur approprié permet d'observer l'activité ⁽¹⁶⁰⁾.

Chapitre IV

Partie expérimentale

Partie expérimentale

Ce chapitre décrit les méthodes de travail adoptée, les matériaux utilisés au cours de ces travaux de thèse, les procédés de synthèses des polymères ainsi que les techniques expérimentales d'évaluation, l'étude de la biodégradation bactérienne et fongique et les testes de l'activité antibactérienne. Une partie de certains protocoles est complétée en annexe.

1. Analyse de l'eau

L'étude expérimentale consiste à effectuer des analyses physicochimiques et microbiologiques de l'eau de la consommation de Sidi Bel Abbès. Les analyses ont été réalisées au sein du laboratoire de l'ADE de Sidi Bel-Abbès.

L'étude de qualité de l'eau comporte trois étapes :

- ✓ Prélèvement, échantillonnage
- ✓ Analyse
- ✓ Interprétation

Les techniques d'analyses utilisées sont celles décrites par RODIER 2009 ⁽¹⁶⁴⁾.

1.1. Échantillonnage et modes de prélèvements

Les échantillons sont pris dans des flacons en verre de 250 ml stérilisés, s'ils font objet d'une analyse bactériologique et pour l'analyse physico-chimique on utilise des flacons en PET (Poly Éthylène) de 1,5 litre bien nettoyés.

La date, l'heure de prélèvement, la température de l'eau et l'air, le pH et la conductivité sont relevés sur site.

La source coule à travers un grand tuyau qui permet de remplir directement les flacons et les bouteilles. Dans le cas de l'analyse bactériologique, on laisse donc l'eau couler pendant un certain moment au voisinage d'une flamme puis on remplit les flacons.

L'analyse doit être effectuée le plus vite possible en transportant les échantillons dans des glacières, dont la température est comprise entre 4 et 6°C. Car la variation de cette dernière est susceptible de modifier la population bactérienne.

1.2. Méthodes d'analyses organoleptiques

Les paramètres organoleptiques de l'eau doivent être appréciés au moment du prélèvement.

1.2.1. Test de la couleur

La couleur a été évaluée par observation oculaire de plusieurs bouteilles et flacons remplis d'eau prélevée de la source.

1.2.2. Test de l'odeur et de la saveur

L'odeur a été évaluée par simple sensation olfactive.

La saveur est décelée par dégustation qui exige de rincer la bouche avec l'eau distillée avant chaque dégustation.

1.3. Méthodes d'analyses physicochimiques

La caractérisation des eaux concerne essentiellement l'analyse des paramètres de base (pH, température, conductivité..), des ions majeurs et d'éventuels éléments traces.

1.3.1. Mesure de la turbidité

La mesure de la turbidité permet de préciser les informations visuelles sur l'eau, elle est réalisée à l'aide d'un turbidimètre appelé aussi néphélométrie en utilisant des cuves en verre bien nettoyées et bien séchées, remplies avec de l'eau à analyser.

1.3.2. Mesure de la température

La température de l'eau est mesurée sur site avec un thermomètre précis, gradué au 1/10 de degré, la lecture est faite après une immersion de 10 minutes.

1.3.3. Mesure du pH

La mesure du pH est effectuée par un pH mètre électronique relié à une électrode en verre. L'électrode est introduite dans l'eau à analyser et la lecture se fait directement sur l'enregistreur électronique quand l'affichage est stabilisé.

L'électrode a été d'abord étalonnée dans une solution tampon de pH égale à 7 et à 4 puis introduit dans l'eau à analyser.

1.3.4. Mesure de la conductivité

Elle est mesurée à l'aide d'un conductimètre à l'électrode constitué de deux lames carrées de 1cm de coté en platine, on émerge complètement l'électrode dans l'eau à analyser.

1.3.5. Dosage de l'alcalimétrie (TA)

1.3.5.1. Principe

Cette détermination est basée sur la neutralisation d'un volume d'eau par un acide chlorhydrique (HCl), dilué en présence de la phénophtaléine. Le but est de mesurer la teneur en hydroxyde libre et en carbonate CO_3^{2-} .

1.3.5.2. Réactifs utilisés, mode opératoire (voir Annexe III)

1.3.5.3. Expression des résultats

$$\text{TA} = (\text{N}_{\text{HCl}} \times \text{V}_{\text{HCl}}) \times 1000/\text{Vo en meqg.}$$

N_{HCl} : Normalité d'HCl;

V_{HCl} : Volume d'HCl;

Vo : Volume de l'échantillon.

1.3.6. Dosage du titre alcalimétrique complet (TAC)

1.3.6.1. Principe

Cette détermination est basée sur la neutralisation d'un certain volume d'eau par un acide minéral (HCl), dilué en présence de méthyle orange.

Le but est de déterminer la teneur en hydrogénocarbonates dans l'eau.

1.3.6.2 Réactifs utilisés, mode opératoire : (Annexe III).

1.3.7.3. Expression des résultats

$$\text{TAC} = (\text{N}_{\text{HCl}} \times \text{V}_{\text{HCl}}) \times 1000/\text{Vo en meqg.}$$

N_{HCl} : Normalité d'HCl ;

V_{HCl} : Volume d'HCl ;

Vo : Volume de l'échantillon.

1.3.8. Dosage de la dureté totale (titre hydrométrique TH)

1.3.8.1 Principe

La dureté totale détermine la concentration en calcium et du magnésium dissous.

Les alcalino-terreux présents dans l'eau sont amenés à former un complexe de type chélate par le sel di sodique de l'Acide Éthylène Diamintétracétique (EDTA).

1.3.8.2. Réactif utilisés, mode opératoire : (Annexe III).

1.3.8.3. Expression des résultats

$$\text{TH} = (\text{N}_{\text{EDTA}} \times \text{V}_{\text{EDTA}}) \times 1000/\text{Vo en meqg.}$$

TH : C'est le titre hydrométrique en meqg

(1 meqg = 5 °F)

N_{EDTA} : Normalité d'EDTA ;

V_{EDTA} : Volume d'EDTA ;

V_0 : Volume de l'échantillon.

1.3.9. Dosage des ions calcium

1.3.9.1. Principe

Pour déterminer la dureté calcique on utilise l'EDTA comme complexant, auparavant on précipite le magnésium sous forme de $\text{Mg}(\text{OH})_2$ vers un $\text{pH} = 12$, par addition de la soude, indicateur utilisé est sensible aux seuls ions de calcium, c'est le murexide qui répond à cette condition.

1.3.9.2. Réactifs utilisés, mode opératoire (Annexe III).

1.3.9.3. Expression des résultats

$$[\text{Ca}^{2+}] = (\text{NEDTA} \times V_{\text{EDTA}}) \times 1000/V_0 \times 20 \text{ (en mg/l)}.$$

1.3.10. Dosage des ions magnésium

Connaissant la dureté totale d'une part et la dureté calcique d'autre part, il est facile par différence de calculer la dureté magnésienne.

$$\text{TH} = \text{TCa}^{2+} + \text{TMg}^{2+} \text{ donc: } \text{TMg}^{2+} = \text{TH} - \text{TCa}^{2+} \text{ (en mg/l)}$$

TH: Dureté totale ;

TCa^{2+} : Dureté calcique;

TMg^{2+} : Dureté magnésienne.

1.3.11. Dosage d'ion chlorure (Méthode de Mohr)

1.3.11.1. Principe

Les chlorures sont dosés en milieu neutre par une solution titrée de nitrate d'argent en présence de chromate de potassium, la fin de la réaction est indiquée par l'apparition de la teinte rouge caractéristique du chromate d'argent.

1.3.11.2. Réactifs utilisés, mode opératoire (ANNEXE III).

1.3.11.3. Expression des résultats

$$[\text{CL}^-] = (\text{NAgNO}_3 \times V_{\text{AgNO}_3}) \times 10000/V_0 \times 35.45 \text{ (en mg/L)}.$$

NAgNO_3 : Normalité d' AgNO_3 ;

V_{AgNO_3} : Volume d' AgNO_3 ;

V_0 : Volume de l'échantillon.

1.3.12. Dosage des ions sulfates par spectrophotomètre UV visible

1.3.12.1. Principe

Les ions sulfates de l'échantillon réagissent avec le Baryum du Sulfa Ver 4 pour former un précipité de sulfate de baryum.

L'intensité de la turbidité est proportionnelle à la concentration en sulfate.

Le Sulfa Ver 4 renferme également un agent stabilisant pour maintenir le précipité en suspension. La lecture est obtenue à 450 nm.

1.3.12.2. Réactifs utilisés, mode opératoire (Annexe III).

1.4. Paramètres de pollution

Le mode opératoire des paramètres de pollution a été mentionné dans Annexe IV. Selon le programme HACH.

1.4.1. Dosage des nitrites par spectrophotomètre UV visible

1.4.1.1. Principe

Le nitrite présent dans l'échantillon réagit avec l'acide sulfanilique pour former un sel intermédiaire de diazonium. Ce dernier se combine à l'acide chromo tropique pour produire un complexe de couleur rose dont l'intensité est directement proportionnelle à la concentration de nitrite dans la solution. La lecture est obtenue à 507 nm.

1.4.1.2. Réactifs utilisés, mode opératoire (ANNEXE IV).

1.4.3. Dosage des nitrates par spectrophotomètre UV visible

1.4.3.1. Principe

Le nitrate présent dans l'échantillon réagit avec l'acide chromo-tropique en condition fortement acide pour former un produit jaune dont l'absorbance maximale se mesure à 410 nm.

1.4.3.2. Réactifs utilisés, mode opératoire (ANNEXE IV).

1.4.4. Dosage de phosphate par spectrophotomètre UV visible

1.4.4.1. Principe

L'orthophosphate réagit avec le molybdate dans le réactif PhosVer 3 pour former un complexe phosphomolybdate. Ce complexe est réduit par l'acide ascorbique contenu dans le réactif Phos Ver 3, donnant une coloration bleue proportionnelle à la concentration de phosphanate présente dans l'échantillon initial. La lecture est obtenue à 880 nm.

1.4.4.2. Réactifs utilisés, mode opératoire (ANNEXE IV).

1.5. Méthodes d'analyses bactériologiques

Les analyses bactériologiques qui ont été effectuées au niveau du laboratoire de l'A.D.E de Sidi Bel Abbès, consistent à rechercher :

- ❖ Les *Germes totaux* ;
- ❖ Les *Coliformes totaux et fécaux* ;
- ❖ Les *Streptocoques fécaux* ;
- ❖ Les *Clostridium sulfito-réducteurs*.

Dans la présente étude, nous avons utilisé deux méthodes de dénombrement :

- La méthode de fermentation en tubes multiples appelée aussi méthode du nombre le plus probable (NPP) pour les coliformes totaux, fécaux et les clostridium sulfito-réducteurs.
- La méthode de filtration sur membrane pour les staphylocoques.

A- méthode du nombre le plus probable (NPP)

La méthode de détermination du nombre le plus probable (NPP) est une estimation statistique du nombre de germes dans un milieu liquide ⁽¹⁵⁷⁾.

La détermination du nombre caractéristique (le nombre de tubes positifs) permettra l'établissement du nombre le plus probable à l'aide de la table de Mc Grady ⁽¹⁹⁾.

B- La méthode de filtration

La technique de filtration est une estimation plus exacte sur la charge bactérienne, elle consiste à faire passer des produits liquides sur une paroi poreuse ou sur une membrane qui retient les bactéries ⁽¹⁵⁸⁾.



Figure 30. Pompe à filtration 06 postes

1.5.1. Dénombrement des coliformes totaux

Le dénombrement des coliformes a été effectué par la méthode de NPP¹⁵⁶. Il fait appel à deux tests consécutifs à savoir :

a- **Test présomptif** : réserve la recherche des coliformes totaux. Fait sur un milieu sélectif (bouillon lactose), sa fermentation se traduit par un dégagement de gaz dans la cloche de Durham et un trouble après une incubation à 37°C.

b- **Test confirmatif** : réserve pour la recherche des coliformes fécaux et *Escherichia coli* sur un milieu plus sélectif à une température de 44°C, à partir des tubes positifs du test présomptif.

*Pour la méthode NNP on a 4 systèmes d'analyses mais on utilise le système N⁰3:

5 tubes Double/concentré (D/C) : 5 ml d'échantillon.

1 tube Simple/Concentré (S/C) : 1 ml d'échantillon.

1 tube Simple/Concentré (S/C) : 0.1 ml d'échantillon.

1.5.2. Recherche des *coliformes fécaux* et *Escherichia coli*

La recherche des coliformes fécaux est quantitative.

1^{ère} étape. Test présomptif de la présence ou l'absence des coliformes totaux:

Elle consiste à

-Ensemencer 5 tubes à essai contenant le Bouillon lactosé milieu sélectif (D/C) muni d'une cloche de Durham avec 5 ml d'eau à analyser.

-Ensemencer 1 tubes (D/C) munis d'une cloche de Durham avec 1 ml d'eau à analyser.

-Ensemencer 1 tubes (S/C) munis d'une cloche de Durham avec 0.1 ml d'eau à analyser.

Agiter pour homogénéiser sans faire pénétrer l'air dans la cloche et placer les tubes dans une étuve à 37°C pendant 24 h à 48.

Lecture: Après d'incubation, les tubes considérés comme positives présentent un trouble dans toute la masse liquide, avec virage du violet au jaune et un dégagement de gaz dans la cloche.

Expression des résultats : Le nombre de coliformes totaux par 100 ml sera obtenu en comparant le nombre des tubes positifs et en se référant à la table de Mac Credy qui nous donne le nombre le plus probable (NPP).

2^{ème} étape. Test confirmatif de la présence ou l'absence des coliformes fécaux et d'*E. Coli*:

On repique chaque tube positif 5 gouttes par une anse bouclée ou une pipette pasteur dans un tube de bouillon Schubert muni d'une cloche de Durham; puis incubé à 44°C pendant 24 h.

Lecture: Considérer comme positif les tubes où se manifestent une croissance bactérienne et un dégagement de gaz dans la cloche.

Expression des résultats : Le dénombrement des coliformes fécaux s'effectue de la même manière que celui des coliformes totaux et les résultats sont exprimés dans 100 ml d'échantillon.

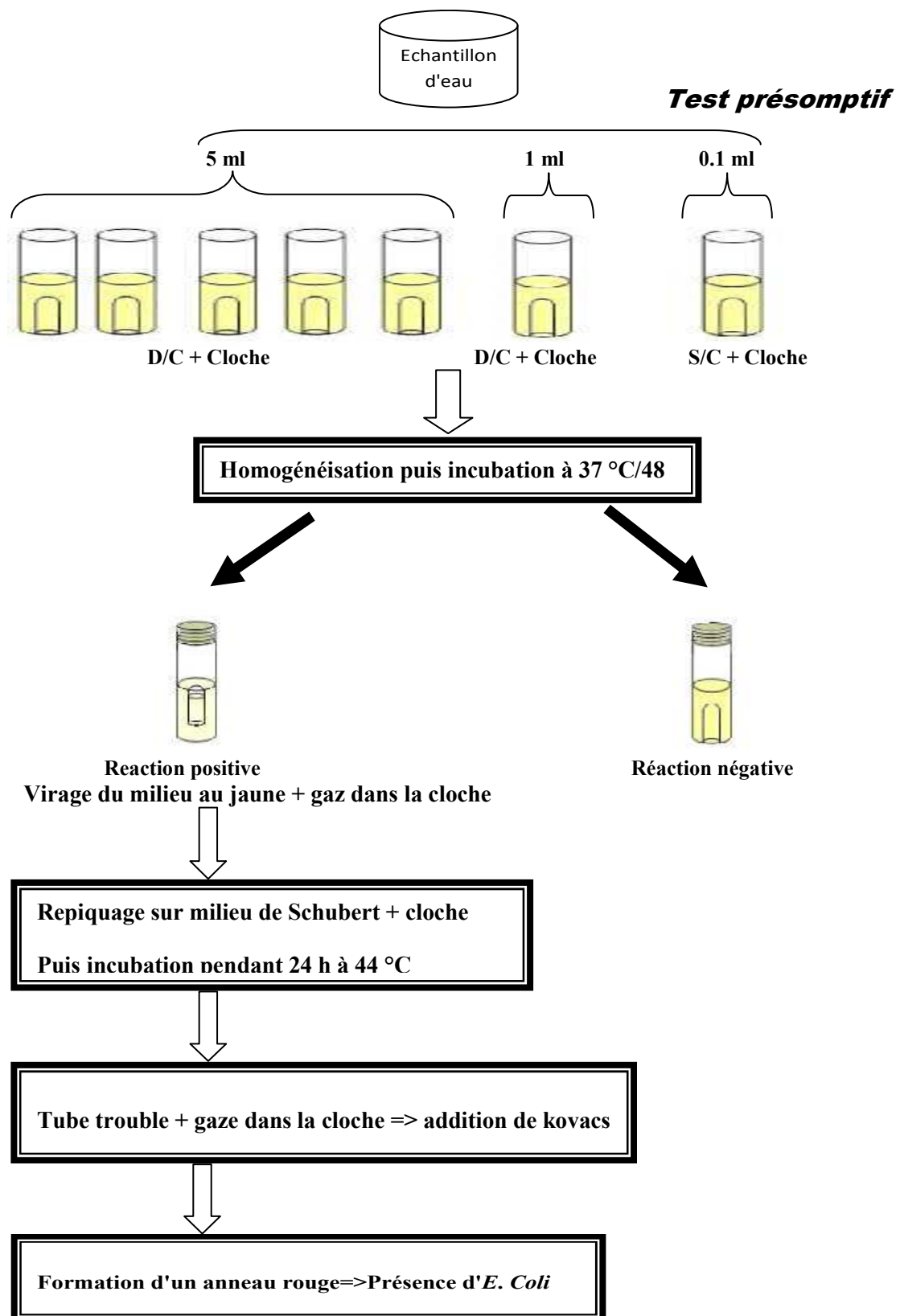
➤ Recherche d'*E. coli*

Ajouter 2 à 3 gouttes de réactif de Kovac au tube contenant le bouillon Schubert avec la cloche du Durham positif

Lecture: Considérer comme positif les tubes où il y a formation d'un anneau rouge à la surface qui témoigne la production d'indole.

Expression des résultats : Le dénombrement d'*Escherichia coli* s'effectue en se référant à la table du nombre le plus probable (NPP) dans 100 ml d'échantillon.



Figure 31: Recherche et dénombrement des coliformes et d'*E. Coli*.

1.5.3. Recherche des anaérobies Sulfito-réducteurs

Ils sont caractérisés par la résistance de leurs spores et par un équipement enzymatique.

Ils réduisent plus ou moins activement les sulfites et les sulfures.

Mode opératoire

✓ **Forme sporulée**

- On introduit dans 4 tubes à essai 20 ml d'échantillon d'eau à analyser (5 ml dans chaque tubes) ;
- On place les tubes au bain marie à 80 °C pendant 10 mn ; dans le but de détruire toutes les formes végétatives.
- On refroidit les tubes à essai contenant l'eau à analyser dans une bassine d'eau mise à la température ambiante pour provoquer un «*choc thermique*» qui induit le blocage de toutes réactions. Puis on ajoute 2 gouttes d'alun de fer et 4 gouttes de sulfites de sodium puis on remplit les 4 tubes par la gélose « *viande foie* » ;
- On mélange doucement, en évitant d'introduire les bulles d'air ;
- On incube à 37 °C et on procède à une première lecture après 24 heures, car très souvent les spores des anaérobies sulfito-réducteurs sont envahissantes ce qui rendra la lecture impossible,
- Sinon on fera une deuxième lecture après 48 heures ;
- Les *Clostridium* sulfito-réducteurs réduisent le sulfite de sodium, en produisant des colonies entourées d'un halo noir dû à la formation de sulfure de sodium.

✓ **Forme végétative**

La recherche des bactéries anaérobies sulfito-réducteurs sous forme végétative se fait de la même manière que celle de la forme sporulée à l'exception de l'étape du chauffage.

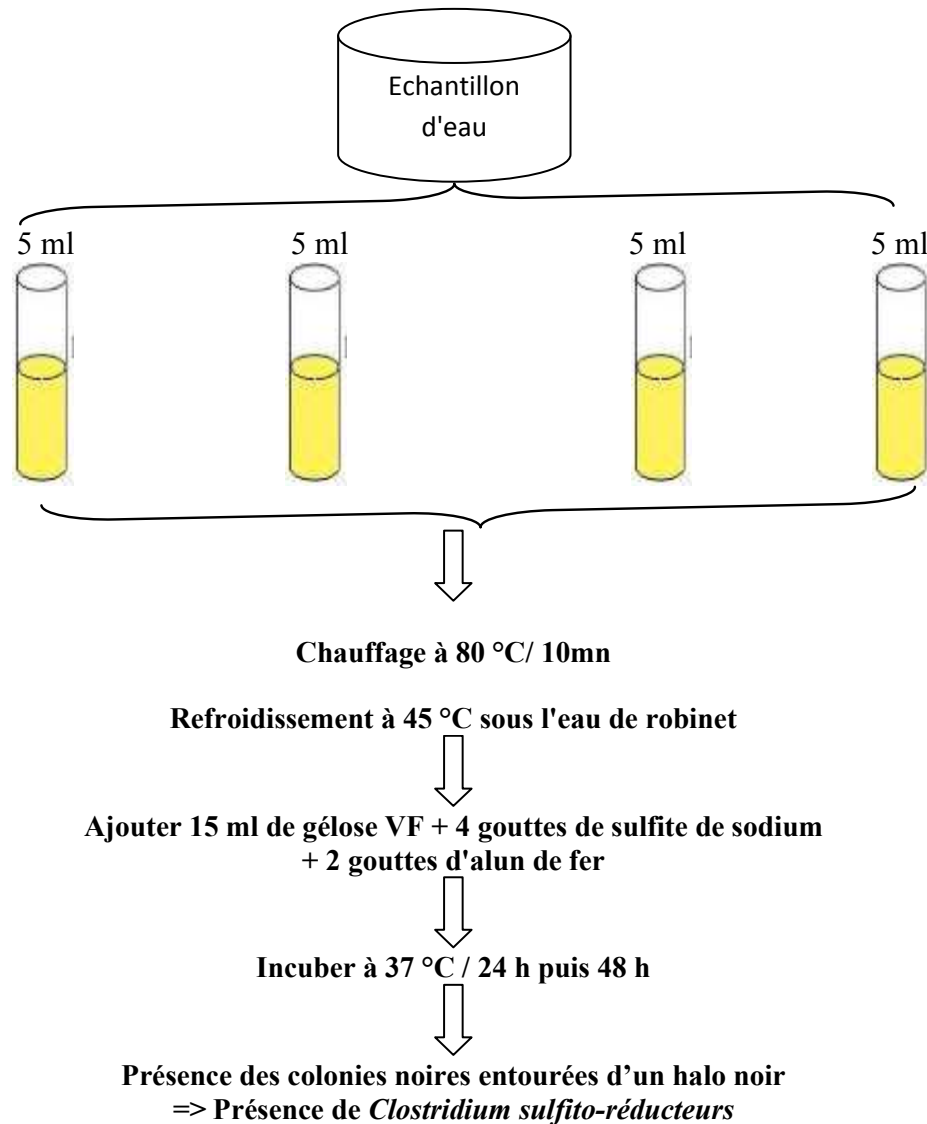


Figure 32 : Recherche et dénombrement des spores des *Clostridium* sulfito-réducteurs

Expression des résultats : On compte toute colonie noire de 0,5 mm de diamètre dans chaque tube et on rapporte le nombre total des colonies dans les 4 tubes. On exprime les résultats en nombre de germes par 20 ml.

1.6.5. Recherche des germes totaux

L'ensemble des germes totaux englobe les microorganismes pathogènes d'une part et les microorganismes d'altération d'autre part.

Ils sont capables de se développer à une température entre 22 et 37 °C dans une gélose nutritive.

Mode opératoire

La recherche est réalisée par incorporation en milieu gélosé TGEA

- ✓ Prélever 1 ml de l'échantillon à analyser et le déposer dans une boîte de pétri ;
- ✓ Mettre de la gélose nutritive tout en agitant doucement à mouvement circulaire pour assurer un mélange homogène de l'eau et de la gélose, sans former des bulles et sans mouiller les bords de la boîte.
- ✓ Laisser incuber pendant 72h.

On identifie des colonies de différentes couleurs, jaune clair, jaune d'or et leurs dimensions varient entre 4 et 6 mm de diamètre.

Expression des résultats : Les résultats sont exprimés en nombre des germes.

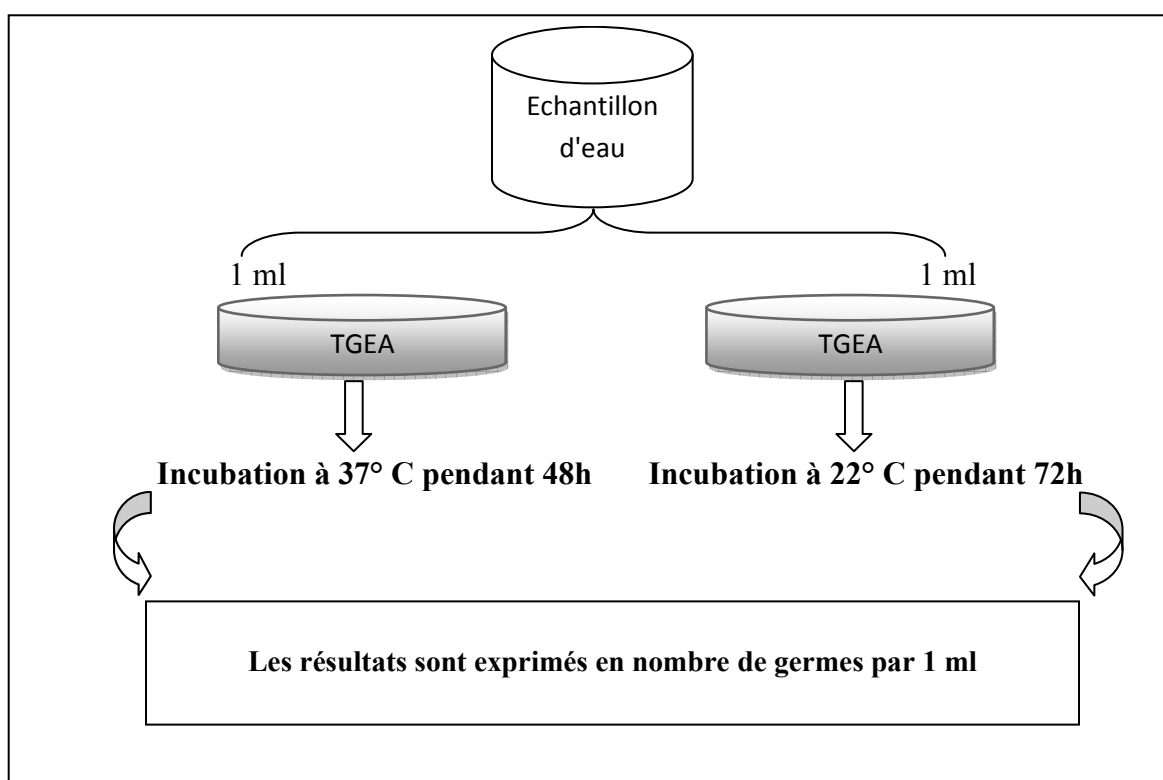
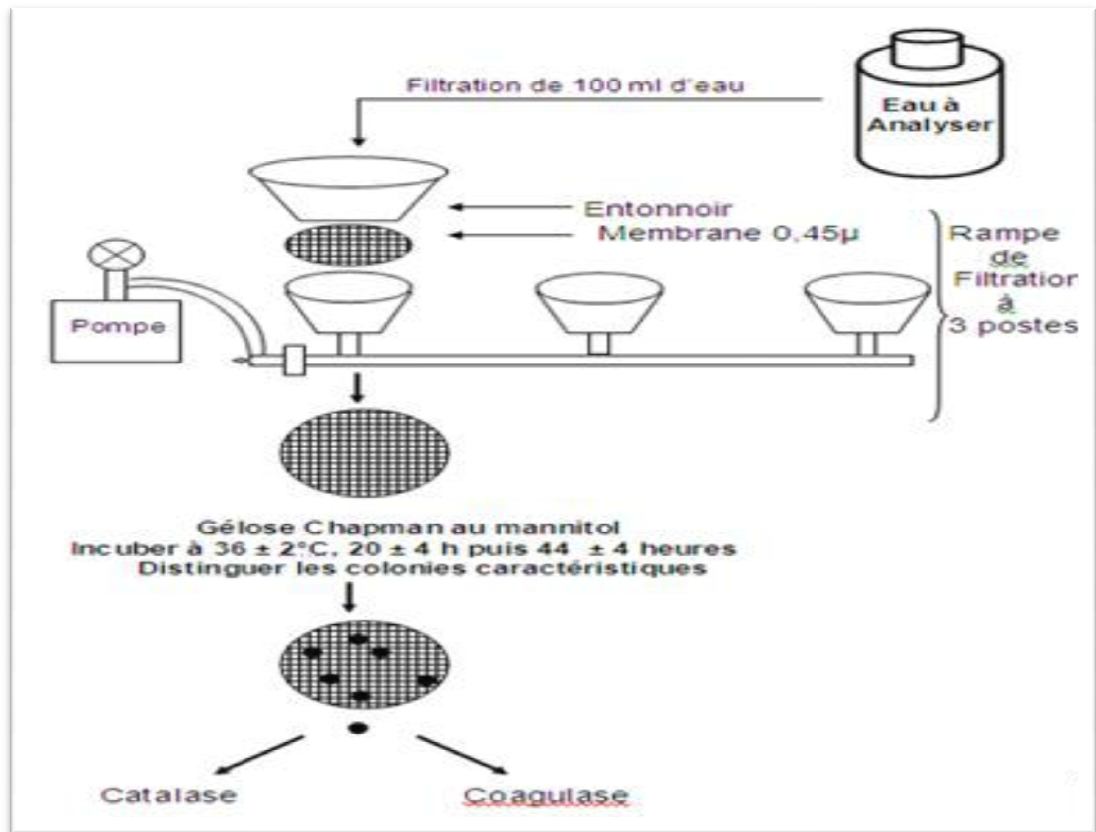


Figure 33 : Recherche et dénombrement des *germes totaux*.

1.5.5. Recherche des *staphylocoques*

Cette méthode s'applique aux eaux claires destinées à la consommation humaine ne contenant pas de matières en suspension pouvant colmater la membrane filtrante (Méthodes de dénombrement en milieu solide).

Pour les eaux turbides, il est nécessaire de procéder à une dilution avec de l'eau distillée stérile.

Figure 34. Technique de recherche des *staphylocoques*

Préparation du milieu de culture : la Gélose

- Mettre gélose (forme solide) dans un bain-marie.
- Attendre 5 min puis mettre la gélose dans un Etuve de 44.2°C pour stabilisation.

Préparation d'échantillon

- ✓ mettre l'eau à analyser dans un bain-marie à 40°C pendant 10mn.

Appariel : pompe à filtration 06 postes

Mode opératoire

- ✓ Allumer le bec bunsen.
- ✓ Essuyer la paillasse et se laver les mains avec de l'alcool.
- ✓ Placer l'entonnoir
- ✓ Flamber la plaquette poreuse du support à l'aide du bec benzène.
- ✓ Mettre la membrane sur la grille
- ✓ Agiter soigneusement le flacon (250ml) d'eau à analyser.
- ✓ Flamber le culot du flacon et verser 100 ml d'eau à analyser.
- ✓ Démonter l'appareil de filtration, et au moyen de la pince,

- ✓ Tenir la membrane par le bord et la placer soigneusement sur la boîte de pétri contenant le milieu (la Gélase) en s'assurant qu'aucune bulle d'air n'est emprisonnée.
- ✓ Retourner la boîte de pétri et incuber à 0,5 °C pendant 3 heures.
- ✓ Examiner les membranes et considérer comme bactéries Staphylocoques toute colonie typique dans la membrane ayant une coloration noire.



Figure 35. Les étapes de recherche des staphylocoques par la méthode de filtration

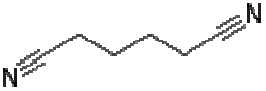
2. Synthèse et caractérisation des polymères

2.1. Matériels et Méthodes

2.1.1. Matériels

2.1.1.1. Produits Chimiques et réactifs

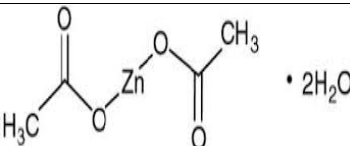
➤ **Adiponitrile AN** : appelée aussi Hexane dinitrile, Il s'agit d'un dinitrile se présentant sous la forme d'un liquide incolore et visqueux.

Formule chimique	Structure chimique	Caractéristiques et références
formule brute : $C_6H_8N_2$ formule semi développée : $N\equiv C(-CH_2)_4-C\equiv N$.		Masse molaire : 108,1411 g/mol Référence : Prolabo, 99,9% Point de fusion : 2,3 °C Point d'ébullition : 295 °C

➤ **Éthanolamine EA** : appelée aussi : 2-hydroxyéthylamine, 2-aminoéthanol

Formule chimique	Structure chimique	Caractéristiques et références
formule brute : C_2H_7NO formule semi développée: $H_2NCH_2CH_2OH$		Masse molaire : 61.1 g/mole Référence : Prolabo, 99,9% Densité : 1.02. Point de fusion : 10 °C Point d'ébullition : 171 °C

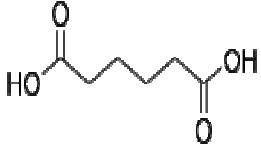
➤ **Acétate de zinc dihydraté**

Formule chimique	Structure chimique	Caractéristiques et Références
Formule brute : $C_4H_6O_4Zn (H_2O)$		Masse molaire : 213.51 g/mol Référence : Fluka Densité : 1.84 PH= 6.0 Point de fusion : 237 °C Solution dans l'eau : 430 g/l (20 °C)

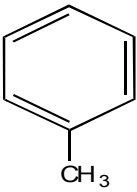
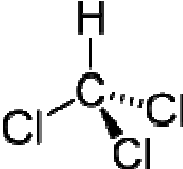
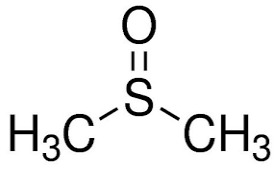
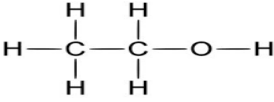
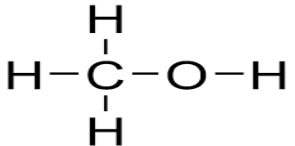
➤ **L'éthylène glycol** : glycol ou encore éthane-1,2-diol est le plus simple composé chimique de la famille des glycols (c'est le plus simple des diols). Liquide incolore, visqueux, hygroscopique, inodore.

Formule chimique	Structure chimique	Caractéristiques et Références
formule brute $C_2H_6O_2$ formule semi-développée $HO-CH_2-CH_2-OH$		Masse molaire : 20,0026 g/mol Référence : Fluka Densité : 1,283 Point de fusion : -12,69 °C

➤ **L'acide adipique** : acide 1,6-hexanedioïque est un diacide carboxylique aliphatique. Poudre cristalline, sans odeur, incolore.

Formule chimique	Structure chimique	Caractéristiques et Références
Formule brute : $C_6H_{10}O_4$		Masse molaire : 146.14g/mol Point de fusion : 151-154°C Référence : Prolabo ,99.9% Solubilité: 1gr/10ml de méthanol.

➤ **Les solvants**

Formule chimique	Structure chimique	Caractéristiques et Références
Toluène C_7H_8		Sigma-Aldrich Masse molaire : 92,14 g/mol Densité : 0.865 Point d'ébullition : 110,6°C
Tétra Hydro furane $C_4H_8O_2$		Biochem, Chemopharma, Masse molaire : 72,17 g/mole, Densité : 0,886 Point d'ébullition : 65-66,5°C
Chloroforme $CHCl_3$		Flucka, Chemica, Masse molaire : 100,21 Densité : 0,684 g/mole Point d'ébullition : 97-99°C
DMSO		Janssen (Chemica), Densité 0,786 Point d'ébullition : 55,6-56,6°C
Ethanol absolu : CH_3CH_2OH		Fluka, Chemika Masse molaire : 88,11 g/mole Densité : 1,0333
Méthanol : CH_3OH		Fluka, Chemika masse molaire : 84,93 g/mole densité : 1,325 Point d'ébullition : 40°C

2.1.1.2. Les souches bactériennes

La biodégradation et l'activité antibactérienne a été évaluée sur différents microorganismes.

Les Bactéries. Les quatre souches bactériennes (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*) ont été isolé à partir des patients présentant une infection bactérienne au sein de laboratoire de Bactériologie de l'hôpital universitaire de Sidi Bel Abbés, et ont été authentifiés par biologiste de laboratoire de microbiologie de l'université de biologie de Sidi Bel Abbés ^(167,168). Elles sont entretenues par repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance pendant 24 h, à l'obscurité et à 37 °C.

Le champignon (*Aspergillus niger*) a été isolé à partir d'une confiture noircie.

Il est cultivé sur le milieu nutritif PDA (Potato Dextrose Agar) pendant 7 jours, à 25 °C et à l'obscurité.

2.1.2. Méthodes

2.1.2.1. Synthèse de la 1,2-bis (2-oxazolinyl-2) butane « BBO »

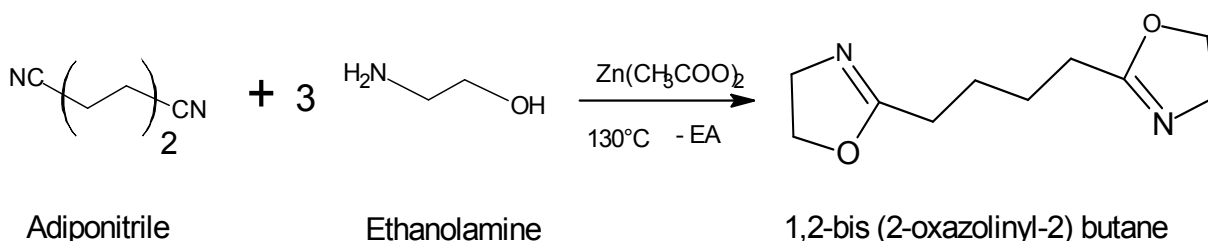


Figure 36. Bilan général de la réaction de formation de la bisoxazoline.

Mode Opérateur

Une mole d'Adiponitrile est dissoute dans trois moles d'éthanolamine on ajoute 0.025 mole d'acétate de Zinc di- hydraté, le mélange est chauffé à reflux (130°) pendant 4 heures sous atmosphère inerte (N₂).

Un dégagement d'ammoniac (NH_3) a été observé. A la fin de réaction et après élimination de l'excès de l'éthanol amine (EA) par distillation sous vide, une pâte de couleur marron a été formée. Cette dernière est ensuite chauffée et distillée sous pression réduite (180°C , 5-10 mm Hg), pour obtenir enfin la BBO un polymère semi cristallin de couleur marron foncé.

2.1.2.2. Synthèse de Poly(Ethylène Adipate) (PEAd)

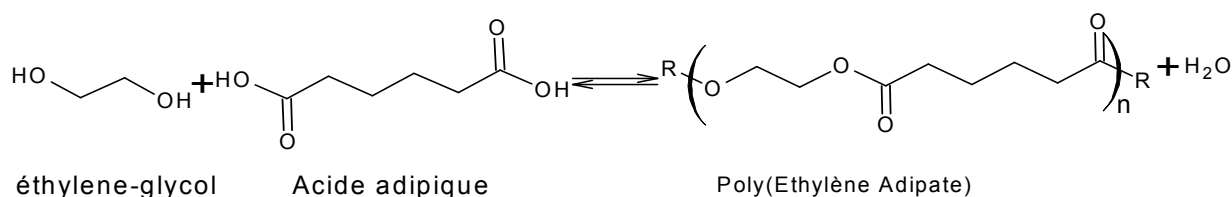


Figure 37. Bilan général de la réaction de formation du polyester.

Modes Opératoires

Le polymère de PEAd a été synthétisé par technique de l'estérification directe entre l'éthylène-glycol et l'acide adipique a été accompli efficacement et rapidement dans des rapports équimolaires dans un réacteur en verre de 250 ml, muni d'une agitation mécanique (ancres) et surmonté d'un système Dean-Stark/réfrigérant, plongé dans un bain d'huile. On a ajouté environ 100 ml de toluène avec un excès, puis le mélange a été progressivement chauffé à nouveau pour distiller l'azéotrope eau / toluène (l'eau 85°C et du toluène (110°C)). Une agitation continue a été effectuée à une température de 110 ° C pendant 1 à 2 h jusqu'à la collecte de la quantité théorique de H₂O.

Une fois la réaction terminée, les produits ont été refroidis à la température ambiante, puis le liquide visqueux a été purifié par précipitation dans le méthanol après solubilisation dans le THF pour éliminer les oligomères et les monomères non transformés. Les produits sont ensuite filtrés et séchés sous vide, pour obtenu un produit d'aspect poudreux et de couleur blanche.

1.2.2.3. Synthèses et caractérisations des poly(ester-amide)s PEA1 et PEA2 – Etude de la réaction de couplage-

1.2.2.3.1 Synthèse de la PEA1 par réaction de couplage du PEAd et la BBO

Dans cette partie de notre travail nous nous sommes intéressés au couplage de polyester par la bisoxazoline (BBO) qu'ont été préparé.

La réaction que nous étudions peut être écrite de la manière suivante :

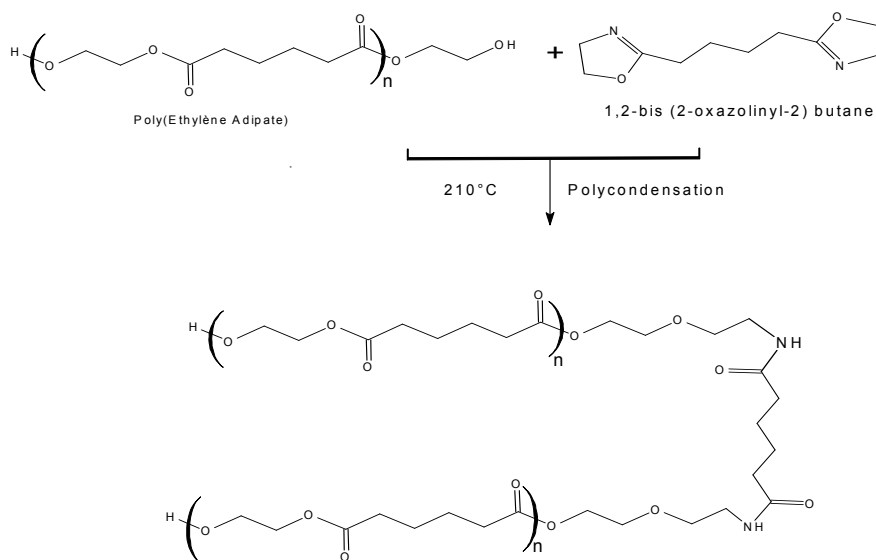


Figure 38. Réaction de couplage de PEA_d avec la BBO

Mode Opératoire

Dans un réacteur de 50 ml équipé d'un chauffage à bain d'huile, d'une entrée et d'une sortie d'azote et d'une agitation mécanique à ancre, on introduit 17,81 mmol de polyesters et 17,81 mmol de coupleur de chaîne (EBO). Le mélange est porté à 210°C sous agitation pendant 120 min pour donner après refroidissement un polymère cristallin de couleur jaune.

1.2.2.3.2. Synthèse de la PEA₂ par réaction de couplage de l'acide adipique et la BBO

Nous avons conduit cette réaction de polyaddition entre l'acide adipique et le coupleur de chaînes EBO, en masse et à 210°C pendant 120 min.

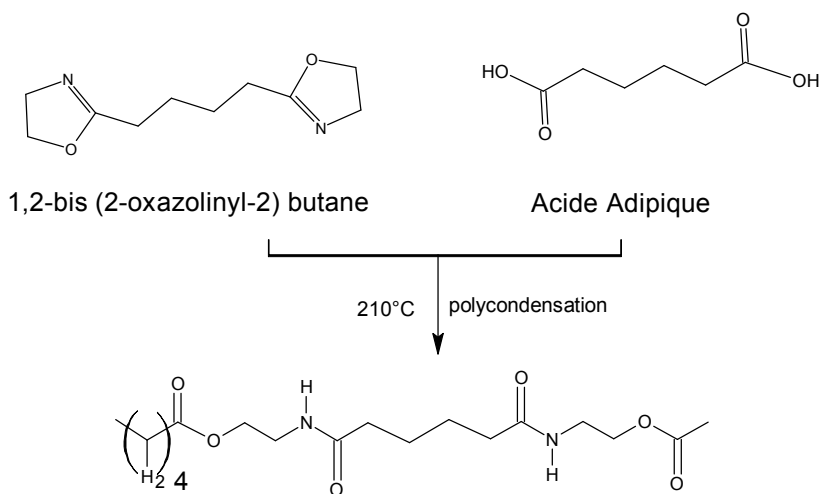


Figure 39. Réaction entre l'acide adipique et la BBO.

Mode Opérateur

Dans un réacteur de 50 ml équipé d'un chauffage à bain d'huile, d'une entrée et d'une sortie d'azote et d'une agitation mécanique à ancre, on introduit 17,81 mmol d'acide adipique et 17,81 mmol de coupleur de chaîne (BBO). Le mélange est porté à 210°C sous agitation pendant 120 min pour donner après refroidissement un polymère cristallin de couleur marron foncé.

1.2.2. Méthodes d'analyses

1.2.2.1. Analyses chimiques

Tests de solubilité :

La solubilité de chaque polymère préparé a été testée dans différents solvants disponibles au laboratoire.

Analyse par spectroscopie infrarouge A Transformée De Fourier (FTIR)

Principe:

La spectroscopie Infrarouge à Transformé de Fourier (ou FTIR : Fourier Transformed InfraRed Spectroscopy) est une technique basée sur l'analyse vibrationnelle des liaisons chimiques d'un composé à une fréquence de vibration est associée.

Un échantillon est traversé par des radiations électromagnétiques de longueur d'onde comprise entre 4000 cm^{-1} et 400 cm^{-1} ($2.5 - 25\text{ }\mu\text{m}$) (domaine du moyen infrarouge) et l'enregistrement de l'absorption de l'énergie infrarouge en fonction de la fréquence de la radiation incidente donne le spectre IR de l'échantillon. Le type de groupes fonctionnels présents dans la molécule correspondant aux fréquences auxquelles l'absorption est observée. Des informations peuvent être obtenues sur la géométrie moléculaire, les forces de liaisons et sur les interactions enter et intramoléculaires.

Les spectres des polymères sont effectués à partir d'échantillons solides réduits en poudre, mélangés au KBr (2 mg de produit pour 150 mg de KBr puis compactés sous forme de pastille ($\Phi=8\text{mm}$, épaisseur=0,5mm) sur un appareil de marque Bruker Alpha FT-IR Spectrometer (equipped with ALPHA's Platinum ATR single reflection diamond ATR module) au laboratoire de la chimie des polymères de l'université de Senia.

Analyse par résonance magnétique nucléaire

La spectrophotométrie de R.M.N. (résonance Magnétique Nucléaire) est basée sur les propriétés magnétiques de certains noyaux atomiques. C'est un outil très puissant d'élucidation des structures chimiques des polymères.

Cette technique permet de donner :

- Une bonne connaissance de la microstructure.
- Une bonne compréhension des mécanismes réactionnels (polycondensation, polymérisation, dégradation ...) qui peuvent gouverner la polymérisation d'une part et d'autre part permette l'établissement de relations fiables microstructures.

La résonance magnétique nucléaire du proton RMN^1H est une technique qui fournit des informations sur la disposition des atomes d'hydrogène dans une molécule.

La résonance magnétique nucléaire du carbone 13 RMN^{13}C est analogue à la RMN du proton (RMN^1H) et permet l'identification des atomes de carbone dans une molécule.

Un spectre de RMN se présente sous la forme d'un certain nombre de signaux dont les positions ou déplacements chimiques dans une échelle en ppm caractérisant les fréquences d'absorption des différents protons et carbones d'une molécule. L'étude des polymères nécessite l'utilisation de spectromètre supérieur à 200 MHz pour avoir une bonne résolution du spectre.

Les spectres RMN ont été réalisés au laboratoire de la chimie des polymères de l'université d'Esenia à température ambiante sur l'appareil spectromètre Bruker opérant à 300MHz.

Les échantillons sont préparés par dissolution d'une masse comprise entre 1 et 10 mg d'échantillon sec dans un volume d'1 ml de solvant deutéré approprié. Les deux solvants utilisés sont DMSO et le chloroforme deutéré (CDCl_3).

1.2.1.2. Analyses microbiologiques

Remarque: Toute la manipulation microbiologique est réalisée dans des conditions stériles pour éviter toutes contaminations avec des bactéries extérieures qui fausseraient les résultats.

1.2.1.2.1. Etude de biodégradation du PEA1 et PEA2

Avant d'étudier la biodégradation des polymères, PEA1 et PEA2, l'objectif préliminaire a été de trouver des champignons représentatifs des milieux naturels de biodégradation (compost, sol,...) et de préférence non pathogènes pour l'homme.

a. Les micro-organismes

Le champignon *Aspergillus Niger*

Aspergillus niger est fréquemment rencontré dans les céréales, les fruits et les légumes moisiss, le fourrage, les produits laitiers... Ce champignon est utilisé dans l'industrie alimentaire pour la production d'enzymes alimentaires (amylases, cellulase, lactases, pectinases,...) et d'acides organiques (citrique et gluconique).

Les *Aspergillus* ont une croissance rapide. Poudreux ou duveteux, leur couleur varie du blanc au noir en passant par le brun et le vert. Les spores se forment dans des têtes aspergillaires et sont de couleur noire. De classe 1, l'*Aspergillus Niger* est peu pathogène mais peut provoquer certaines affections telles que l'aspergillose (formation d'un bouchon mycélien entraînant bourdonnement et surdité).

La bactérie *Bacillus Subtilis*

Le genre *Bacillus* est très hétérogène. Les espèces du genre *Bacillus* sont des bacilles rectilignes (ou pratiquement rectilignes), à extrémités carrées ou arrondies. Les *Bacillus* sont des germes de l'environnement dont l'habitat principal est le sol où ils joueraient un rôle dans les cycles du carbone et de l'azote. La résistance des spores et la diversité physiologique des formes végétatives en font des bactéries très ubiquistes que l'on peut isoler du sol, de l'eau de mer, de l'eau douce ou de denrées alimentaires. Les souches sélectionnées sont non pathogènes pour l'homme.

b. Protocole expérimentale

Préparation de milieu d'essai et l'inoculum

La biodégradation des poly(ester-amide)s PEA1, PEA2 ont été étudiée en milieu solide et liquide synthétique qui favorise la multiplication des champignons et les bactéries puisque on veut tester nos polymères sur ce type de souche et plus particulièrement *Aspergillus Niger* et *Bacillus Subtilis*

Solution sels minéraux pour champignons

Pour 1 litre, sont mélangés :

NaNO_3 2,0 g

KH_2PO_4 0,7 g

K_2HPO_4 0,3 g

$\text{MgSO}_4, 7 \text{ H}_2\text{O}$ 0,5 g

NaCl 0,5 g

$\text{FeSO}_4, 7 \text{ H}_2\text{O}$ 0,01 g

Eau distillée 1000 mL

Le pH de la solution est ajusté entre 6.0 et 6.5 avec une solution de NaOH 0.01 mol/L.

Solution sels minéraux pour bactérie

Pour 1 litre, sont mélangés :

NH_4NO_3 1,0 g

KH_2PO_4 0,7 g

K_2HPO_4 0,7 g

$\text{MgSO}_4, 7 \text{ H}_2\text{O}$ 0,7 g

NaCl 0,005 g

$\text{FeSO}_4, 7 \text{ H}_2\text{O}$ 0,002 g

$\text{MnSO}_4, 7 \text{ H}_2\text{O}$ 0.001 g

Eau distillée 1000 ml

Le pH de la solution est ajusté à 7 avec une solution de NaOH 0.01 mol/L.



Chaque masse est pesée soigneusement puis dissoute sous agitation magnétique dans l'eau distillée.

Le milieu de culture a été séparé en deux parties égales, à l'une on a ajouté 7g d'Agar Agar puis portée à ébullition pour constituer le milieu solide. L'autre moitié formera le milieu liquide. Le milieu solide et le milieu liquide ont été autoclaves pendant 20mn à 120°C sous 2 bars.

Ensemencement des milieux

La suspension bactérienne a été préparée dans 9ml d'eau distillée à partir d'un morceau de confiture noircie (Fig.43) et des colonies à partir des souches repiquées, pour réaliser une suspension bactérienne de chaque souche, le milieu de culture utilisé pour la prolifération des souches recherchées est le milieu gélosé TGEA, c'est un milieu aussi adapté pour les levures ainsi que les bactéries. Une fois le milieu TGEA écoulé dans les boîtes de pétri la suspension bactérienne préparée a été étalée à l'aide d'un râteau.

Pour le milieu liquide on ensemence directement avec les colonies bactériennes environ 10 ml de bouillon placé dans des tubes à essai stériles.



Figure 42. Ensemencement du milieu liquide à partir des souches dans une GN en tube à essai et le milieu solide en boîte à pétri.

Après incubation du milieu TGEA à 30 C° pendant 72H on a obtenu le résultat illustré dans la photo 44 (B), mais la couleur noir caractérisant l'*Aspergillus Niger* n'a pas été décelée, on pense qu'on est juste au début de la maturation pour la photo 44 (A).

Après 30 jours le milieu ensemencé par touche (photo 44 B) a confirmé que la souche testé et bien *Aspergillus Niger*.

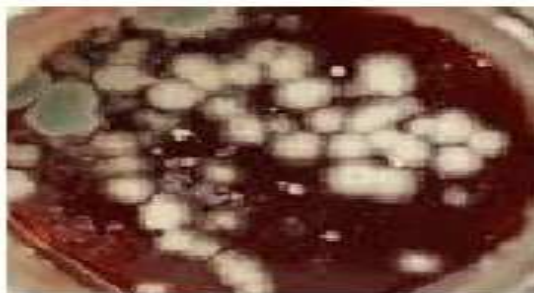


Figure 43. Étalement de la suspension bactérienne dans le milieu TGEA à partir de la confiture noircie.

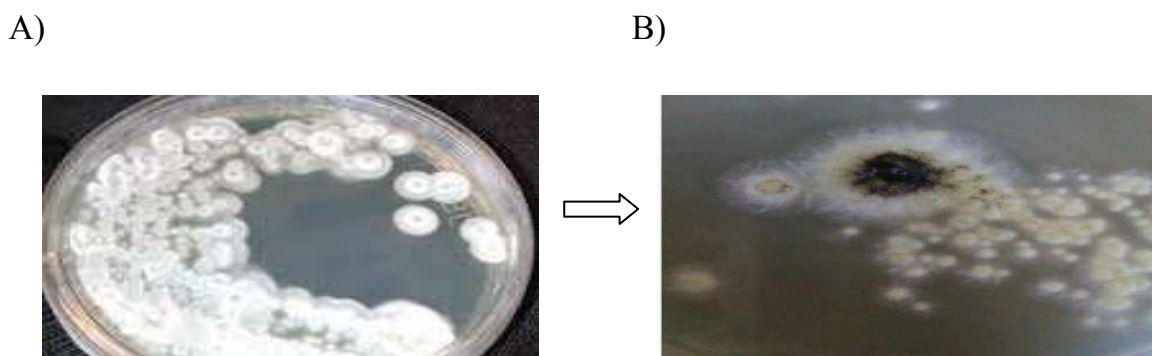


Figure 44. Milieu TGEA après ensemencement avec la suspension de la confiture noircie

Introduction les poly(ester-amide)s dans les milieux ensemencés :

Une fois que les milieux sont prêts pour l'ensemencement ; Le milieu d'essai préparé a été écoulé dans les boîtes pétri stériles et les tube à essai, le PEA1 et PEA2 ont été ajouté à l'état brut au milieu gélosé ensemencé avec la suspension préparée à partir des souches isolées dans le milieu TGEA. Les milieux solides et liquides ont été incubés à 30°C pendant 48H.

1.2.1.1.2. Evaluation de pouvoir antibactérien des poly(ester-amide)s

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été réalisée avec 3 souches bactériennes Bacille à gram négatif (*E. coli* et *P. aeruginosa*) et Cocci Gram positif (*S. aureus*) selon trois méthodes :

Préparation des disques.

Les PEAs n'étant pas soluble dans l'eau, PEAs sont d'abord solubilisés dans 0,5 mL de diméthylsulfoxyde (DMSO) avant d'y ajouter 0,5 ml d'eau distillée. On a ainsi préparé des solutions mères concentrées à 20 mg/ml qui sont ensuite stérilisées à l'autoclave (121 °C pendant 15 minutes).

Des disques de papier filtre stériles de 6 mm de diamètre sont imprégnés avec 30 µl de chaque solution mère, correspondant respectivement à 6 mg de PEA par disque. Finalement on prépare des disques imprégnés d'eau distillée stérile et d'autres imprégnés d'un mélange stérile composé d'eau distillée et de DMSO (10%, v/v). Ces deux dernières catégories de disques serviront de contrôle. Tous les disques ainsi préparés sont séchés à l'étuve à 37°C.

Repiquage des souches bactériennes

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées. Les colonies isolées ont servi à préparer l'inoculum.

Préparation de l'inoculum

L'inoculum s'est fait à partir des colonies préparées 18 à 24 heures plus tôt et du Bouillon Mueller Hinton (BMH) composé de 300g/l d'infusion de viande de bœuf, de 1,5 g/l d'amidon, de 17,5g/l d'hydrolysate de caséine, de 0,06 à 0,2 g/l de calcium, de 0,02 à 0,04 g/l de magnésium et d'une quantité suffisante d'eau distillée pour atteindre 1 litre avec un pH final de 7,4.

Une colonie isolée chaque bactérie (*E.coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*) a été prélevée à l'aide d'une anse de platine et homogénéisée dans 10 ml de BMH puis porté à incubation pendant 3 à 5 heures à 37°C pour avoir une pré culture. On a prélevé ensuite 0,1 ml du bouillon de pré culture opalescent de chaque souche qu'on a introduit dans un tube contenant 10 ml de BMH concentré deux fois. Cette suspension bactérienne réalisée s'est évaluée à environ 10^6 germes/ml ⁽¹⁶¹⁾.

a. Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion par disque (aromatogrammes)

Cette méthode permet d'évaluer l'activité antibactérienne d'une poly(ester-amide). Bien qu'elle soit reconnue comme fiable et reproductible, elle est surtout utilisée en étape préliminaire à des études plus approfondies, car elle permet d'accéder à des résultats essentiellement qualitatifs. La technique utilisée est une modification de la méthode de Hayes et Markovic ⁽¹⁷⁰⁾ telle que décrite par Bauer et al. ⁽¹⁷¹⁾ et reprise par BARRY et al. ⁽¹⁷²⁾. Elle consiste à déposer un disque stérile, imbibé de PEA, sur un tapis bactérien au tout début de sa croissance et de mesurer la zone où les bactéries n'ont pas pu se développer. Le diamètre d'inhibition, qui traduit l'activité antibactérienne de les PEAs, est ainsi déterminé.

La suspension bactérienne de densité équivalente au standard 0,5 de Mac Farland (10^6 unités formant colonie par millilitre (UFC/mL)) est préparée puis diluée au 1/100. 20 ml de milieu gélosé MHA sont coulés par boîte de Pétri. 02 ml d'inoculum sont déposés sur chaque boîte. Après une imprégnation de 5 minutes, l'excédent d'inoculum est éliminé par aspiration. A la surface de chaque boîte,

quatre disques de papier filtre stériles de 6 mm de diamètre (bioMérieux) sont déposés. Deux essais sont réalisés : un disque imbibé avec 30 μ l de PEA1 de d'eau distillée et de DMSO (v/v) et un second avec 30 μ l de PEA2 supplémentée de d'eau distillée et de DMSO (10%, v/v). Deux témoins sont réalisés : un témoin négatif avec 30 μ l d'eau distillée stérile en présence de 10 % de DMSO et un disque avec d'eau distillée. Les boîtes sont laissées 1 heure à température ambiante puis retournées et incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures ⁽¹⁷³⁾. Après incubation, le diamètre d'inhibition est mesuré en millimètres, disque inclus. Chaque test est réalisé trois fois au cours de trois expériences successives ⁽¹⁷⁴⁾.

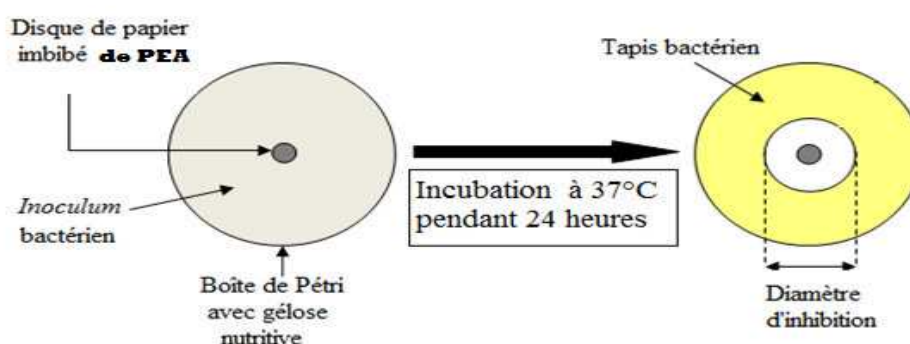


Figure 45. Principe de la méthode de diffusion par disque



Figure 46. Photos montrant les témoins réalisés par la méthode d'aromatogramme.

b. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

Cette technique consiste à inoculer, par un *inoculum* standardisé, une gamme de concentration décroissante en PEA. Après incubation, l'observation de la gamme permet d'accéder à la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI), qui correspond à la plus faible concentration en PEA capable d'inhiber la croissance bactérienne.

Technique de macro dilution en milieu liquide

Pour chaque PEA, on prépare par la méthode de double dilution, une gamme de concentrations stérile, allant de $2 \cdot 10^{-1}$ à $2 \cdot 10^{-3}$ mg/ml avec l'eau distillée et de

DMSO (10%, v/v) (fig. 47a). On prépare également pour chaque souche bactérienne, un inoculum dont la turbidité est ajustée à 0,5 Mc Farland (soit 10^6 ufc/ml). Ensuite, on ajoute dans des tubes à hémolyse, 1 ml de chaque concentration et 1 ml d'inoculum bactérien. La gamme de concentration de chaque PEA subit alors une dilution de moitié et s'étale comme suit: 10^{-3} ; 5.10^{-3} ; 10^{-2} ; 5.10^{-2} et 10^{-1} mg/ml. On prépare également un tube témoin de croissance contenant 1 ml d'eau distillée- DMSO (10%, v/v) et 1 ml d'inoculum ; puis un tube témoin de stérilité contenant 1 ml d'eau distillée stérile et 1 ml de bouillon stérile. La gamme de concentration ensemencée, ainsi que les deux témoins sont incubés à 37 °C pendant 24 heures (fig. 47b). Après l'incubation, on examine la croissance bactérienne, dans chaque tube, qui se traduit par une turbidité. La CMI d'un extrait vis-à-vis d'une souche donnée sera la plus petite des concentrations ne montrant aucune croissance visible de germe (fig. 47c). Chaque expérience est répétée trois fois au cours de trois expériences successives.

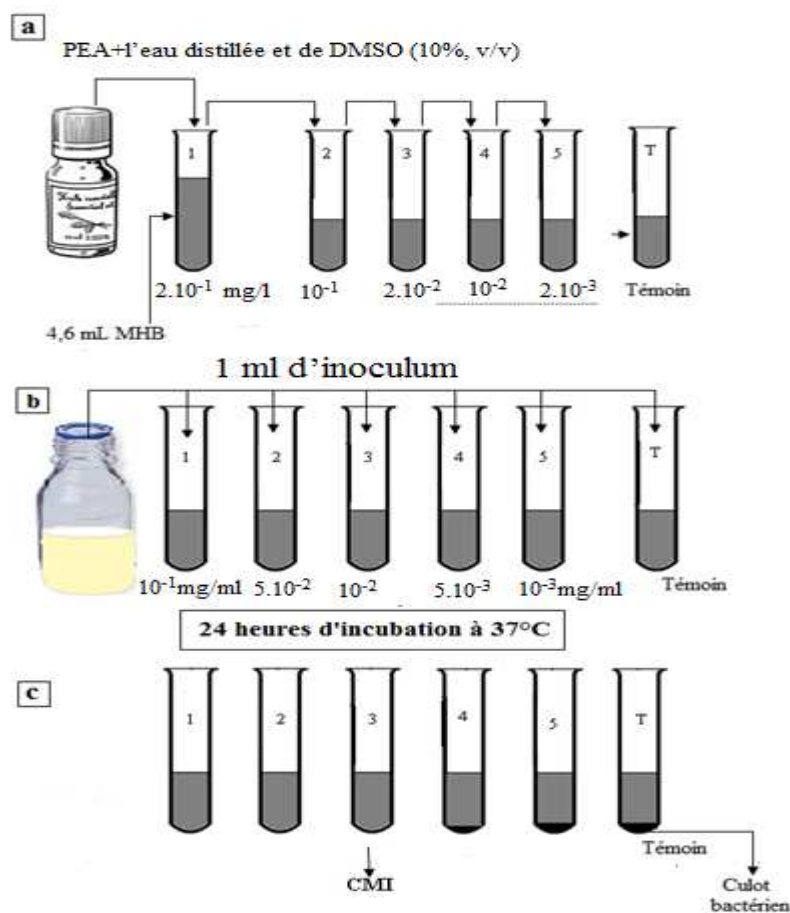


Figure 47. Méthode de détermination de la CMI en milieu liquide

Technique de macro dilution en milieu solide

La technique de dilution en milieu solide est recommandée par le Clinical and Laboratory Standards Institute⁽¹⁷⁵⁾ pour évaluer la sensibilité des bactéries microaérophiles aux agents antibactériens. Les essais de détermination de la CMI sont effectués selon la méthode de dilution standard sur milieu gélosé MHA, supplémenté avec 5% de sang de mouton.

Une gamme de dilution de base 2 est réalisée, à partir de 50 µl de PEA supplémentée de d'eau distillée et de DMSO (10%, v/v) à tester. 30 µl de chacune des dilutions de la gamme sont ajoutés dans des tubes stériles contenant 15 ml de milieu gélosé MHA, maintenu en surfusion dans un bain thermostaté à 55°C. La gamme de concentrations ainsi générée est comprise entre $2 \cdot 10^{-1}$ et $2 \cdot 10^{-3}$ mg.ml⁻¹. Le contenu de chaque tube est immédiatement versé dans une boîte de Pétri stérile après une agitation de 15 secondes. Des spots de 2 µl d'un inoculum standardisé à 10^5 UFC.ml⁻¹ (soit $2 \cdot 10^5$ UFC par spot) sont déposés sur les boîtes de gélose. Le DMSO est utilisée comme contrôle négatif. Les boîtes sont incubées dans une jarre anaérobie, pendant 24 h à 37°C, sous atmosphère micro-aérophile.

La CMI de PEA est définie à partir de la première boîte de la gamme dépourvue de croissance bactérienne. Chaque expérience est répétée trois fois au cours de trois expériences successives.

c/ Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) en milieu solide

La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) correspond à la plus faible concentration en PEA capable de tuer plus de 99,9 % de l'*inoculum* bactérien initial (soit moins de 0,01 % de survivants). Elle définit l'effet bactéricide d'une PEA.

La même gamme de concentration, réalisée par la technique de macro dilution en milieu liquide, est utilisée pour déterminer la CMI et la CMB de chaque PEA à tester (fig. 48). Des prélèvements sont effectués dans le tube témoin et dans chacun des tubes dépourvus de culot bactérien puis déposés «en strie» sur gélose MHA. Les boîtesensemencées sont incubées 24 heures à 37°C.

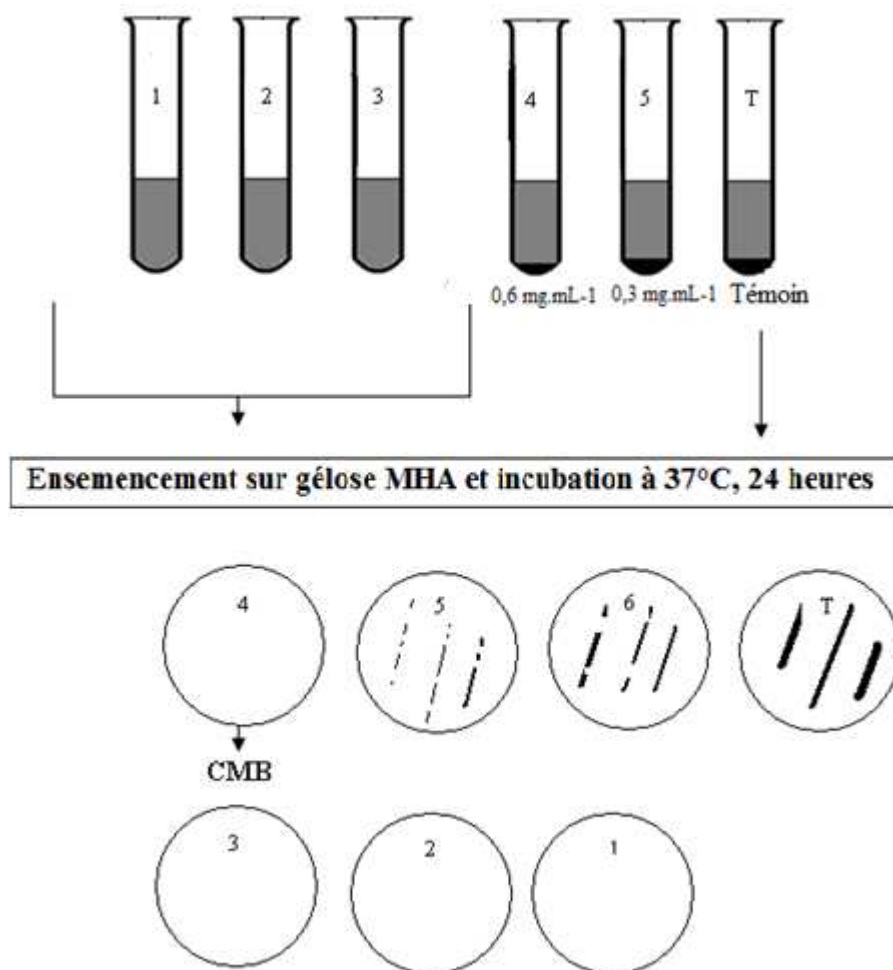


Figure 48. Détermination de la CMB en milieu solide

La CMB de PEA est déduite à partir de la première boîte dépourvue de bactérie. Chaque expérience est réalisée trois fois au cours de trois expériences successives.

d. Dynamique d'action des poly(ester-amide)s par mesure de la décroissance bactérienne dans l'eau (Time-kill assay)

Cette méthode permet de caractériser l'activité antibactérienne d'un PEA au cours du temps. Elle évalue la décroissance des bactéries, qui sont soumises à une concentration donnée en PEA, sur plusieurs heures ⁽¹⁷⁶⁾.

➤ On prépare une suspension bactérienne de *S. aureus*, *E. Coli* et *P. aeruginosa* dans un tube contenant 5 ml d'eau physiologique. La suspension obtenue est standardisée de manière à ce que sa concentration soit comprise entre 10^8 et 5.10^8 UFC.mL⁻¹. Pour cela, l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre (UV-VIS-1202 SHIMADZU) à 600 nm, ajustée au standard 0.7 de Mac Farland. Un ml de chaque inoculum est déposé dans 9 mL de milieu gélosé MHA en absence (témoin de

croissance) ou en présence d'une concentration en PEA supplémentée de d'eau distillée et de DMSO (10%, v/v) correspondant à la CMI en milieu liquide. Les suspensions ainsi obtenues contiennent environ 10^8 UFC.ml⁻¹ et sont maintenues sous agitation à 37°C. 100 µl de suspension sont prélevés à différents temps (12, 24, 36 et 48 heures) et on ensemence dans un tube comportant 10ml de bouillon nutritif. Après incubation les tubes ensemencés à 37°C pendant 24 heures. on lit la densité optique de chaque tube et on détermine le nombre de colonies bactériennes (CFU) au pour les trois bactéries

Chapitre V

Resultats et discussions

I. Les analyses d'eau de Sidi Bel Abbes

Dans le but du contrôle de la qualité de l'eau, nous avons effectué les analyses pour l'eau de boisson de Sidi Bel Abbes et on a contrôlé les paramètres de potabilité, les paramètres physico-chimiques et bactériologiques; pour cela les prélèvements ont été effectués dans plusieurs sources.

I.1. Les analyses physico-chimiques

La composition minérale des eaux dépend généralement des terrains traversés, principalement des différentes couches géologiques ainsi que la charge physico-chimique et biologique des eaux d'infiltrations.

Les analyses permettent aussi de déterminer la concentration de certaines substances qui peuvent rendre ces eaux suspectes ou impropres à la consommation.

En ce qui concerne l'eau étudiée, les analyses physico-chimiques ont permis de révéler les résultats suivants :

1.1.1. Paramètres organoleptiques

➤ **Odeur** : Les eaux étudiées ne présentent aucune odeur caractéristique, ce qui indique probablement l'absence de produits chimiques, de matières organiques en décomposition et de protozoaires.

➤ **Couleur** : Une eau destinée à la consommation humaine doit être toujours incolore et limpide.

Les eaux étudiées respectent cette condition, ceci indique probablement l'absence des ions métallique fer ferreux (Fe^{2+}) et fer ferrique (Fe^{3+}) ; qui sont les facteurs principaux du changement de la couleur d'eau.

➤ **Turbidité** : La mesure de la turbidité permet de donner les informations visuelles sur l'eau. La turbidité traduit la présence des particules en suspension dans l'eau (débris organiques, argiles, organismes microscopiques...etc.). Les eaux étudiées sont des eaux claires ; ceci est dû à l'infiltration de l'eau dans le sol. Elles ont une turbidité qui varie entre 0.3 et 4.04 NTU ce qui est conforme à la norme algérienne qui recommande comme valeur limite 5 NTU au maximum à l'exception de l'eau de barrage Chorfa qui il est très turbide (13.1 et 19.9 NTU).

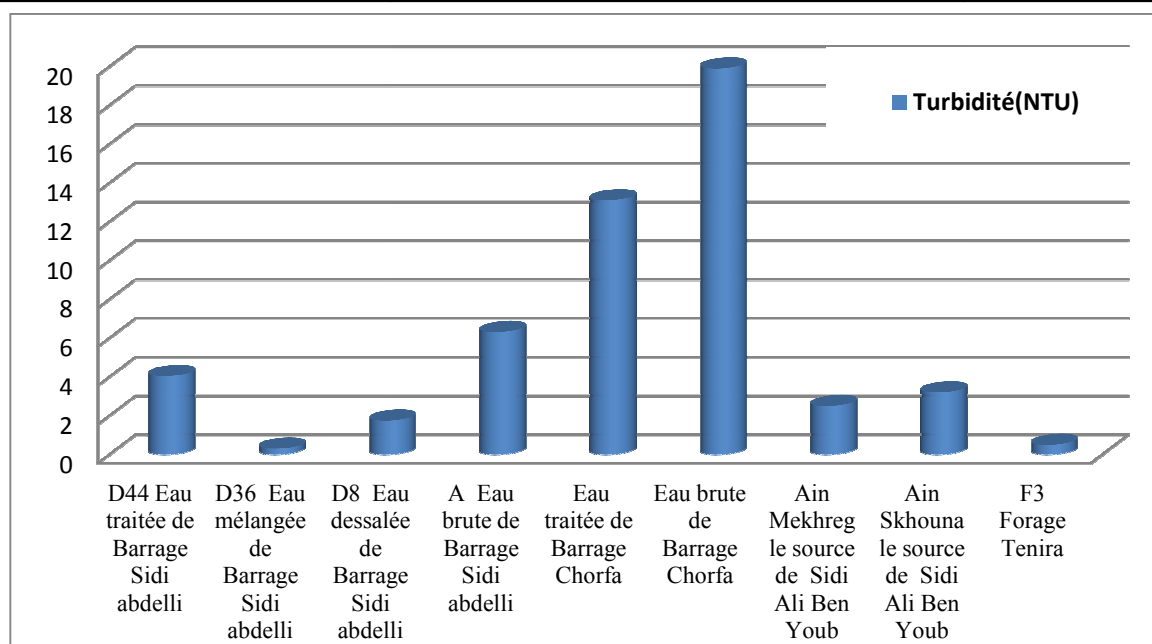


Figure 49. La turbidité des eaux

1.1. 2. Paramètres physico- chimiques

➤ Le potentiel d'hydrogène (pH)

C'est l'un des paramètres parmi les plus importants pour la qualité de l'eau. Il caractérise un grand nombre d'équilibre physicochimique et dépend de facteurs multiples, dont l'origine de l'eau. Le pH des eaux naturelles est lié à la nature des terrains traversés ⁽¹⁹⁾.

Le pH obtenu pour notre eaux étudiées sont de 7,21 à 8,41 ceci montrent que les eaux analysées sont pratiquement neutres à légèrement basiques et respectent l'optimum fixé par l'OMS pour la potabilité de l'eau (6.5 - 9).

➤ La température

Les directives du conseil des communautés européennes et la réglementation algérienne, fixent à 25°C la température à ne pas dépasser pour l'eau destinée à la consommation humaine.

Au mois de Mai les températures mesurées pour l'eau de robinet est égale à 19°C. Ce qui nous permet de dire que notre eau est dans les normes pour ce paramètre.

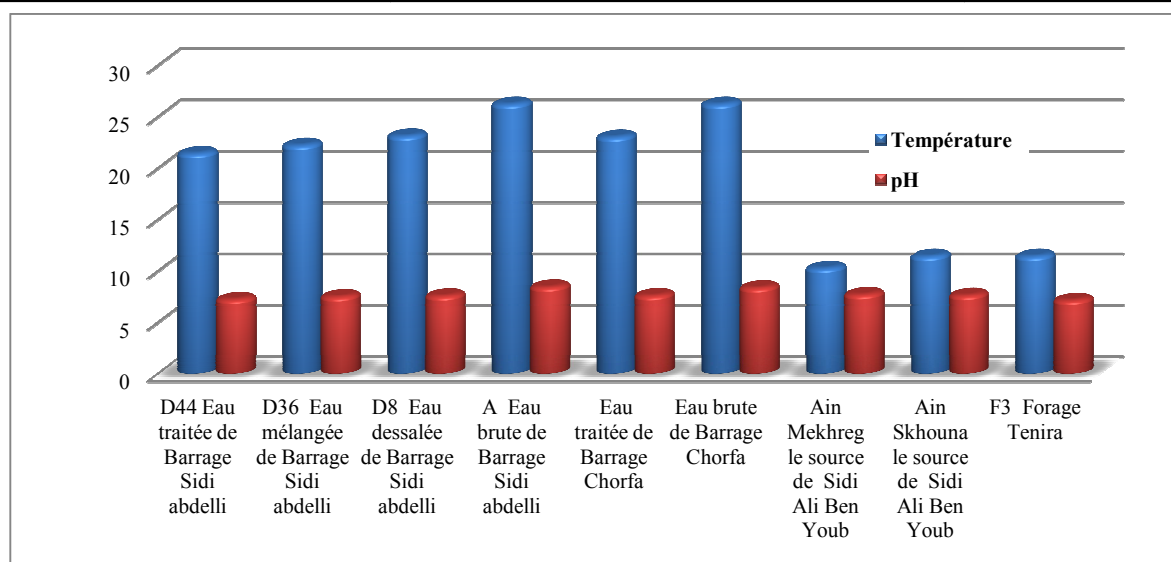


Figure 50. La température et le potentiel hydrogène

➤ La conductivité

La conductivité des eaux naturelles fournit une information globale sur la quantité des sels dissous qu'elles renferment ⁽¹⁵⁹⁾. Les eaux étudiées présentent des valeurs comprises entre 700 et 2711 $\mu\text{S}/\text{cm}$ qui restent conformes à la norme algérienne indiquant une valeur limitée de 2880 $\mu\text{S}/\text{cm}$ à 20°C.

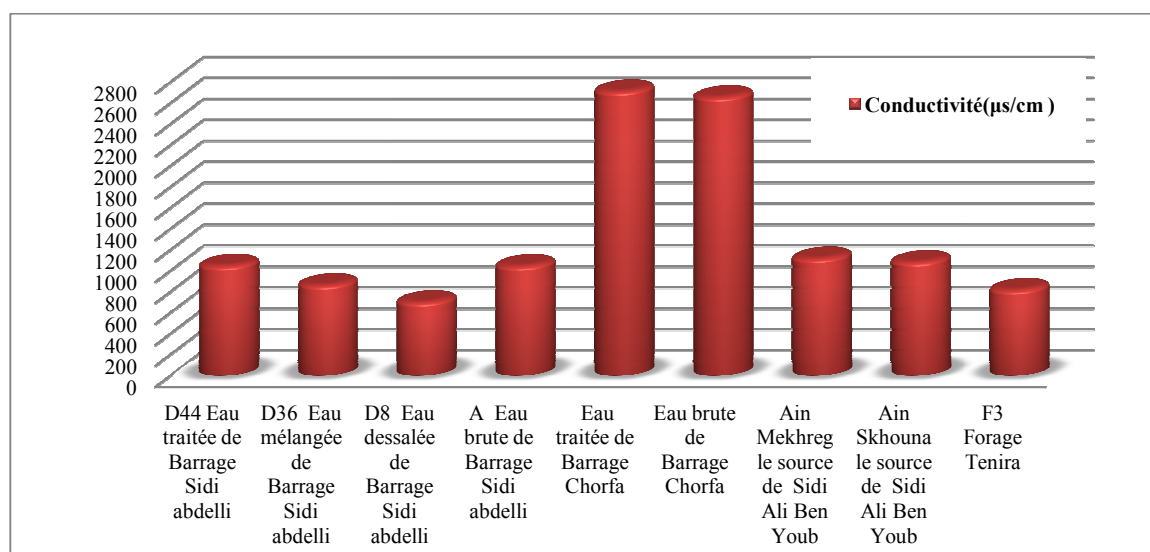


Figure 51. La Conductivité électrique des eaux

➤ L'ion calcium (Ca^{2+})

Le calcium est généralement l'élément dominant des eaux potables. Les normes algériennes préconisent une concentration de 200 mg/l comme concentration maximale.

Globalement, les eaux étudiées sont modérément calciques, et les valeurs de calcium trouvées sont comprises entre 131 et 165 mg/l ce qui est conforme aux normes algériennes.

➤ L'ion magnésium (Mg^{2+})

L'ion magnésium constitue un élément significatif de la dureté de l'eau, sa teneur dépend de la composition des roches sédimentaires rencontrés (calcaires dolomitiques, dolomies du jurassique ou du trias moyen) ⁽¹⁶⁴⁾.

La réglementation algérienne relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine fixe une concentration maximale de 150 mg/l pour le magnésium.

La valeur déterminée pour l'eau étudiée varie entre 34 à 112 mg/l. Elle est bien inférieure à la valeur préconisée par la réglementation de notre pays.

Ce sont les eaux souterraines qui sont caractérisées par une charge importante en Mg^{2+} qui dépasse 90 mg/l, et la teneur maximale déterminée pour les eaux de surface échantillonnées est de 75 mg/l.

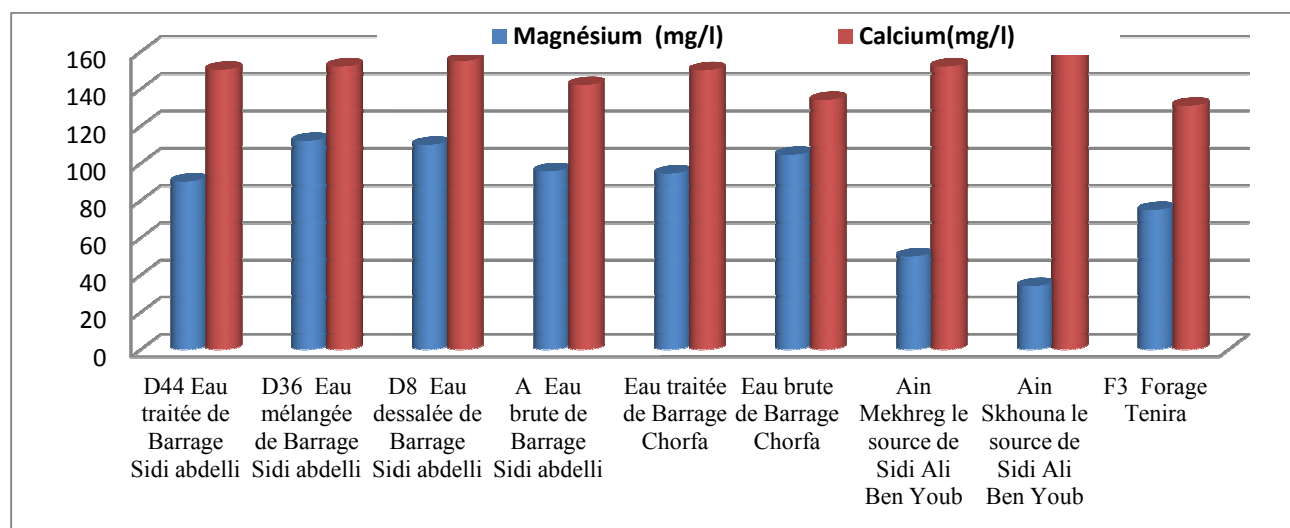


Figure 52. Taux de magnésium et de calcium dans les eaux

➤ Le chlorure (Cl^-)

Les teneurs en chlorures des eaux sont extrêmement variées et liées principalement à la nature des terrains traversés.

Dans les eaux analysées, les teneurs en Cl^- ne dépassaient pas 157 mg/l. Elle reste conforme aux normes de notre pays qui fixe une concentration maximale admissible de 500 mg/l. Des teneurs importantes en Cl^- (980 et 950 mg/l) qui dépassent largement la norme ont été enregistrées pour l'eau de barrage Chorfa.

Généralement, les chlorures présents dans l'eau destinée à la consommation humaine n'ont pas de conséquences toxiques pour l'homme, mis à part la perception de goût pour des valeurs en $\text{Cl}^- > 250$ mg/l.

Cependant, les eaux chlorurées peuvent être préjudiciables aux personnes atteintes de maladies rénales ou cardio-vasculaires, en particulier si ces eaux sont sodiques.

➤ Les bicarbonates (HCO_3^-)

La teneur des bicarbonates dans l'eau dépend des terrains traversés ⁽¹⁹⁾. Les normes algérienne ne fixent aucune valeur pour ce paramètre puisque, quelles que soit les teneurs en bicarbonates la potabilité n'est pas affecté.

L'eau de la source à une teneur élevée en bicarbonates par rapport aux ions considérés. Cette teneur confirme son origine bicarbonatée.

➤ Les sulfates (SO_4^{2-})

La valeur des sulfates trouvée pour les échantillons d'eau brute et traitée de Sidi-el-abdali est comprise entre 113.5 et 104.1 mg/l, elle est inférieure à la concentration maximale admissible décrétée par les normes algériennes 400 mg/L. et même inférieure au niveau guide évalué à 200 mg/L, et les autres eaux étudiées restent dans le cadre réglementaire.

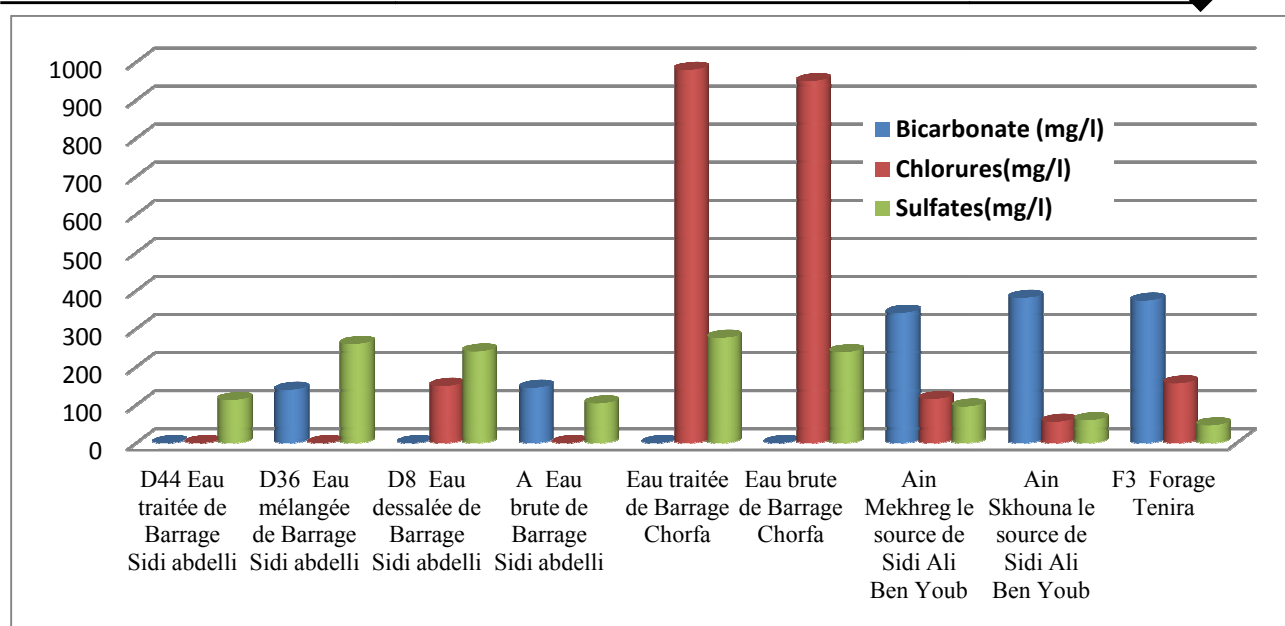


Figure 53. La teneur en bicarbonate, Chlorure et Sulfates dans les eaux

➤ L'Orthophosphate (PO_4^{3-})

Des teneurs supérieures à 0.5 mg/l doivent constituer un indice de pollution. Ce n'est pas le cas pour nos eaux étudiées, nous avons trouvé une teneur comprise entre 0.03 et 0.09 mg/l ; Elle est inférieure aux normes prescrites par la réglementation algérienne qui fixent une valeur maximale admissible de 0.5 mg/l. sauf l'eau brute de Chorfa, nous avons trouvé une valeur maximale à la valeur préconisée par la réglementation de notre pays 0.93 mg/l donc on doit traiter l'eau avant son utilisation.

➤ Les nitrites (NO_2^-)

Les nitrites sont les indicateurs de la pollution. Elles proviennent soit d'une oxydation incomplète de l'ammonium soit d'une réduction des nitrates. Les normes algériennes indiquent une valeur maximale de 0.1 mg/l, la valeur enregistrée de nitrite pour les eaux étudiées de Sidi-el-Abdelli est inférieure à 0.06 mg/L ce qui répond aux normes mais la valeur enregistrée pour le barrage de Chorfa à une valeur maximale à la valeur préconisée par la réglementation de notre pays, soit 0.25 et 0.86 mg/l.

➤ Les nitrates (NO_3^-)

La concentration en nitrate dans les eaux souterraines est normalement basse, mais peut atteindre des niveaux élevés en raison de l'écoulement agricole, l'écoulement de décharge d'ordures, ou de contamination avec les déchets d'animaux ou d'humains.

Pour l'eau étudiée, la valeur des nitrates obtenue est supérieure à la norme prescrite, elle est comprise entre 0.02 et 45 mg/l. Donc, elle est de qualité médiocre par rapport à La réglementation algérienne qui recommande pour les eaux naturelles une valeur limite de 50 mg/L

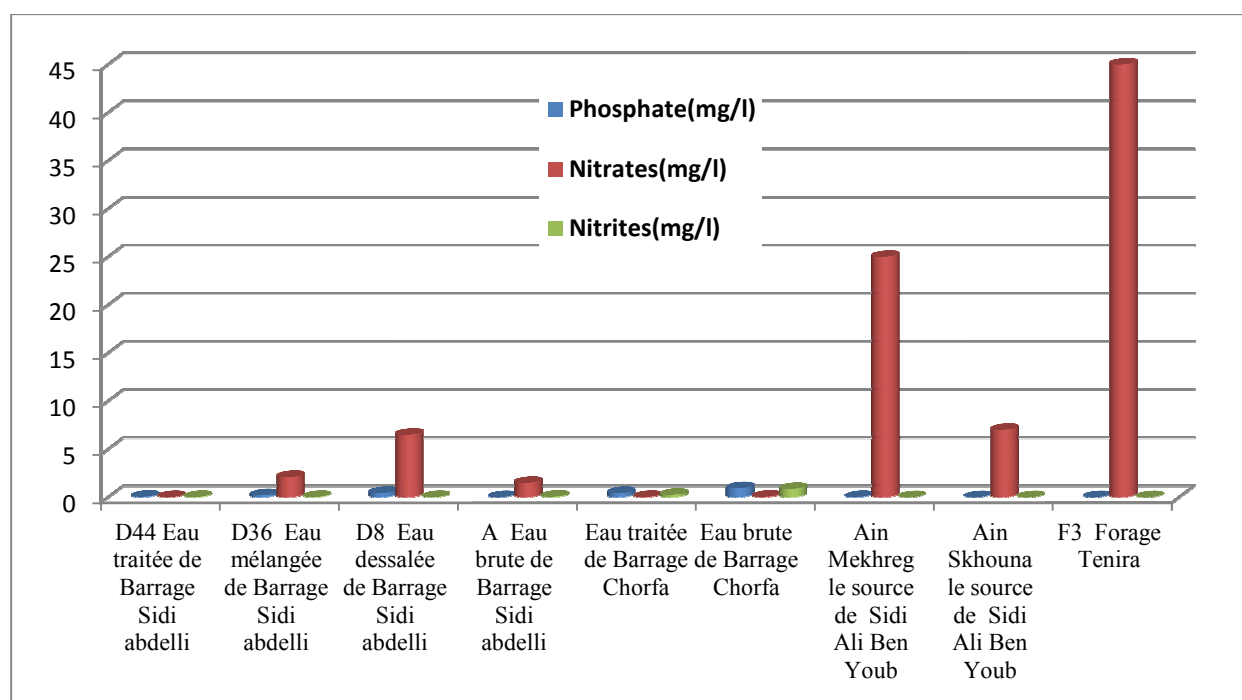


Figure 54. La teneur en phosphates, nitrites et nitrates dans les eaux de Sidi Bel Abbes

➤ L'alcalinité et la dureté totale

La dureté est un caractère naturel lié au lessivage des terrains traversés et correspond à la teneur en calcium et en magnésium ⁽¹⁶⁴⁾.

Pour l'eau destinée à la consommation humaine. La réglementation algérienne préconise la valeur de l'alcalinité 500 mg/l de CaCO_3 (50°F) et la valeur de la dureté comprise entre 100 et 200 mg/l de CaCO_3 (10 et 20°F).

Les valeurs de la dureté trouvées pour nos échantillons sont comprises entre 11.3 et 20 °F (113 et 200 mg/l de CaCO_3). Donc on peut dire que les eaux étudiées sont conforme à la réglementation. L'alcalinité est modérée pour l'ensemble des eaux de source et les eaux de forages échantillonnés.

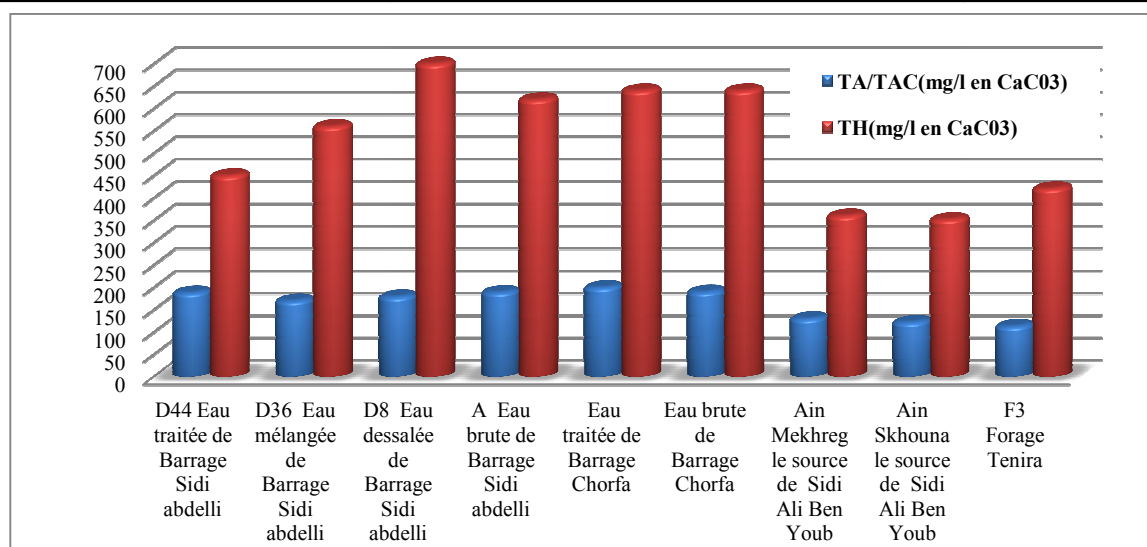


Figure 55. Le titre hydrotimétrique et le rapport de TA/TAC

I.2. Les paramètres microbiologiques

I.2.1. Résultats : Les analyses bactériologiques de l'échantillon de l'eau de robinet de la commune d'Oued-Sefioun ont été effectuées au niveau du laboratoire ADE de SBA, et consiste à la recherche des *Coliformes totaux et fécaux*, des *Streptocoques fécaux*, des *Clostridium sulfito-réducteurs* et des germes totaux. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau suivant

Tableau 09. Les résultats des analyses microbiologiques de l'échantillon pour l'eau de robinet d'Oued-Sefioun.

Paramètres	1 ^{er} prélèvement 15/06/2012	1 ^{er} Prélèvement 16/06/2012	1 ^{er} Prélèvement 18/06/2012	Normes algériennes
	robinet	robinet	robinet	
Coliformes totaux	Absence	Absence	Absence	00
Coliformes fécaux	Absence	Absence	Absence	00
Streptocoques fécaux	Absence	Absence	Absence	00
Clostridium sulfito-réducteurs	Absence	Absence	01	02
Germes Totaux à 37 °C	02	Absence	Absence	<10
Germes Totaux à 22 °C	08	13	04	<100

I.2.2. interprétation des résultats

➤ Germes totaux

Le dénombrement des germes totaux est considéré comme un type d'indicateurs beaucoup plus générale, vis-vis de toute pollution microbiologique : c'est le dénombrement total des bactéries.

Dans notre cas l'eau de processif 04 germes/ml à 22°C et 10 germes/ml à 37°C. Ils restent toutes fois conformes aux normes prescrites par la réglementation algérienne. « 10 germes par ml à 37°C et 5 germes par ml à 22°C »).

➤ Coliformes totaux et fécaux

Selon la réglementation algérienne, une eau potable ne doit pas contenir des coliformes totaux dans 100 ml, la même exigence porte sur les coliformes fécaux. C'est le cas de notre eau où on a constaté l'absence des coliformes totaux témoigné par l'absence des tubes positifs ce qui a confirmé l'absence des coliformes fécaux et en particuliers *Escherichia Coli*. Ceci démontre que cette eau est conforme aux normes concernant les coliformes.

➤ Les streptocoques fécaux

La réglementation de notre pays exclue impérativement la présence des streptocoques fécaux dans 100 ml, c'est aussi le cas de notre eau où on constate l'absence totale des streptocoques fécaux dans l'eau étudiée. Ceci est conforme aux normes de potabilité concernant ce paramètre.

➤ Clostridium sulfito- réducteurs

Selon la réglementation algérienne, une eau potable ne doit pas contenir des clostridium sulfito-réducteurs dans 20 ml, et l'absence de colonies noires entourées d'un halo noir. L'échantillon montre que notre eau est exempte de spores de clostridium sulfito-réducteurs, ce qui répond aux normes.

Conclusion :

A la suite des résultats des analyses réalisées sur l'eau des principaux forages et principales sources exploités pour l'alimentation en eau potable au niveau de la wilaya de Sidi Bel Abbés, nous avons constaté que:

- La qualité physico chimique des eaux superficielle est conforme aux normes de potabilité.

- La qualité des eaux souterraines est dégradée par une contamination azotée, particulièrement, pour les eaux des sources Sidi Ali Ben Youb (Ain Mekhreg, Ain Skhouna) et la nappe de Tenira qui a probablement pour origine les pratiques de fertilisation agricole, accompagnées de teneurs excessives en chlorures dû probablement à la nature du terrain traversé.

- L'analyse bactériologique des eaux de robinets étudiées (eau d'Oued Sefioune) n'a révélé aucune contamination bactériologique durant 3 jours d'étude ce qui témoigne de l'efficacité du traitement de désinfection au niveau du réseau de distribution de cette commune

En conséquence, il est vivement recommandé une surveillance accrue ponctuée par un contrôle rigoureux et régulier tout au long de l'année de cet élément vital, sachant que l'eau est un milieu favorable à la prolifération de germes et autres organismes pathogènes vivants quand elle est polluée par de la matière organique.

Concernant les milieux aquatiques ayant fait l'objet d'analyse, nous avons trouvé des microorganismes dont des bactéries pathogènes. La mise en évidence de ces germes est l'indicateur de contaminations d'origine fécale et les mesures de protection et de dépollution sont impératives.

Face à cette situation, l'usage des polymères antimicrobiens permet de résoudre cette problématique aux conséquences graves sur les populations. Donc cette optique notre étude s'intéresse à élaborer des poly(ester-amide)s pour la purification des eaux contaminées.

II. Caractérisation des polymères synthétisés

II.1. Caractérisation de la bizoxazolines

L'obtention de polymères de masse molaire supérieure à 10000 est difficile par les méthodes classiques de polycondensation comme les réactions en masse entre diacides et diols ou diamines.

L'utilisation d'un coupleur de chaîne donnant une réaction de polyaddition rapide avec les extrémités réactives d'oligomères fonctionnelles permet de palier ces inconvénients en diminuant les températures et les temps de réaction.

Différentes bisoxazolines ont été utilisées dans des réactions de polyaddition avec les diacides carboxyliques. Il n'y a pas à notre connaissance d'étude de ce type de réaction en masse pour notre bisoxazoline BBO.

Dans l'étude bibliographique nous avons montré les différentes méthodes de préparation des cycles imino-éther. Dans ce travail, nous nous intéressons exclusivement à la structure 2-oxazoline, la plus usuelle et qui permet d'atteindre la structure amide-ester dans la chaîne principale par réaction d'ouverture de cycle avec un acide carboxylique.

La formation de 2-oxazoline à partir d'un dérivé nitrile se fait par condensation de ce dernier avec un aminoalcool. La réaction est réalisée en masse et en chauffant à 100-130°C, des meilleurs rendements sont obtenus avec une quantité catalytique de sel métallique. ⁽¹²⁷⁾ Pour obtenir des bisoxazolines, la synthèse est réalisée dans les mêmes conditions opératoires mais à partir d'une mole de dinitrile avec deux moles d'aminoolcool toujours en présence d'un catalyseur.

II.1.1. Tests de solubilité

La solubilité de BBO préparé a été testée dans différents solvants disponibles au laboratoire. Les résultats des tests de solubilité sont regroupés dans le tableau suivant,

Tableau 10. Solubilité de la BBO dans différents solvants usuels

Solvant	BBO	
	A froid	A chaud
Eau H ₂ O	insoluble	insoluble
Ethanol CH ₃ CH ₂ OH	soluble	soluble
THF(Tetra hydro furane) C ₄ H ₈ O	soluble	soluble
Toluène	insoluble	insoluble
Heptane C ₇ H ₁₆	insoluble	insoluble
Chloroforme CDCl ₃	insoluble	insoluble
DMSO	soluble	soluble

Les résultats montrent que le BBO est soluble dans des solvants polaires tels qu'Ethanol, DMSO et apolaire tel que THF, mais insoluble dans l'eau, Toluène, Heptane, et chloroforme.

II.1.2. Analyse par spectroscopie infrarouge (IR)

L'analyse du spectre FTIR (figure 56) montre l'absence des deux bandes 1590 cm⁻¹ et 2200 cm⁻¹ correspondant respectivement aux (N-H) de l'éthanolamine (EA) et (C≡N)

de d'Adiponitrile (AN). Nous indique que les fonctions nitriles d'Adiponitrile ont bien réagi

L'apparition de la bande à 1638.77 cm^{-1} met en évidence la présence d'une bande de valence de la fonction C=N et la présence d'une bande à 1432.38 cm^{-1} caractérisant les CH_2 (s) de l'oxazoline.

Un pic très apparent à 1549.68 cm^{-1} la présence d'une bande valence de la CH_2 .

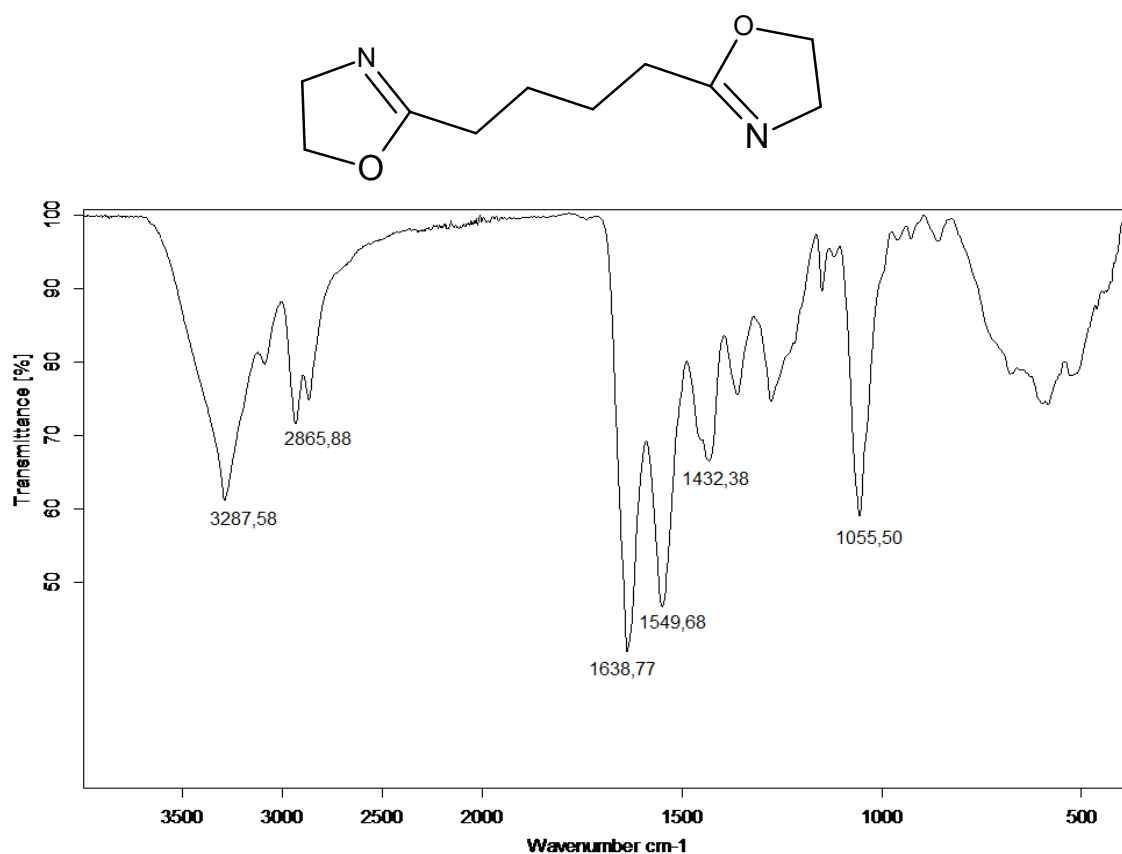


Figure 56. Spectre FTIR de la BBO.

II.1.3. Analyse par résonance magnétique nucléaire

Les spectres RMN a été réalisés à température ambiante dans le DMSO-d_6 (sans TMS) sur une solution contenant de 10 mg de BBO.

Par RMN ^1H :

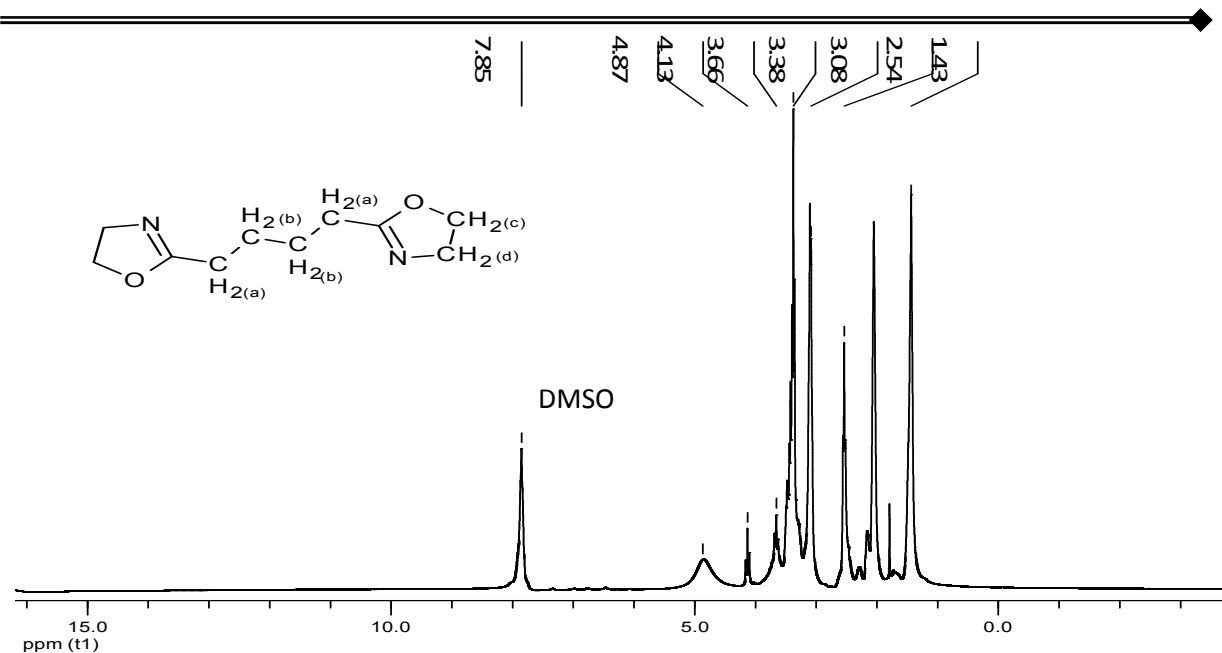


Figure 57. Spectre RMN^1H de la BBO dans le DMSO-d_6 .

L'étude spectroscopique par RMN^1H montre l'existence de deux groupements méthylène différents, les hydrogènes proches ($\text{CH}_{2(d)}$) de l'azote plus blindés que les hydrogènes ($\text{CH}_{2(c)}$) avoisinant l'oxygène sont caractérisés par des triplets à des déplacements chimiques respectives : 4.13 à 4.87 ppm.

Vu la symétrie de cette molécule, les hydrogènes ($\text{CH}_{2(a)}$), ($\text{CH}_{2(b)}$) ayant un environnement identique seront les plus déblindés et auront le signal à 2.54 ppm et 1.43 ppm. Les autres pics sont attribués à l'éthanolamine (3.08 ppm).

Par RMN^{13}C :

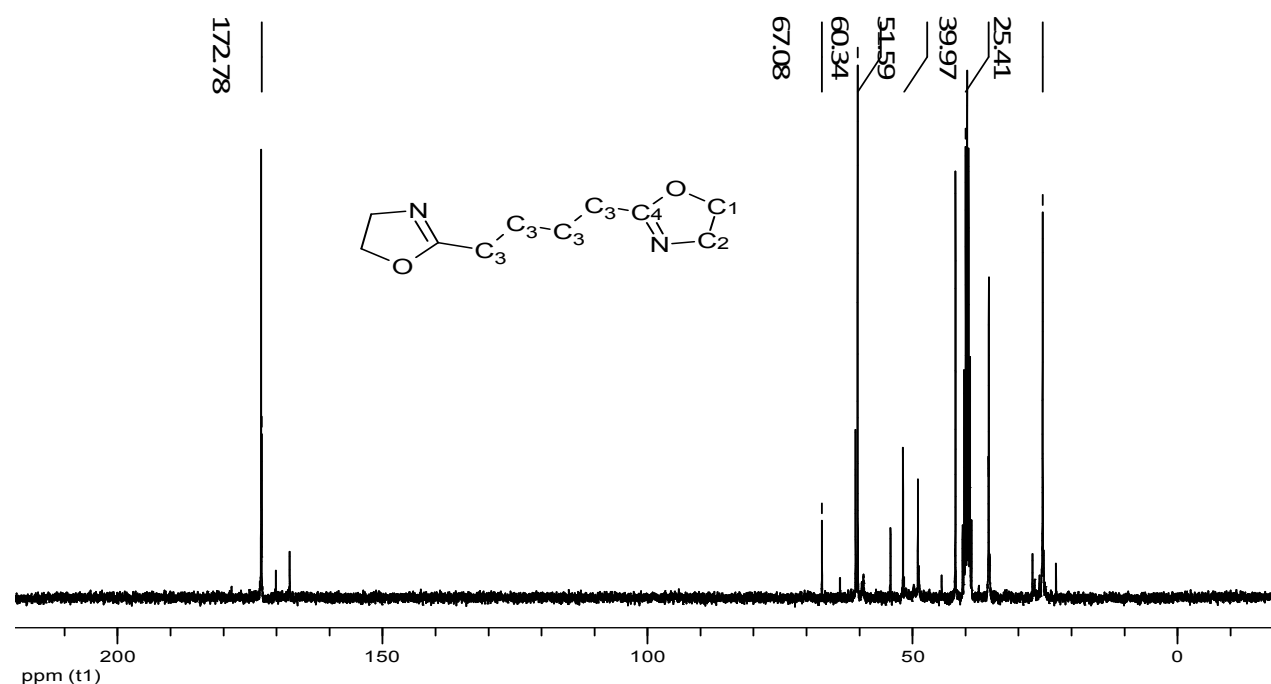


Figure 58. Spectre RMN^{13}C de la BBO dans DMSO

L'analyse du spectre RMN¹³C indique la présence de quatre carbones distincts. Le C4 est le carbone le plus déblindé étant voisin avec un hétéroatome, il apparaîtra à 172.78 ppm.

Le carbone C2 donne un signal à 51.59 ppm et le carbone C1 proche d'un azote présente un pic à 67.081 ppm. Les carbones aliphatiques C3 à 25.41 ppm, il sera le carbone le moins déblindés.

Tableau 11 : Attribution de déplacements chimiques des signaux en RMN¹H et ¹³C de la BBO

RMN ¹ H		RMN ¹³ C	
Attribution	δ ppm / TMS	Attribution	δ ppm / TMS
Ha	2.54	C2 (sp3)	51.59
Hb	1.43	C3 (sp3)	25.41
Hc	4.13	C1 (sp3)	67.081
Hd	4.87	C4 (sp2)	172.78

II.2. Caractérisation de la PEAd

A fin de pouvoir coupler des chaînes des polyesters avec une insertion de liaison amide à l'intérieur de la chaîne principale, une condition est nécessaire, c'est d'avoir des polyesters avec des terminaisons fonctionnelles qui peuvent réagir facilement avec des coupleurs de chaînes.

Dans notre étude nous avons étudié la polymérisation directe de polyesters poly(éthylène adipate). La synthèse du PEAd rentre dans le cadre de la polycondensation puisqu'il s'agit d'une réaction entre l'acide adipique (diacide) et l'éthylène glycol (diol) où l'eau est formée en tant que produit secondaire. Plus précisément, il s'agit d'une polyestérification qui est une réaction équilibrée et le déplacement de l'équilibre réactionnel se fait simplement par élimination de l'eau formée au cours de la réaction par l'action de la chaleur et ou en appliquant un vide dans le milieu réactionnel. Les polyesters obtenus sont des polymères voire des oligomères avec des chaînes à terminaisons carboxyliques pouvant réagir plus facilement dans les réactions de couplage avec des bisoxazolines, pour obtenir un poly(ester-amide) avec de bonnes propriétés thermiques et mécaniques, d'où l'intérêt de réaliser ce type de réactions.

II.2.1. Tests de solubilité

Les résultats montrent que :

- Le Poly(éthylène adipate) préparé est soluble dans quelques solvants organiques (le THF est un solvant apolaire aprotique, le chloroforme et DMSO sont des solvants polaires).
- Le PEAd est un polymère insoluble dans l'eau ce qui confère un caractère hydrophobe.

Tableau 12. Solubilité de la PEAd dans différents solvants usuels

Solvant	PEAd	
	A froid	A chaud
Eau H ₂ O	insoluble	insoluble
Ethanol CH ₃ CH ₂ OH	insoluble	insoluble
THF(Tetra hydro furane) C ₄ H ₈ O	soluble	soluble
Toluène	insoluble	insoluble
Heptane C ₇ H ₁₆	insoluble	insoluble
Chloroforme CDCl ₃	soluble	soluble
DMSO	soluble	soluble

II.2.2. Analyse par spectroscopie infrarouge (IR)

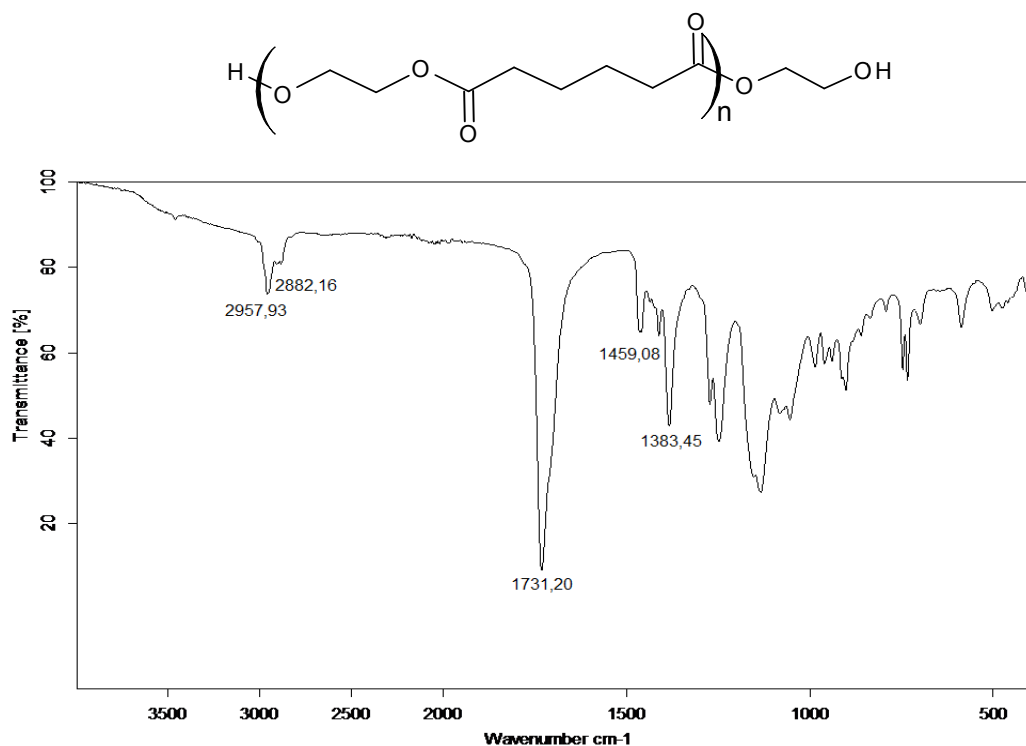


Figure 59 : spectre FTIR de la PEAd.

l'analyse du spectre FTIR montre :

la présence d'une forte bande d'absorption de vibration à 1731.20 cm^{-1} caractérisant de groupe C=O (ν C=O) de la fonction ester aliphatique.

La présence d'une forte bande de déformation (δ C-O) vers $1179,46\text{ cm}^{-1}$ caractéristiques des esters aliphatiques.

la présence de deux bandes d'élongation (ν CH₂) asy à $2941,26$ et (ν CH₂) sy à $2864,91\text{ cm}^{-1}$ caractéristiques des groupes méthylènes de la poly(éthylène adipate).

II.2.3. Analyse par résonance magnétique nucléaire

Le spectre RMN ^1H et RMN ^{13}C sont réalisés dans le chloroforme deutéré (CDCl_3) pour un échantillon de 10 mg de PEAd

Par RMN ^1H :

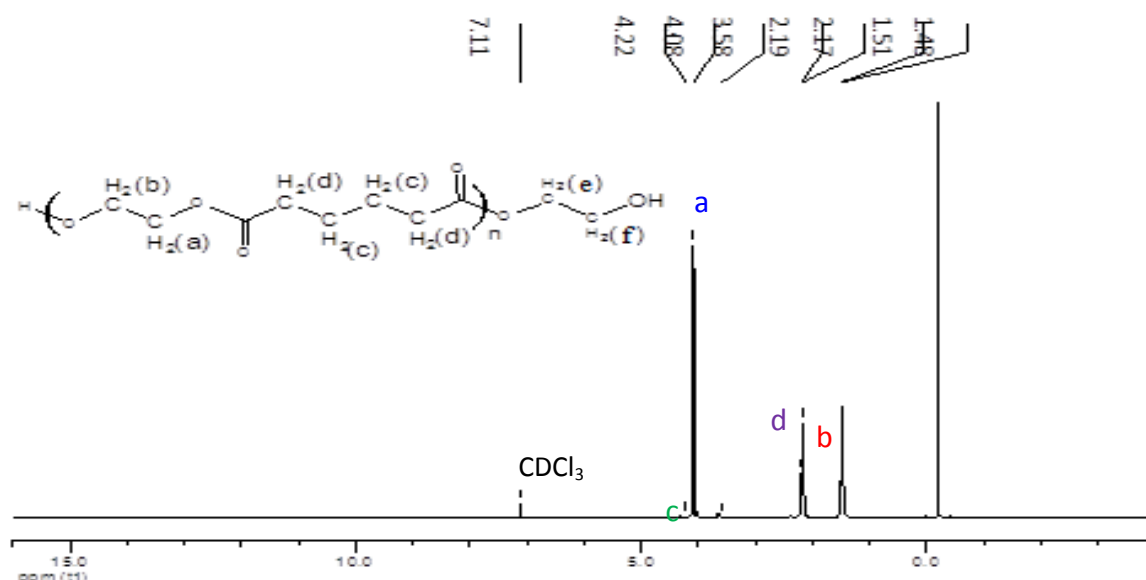


Figure 60. Spectre RMN ^1H du PEAd dans le CDCl_3 .

Le spectre RMN ^1H du PEAd représenté dans la Figure 49 met bien en évidence les déplacements chimiques des groupements méthylènes associés aux unités acides ($^d\text{CH}_2$) ($\delta = 2.19\text{ ppm}$) et alcool ($^b\text{CH}_2$) ($\delta = 1.48$).

L'oxygène étant plus électro-attracteur que le groupe carbonyle, les hydrogènes proches de l'oxygène ($^a\text{CH}_2$) seront plus déblindés que les hydrogènes proches de carbonyle $^d\text{CH}_2$ vers 4.08 ppm.

Quant aux autres groupes $^e\text{CH}_2$, $^f\text{CH}_2$ restants, ils ne subissent que très peu d'influence de l'oxygène ou du groupe carbonyle.

Par RMN¹³C :

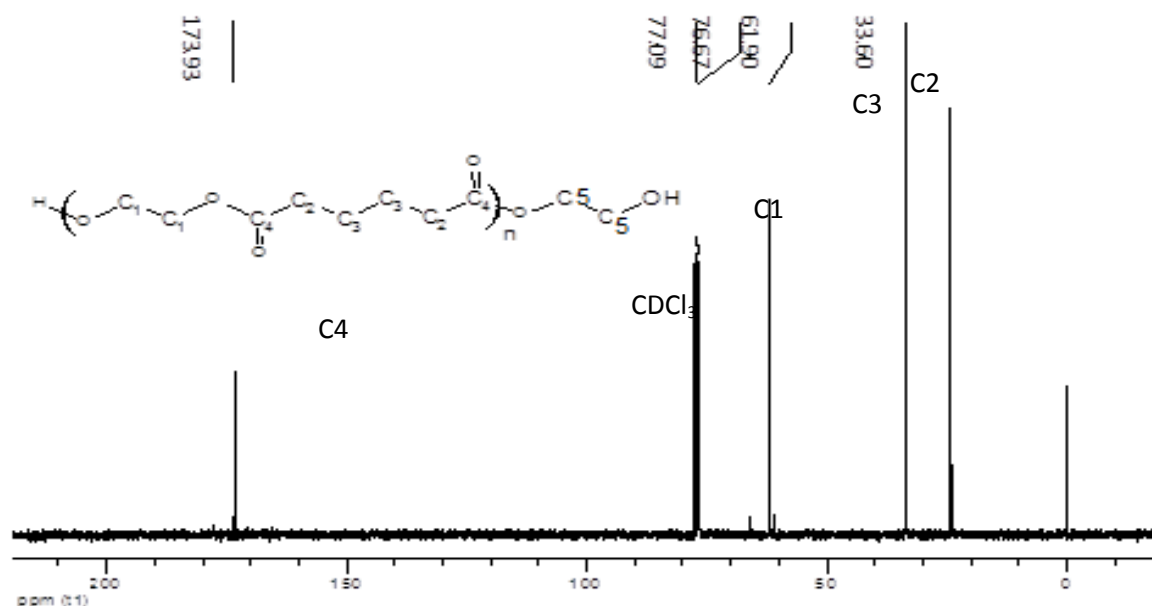


Figure 61. Spectre RMN¹³C de PEAd dans CDCl₃.

Nous remarquons la présence de pic à 173.09 ppm confirmant la présence des fonctions esters.

Tableau 13. Attribution de déplacements chimiques
Des signaux en RMN¹H et ¹³C de la PEAd

RMN ¹ H		RMN ¹³ C	
Attribution	δ ppm / TMS	Attribution	δ ppm / TMS
^a CH	4.08	C1 (CH ₂)	64.805
^b CH	1.48	C2 (CH ₂)	33.744
^c CH	1.51	C3 (CH ₂)	24.15
^d CH	2.19	C4 (CO ester)	173.09

II.3. Caractérisation de la PEA1

Dans cette partie de notre travail nous nous sommes intéressés au couplage de polyester préparé et l'acide adipique par la bisoxazoline (BBO).

Les réactions de couplages présentent beaucoup d'avantages en les comparants à la polycondensation conventionnelle entre les extrémités de chaînes des oligomères et leurs réactivités l'un vis-à-vis de l'autre, la réaction peut être courte à une température basse et sans formations de sous-produits, et les polymères obtenus sont de fortes masses moléculaires.

II.3.1. Tests de solubilité

La solubilité des poly(ester-amide)s préparés a été testée dans différents solvants disponibles au laboratoire. Les résultats des tests de solubilité sont regroupés dans le tableau suivant

Tableau 14. Solubilité de la PEA1 dans différents solvants usuels

Solvant	PEA1	
	A froid	A chaud
Eau H ₂ O	insoluble	insoluble
Ethanol CH ₃ CH ₂ OH	soluble	soluble
THF(Tetra hydro furane) C ₄ H ₈ O	insoluble	insoluble
Toluène	insoluble	insoluble
Heptane C ₇ H ₁₆	insoluble	insoluble
Chloroforme CDCl ₃	insoluble	insoluble
DMSO	soluble	soluble

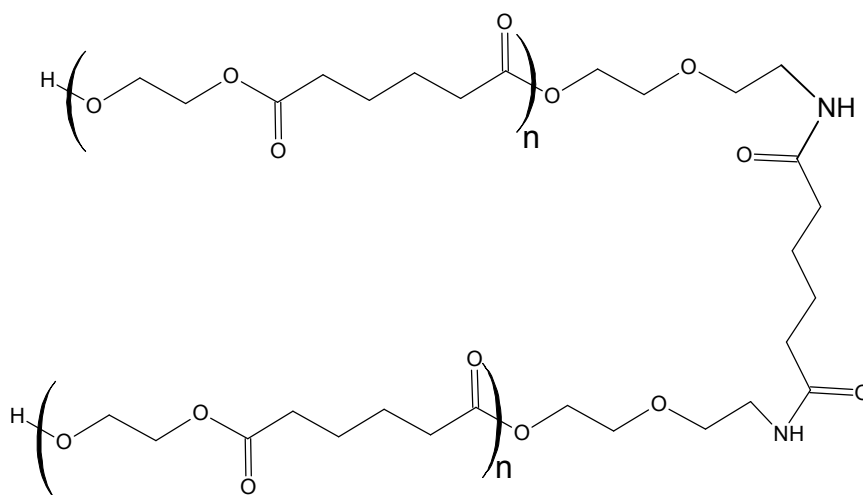
Les résultats montrent que le poly (ester-amide) PEA₁ est soluble dans quelques solvants organiques et il présente la même solubilité que la PEAd.

On constate que l'insertion de l'amide dans la chaîne du polymère n'influe pas sur la solubilité.

On constate aussi que l'augmentation des masses n'influe pas sur la solubilité de nos polymères.

II.3.2. Analyse par spectroscopie infrarouge (IR)

Le produit de la réaction du poly (éthylène adipate) avec la BBO a été caractérisé par F.T.I.R et a donné le spectre suivant :



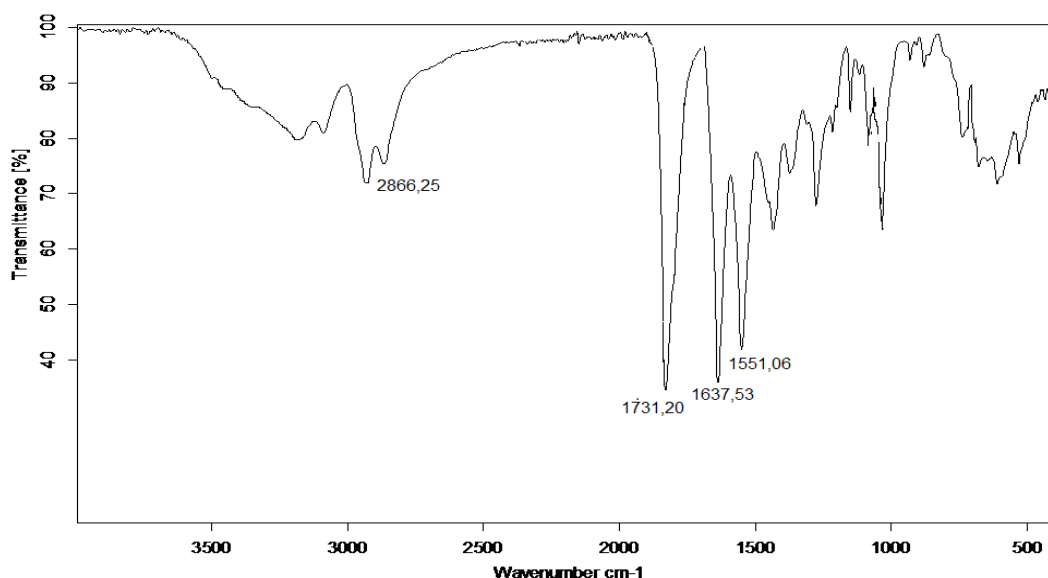


Figure 62. Spectre IR de la PEA1.

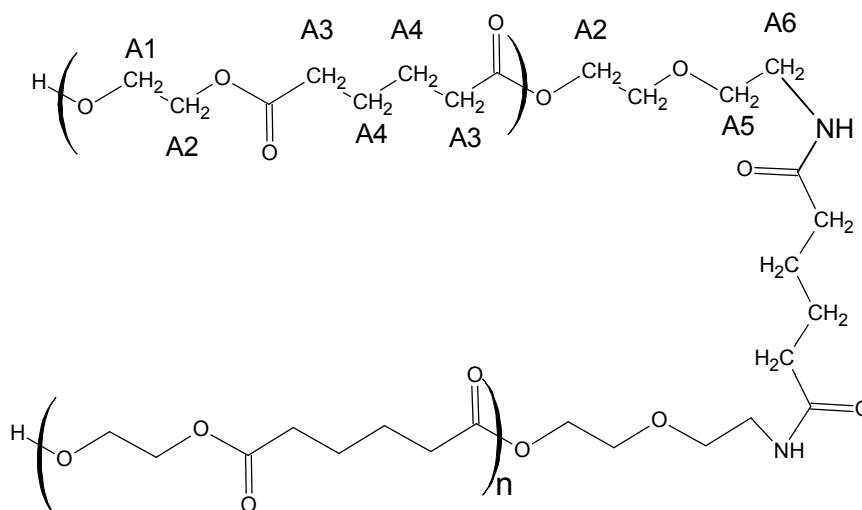
L'analyse IR montre la présence d'une bande d'absorption de vibration à 1731.20 cm^{-1} caractérisant de groupe C=O de la fonction ester linéaire.

On note aussi l'apparition de deux nouvelles bandes à 1551.06 cm^{-1} caractérisant de fonction N-H. d'autre part, la bande d'absorption qui apparaît à 1637.53 cm^{-1} est caractéristique de la liaison C=O de fonction amide.

II.3.3. Analyse par résonance magnétique nucléaire

Le spectre RMN ^1H et RMN ^{13}C sont réalisés dans le DMSO- D_6 pour un échantillon de 10mg de PEA1 obtenu par réaction de couplage entre la PEAd et la BBO pendant 2 heures.

Par RMN ^1H :



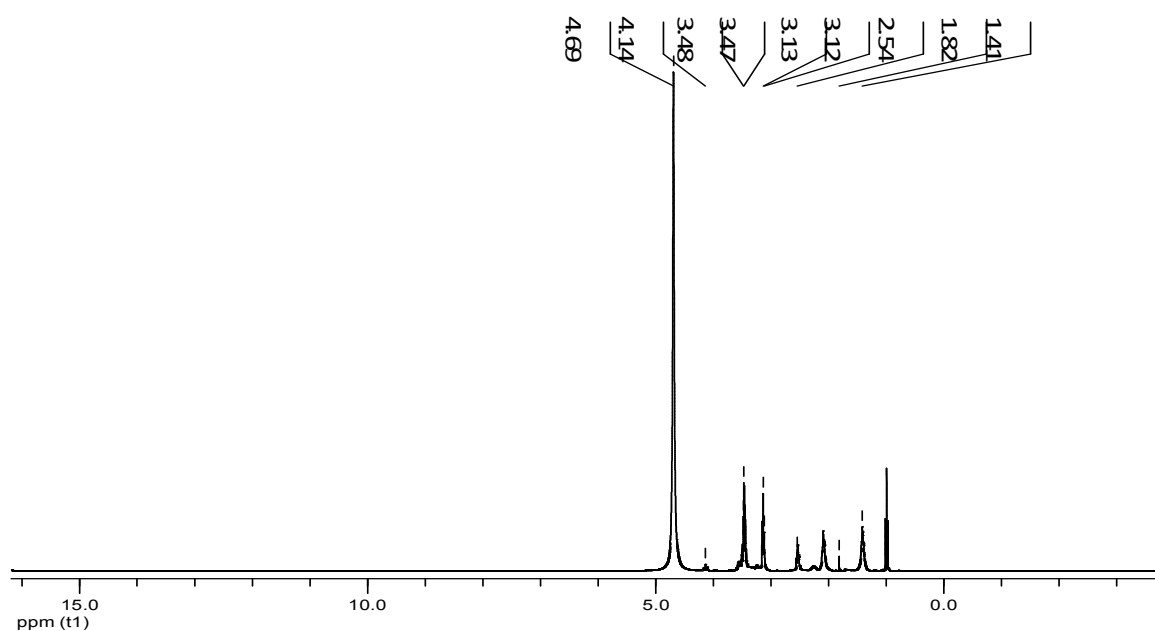
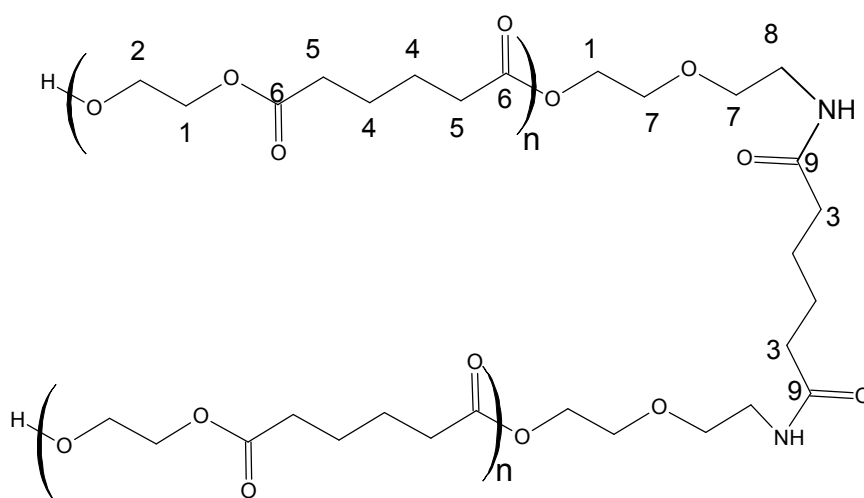


Figure 63. Spectre RMN¹H de produits de réaction entre la PEAd et la BBO (210°C, 120 min) dans DMSO-D₆.

Le spectre RMN¹H montre des signaux différents comparables à ceux obtenus pour poly (éthylène adipate). On note l'apparition d'un groupement méthylène A6 lié à une fonction amide apparaissant à un déplacement chimique de 3.472ppm. On note aussi l'existence des protons A5 à proximité de la fonction ester qui apparaît à 4.14ppm. Les protons H(A2) seront plus blindés et résonnent à 1.82ppm.

Par RMN¹³C :



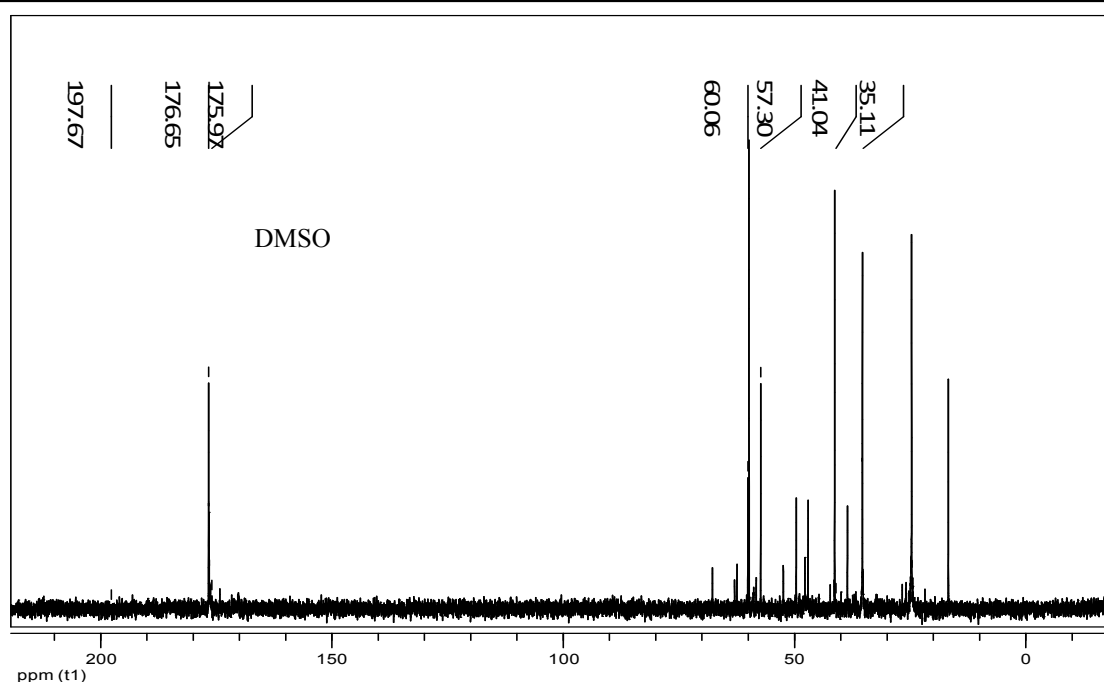


Figure 64. Spectre RMN¹³C de produits de réaction entre la PEAd et la BBO (210°C, 120 min) dans DMSO-D₆.

La polycondensation a été effectuée à 210°C à partir d'un mélange équimolaire de chaque réactif.

Les renseignements fournis par l'étude RMN¹³C sont très importants. Ils montrent qu'il y a eu réaction de couplage entre les polymères initiaux dicarboxy et le coupleur de chaîne.

D'après les spectres RMN¹³C correspondant au polyester couplé avec la bisoxazoline on constate essentiellement la présence de deux pics C=O correspondants à la fonction carbonyle du groupement amide et du groupement ester respectivement à des déplacements chimiques 175.92ppm et 176.66ppm.

D'autre part, on remarque l'apparition de deux pics vers 41.299 ppm et 59.831 ppm correspondant aux deux groupes méthylène de chaque cycle oxazoline ouvert.

Ces spectres montrent aussi l'absence des pics de la bisoxazoline libre dans le milieu réactionnel ce qui prouve que la réaction de couplage se fait par ouverture du cycle et que toute la bisoxazoline a réagi.

Les renseignements fournis par l'étude RMN¹³C et plus précisément l'absence du pic correspondant à la fonction carboxylique confirment que la réaction de couplage est réalisée par la réaction des terminaisons réactives carboxyles et hydroxyles avec la Bisoxazoline et que la réaction est totale.

Tableau 15. Attribution de déplacements chimiques
des signaux en RMN¹H et ¹³C de la PEA1

RMN ¹ H		RMN ¹³ C	
Attribution	δ ppm / TMS	Attribution	δ ppm / TMS
A1	2.27	C8	39.912
A2	1.81	C5	35.302
A3	4.691	C4	24.675
A4	2.538	C3	41.299
A5	4.135	C2	59.831
A6	3.472	C1	67.741
		C7 (CO amide)	175.96
		C6 (CO ester)	176.66

II.4. Caractérisation de la PEA2

II.4.1. Teste de solubilité

La solubilité du poly (ester-amide) préparé a été testée dans différents solvants et les résultats des tests de solubilité sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 16. Solubilité de la PEA2 dans différents solvants usuels

Solvant	PEA2	
	A froid	A chaud
Eau H ₂ O	insoluble	insoluble
Méthanol CH ₃ OH	insoluble	Insoluble
Ethanol CH ₃ CH ₂ OH	insoluble	insoluble
THF(Tetra hydro furane) C ₄ H ₈ O	insoluble	insoluble
Toluène	insoluble	insoluble
Heptane C ₇ H ₁₆	insoluble	insoluble
Chloroforme CDCl ₃	insoluble	insoluble
DMSO	soluble	soluble

Les résultats montrent que le polyesteramide PEA₂ :

- est insoluble dans la majorité des solvants organiques par conséquent son caractère hydrophobe augmente.

II.4.2. Analyse par spectroscopie infrarouge (IR)

La réaction de couplage de l'acide adipique avec la BBO a été caractérisée par F.T.I.R et a donné le spectre suivant :

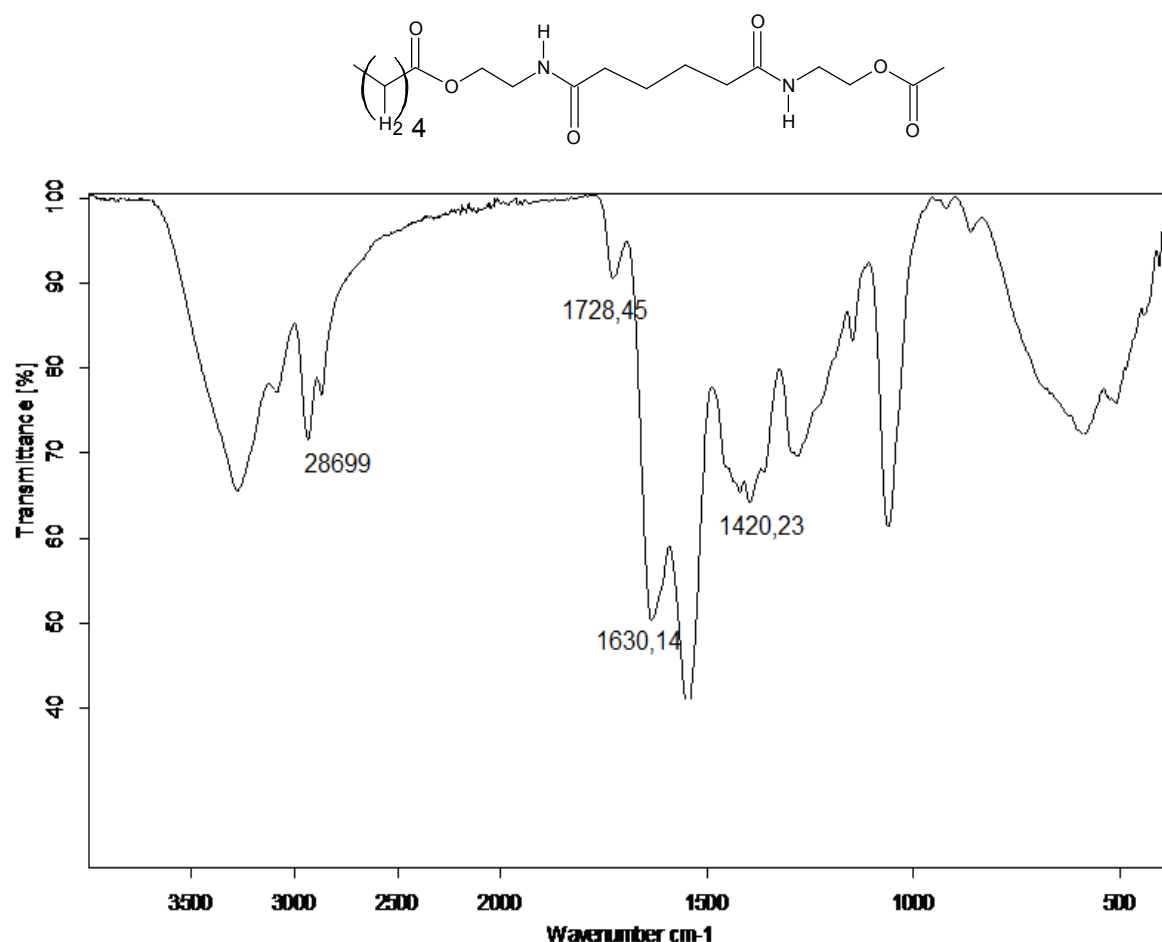


Figure 65. Spectre IR de la PEA2.

L'analyse F.T.I.R de la polyesteramide (PEA2) obtenu après 2 heures par réaction de couplage entre la bisoxazoline (BBO) et l'acide adipique montre la présence du groupement C=O à 1728.45cm^{-1} de la fonction ester.

On remarque aussi une bande à 1630.14cm^{-1} confirmant l'existence de la fonction N-H de carbonyle oxamide de la BBO ouverte.

II.4.3. Analyse par résonance magnétique nucléaire

Le spectre RMN ^1H et RMN ^{13}C sont réalisés dans le DMSO- d_6 pour un échantillon de 10mg de PEA2 obtenu par réaction de couplage entre l'acide adipique et la BBO pendant 2 heures.

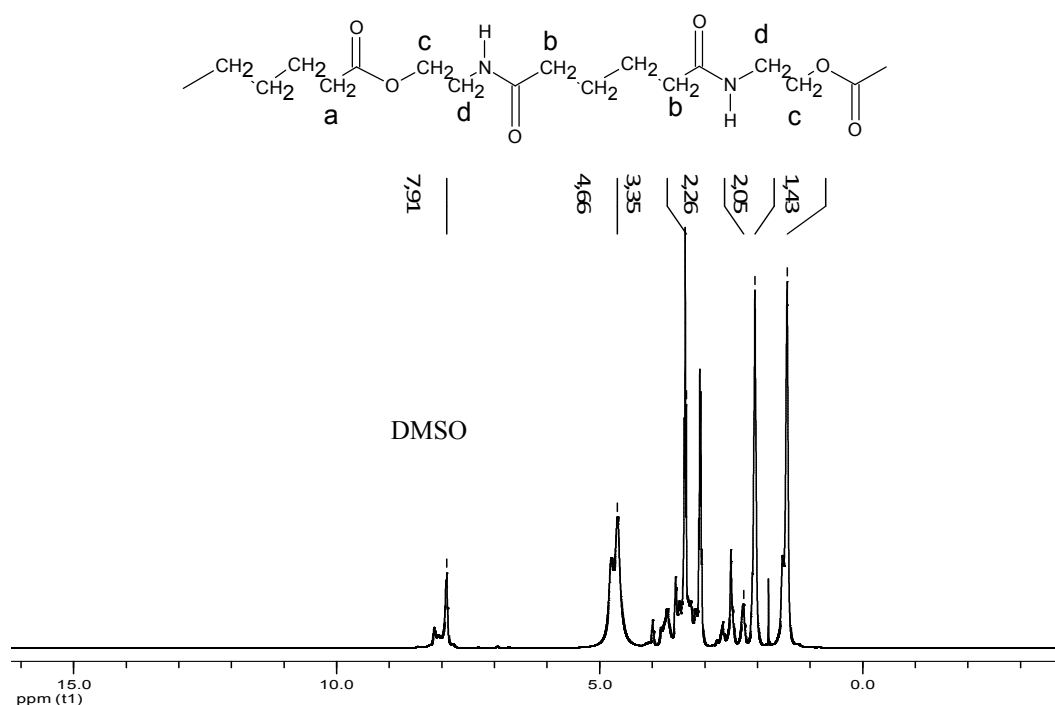
Par RMN¹H :

Figure 66. Spectre RMN¹H du PEA2 dans le DMSO-d₆.

L'interprétation du spectre RMN¹H du PEA2 montre l'apparition de signal (Hd) appaieront à 2.261 ppm. Les protons (Hc) seront plus blindés et résonnent à 1.43 ppm. On note aussi l'existence d'un groupement méthylène (Hb) lié à une fonction amide apparaissant à un déplacement chimique de 3.36ppm, les protons (Ha) à proximité d'une fonction ester apparaissent à 4.66ppm.

Par RMN¹³C

La comparaison des deux spectres RMN¹³C (Fig.58 et 59) du produit récupéré après la réaction de polyaddition de l'acide adipique et de l'acide adipique avec la BBO permet de constater la disparition partielle du pic C=O correspondant au carboxyle (174,29 ppm) (Fig. 58) et son remplacement par le pic C=O du groupement ester (172,32 ppm) (Fig.59). D'autre part, nous constatons l'apparition d'un autre pic vers 173,56 ppm et qui correspond au carbonyle oxamide de la BBO ouverte.

En revanche, on détecte bien des pics correspondants à un reste d'acide et un reste de la BBO.

Ce résultat obtenu après réaction de polyaddition nous permet de dire que la réaction de couplage a eu bien lieu entre l'acide adipique et le coupleur de chaînes. La présence

des pics correspondants aux groupes carboxyles n'ayant pas réagi montre que la réaction n'est pas totale.

Cependant aucun autre pic provenant d'éventuelles réactions secondaires ne peut être détecté.

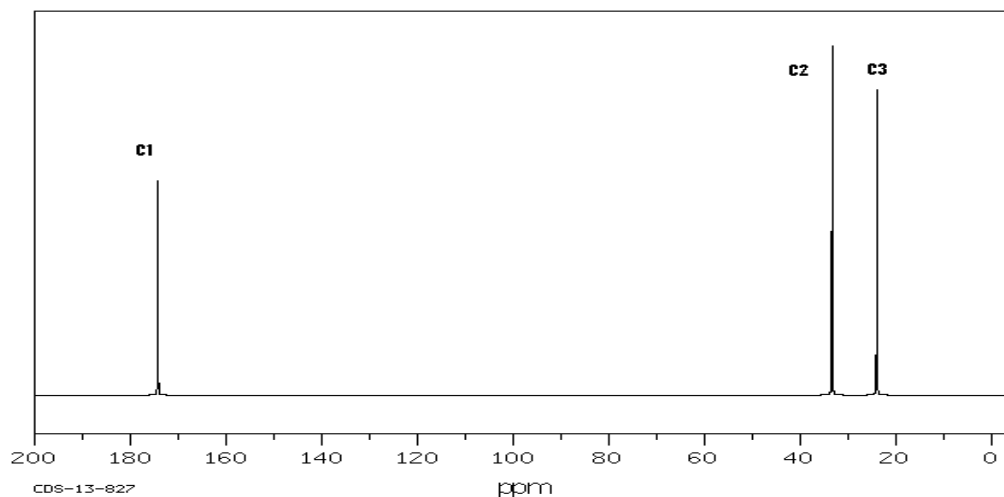


Figure 67. Spectre RMN¹³C d'acide Adipique

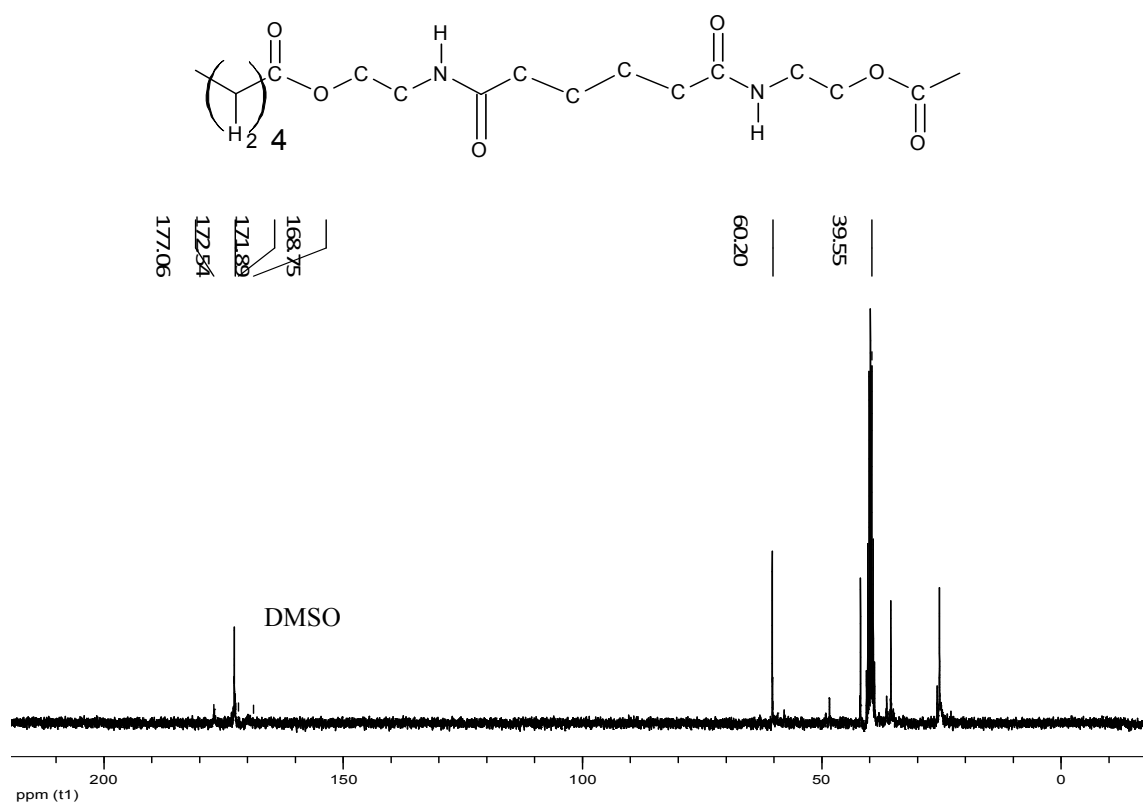


Figure 68. Spectre RMN¹³C de PEA2

(produit de réaction d'acide Adipique avec la BBO à 210°C) dans DMSO-d₆

Les attributions sont regroupées dans le tableau 17 :

Tableau 17. Déplacements chimiques et attribution des résonances RMN¹³C de produits de réaction d'acide adipique (AA) avec l'EBO.

Carbones	δ. ppm	
	AA	AA/BBO
C1(CO ester)	174,32	175,32
C2	33,53	32,95
C3	24,20	23,64
C1b	-	61,75
C2b	-	37,99
C (CO amide)	-	173,56

Conclusion

Dans ce travail, il a été réalisé la préparation de la 1,2-bis (2-oxazolinyl-2) Butane (BBO) par condensation d'éthanolamine avec l'Adiponitrile. La réaction est faite en masse en présence d'acétate de zinc dihydraté comme catalyseur afin de minimiser les réactions parasites.

Nous avons également étudié le système de polyestérification de l'acide adipique avec l'éthylène glycol, L'acide adipique (AA) réagit avec l'éthylène glycol (EG) pour donner du poly éthylène adipate (PEAd) par une réaction de condensation dans laquelle une fonction acide réagit avec une fonction alcool formant une fonction ester et libérant une molécule d'eau. Il ressort de ces diverses études que la réaction de polyestérification du PEA est assez lente, avec un temps caractéristique supérieur à l'heure.

Les réactions de couplage des polyesters avec le coupleur de chaîne (BBO) ont donné des résultats satisfaisants.

L'étude par RMN¹³C nous a permis de conclure que les réactions de couplage ont bien eu lieu par ouverture des cycles de coupleur de chaîne par les groupes COOH. L'absence de pics parasites montre que ces réactions ne sont pas accompagnées de réactions secondaires ayant une importance notable.

La réaction de couplage se produit également avec l'acide adipique mais un phénomène de sublimation perturbe la stoechiométrie et conduit à un poly(ester-

amide) possédant des extrémités carboxy. Dans le spectre RMN¹³C aucun pic ne peut être attribué à d'éventuelles réactions secondaires.

Ces résultats permettent par la suite d'utiliser la BBO comme coupleur de chaîne pour des polyesters à terminaisons diacides.

III. Résultats de la biodégradation

Le PEA a étéensemencé par *Aspergillus Niger* et *Bacillus Subtilis*, dans le milieu liquide, maintenu sous agitation rigoureuse et constante, à 30C° et le milieu gélosé a été incubé sous 30C°.

Le PEA1: Après 48 H d'incubation on a noté des gouttelettes d'eau déposées sur la surface de PEA1 dans le milieu solide avec les deux souches et un envahissement du polymère. On remarque une zone claire dans la gélose ensemencée par l'AN qu'est très apparente par rapport l'autre souche *Bacillus Subtilis* testées.

Pour le milieu liquide en ont remarqué un trouble dans les deux tubes (AN et *Bacillus Subtilis*) avec une désintégration partielle du PEA1 et un gonflement du polymère sans désintégration avec la souche *Bacillus Subtilis* dans le premier jour. Après 5 jours, le PEA1 a été désintégrée comme l'autre milieu.

PEA1a été introduit dans le milieu solide, on a noté que notre polymère n'est pas soluble dans le bouillon, une suspension bactérienne de la souche *B.S* a servie à l'inoculation du milieu solide contenant le PEA1. On a observé une zone d'hydrolyse avec envahissement du polymère par *B.S*.

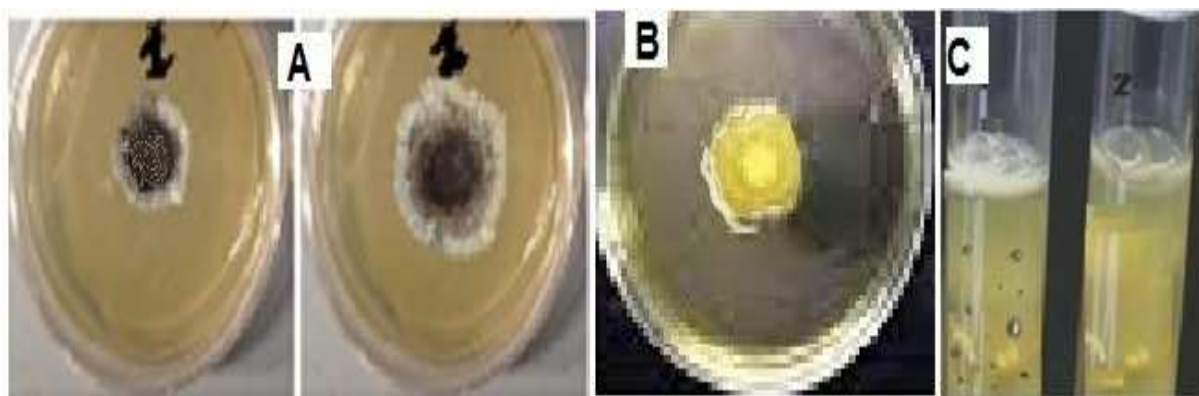


Figure 69. La dégradation du polymère PEA1 dans le milieu liquide et solide.

Le PEA2: la biodégradation a été la plus importante dans le milieu liquide ensemencé par *B.S*.

Avec AN le polymère moins désintégré. On a noté une zone d'hydrolyse pas très importante par AN, donc on conclue qu'il y a eu une activité bactérienne mais il prend du temps.

Le PEA2ensemencé par BS dans le milieu solide correspondait à un envahissement très important, il donne une zone d'hydrolyse très prononcée.

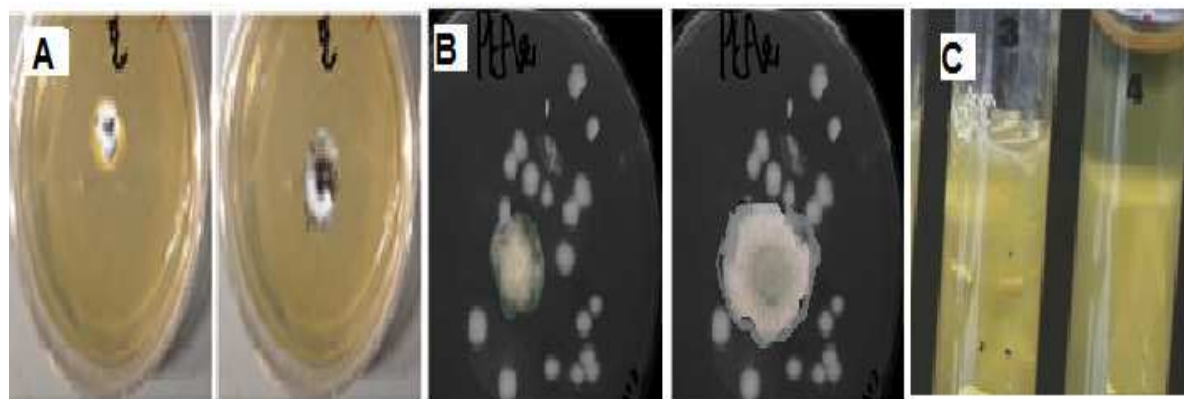


Figure 70. La dégradation du polymère PEA2 dans le milieu liquide et solide

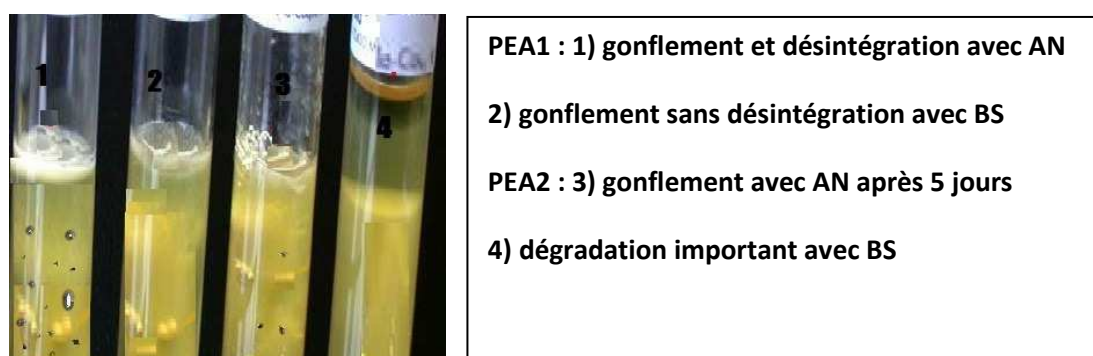


Figure 71. Les polymères ensemencés par les souches dans le milieu liquide (trouble dans les tubes)

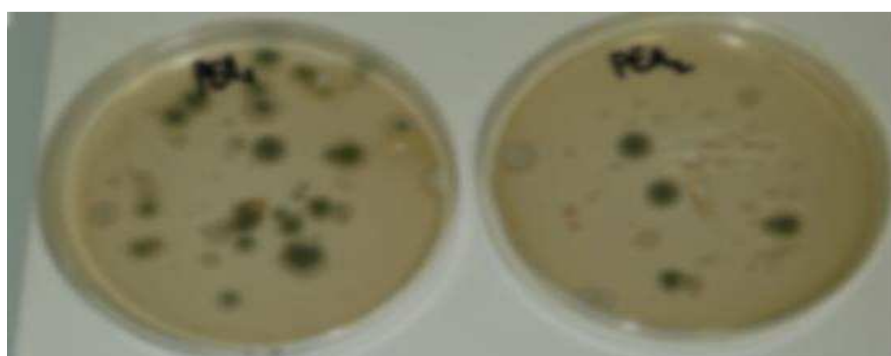


Figure 72. PEA désintégré au bout de 3 jours

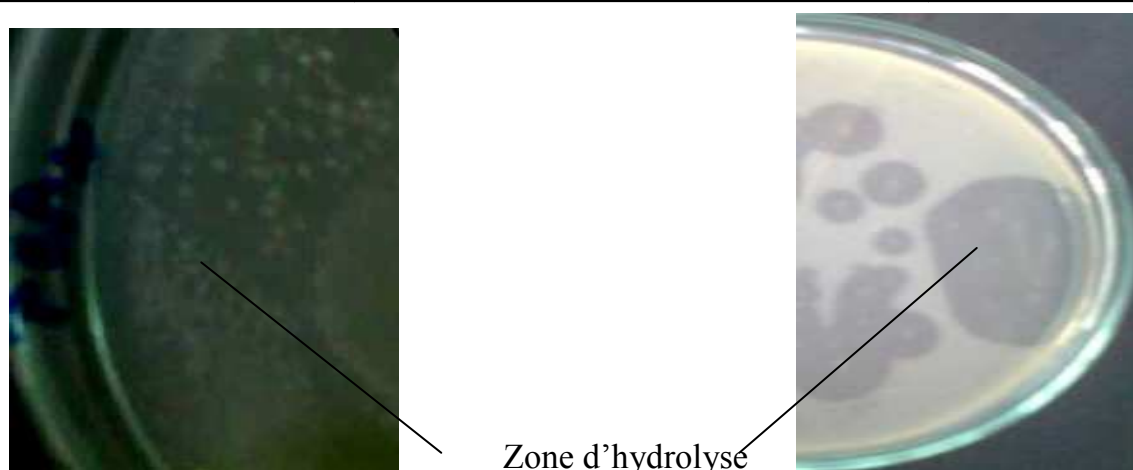


Photo 73. Polyesteramide PEA2 ensemencé par B.S zone d'hydrolyse très prononcée



Photos 74. L'envahissement observé montre un début de la dégradation du polymère PEA1 et PEA2.

Conclusion

L'étude de la dégradation de la PEA a amené à la mise au point d'un protocole de test de biodégradation en milieu solide et en milieu liquide.

A l'issue de cette étude, les procédures expérimentales de dégradation utilisées ont montré des résultats concluants.

Le milieu de culture ou le bouillon utilisé a favorisé la biodégradation de nos polymères. L'étude de la biodégradation de la PEA a montré une sensibilité aux souches testées (champignons *A. Niger* et bactéries *Bacillus Subtilis*)

La souche la plus performante a été *Bacillus Subtilis*, elle a pu dégrader le PEA2 et par déduction le PEA1.

Notre poly (ester-amide) a pu être utilisé par les bactéries comme seule source de carbone pour proliférer dans le milieu solide, puisque la zone d'hydrolyse observée et l'envahissement du polymère dans le milieu gélose contenant du glucose comme première source de carbone ont été observés dans le milieu gélosé sans glucose.

IV. Résultat et discussion d'activité antibactérienne

IV.1. L'aromatogrammes

L'activité antibactérienne des PEAs a été évaluée par la méthode de diffusion par disque contre les trois souches bactériennes: *E. coli*, *P. aeruginosa* (Gram négatif) et *S. aureus* (Gram-positif). Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 18. Activité antibactérienne des polymères : PEA1 et PEA2 après 24 h et 72 h.

Souches	Gram	PEA1			PEA2		
		24h		48h	24h		48h
		zone d'inhibition (mm)	Résultat	zone d'inhibition (mm)	zone d'inhibition (mm)	Résultat	zone d'inhibition (mm)
<i>E. coli</i>	-	21.5	S	23	16.08	S	17
<i>P. aeruginosa</i>	-	7.6	R	10	02	R	5.5
<i>S. aureus</i>	+	16	S	16	11.98	I	13

Résistante(R) <8 mm; résistance intermédiaire (I) 9-14 mm; Sensible (S) >15mm.

Trois catégories cliniques ont été retenues pour l'interprétation des tests de sensibilité in vitro : Sensible (S), Résistant (R) et Intermédiaire (I). La classification des souches est définie par le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM, 2010).

Le sulfoxyde de diméthyle (DMSO) est un solvant utilisé pour améliorer la solubilisation des PEAs. Le mélange eau distillée/DMSO (10%, v/v) sert de contrôle négatif interne. Avec un diamètre d'inhibition égal à celui du disque stérile non imprégné (6 mm), le DMSO est sans effet sur les trois bactéries à la concentration utilisée.

Les figures ci-dessous montrent les zones d'inhibition observées avec l'ensemble des bactéries pour chaque PEA au cours du temps :

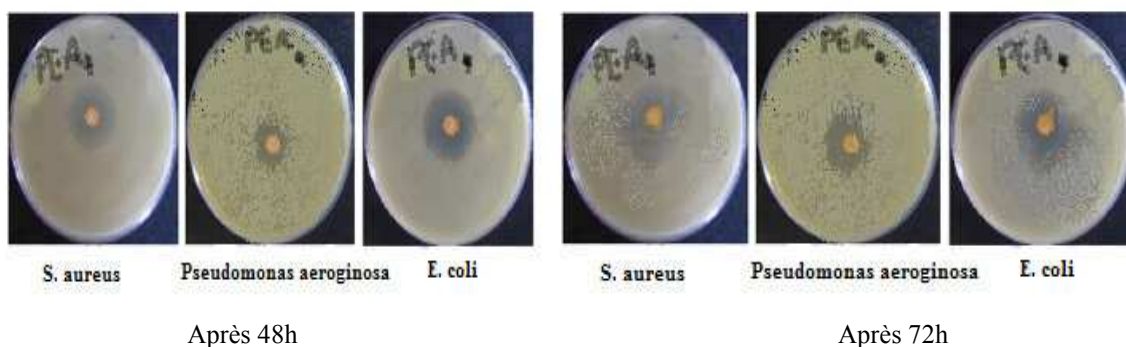


Figure 75. Photos montrant l'activité antimicrobienne de la PEA1 à l'état pur par la méthode d'aromatogramme

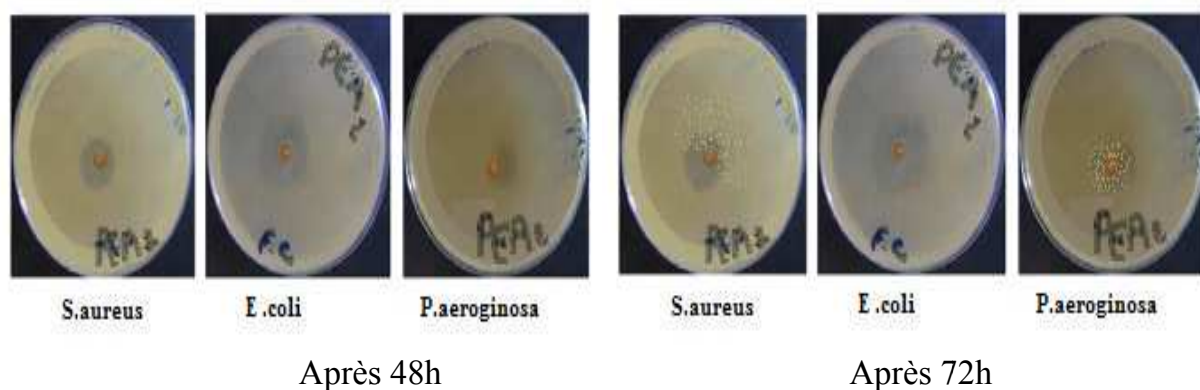


Figure 76. Photos montrant l'activité antimicrobienne de la PEA2 à l'état pur par la méthode d'aromatogramme.

Au bout de 24 h, les résultats obtenus représentent la capacité de deux poly (ester-amide) pour inhiber la croissance des micro-organismes. Les diamètres d'inhibition générés par les poly (ester-amide) sont très variables selon le polymère utilisé. Généralement; il a été constaté que le diamètre de la zone d'inhibition varie en fonction du micro-organisme testé, ainsi que la structure du polymère. Elles sont considérées comme actives si elles produisent des diamètres d'inhibition et sont généralement supérieurs à celle exercée par le mélange DMSO/eau (10%, v/v). Avec des diamètres d'inhibition inférieurs à 8 mm, les deux PEA sont peu actives contre *P. aeruginosa* (07 mm et 02 mm). En revanche, elles inhibent fortement la croissance de l'*E.coli* Avec des diamètres d'inhibition supérieurs à 15 mm. Avec un diamètre de 16 mm, le PEA1il a été démontrée la plus haute activité anti-staphylococcique et le PEA2 est peu actives contre *S. aureus* avec un diamètre d'inhibition égale à 11.98 mm.

Après 48 h, tous les polymères ont montré une augmentation de l'action inhibitrice contre tous les micro-organismes testés par rapport à leur contrôle (sans polymère). En outre, il a été observé que l'activité la plus élevée a été enregistrée pour les deux polymères contre *E. coli* avec des diamètres d'inhibition variables (23 mm et 17mm); le plus bas a été enregistré contre *P. aeruginosa* (10 mm / 5. 5mm), et la plus grande zone d'inhibition de *S. aureus* a été obtenu avec PEA1 (16mm) et 13mm avec PEA2.

La souche *E. coli* a été très sensible au deux PEA à des taux différents. En revanche, le *P. aeruginosa*, la deuxième bactérie gram négatif a montrée une résistance à ces polymères. D'autre part, *S. aureus* (bactérie gram positive) a été sensible à PEA1 et a montré une résistance intermédiaire à PEA2.

Discussion

Les polyesteramides ont modérément réduit la croissance des trois souches par la méthode des disques (diffusion sur milieu gélosé), avec des zones d'inhibitions différentes (après 48 heures d'incubation), après 72 heures d'incubation nous avons remarqué une reprise de croissance des bactéries dans la zone d'inhibition.

Suivant nos résultats, nous pouvons prétendre que les PEAs étudiées sont des agents antibactériens chimiques efficaces et peuvent être une source très importante de conservateurs utilisés pour limiter les pollutions d'origine bactérienne, notamment contre *S. aureus*, *E. coli* et *P. aeruginosa*.

On peut remarquer que ces PEAS ont un pouvoir antibactérien sur toutes les souches utilisées mais le *P. aeruginosa* moins sensibles avec PEA1 et le PEA2 n'est pas efficace sur cette souche.

IV.2. Détermination de la CMI dans le milieu liquide et solide

Le PEA inhibe la croissance des souches bactériennes utilisées dans cette étude avec des taux différents. Afin de mesurer son potentiel d'inhibition, nous avons procédé à des tests de détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) sur chacune des souches bactériennes étudiées. Ces tests ont été réalisés par la technique de macrodilution en milieu liquide et la technique de dilution en milieu solide.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été définie comme la concentration la plus faible des échantillons d'essai où l'absence de croissance a été enregistrée.

L'effet d'inhibition de la croissance a été déterminé quantitativement par le pourcentage de cellules survivantes (% de la densité optique), comme illustré dans les figures (77). Les valeurs de CMI pour ces polymères ont été déterminées en utilisant la méthode de dilution en bouillon. Nous avons considéré la concentration zéro en tant que contrôle négatif. Les concentrations de polymère ont varié de 10^{-3} et 10^{-1} mg / ml, qui a été obtenue par des dilutions en série. Chaque solution dans la série a été mélangée avec 10^5 cellules / ml de chaque micro-organisme testé.

Pour les polymères PEA1, MIC a été enregistré à $5 \cdot 10^{-3}$ mg / mL contre *E. coli*, 10^{-2} mg / ml contre *S. aureus* et 10^{-1} mg / ml contre *P. aeruginosa*. Pour PEA2, le MIC a augmenté à 10^{-2} mg / mL contre *E. coli*, $5 \cdot 10^{-2}$ mg / ml contre *S. aureus* et *P. aeruginosa*, mais est moins sensible que les deux autres, étant donné qu'une valeur de CMI plus élevée a été obtenue avec cette bactérie.

En général, les échantillons de polymère ont tué 60 à 75% à la concentration de CMI de l'effet inhibiteur qui a été modifiée en fonction de la microstructure du polymère, un agent antimicrobien, ainsi que le type de microorganismes testés comme le montre l'examen visuel, a donné lieu à (tableau 20-19).

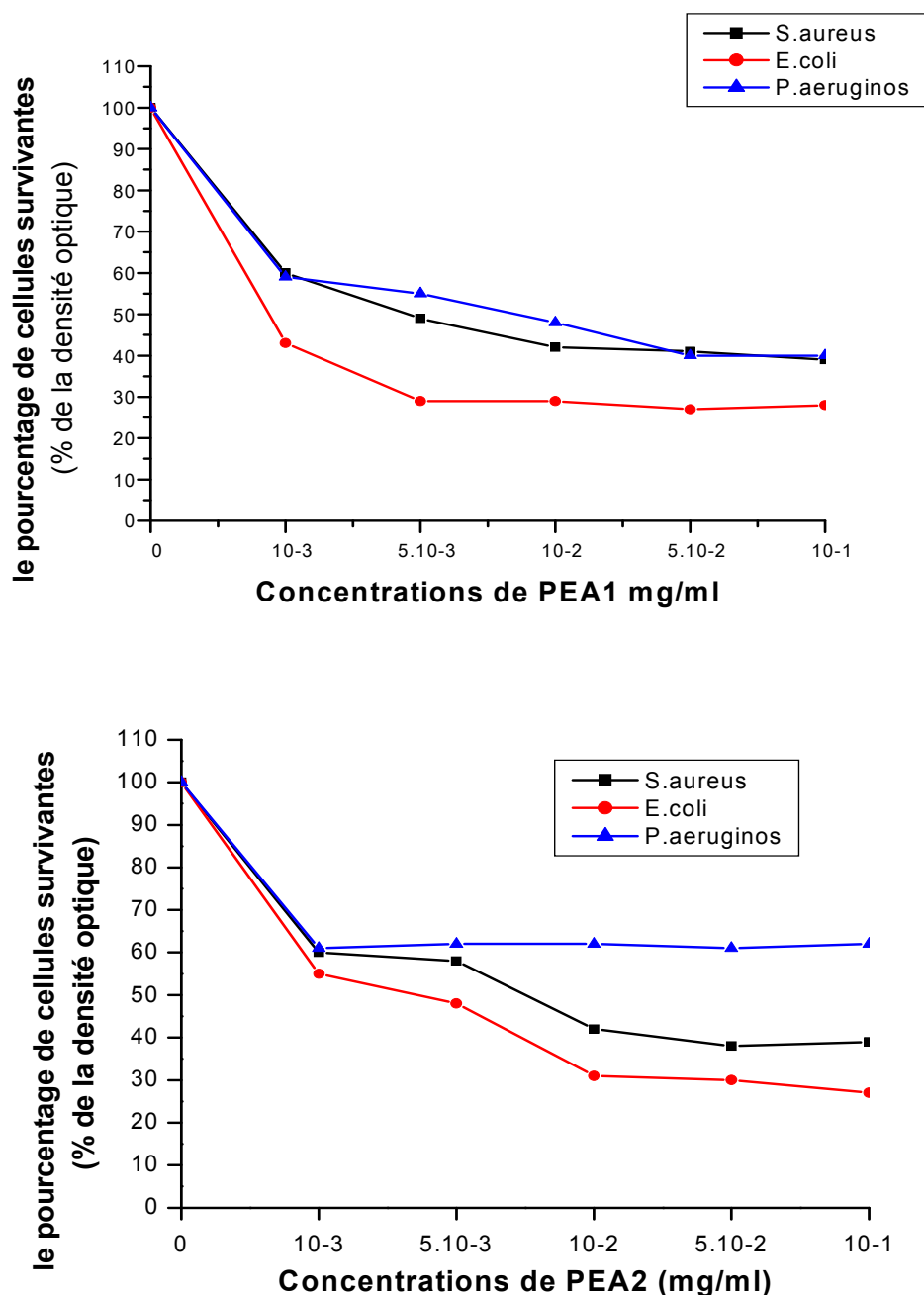


Figure 77. Inhibition de la croissance de différentes concentrations de PEA1 et PEA2 contre différents microorganismes testés.

Tableau 19. Concentration minimale inhibitrice (mg/ml)
du PEA1 sur les trois souches dans le milieu liquide.

Les souches bactériennes	Contrôle	DMSO	Concentration de PEA1 (mg/ml)				
			10^{-3}	5.10^{-3}	10^{-2}	5.10^{-2}	10^{-1}
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	+	+	+
<i>E. coli</i>	-	-	-	+	+	+	+
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	+

+: Une inhibition positive (clair)

-: inhibition négative (turbide)

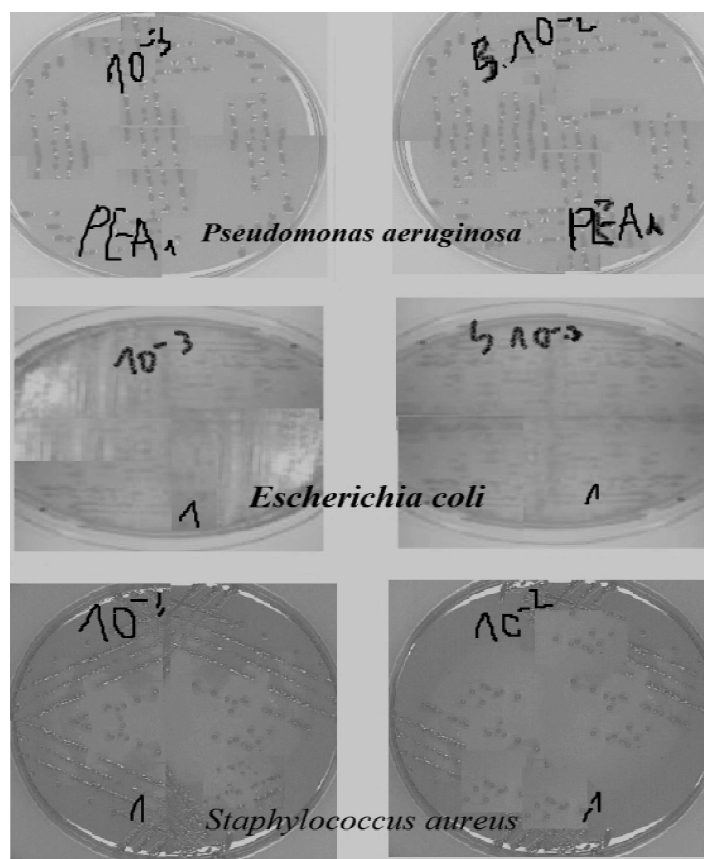


Figure 78. Concentration minimale inhibitrice
du PEA1 vis-à-vis les trois souches dans le milieu solide.

Tableau 20. Concentration minimale inhibitrice du PEA2 vis-à-vis les trois souches dans le milieu liquide.

Les souches bactériennes	Contrôle	DMSO	Concentration de PEA2 (mg/ml)				
			10^{-3}	5.10^{-3}	10^{-2}	5.10^{-2}	10^{-1}
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	-	+	+
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	+	+	+
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-

+: Une inhibition positive (clair) -: inhibition négative (trouble)

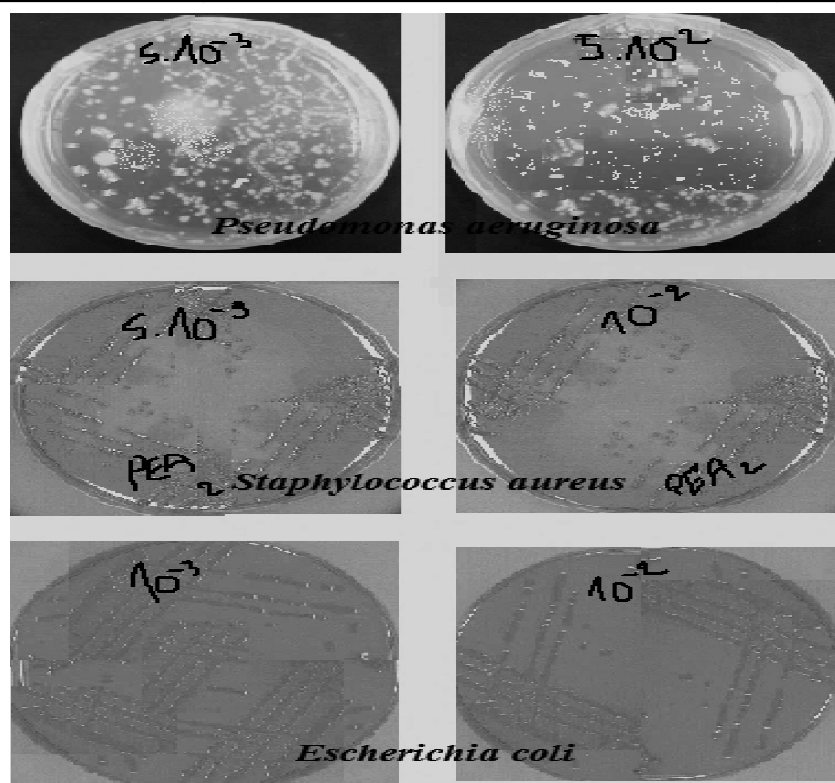


Photo 79. Concentration minimale inhibitrice
du PEA1 vis-à-vis les trois souches dans le milieu solide.

Discussion

En comparant les résultats obtenus lors de la détermination de la CMI on remarque nettement que les souches d'*E. coli* ont montrées une sensibilité plus haute vis-à-vis le PEA1 par une concentration de 5.10^{-3} par 5 ml de gélose nutritive et *S. aureus* 10^{-2} g par 5 ml de gélose nutritive que *P. aeruginosa* le moins par une concentration de 5.10^{-2} par 5 ml de gélose nutritive, ce qui est parfaitement logique car d'après Russel et Chopro 1996 les bactéries gram négatif sont toujours moins sensibles aux agents chimiques que les bactéries à gram positif, sachant que *S. aureus* est une bactérie gram positif et *P. aeruginosa* est une bactérie gram négatif. Mais La bactérie *E.coli* était initialement sensible à beaucoup d'antibactérienne synthétique. Cela est dû à la complexité de la composition de la paroi des bactéries gram négatif.

Ce qui est le même résultat pour le polymère PEA2 son effet inhibiteur est légèrement élevé contre *E. coli* et *S. aureus* que contre *P. aeruginosa* car les deux polymères continus les fonctions amides et les fonctions esters mais les masse molaires sont différentes.

IV.3. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) en milieu solide

La CMB est la plus faible concentration d'antimicrobienne nécessaire pour tuer une bactérie particulière. CMB résultats des deux poly (ester-amide) s sont donnés dans le tableau (22) Les résultats montrent que CMB de PEA1 utilisé pour *S. aureus*, *E. coli* et *P. aeruginosa* était $5 \cdot 10^{-2}$, 10^{-2} et 10^{-1} mg / ml, respectivement. Les souches pathogènes, *S. aureus* et *E. coli* ont montré le plus faible niveau de résistance à PEA1, à l'exception de *P. aeruginosa*. La CMB de PEA2 pour *S. aureus* et *E. coli* était 10^{-1} , $5 \cdot 10^{-2}$ mg / ml, respectivement. Mais *P. aeruginosa* semblait plus résistante, la souche a pu survivre à des concentrations plus élevées de PEA2.

Tableau 21. Concentration bactérienne minimale (CMB) de PEA1 en utilisant la méthode de dilution en bouillon contre les trois souches bactériennes.

Les souches bactériennes	Concentration de PEA1 (mg/ml)					concentration de PEA2 (mg/ml)				
	10^{-3}	$5 \cdot 10^{-3}$	10^{-2}	$5 \cdot 10^{-2}$	10^{-1}	10^{-3}	$5 \cdot 10^{-3}$	10^{-2}	$5 \cdot 10^{-2}$	10^{-1}
<i>S. aureus</i>	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-
<i>E. coli</i>	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+

Pas de croissance (-) la croissance (+)

IV.4. L'activité antibactérienne des poly (ester-amide)s dans l'eau

Après incubation de 24 heures, on lit la densité optique (DO) des trois souches à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible à 600 nm.

On va exprimer les résultats de l'activité antibactérienne des polymères synthétisés en fonction du nombre de bactéries (nombre exprimé en unité formant colonie par millilitre UFC/ml) sachant que la relation entre la densité optique et le nombre de bactéries est :

Suspension de bactéries présentant une densité optique (DO) de 0.7 à 600 nm (mesuré par un spectrophotomètre UV-vis), ce qui correspond à la densité cellulaire approximative de la solution standard de McFarland N ° 1 (10^8 UFC / ml)

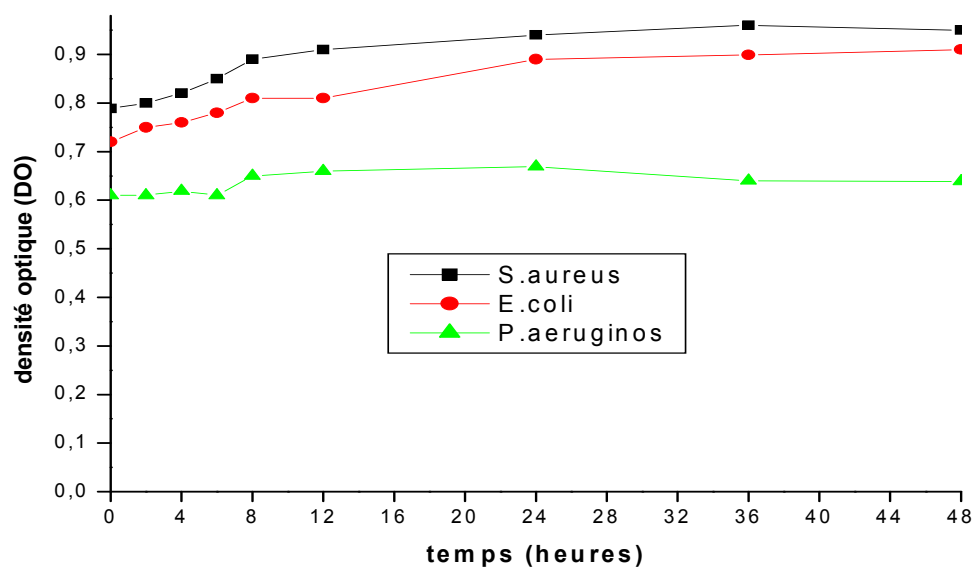


Figure 80. Courbe de croissance d'une population bactérienne non traitée (témoin)

La population témoin présente une courbe de croissance classique avec une phase exponentielle de croissance débutant dans les deux premières heures.

La phase stationnaire et le début de la phase de déclin se déroulent entre 8 et 24 heures.

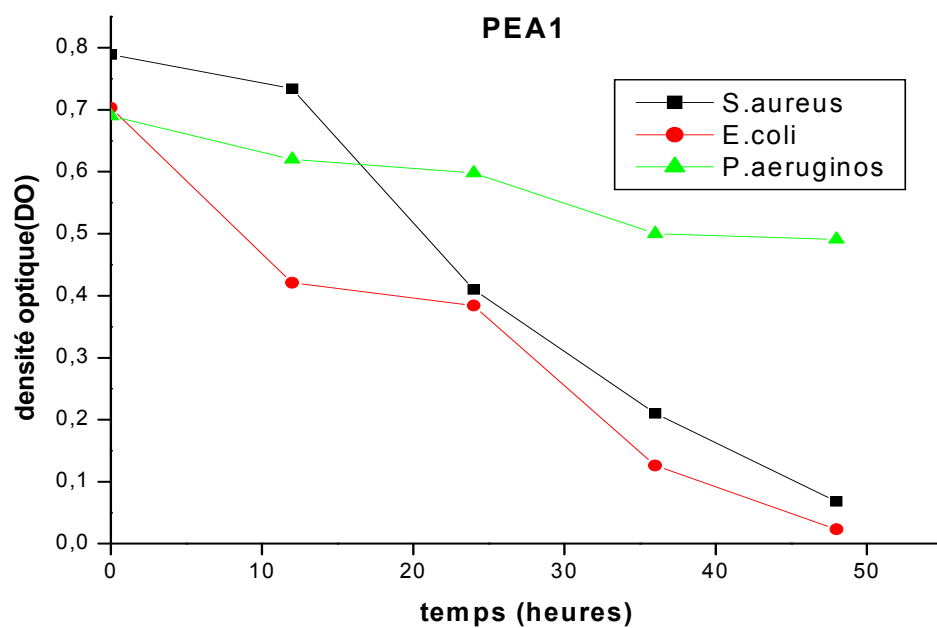


Figure 81. Courbes de mort cellulaire sur 48 heures des souches bactériennes traitées avec une concentration en PEA1 égale à la CMI

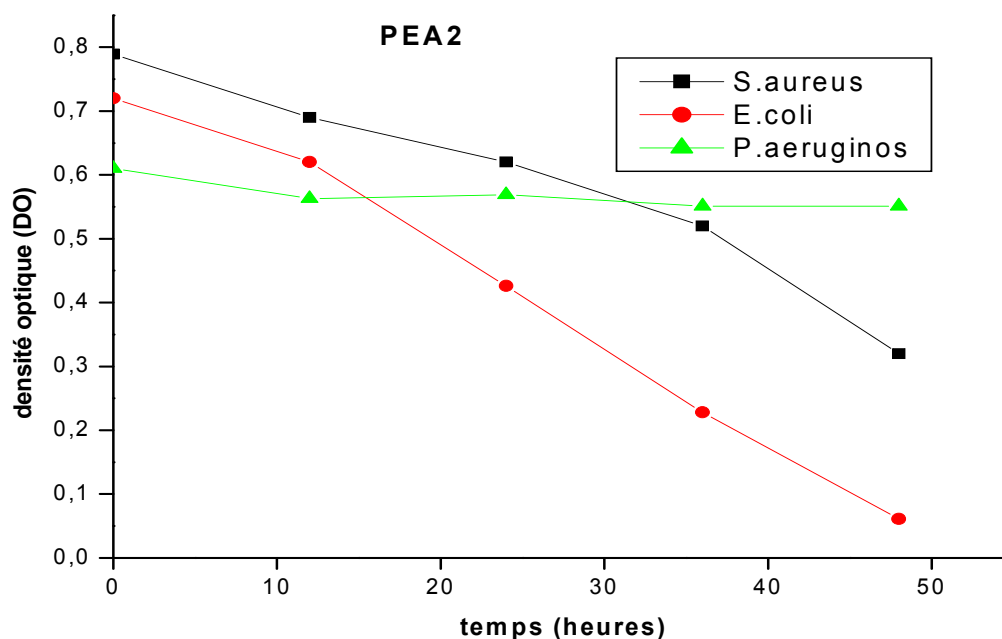


Figure 82. Courbes de mort cellulaire sur 48 heures des souches bactériennes traitées avec une concentration en PEA2 égale à la CMI

Les résultats du test antimicrobien sont présentés par la DO et UFC des solutions d'inoculum $\sim 10^8$ CFU ml^{-1} traités avec CMI de PEA1 et PEA2. Pour évaluer les effets des deux PEA durant les deux premiers jours d'action, la décroissance bactérienne a été mesurée à des intervalles de temps plus restreints (0 h, 12 h, 24 h, 36 h et 48h) sur une durée totale de 48 heures (fig. 69).

A partir des courbes, on remarque une diminution au terme du nombre des bactéries (la densité optique), c'est-à-dire que les bactéries présentes dans l'eau physiologie ont été diminuées par le PEA avec des taux d'élimination différents selon le type des bactéries et le polymère utilisée. PEA1 a été démontré la plus forte suppression de la prolifération bactérienne parmi le PEA2.

Après 12 h de traitement, la figure 69 montre que la concentration de la population, traitée avec une concentration en PEA1 égale à la CMI ($\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$), chute rapidement et ce réduit de 48% d'*E. coli* et 59% de *S. aureus*. D'après la courbe, le PEA1 n'a montré aucune propriété antibactérienne contre *P. aeruginosa* au début de temps, mais après de 12 h de contact, on remarque une diminution faible du taux des bactéries avec une réduction de 21% dans le nombre de bactérie *P. aeruginosa*.

L'action de PEA1, utilisée à la CMI, est immédiate. Durant les six premières heures, la concentration bactérienne diminue très rapidement au cours du temps (*Escherichia coli*

DO=0,421 à 0 / *Staphylococcus aureus* DO=0,789 à 0,068.). Le PEA2, utilisé dans les mêmes conditions agit plus lentement. Aucun effet n'est observable durant les premières heures de traitement. Après 12 heures d'action, la population bactérienne de départ décroît de manière continue et en moins de deux heures de traitement, le nombre d'unités formant les colonies (UFC) chute de 10^8 UFC.mL⁻¹ (suspension initiale) à moins de 10^6 UFC.mL⁻¹.

Le PEA2 réalisé force d'inhibition intermédiaire contre les micro-organismes, où les différences sont encore importantes avec environ 20 et 43% de réduction pour *E. coli* et *S. aureus*, respectivement.

La décroissance de la courbe est presque constante, une différence significative peut être observée par *P. aeruginosa* par rapport au témoin négatif, ce qui signifie que PEA2 à une mauvaise activité antibactérienne vis-à-vis *P. aeruginosa* Témoin : DO=0,61 à 0,60.

Au bout de 48 heures, la formation de colonies des deux souches (*E. coli* et *S. aureus*) avec les deux PEA ont été réduites en dessous du niveau minimum détectable ($\sim 10^5$ CFU ml⁻¹), on peut constater que les populations de ($\sim 1 \times 10^8$ UFC ml⁻¹) de *P. aeruginosa* ont subi une réduction de 40% de leur formation de colonies lorsqu'elle est incubée en présence du PEA1 pendant 36 heures, mais pas diminué après 48 heures d'incubation avec le PEA2.

Ces résultats indiquent que les niveaux MIC de PEA étaient capables de produire un effet facilement détectable contre les fortes densités cellulaires avec deux types de bactérie *S. Aureus* et *E. coli* et aucune nouvelle croissance bactérienne n'a été observée après 48 heures. PEA1 a montré l'efficacité modérée 20-40% réduction avec *P. aeruginosa* et le PEA2 était inefficace pour éliminer cette souche pathogène.

Table 22. L'effet de CMI de PEA sur une population de $\sim 1 \times 10^8$ UFC de différentes souches bactériennes

Souche bactérienne	Concentration (CMI) de PEA1 mg/ml	Contrôle	nombre de bactéries (UFC/mL)			
			12	24	36	48
S. aureus	10^{-2}	1.1×10^8	10^8	5.7×10^7	2.8×10^7	9×10^6
E. coli	5.10^{-3}	1.04×10^8	0.6×10^8	4.2×10^7	1.4×10^7	2.8×10^6
P. aeruginosa	10^{-1}	0.9×10^8	0.8×10^8	7.1×10^7	5.7×10^7	5.5×10^7

Souche bactérienne	Concentration (CMI) de PEA2 mg/ml	Contrôle	nombre de bactéries (UFC/mL)			
			12	24	36	48
S. aureus	5.10^{-2}	1.1×10^8	0.85×10^8	8.8×10^7	7.1×10^7	4.2×10^7
E. coli	10^{-2}	10^8	0.84×10^8	5.7×10^7	2.8×10^7	8.5×10^7
P. aeruginosa	10^{-1}	0.8×10^8	0.71×10^8	7.1×10^7	7×10^7	5.7×10^7

Discussion

Dans cette étude, l'évaluation de l'activité antibactérienne de poly (ester-amide) sur des germes responsables de la pollution hydrique montre que ces polymères sont actifs sur ces souches étudiées.

Plusieurs paramètres peuvent être à l'origine de la présence ou l'absence de l'activité antibactérienne. La taille de l'inoculum : un inoculum trop dense peut conduire à des résultats faussement négatifs. Un inoculum trop faible peut conduire à des résultats faussement positifs. Pour notre étude on a choisi un inoculum dont la densité est de 0,08- 0,10 pour avoir un tapis régulier

D'après les résultats des tests antibactériens, on constate que trois souches bactériennes présentent une certaine sensibilité. Le PEA1 et PEA2 montrent une activité vis-à-vis les bactéries Gram positifs que les Gram négatifs.

Les résultats de l'aromatogramme sur milieu liquide de Le PEA ont montré une diminution prolongée de la densité optique des suspensions bactériennes des germes testés ; cela ne peut être dû qu'à une mort cellulaire, Ce qui nous conduit à déduire que l'effet de le PEA sur les bactéries testées est bactéricide. En effet, les polymères peuvent avoir : une activité létale (bactéricide) et une inhibition de la croissance (bactériostatique). L'activité des polymères est souvent assimilée à une activité bactériostatique. Cependant des études ont montré que les polymères peuvent avoir aussi des propriétés bactéricides.

La différence d'activité entre ces polymères pourrait s'expliquer par la structure moléculaire de chacune d'elles.

Toutefois il faut indiquer que la différence d'activité entre ces polymères est également liée à la concentration du PEA et le type de bactérie testé.

Les résultats montrent que l'activité antibactérienne est un fait confirmé. Dans le cas de notre échantillon cette activité semble véhiculée uniquement par les poly (ester-amide)s. Nos résultats montrent que cette activité reste efficace sur les germes sensibles quel que soit le mode d'administration : liquides et solide.

Conclusion générale

La finalité de ce travail visait l'obtention de nouveaux polymères biodégradables du type poly(ester-amide)s possédant des propriétés antibactérienne, destinés à la dépollution des eaux contaminées.

Pour parvenir à ces propriétés de biodégradabilité et à de bonnes propriétés rhéologiques nous avons choisis d'introduire des fonctions amides dans les chaînes d'un polymère initialement biodégradable.

Ces poly(ester-amide)s sont obtenus par réactions du couplage des bisoxazolines et des oligomères diacides carboxyliques, la méthode adoptée consistait à préparer et à caractériser de nouveaux polyesters type poly(éthylène adipate) contenant des terminaisons dicarboxyliques.

Ensuite, nous avons préparé un coupleur de chaînes du type bisoxazoline susceptible de réagir avec les fonctions acides terminales des oligomères. Et enfin du processus nous avons réalisé la réaction de couplage entre les oligomères et le coupleur de chaînes.

La préparation des poly(éthylène adipate)s a été réalisée par réaction de polyestérification du 1,2-éthylène glycol et les diacides (acide adipique). Toutes les réactions ont été exécutées en masse sans catalyseur afin de minimiser les réactions parasites.

Les résultats des structures obtenues ont été confirmés par analyses spectroscopiques (RMN¹H, RMN¹³C, IR).

En second phase était dévolue à la recherche de synthèse et caractérisation de coupleur de chaîne du type bisoxazoline. Cette opération a été réalisée par la préparation de la 1,2-bis (2-oxazolinyl-2) butane (BBO) et condensation d'éthanolamine avec l'adiponitrile. La réaction est effectuée en masse en présence d'acétate de zinc comme catalyseur afin de minimiser les réactions parasites.

Les spectres de résonances magnétiques nucléaires confirment la structure préconisée. Les résultats obtenus, ont permis ensuite d'utiliser la bisoxazoline préparée comme coupleur de chaîne avec les polyesters à terminaisons diacides, afin d'augmenter les masses molaires du poly(éthylène adipate) biodégradable et d'améliorer leurs propriétés physico-chimiques, thermiques et mécaniques en vue de leur utilisation en extrudeuse.

Le troisième étapes était consacrée à la préparation des poly(ester-amide)s. Ces réactions de couplage des polyesters avec le coupleur de chaîne (BBO) ont donné des résultats satisfaisants. L'analyse par RMN¹³C a permis de constater que les réactions de couplage ont bien eu lieu par ouverture des cycles de coupleur de chaîne par les groupes COOH.

Les réactions entre le coupleur de chaîne et l'adipique en masse à 210°C donnent des résultats suffisants. La réaction de couplage se produit également avec l'acide adipique mais un phénomène de sublimation perturbe la stoechiométrie et conduit à un polyesteramide possédant des extrémités carboxy. Dans le spectre RMN¹³C aucun pic ne peut être attribué à d'éventuelles réactions secondaires.

Afin d'atteindre l'objectif fixé par notre étude, à savoir la démonstration de la biodégradabilité de nos produits : PEA1, PEA2. Et d'orienter leurs utilités ultérieurs, différentes souches isolées à partir du sol nous ont permis de juger de l'efficacité dans la biodégradation, en comparaison avec la littérature, les méthodes utilisées ont donné de bons résultats.

Le test de croissance des souches testées (champignon *A. Niger* et bactérie *Bacillus Subtilis*) en milieu pauvre a permis d'évaluer la capacité de microorganismes à utiliser les polymères comme source de carbone.

Pour caractériser les propriétés antibactériennes et de leurs constituants à l'égard de plusieurs bactéries pathogènes, l'étude expérimentale a ciblé des bactéries pathogènes reconnues pour leurs impacts clinique, sanitaire et économique : à savoir *E.coli*, *S. aureus* et *P.aeruginosa*.

Les résultats des tests antibactériens, nous ont permis de constater que trois souches bactériennes présentent une certaine sensibilité, et d'autre part l'inhibition de la croissance des micro-organismes mais qui reste variable en fonction de l'espèce utilisée dans l'expérimentation, ainsi que de la microstructure du polymère.

Divers paramètres contribuent à expliquer cette différence d'efficacité entre les antibactériennes et les poly(ester-amide)s :

- la concentration (peut être exagérée dans les disques !) ;
- le degré de pureté;

Les résultats de l'aromatogramme sur milieu liquide du PEA ont montré une diminution prolongée de la densité optique des suspensions bactériennes des germes testés ; cela ne peut être dû qu'à une mort cellulaire, Ce qui nous conduit à déduire que l'effet du PEA sur les bactéries testées est bactéricide.

Les deux polymères sont biologiquement actifs; Les PEA ont été testés à différentes concentrations pour déterminer la concentration minimale inhibitrice et la concentration minimale bactéricide, à savoir l'inhibition de la multiplication microbienne. Les résultats ont montré un bon effet inhibiteur mais pauvre effet bactéricide

En général, les échantillons de polymère ont détruit 70 à 75% à la concentration de CMI de l'effet inhibiteur varie en fonction de la microstructure du polymère et les organismes. Cependant, ces polymères ont montré une activité accrue et significative antibactérienne contre les bactéries *E. coli* et *S. aureus*, par rapport à la bactérie du genre *P. aeruginosa*.

Par ailleurs, les résultats obtenus révèlent que la croissance des bactéries est inhibée par tous les polymères à des degrés différents. En particulier, le PEA1 est confirmé le plus efficace contre la croissance des bactéries *E. coli*, *P.aeruginosa* et *S. aureus*.

Concernant le PEA2, les résultats obtenus n'indiquent aucune activité antimicrobienne vis à vis de la souche *P.aeruginosa* utilisée, et ceci contrairement aux résultats obtenus avec *E.coli* et *S. aureus*. D'autre part, les PEAs s'avèrent plus efficaces dans l'inhibition des bactéries Gram-positives que négatives.

Au bout du compte, Nous présumons que la présente recherche ainsi que les études précédentes ont fourni une base sur les propriétés antibactériennes de ces polymères et ont démontré l'action prometteuse dans la destruction et développement dans les eaux d'agent nuisible à la santé humaine.

Les polymères antimicrobiens obtenus contribueraient efficacement dans le domaine du traitement biologique de l'eau en tant que désinfectant ou dans la fabrication des membranes de filtration.

Références bibliographiques

- [1] P.C. Gwenaëlle**, (2010) Rétention de virus en ultrafiltration : protocole de caractérisation, Thèse de Doctorat de l'Université de Toulouse.
- [2] S. Goldberg, R.J. Doyle, M. Rosenberg**, (1990) Mechanism of enhancement of microbial cell hydrophobicity by cationic polymers, *J Bacteriol*, 172, 5650-5654.
- [3] B. Cuq, N. Gontard, S. Guilbert**, (1995) Edible films and coatings as active layers. In: M.L. Rooney (ed) *Active Food Packaging*. Blackie, Glasgow.111-142.
- [4] M. Vert**, (2005) Aliphatic Polyesters: Great Degradable Polymers That Cannot Do Everything, *Biomacromolecules*, 6 (2), pp 538–546.
- [5] W. H. Carothers, G. L. Dorough**, (1930) Ethylene succinates, *J. Am. Chem. Soc.*, 52, 711
- [6] L. Belarbi**, (2007) Synthèse et caractérisation de poly(ester-amide)s par polycondensation de polyesters et de bisoxazoline, thèse de doctorat d'état, Université Djillali Liabes, SBA. Algérie.
- [7] Ministère de la santé et de la solidarité**, (2005) qualité de l'eau potable en France : Aspects sanitaires et réglementaires, Dossier d'information.- Paris : Direction générale de la santé, p 43.
- [8] K. Cruyver, K. Deneg**, (1993) La qualité de l'eau à la sortie du robinet: Revue de tribune de l'eau. Éditions Cebedoc.
- [9] M. Defranceschi**, (1996) L'eau dans tous ses états. Edition: Ellipses, P: 61.
- [10] A. Ouahdi**, (1995) Les maladies à transmission hydrique. Santé plus Alger N°45.
- [11] F. Ramade**, (1998) Dictionnaire encyclopédique des sciences de l'eau. Ed, EDISCIENCE, Paris.
- [12] Manuel sur l'environnement**, (1996) Catalogue des normes antipollution ; Ed vieweg , Volume III.
- [13] U. européenne**, (1980) Directive n° 80-778 du 15 juillet 1980 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine.
- [14] U. européenne**, (1998) Directive 98/83/CE Du conseil du 3 novembre 1998 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine. Journal officiel des communautés européennes (L330/34).
- [15] N. Mukerjee**, (1990) People water and sanitation : what they know drinking water mission, p: 10.

- [16] I.G. Soumare**, (1997) Contribution à l'étude de la qualité hygiénique des eaux de boisson vendues sur la voie publique. Th : Méd. vet : Dakar.
- [17] E.D. Traore**, (1996) étude de l'aspect microbiologique de l'eau et de la glace dans les industries des produits de la pêche de Dakar. Th : Méd. vet : Dakar 33.
- [18] Ministère des affaires sociales, de la santé et de la ville**, (1995) L'eau dans les établissements de santé.- Paris, comité technique régional de l'environnement hospitalier, DRASS Rhône-alpes, P 40.
- [19] J. Rodier**, (2005) L'analyse de l'eau: Eaux naturelles, Eaux résiduaires, Eau de mer. 8eme édition: Dunod, Paris.
- [20] P. Hubert et M. Marin**, (2001) Quelle eau boirons-nous demain ?, Edition: Fabienne Travers, P: 64-124.
- [21] J.R. Vaillant**, (1973) protection de la qualité des eaux et maîtrise de la pollution, contrôle des déversements d'eaux polluées. Paris : Edition : EYROLLES, P 403.
- [22] J.P. Regnault**, (1990) Microbiologie générale, Paris : Vigot, P 859.
- [23] J.B. Leroy**, (1999) La pollution des eaux, 4eme Ed.-Paris : presse universitaire de France, P 127.
- [24] P. Galzy et J. Guiraud**, (1980) Analyse microbiologique dans les industries agroalimentaires.-Paris, Edition de L'usine Nouvelle.
- [25] J. Rodier**, (1996) Analyse de l'eau. 8^{eme} Ed, Paris : Dunod, P 412.
- [26] C.M. Bourgeois, J. F. Mescle et J. Zucca**, (1991) Microbiologie alimentaire: aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Tome 1 .Edition: Lavoisier .Tec et Doc. P: 260- 261.
- [27] R. EDBerg, M. Raczynski, J.C. Prost Et T. Elmur**, (2000) Aide à la fiabilisation de l'eau potable en milieu rural. Aspect techniques et financiers .Oleau, France. P : 5.
- [28] OMS**, (2000) Directive de qualité pour l'eau de boisson, Vol : 2, critères d'hygiène et documentation à l'appui.-Genève : OMS. P1050.
- [29] L. Armand**, (1996) Mémento technique de l'eau. Edition : Tec et Doc. P : 37.
- [30] S.F.L. Saïbou**, (1992) Surveillance de la qualité de l'eau distribuée dans la communauté urbaine de Niamey, bilan de trois années de contrôle. Th : pharm. : Dakar ; 38.

- [31] **M. V. Diallo**, (1987) Etude de la nappe phréatique de Badalabougou à Bako Djikoroni. Projet de fin d'Etudes E. N. 1. -Bamako.
- [32] **B. Fiambach Hamsch**, (1998) Chang from chlorine residual distribution to no chlorine residual distribution in groundwater system. Water supply. Vol 6 N°3/4. Germany. P: 145-152.
- [33] **L. Schwartzbord**, (1991) Virologie des milieux hydriques. Édition Lavoisier, Tec et Doc. Paris.
- [34] **O.M.S**, (1972) Directives de qualité pour l'eau de boisson. 3e édition, Genève.
- [35] **N. Valentin**, (2000) Gestion des eaux : Alimentation en eau assainissement. Presses de l'école nationale des ponts et chaussées, Paris.
- [36] **OMS**, (1994) Protection et amélioration de la qualité de l'eau, 2^{ème} édition. Volume 1. Genève:18.
- [37] **SDE**, (2005) En savoir plus sur la qualité de l'eau, brochure d'information.-Dakar.-SDE.-1 dépliant.
- [38] **H. Leclerc, R. Buttiaux, J. Guillaume Et E.P. Wattr**, (1997) Microbiologie appliquée.-Paris : Doin, P856.
- [39] **OMS**, (1985) directive de qualité pour l'eau de boisson : Vol 1 : recommandations.-Genève : OMS. P129.
- [40] **J. Avias**, (1985) L'eau ... angoisse du monde – Paris.
- [41] **Davidson, D. Myers And M. Chakraborty**, (1992) No time to Waste: Poverty and the global environment. Oxford, oxfam.
- [42] **United Nation Department for Policy Coordination and Sustainable Development**, (1997) Critical trends: Global change and sustainable development. New York, UNN.
- [43] **United Nation Department Programme (UNDP)**, (1983) Human development report 1998. New York, UN, Lyman, R., Polymers in Medicine. Biomedical and Pharmacological Applications, *Chiellini, Giusti Eds*, 215-218.
- [44] **A. Ram**, (1997) Fundamentals of polymère engineering, Ed. Plenum Press, New York..
- [45] **A. Miran, F. A. Bovey, L. W. Jelinsky**, (2003) Encyclopedia of physical science and technology, Third Ed. Polymers, 857-901.

- [46] M. Carrega et Coll**, (2000) Matériaux industriels. Matériaux polymères, Dunod, Paris.
- [47] E. Maréchal**, (1996) polycondensation et polyaddition, Techniques de l'ingénieur, traiter Plastiques et composites, A M 3 042.
- [48] L.Teraoka**, (2002) Polymer Solutions: An introduction to physical properties, Wiley Interscience, p 1-10.
- [49] S. Ponsart**, (2001) Synthesis of 3H and fluorescence-labelled poly (DL-Lactic acid), Université de Montpellier I Sciences chimiques et biologiques pour la santé.
- [50] N. Benjamin**, (2005) Synthèse et caractérisation de nouveaux polyester biodégradable et hydrosolubles à fonctions cationiques ou am-photerres matériaux, Université Montpellier II - Sciences et Techniques du Languedoc.
- [51] A.J. Domb**, (1997) Polymeric Biomaterials, Second Edition, Revised and Expanded (ed. Dumitriu,S.) 91-121 (Marcel Dekker, INC, New York)
- [52] M. Vert**, (2005) Aliphatic Polyesters: Great Degradable Polymers That Cannot Do Everything *Biomacromolecules*, 6, 538-546.
- [53] H. Yue, Y. Zhao et al.**, (2012) Ethylene glycol: properties, synthesis, and applications, Chem. Soc. Rev., vol. 41, p. 4218-4244
- [54] W.H. Carothers, G.A. Arvin**, (1929) Studies on polymerization and ring formation II. Poly-esters. Journ. Am. Chem. Soc, 51: p. 10.
- [55] P.J. Flory, F.S. Leutner**, (1952) Method of preparing linear polyesters, 2,589,687
- [56] G. Matthieu**, (2012) Synthèse et étude des propriétés physico-chimiques des poly(butylène succinate)s linéaire et branché, thèse de doctorat, Université de reims Champagne-Ardenne.
- [57] N. Jacquél, F. Freyermouth, F. Fenouillot, A. Rousseau, J.P. Pascault, P. Fuertes, R. Saint- Loup**, (2011) Synthesis and properties of poly(butylene succinate): Efficiency of different transesterification catalysts. J Polym. Sci. Pol. Chem, 49(24): p. 5301-5312.
- [58] E. Takiyama, I. Niikura, Y. Hatano**, (1994) Method for producing saturated polyester, (Showa Highpolymer Co., Ltd.,) US 5,306,787

- [59] M. Ishii, M. Okazaki, Y. Shibasaki, M. Ueda, T. Teranishi, (2001)** Convenient Synthesis of Aliphatic Polyesters by Distannoxane-Catalyzed Polycondensation. *Biomacromolecules*, 2(4): p. 1267-1270.
- [60] J.B. Zhao, K.Y. Li, W.T. Yang, (2007)** Chain extension of polybutylene adipate and polybutylene succinate with adipoyl- and terephthaloyl-biscaprolactamate. *J. Appl. Polym. Sci*, 106(1): p. 590-598.
- [61] J. Sun, S.R. Liao, M. Lu, J. L. Liu, H.M. Tan, Y. J. Luo, (2007)** Thermal stability of aliphatic polyesters. *Gaofenzi Cailiao Kexue Yu Gongcheng/Polymeric Materials Science and Engineering*, 23(6): p. 144-147.
- [62] V. Tserki, P. Matzinos, E. Pavlidou, D. Vachliotis, C. Panayiotou, (2006)** Biodegradable aliphatic polyesters. Part I. Properties and biodegradation of poly(butylene succinate-co-butylene adipate). *Polym. Degrad. Stab*, 91(2): p. 367-376.
- [63] D.N. Bikiaris, G.P. Karayannidis, (1995)** Chain extension of polyesters PET and PBT with N,N'-bis(glycidyl ester) pyromellitimides. I. *J Polym. Sci. Pol. Chem*, 33(10): p. 1705-1714.
- [64] A.A. Haralabakopoulos, D. Tsiourvas, C.M. Paleos, (1999)** Chain extension of poly(ethylene terephthalate) by reactive blending using diepoxides. *J. Appl. Polym. Sci.*, 71(13): p. 2121-2127.
- [65] F. Fenouillot, C. Hedreul, J. Forsythe, J. P. Pascault, (2003)** Reaction and miscibility of two diepoxides with poly(ethylene terephthalate). *J. Appl. Polym. Sci.*, 87(12): p. 1995-2003.
- [66] G.P. Karayannidis, E.A. Psalida, (2000)** Chain extension of recycled poly(ethylene terephthalate) with 2,2'-(1,4-phenylene)bis(2-oxazoline). *J. Appl. Polym. Sci.*, 77(10): p. 2206-2211.
- [67] J. Tuominen, J.V. Seppälä, (2000)** Synthesis and Characterization of Lactic Acid Based Poly(ester–amide). *Macromolecules*, 33(10): p. 3530-3535.
- [68] J. Tuominen, J. Kylmä, J. Seppälä, (2002)** Chain extending of lactic acid oligomers. 2. Increase of molecular weight with 1,6-hexamethylene diisocyanate and 2,2'-bis(2-oxazoline). *Polymer*, 43(1): p. 3-10.

- [69] J. Kylmä, J. Tuominen, A. Helminen, J. Seppälä, (2001)** Chain extending of lactic acid oligomers. Effect of 2,2'-bis(2-oxazoline) on 1,6-hexamethylene diisocyanate linking reaction. *Polymer*, 42(8): p. 3333-3343.
- [70] C.Q. Huang, S.Y. Luo, S.Y. Xu, J.B. Zhao, S.L. Jiang, W.T. Yang, (2010)** Catalyzed chain extension of poly(butylene adipate) and poly(butylene succinate) with 2,2'-(1,4-phenylene)-bis(2-oxazoline). *J. Appl. Polym. Sci.*, 115(3): p. 1555-1565.
- [71] L. Néry, H. Lefebvre, A. Fradet, (2004)** Chain Extension of Carboxy-Terminated Aliphatic Polyamides and Polyesters by Arylene and Pyridylene Bisoxazolines. *Macromol. Chem. Phys.*, 205(4): p. 448-455.
- [72] T. Fujimaki, (1998)** Processability and properties of aliphatic polyesters, 'BIONOLLE', synthesized by polycondensation reaction. *Polym. Degrad. Stab.*, 59(1-3): p. 209-214.
- [73] J.B. Zhao, K.Y. Li, W.T. Yang, (2007)** Chain extension of polybutylene adipate and polybutylene succinate with adipoyl- and terephthaloyl-biscaprolactamate. *J. Appl. Polym. Sci.*, 106(1): p. 590-598.
- [74] T. Loontjens, K. Pauwels, F. Derks, M. Neilen,; C.k. Sham, M. Serné, (1997)** The action of chain extenders in nylon-6, PET, and model compounds. *J. Appl. Polym. Sci.*, 65(9): p. 1813-1819.
- [75] L. Incarnato, P. Scarfato, L. Di Maio, D. Acierno, (2000)** Structure and rheology of recycled PET modified by reactive extrusion. *Polymer*, 41(18): p. 6825-6831.
- [76] S.B. Brown, Munich, Hanser Publishers Edited by M.Xanthos, 1992.75 –199.**
- [77] R. C. Elderfield, (1977)** Heterocyclic Compounds. New York, J. Wiley, 376-391.
- [78] J. A. Frump, (1971)** Oxazolines. Their preparation, reactions, and applications *Chem. Rev*, Vol 5. n°5, 483 –505.
- [79] E.I. Valco., Chem. Abstr., 41.3823 (1947).**
- [80] W. Seeliger, E. Autderhaar, W. Diepers, Feinaure, R. Nehring, W. Thier, H.Hellman, Angew, Chem.Int .Ed..1966.5. 875.**
- [81] R. H. Welley, L. L.Benett., J. Chem. Rev; 1949, 44, 447.**
- [82] H. Witte, W. Seelinger , Liebig's. Ann. Chem. 1974. 996.**

-
- [83] A. Melikian, R. Borgegain, J. P. Khan, P. Soubrie, *Eur. J. Med. Chem.* 1990. 25. 267.
- [84] N. Steinhäuser, R. Mulhaupt, *Macromol. Rapid Commun.* 1994. 15. 365.
- [85] V. Rosnati, D. Misiti., *Chem. Abstr.* 1961.55. 5463-Rend. Ist. Super. Sanita: 1960. 23. 603.
- [86] H. Vorbruggen, K. Krohkiewicz; *Tetrahedron. Lett.* 1981, 22, 4471.
- [87] *Brevet Américain*; 2.569.428.25 septembre 1951.
- [88] R. Oda, M. Okano, S. Tokiura, F. Misumi; *Chem. Abs.* 1962, 57, 12.453
- [89] U. Junko, T. Osamu, F. Keizo; *Tetrahedron Asymmetry*; 1994, 5, 491.
- [90] J. V. Allen, J. M. J. William., *Tetrahedron Asymmetry*, 5. 491. 1994
- [91] H. Witte et W. Seeliger; *Angew. Chem. Internat. Edit.* 1972, 11, 287 – 288.
- [92] R. Feinauer, W. Seeliger; *Liebigs. Ann. Chem.* 1966, 174
- [93] R. A. Wohl., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 11. 287. 1972
- [94] T. Loontjens, W. Belt, D. Stanssens et P. Weerts; *Polym. Bull.* 1993, 30, 13.18.
- [95] B. M. Culbertson., *Prog. Polym. Sci.* 87 (2002) 579-626
- [96] E. M. Fry; *J. Org. Chem.* 1950, 15, 802.
- [97] U. Schollkopf, D. HOPPE. *Angew. Chem. Int. Edit.* 1970, 9, 456.
- [98] P. Müller, C. Wörner, R. Mulhaupt; *Macromol. Chem. Phys.* 1995, 196, 1917.
- [99] K. I. Lee, M. H. Lee; *Polym. Preprints. Am. Chem. Soc.* 1990, 31 446.
- [100] U. Schollkopf, D. HOPPE. *Angew. Chem. Int. Edit.* 1970, 9, 456.
- [101] A. Jaeger. *Chem. Abstr.* 1959, 55, 5040 – Ger; 1050, 540 (Feb. 12. 1959).
- [102] T. Kagiya, S. Narisawa; T. Maeda, K. Fukui; *Polym. Lett.* 1966, 4, 257.
- [103] Y. Sano; *J. Polym. Sci. part A: Polym. Chem.* 1989, 27, 2749.
- [104] L. Bennabi, (2008) Synthèse et caractérisation de polyesteramide par réaction de couplage entre polyester et une bisoxazoline « Phénylbisoxazoline », thèse de magister, université Djillali Liabes, SBA.
- [105] M. Moulay, (2011) Copolymérisation par réaction d'addition entre bisiminoethers cycliques et oligomères à extrémités réactives carboxyles, thèse de magister, université Djillali Liabes, SBA.
- [106] Riccardo and al, (1995) Synthesis and Characterization of Poly(ester-amide)s from Bis(2-Oxazoline)s, Anhydrides and Diols, published in advance ACS abstracts, July 1.
- [107] Euvrard Aurélie, Fournier Teddy, (2007) Polymères et biodégradabilité, état des lieux et perspectives, Responsable Luc VINCENT Master MQM, Avril.

- [108] Zoubida SAADI**, (2008) Etude de la dégradation fongique des polymères : cinétique de dégradation des polymères et caractérisation des sous-produits de dégradation - Etude de l'écotoxicité de ces polymères, THÈSE de doctorat, UNIVERSITÉ DU MAINE - U.F.R. Sciences et Techniques.
- [109] C. Eldsater et al.**, (2000) The biodegradation of amorphous and crystalline regions in filmblown poly(epsilon-caprolactone). *Polymer*, 41(4): p. 1297-1304.
- [110] S.K. Saha, and H. Tsuji**, (2006) Effects of molecular weight and small amounts of D-lactide units on hydrolytic degradation of poly(L-lactic acid)s. *Polymer Degradation and Stability*, 91(8): p. 1665-1673.
- [111] R. Chandra, and R. Rustgi**, (1998) Biodegradable polymers. *Progress in Polymer Science*, 23(7): p. 1273-1335.
- [112] S.K. Saha and H. Tsuji**, (2006) Hydrolytic degradation of amorphous films of L-lactide copolymers with glycolide and D-lactide. *Macromolecular Materials and Engineering*, 291(4): p. 357-368.
- [113] A. Copinet et al.**, (2004) Effects of ultraviolet light (315 nm), temperature and relative humidity on the degradation of polylactic acid plastic films. *Chemosphere*, 55(5): p. 763-773.
- [114] F. Jbilou, P. Degraeve, & I. Sebti**, Synthèse sur les différentes méthodes d'évaluation de la biodégradabilité des polymères à base de ressources renouvelables.
- [115] A. Othaki, N. Akakura, K. Nakasaki**, (1998) Effects of temperature and inoculum on the degradability of polycaprolactone during composting. *Polymer degradation and stability*, vol. 62, 279-284.
- [116] I. Kleeberg, C. Hetz, R. M. Kroppenstedt, R. J. Muller, W. D. Deckwer**, (1998) Biodegradation of aliphatic-aromatic copolyester by *Thermomonospora fusca* and other thermophilic compost isolates, *Applied and environmental microbiology* 64, p. 1731-1735.
- [117] A. Calmon-Decriaud, V. Bellon, F. Silvestre**, (1998) Standard Methods for Testing Aerobic Biodegradation of Polymeric Materials. Review and Perspectives, *Advances in Polymer Science*, vol. 135, p. 208-226.
- [118] Y. Tokiwa, P. Calabia**, (2004) Degradation of microbial polyesters, *Biotechnology letters*, vol. 26, p. 1181-1189.

- [119] A. Manna, A.K. Paul,** (2000) degradation of microbial polyester poly(3-hydroxybutyrate) in environmental samples and in culture. *Biodegradation*, vol. 11, 323-329.
- [120] A. Jarerat, Y. Tokiwa,** (2003) Poly(l-lactide) degradation by *Saccharothrix Waywayandensis*, *Biotechnology Letters*, vol. 25, , p. 401-404.
- [121] Y. Tokiwa, H. Pranamuda,** (2001) Microbial degradation of aliphatic polyesters. *Biopolymers*, vol.3 (b), 85-103.
- [122] V.Coma,** (1992) Proposition d'une méthodologie pour l'estimation de la biodégradabilité de matériaux d'emballage, Thèse de l'Université Champagne-ardenne.
- [123] Y. Ikura, T. Kudo,** (1999) Isolation of a microorganism capable of degrading poly-(L-lactide), *J. Gen. Appl. Microbiol.*, vol. 45, p. 247-251.
- [124] V. Mezzanotte, R. Bertani, F. Innocenti, M. Tosin,** (2005) Influence of inocula on the results of biodegradation tests, *Polymer Degradation and Stability*, vol. 87, p. 51-56.
- [125] P. Reuschenbach, U. Pagga, U. Strotmann,** (2003) A critical composition of respirometric biodegradation tests based on OECD 301 and related test methods, *Water Research*, vol. 37, p. 1571-1582.
- [126] R. Mohee, G. Unmar,** (2007) Determination biodegradability of plastic materials under controlled and natural composting environments, *Waste management*, vol. 27, p. 1486-1493.
- [127] A. Vázquez-Rodriguer, A. Calmon, F. Silvestre, G. J. Goma, Rols,** (2006) Effect of the inoculation level in aerobic biodegradability tests of polymeric materials, *International Biodeterioration & Biodegradation*, vol. 58, , p. 44-47.
- [128] M. Agarwal, W. Koelling, J. Chalmers,** (1998) Characterization of the degradation of Polylactic Acid Polymer in a solid Substrate Environment», *Biotechnol. Prog.*, vol. 14, p. 517-526.
- [129] Y. Tokiwa, P. Calabia,** (2004) Degradation of microbial polyesters», *Biotechnology letters*, vol. 26, p. 1181-1189.

- [130]** Z. Li, H. Lin, N. Ishii, G. Chen, Y. Inoue, (2007) Study of enzymatic degradation of microbial Copolyesters consisting of 3-hydroxybutyrate and medium-chain-length 3-hydroxyalkanoates», *Polymer Degradation and Stability*, vol. 92, p. 1708-1714.
- [131]** A. Copinet, C. Bliard, J. Onteniente, Y. Couturier, (2001) Enzymatic degradation and deacetylation of native and acetylated starch-based extruded blends», *Polymer Degradation and Stability*, vol. 71, p. 203-212.
- [132]** G.L. Miller, (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar» *Analytical Chemistry*, vol. 31, p. 426-428.
- [133]** M. Alberta Auraújo, M. Cunha Antonio, M. Mota, (2004) Enzymatic degradation of starch thermoplastic compounds used in prostheses : identification of the degradation products in solution», *Biomaterials*, vol. 25, p. 2687-2693.
- [134]** M. Gàspàr, Z. Benko, G. Dogossy, K. Réczey, T. Czigány, (2005) Reducing water absorption in compostable starch-based plastics», *Polymer Degradation and Stability*, vol. 90, p. 563-569.
- [135]** L. Bennabi, L. Belarbi, S. Bousalem, A. Mesli, (2011) synthesis and characterization of biodegradable polyesteramide based on poly (Σ -caprolactone) and study of degradation », *Oriental Journal of Chemistry*, Vol. 27, No. (2): Pg. 537-543.
- [136]** R.B.J. Hill, D.J. Rowlands & D. Rifkind, (1964) Infectious pulmonary disease inpatient receiving immunosuppressive therapy for organ transplantation. *The New England Journal of Medicine*, 271: 1021-1028.
- [137]** P.E. Hart, E.Jr. Russel & J.S. Remington, (1969) The compromised host and infection II, Deep fungal infection. *The Journal of Infectious Disease*, 120: 169-176.
- [138]** A. Persidis, (1999) Antibacterial and antifungal drug discovery. *Nature Biotechnology*, 17:1141-1142.
- [139]** K. Rhayour, (2002) Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* Et *Mycobacterium fortuitum*, Thèse de Doctorat de Biologie Cellulaire université de Fès, p.2.
- [140]** Charles Nauciel, Jean Louis Vildé, (2005) bactériologie médicale, 2^{ème} édition, édition masson.
- [141]** H. Leclerc, J-L. Gaillard, M. Simonet, (1995) Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien, Doin Editeur, Paris, p.506.

- [142] M.T. Madigan, J.M. Martinko, J. Parker, (1997) Brock Biology of Microorganisms, Prentice Hall International Ed.**
- [143] S.C. Edberg, E.W. Rice, R.J. Karlin, M.J. Allen, (2000) Escherichia coli: the best biological drinking water indicator for public health protection. Journal of Applied Microbiology, 88: 106S-116S.**
- [144] M.W. Hahn, H. Lunsdorf, M. Schauer, M.G. Hofle, J. Boenigk, and P. Stadtler, (2003) Isolation of novel ultra-micro-bacteria classified as actinobacteria from five freshwater habitats in Europe and Asia. Applied Environmental Microbiology, 69:1442-1451.**
- [145] Jean Pelmon, (1995) bactéries et environnement, adaptation physiologique, office des publications universitaires ben aknoun alger 1.**
- [146] Programme Scientifique Seine Aval, (2002) 6^{ème} contaminations bactériennes et virale, éditions quae haute-normandie.**
- [147] Georges Thill, jean-pierre Ezin, (2002) l'eau, patrimoine mondial commun : co-expertise scientifique et participative et gouvernance de PRELUDE, Réseau international, édition presses universitaires de namur.**
- [148] P. Nicholas, (2002) cheremisin off, ph.D, handbook of water and wastewater treatment technologies limited Boston Oxford Auckland Johannesburg Melbourne New delhi, édition Butterwofih-Heinemann**
- [149] Henri Lecterc, DAA Mossel, (1989) microbiologie : le tube digestif, l'eau et les aliments, publié par Doin.**
- [150] Gleen Burks, (2001) direct measurement of bacterial adhesion to solide surfaces; American chemical society.**
- [151] P. D. Rosenberg, (1991) basic and Applied Aspects of Microbial Adhesion at the Hydrocarbon / water interface, Critical Rev. microbial.,18,2.**
- [152] M.C.M. Van Loosdrecht, J. Lyklema, W. Norde, A.J.B. Zehnder, (1990) influence of interfaces on microbial activity, Microbial. Rev., March.**
- [153] A. Kettab, (1992) traitement des eaux, Ed ; office des publications universitaires.**
- [154] M. Grivet et al., (2000) Effect of hydrophobicity on in vitro streptococcal adhesion to dental alloys. Journal of material science: materials in medicine, p. 637-642.**

- [155] L. Boulangé-Petermann,** (1996) Process of bioadhesion on stainless steel surfaces and cleanability : a review with special reference to food industry. Biofouling, p. 275-300.
- [156] Y.L. Ong et al.,** (1999) Adhesion forces between E.coli bacteria and biomaterial surfaces. Langmuir, p. 2719-2725.
- [157] S. G. Hu, C.H.Jou, M. C. Yang,** (2004) Biocompatibility and antibacterial activity of chitosan and collagen immobilized poly(3-hydroxybutyric acid-co-3-hydroxyvaleric acid)carbohydrate polymers, science direct.23 july.
- [158] L.R. Fina, N. hassouna, G.L. Horacek, J.P. Lambert and J.L.Lambert,** (1982) viricidal capability of resin-triiodide demand- type disinfectant. Appl. environ. Microbiol. 44:1370.
- [159] Nakagawa, Y. Y. Inoue, T. Tawaratani, and I. Shibasaki,** (1979) Bactericidal activity of insoluble cetylpyridinium chloride- amberlite IRC-50-complex under continuous system. J.Antibact. Antifung. Agents 7:551-556.
- [160] Y. Nakagawa , Y. Yamano , T. Tawaratani , H. Kourai , T. Horie , I. Shibasaki,** (1982) Antimicrobial characteristic of insoluble alkylpyridinium iodide. Appl Environ Microbiol 43(5): 1041–1050.
- [161] C.B.I. Alawa, A.M. Adamu, J.O. Gefu, O.J. Ajanusi, P.A. Abdu, N.P. Chiezey, J.N. Alawa, D.D. Bawman,** (2003) In vitro screening of two Nigerian medicinal plants, Vernonia amygdalina And Annona senegalensis, for anthelmintic activity. Elsevier Science, 73- 81.
- [162] E.K. Chaker,** (2010) Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées, Thèse de Doctora université de Toulouse, p.70-71.
- [163] M. Bendahou, A. Muselli, M. Grignon- Dubois, M. Benyoucef, JM. Desjobert, AF. Bernardini, J. Costa,** (2008) Antimicrobial activity and Chemical composition of Origanum glandulosum Desf. Essential Oil and Extract Obtained by Microwave extraction: Comparison with Hydrodistillation. Food chemistry, 106: 132-139.
- [164] J. RODIER,** (2009) L'analyse de l'eau: Eaux naturelles, Eaux résiduelles, Eau de mer. 9^{ème} édition: Dunod, Paris.

- [165] B. Joly, A. Reynaud,** (2003) Entérobactéries : systématiques et méthodes d'analyses. Edit. Techniques et Documentation. Paris. 356p.
- [166] C. Dellarras,** (2007) Microbiologie pratique pour laboratoire : d'analyse ou de contrôle sanitaire .Ed Médicales internationales, Lavoisier.paris: p 476.
- [167] J.P. Euzéby,** (1998) Enterobacteriaceae, Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire, Centre Interuniversitaire de Calcul de Toulouse (CICT), France.
- [168] N. Marchal, J.L. Bourdon, C. Richard,** (1982) Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries, Doin éditeurs, Paris.
- [169] SFM** (2008), Société Française de Microbiologie, Recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, Janvier 2008, 49p.
- [170] A. Hayes and B. Markovic,** (2002) Toxicity of australian essential oil *Backhousia citriodora* Part 1 antimicrobial activity and invitro cytotoxicity. Food Chem. Toxicol., 4: 949-964.
- [171] A.W. Bauer, W.M.M. Kirby, T.C. Sherris, and M. Truck,** (1966) Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method, American Journal of Clinical Pathology, 45, p. 493 - 496.
- [172] A.L. Barry and C. Thornsberry,** (1985) Susceptibility test, diffusion test procedure, American Journal of Clinical Pathology, 19, p. 492 - 500.
- [173] A. A. Adesokan, M.A. Akanji and M.T. Yakubu,** (2007) Antibacterial potentials of aqueous extract of *Enantia chlorantha* stem bark, African Journal of Biotechnology, 6 (22), p. 2502 - 2505.
- [174] J.H. Doughari, M.S. Pukuma and N. DE,** (2007) Antibacterial effects of *Balanites aegyptiaca* L. Drel. and *Moringa oleifera* Lam. on *Salmonella typhi*, African Journal of biotechnology, 6 (19), p. 2212 - 2215.
- [175] CLSI,** (2007) Clinical and Laboratory Standards Institute-Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests methods for antimicrobial susceptibility testing for bacteria isolated from animals-Approved standard- Third edition – CLSI document M11-A7- Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA.

[176] A. Viljoen, S. Van Vuuren, E. Ernst, M. Klepser, B. Demirci, H. Baser, BE. Van Wyk, (2003) *Osmitopsis asteriscoides* (Asteraceae)-the antimicrobial activity and essential oil composition of a Cape-Dutch remedy. J. Ethnopharmacol. 88: 137-143.

[177] J. Frank Et N. Kemmer, (1992) Manuel de l'eau. Édition: Lavoisier. P 3.102.105.

Sites Web consultés :

[178] https://fr.wikipedia.org/wiki/Acide_adipique

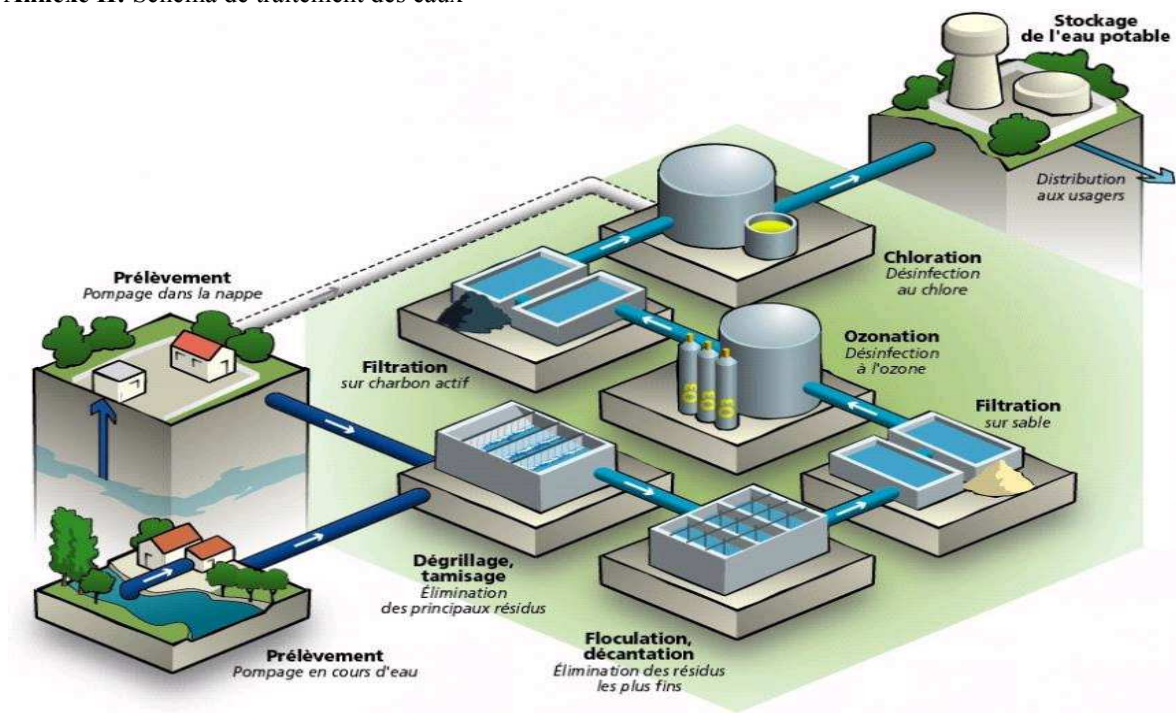
[179] <http://www.societechimiquedefrance.fr/ethylene-glycol.html>

ANNEXES

Annexe I: PARAMETRES DE QUALITE DE L'EAU DE CONSOMMATION HUMAINE (JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N 18)
1°F (=degré français) représente 10mg/l CaCO₃

GROUPE DE PARAMETRES	PARAMETRES	UNITES	VALEURS LIMITES
Paramètres physico-chimiques en relation avec la structure naturelle des eaux	Température	C	25
	Turbidité	NTU	5
	Oxydabilité	mg/l O ₂	5
	Concentration en ions hydrogène	Unité pH	6.5 et 9
	Conductivité 20 °C	S/cm	2800
	Aluminium	mg/l	0,2
	Nitrates	mg/l	50
	Nitrites	mg/l	0,2
	Phosphore	mg/l	5
	Chlore	mg/l	5
	Calcium	mg/l en CaCO ₃	200
	Chlorures	mg/l	500
	Potassium	mg/l	12
	Résidu sec	mg/l	1500
	Sodium	mg/l	200
	Sodium	mg/l	200
	Sulfates	mg/l	400
	Alcalinité	mg/l en CaCO ₃	500
	Dureté	mg/l en CaCO ₃	200
Paramètres microbiologiques	Escherichia Coli	n/100ml	0
	Entérocoques	n/100ml	0
	Bactéries sulfitoréductrices y compris les spores	n/20ml	0
	Couleur	mg/l Platine	15
Paramètres organoleptiques	Odeur 12 C	Taux dilution	4
	Saveur 25 C	Taux dilution	4

Annexe II: Schéma de traitement des eaux



Annexe III: Méthodes d'analyses physico-chimiques.

1) Mesure de la conductivité:

• Mode opératoire:

- ✓ D'une façon générale, opérer avec la verrerie rigoureusement propre ; et rincer avant usage de l'eau distillée;
- ✓ Ajuster l'appareil à zéro.
- ✓ Ajuster la température de l'eau de l'air sur l'appareil;
- ✓ Rincer plusieurs fois l'électrode de platine, d'abord avec de l'eau distillée puis en le plongeant dans un récipient contenant de l'eau à analyser, en prenant soin que l'électrode soit complètement émergé;
- ✓ Rincer abondamment l'électrode avec de l'eau distillée après chaque mesure;

Les résultats sont exprimés en micro Siemens par centimètre ($\mu\text{S} / \text{cm}$).

2. Détermination du titre alcalimétrique (TA)

2.1. Réactifs utilisés

- ✓ Acide chlorhydrique HCl (0.02N);
- ✓ Solution de phénophtaléine (pp) ;

2.2 Mode Opératoire

Dans un erlenmeyer de 250ml, on prélève 10ml d'eau à analyser, on ajoute 2 gouttes de solution phénophtaléine, une couleur rose doit se développer. (Dans le cas contraire le TA est nul).

3. Détermination du titre alcalimétrique complet (TAC)

3.1. Réactifs utilisés

- ✓ acide chlorhydrique HCL 0.02N
- ✓ solution de méthyle orange;

3.2. Mode opératoire :

Dans un erlenmeyer de 250ml : on prélève 10ml à analyser, on ajoute 2 gouttes méthyle orange, on titre ensuite avec l'HCL à 0.02 N jusqu'au virage du jaune au jaune orange.

4. Dosage de la dureté totale (titre hydrométrique TH)

4.1. Réactifs utilisés

- ✓ Solution d'EDTA (Sel dissodique d'acide éthylène diamine tetracétique à 0.02N ;
- ✓ Solution tampon (pH= 10) ;
- ✓ Indicateur coloré Noir d'Eriochrom T (N.E.T) ;

4.2. Mode opératoire

Dans un erlenmayer de 250 ml, on prélève 10 ml d'eau à analyser, on chauffe au bain marie à une température d'environ 60°C puis on ajoute 0.5 ml de la solution tampon (pH= 10) et 3 gouttes d'indicateur coloré (N.E.T), ensuite on titre avec l'EDTA jusqu'au virage du rouge au bleu.

5. Dosage du l'ion de calcium

5.1. Réactifs utilisés

- ✓ Solution d'EDTA (Sel dissodique d'acide éthylène diamine tetracétique (0.02N);
- ✓ Solution NaOH (0.1 N) ;
- ✓ Murexide ;

5.2. Mode opératoire

Dans un erlenmayer de 250ml, on prélève 10ml d'eau à analyser, on ajoute 0.4ml de solution NaOH et une pincée de murexide, puis on titre par la solution d'EDTA jusqu'au virage du rose au pourpre.

5.3. Expression des résultats

$$D_{ca}^{2+} = (N_{EDTA} \times V_{EDTA}) \times 1000 / V_0 \times 20 \text{ (mg)}$$

$$D_{ca}^{2+} = (N_{EDTA} \times V_{EDTA}) \times 1000 / V_0 \times 5 \text{ (F}^\circ\text{)}$$

$$D_{ca}^{2+} \text{ dureté calcique}$$

N= Normalité de la solution EDTA.

V=Volume de la solution EDTA.

V₀=Volume d'eau à analyser.

6. Dosage des ions des chlorures « méthode de Mohr »

6.1. Réactifs utilisés

- ✓ Solution de chromate de potassium à 10 % ;
- ✓ Solution de nitrate d'argent à 0.02 N ;

6.2. Mode opératoire

Dans un erlenmayer de 250ml, prélève 10ml d'eau à analyser, puis on ajoute 3 gouttes de chromate de potassium à 10 % puis on titre avec le nitrate d'argent (AgNO₃ 0.02N) jusqu'au virage au rouge brique.

6.3. Expression des résultats:

$$[Cl^-] = V \times 10 \times 3.55 \text{ donne la teneur en chlorure, exprimé en mg de Cl}^- \text{ par litre}$$

$$[Cl^-] = V \times 10 \times 5.85 \text{ donne la teneur en chlorure, exprimé en mg de Na Cl par litre}$$

Annexe IV: Méthodes d'analyse Spectrophotométrie d'absorption moléculaire

Tous les dosages sont effectués au niveau d'un spectrophotomètre de marque (ODYSSEY /HACH) DR 2500.

• **Mode opératoire:**

- ✓ Appuyer sur programme HACH : Sélectionner le programme qui correspond à chaque élément mesuré.
- ✓ Transférer 10 ml d'eau distillée dans une cuve (blanc).
- ✓ Transférer 10 ml de l'échantillon dans une autre cuve (l'échantillon préparé).
- ✓ Transférer le contenu d'une pochette de réactif dans la cuve de l'échantillon préparé.
- ✓ Appuyer sur l'icône représentant la minuterie, en suite OK, une période de réaction va commencer.
- ✓ Lorsque la minuterie ralentie, essuyer l'extérieur du blanc et introduire dans le compartiment de cuve.
- ✓ Appuyer sur zéro, l'indication suivant apparaît sur l'écran 0,00 mg/L.
- ✓ Essuyer l'extérieur de la cuve contenant l'échantillon préparé et introduire dans le compartiment de cuve.
- ✓ Lire le résultat directement sur l'écran en mg/L.

Remarque : la préparation du blanc et de l'échantillon varie d'un dosage à un autre.

1. Dosage des nitrites

Programme : 371.

Blanc : 10ml d'eau à analyser.

Échantillon : 10ml d'eau à analyser + pochette de réactif pour nitrite Nitri ver 2.

3. Dosage des nitrates

Programme : 344.

Blanc : dans un tube de réactif « A » Nitra ver X et pipeter 1 ml d'eau à analyser.

Échantillon : blanc + pochette de réactif « B » Nitra ver X.

4. Dosage des phosphates

Programme : 490.

Blanc : 10ml d'eau à analyser.

Échantillon : 10ml d'eau à analyser + pochette de réactif Phos ver 3.

6. Dosage des sulfates

Programme : 680.

Blanc : 10ml d'eau à analyser.

Échantillon : 10ml d'eau à analyser + pochette de réactif Sulfa ver 4.

Annexe IV: Composition des milieux de culture et des réactifs

1) Milieu liquides:

1-1) Bouillon lactose au pourpre de bromocrésol (B.C.P.L):

Double concentration (D/C)

- ✓ Extrait de viande de boeuf 6g
- ✓ Peptone 10g
- ✓ Lactose 10g
- ✓ Pourpre de bromocrésol 0.06g
- ✓ Eau distillée 1 000ml

Simple concentration (S/C)

- ✓ Extrait de viande de boeuf 3g
- ✓ Peptone 5g
- ✓ Lactose 5g
- ✓ Pourpre de bromocrésol 0.03g
- ✓ Eau distillée 1 000ml

PH=7 autoclaver pendant 20 mn à 120°C

1.2) Milieux de Rothe:

• Double concentration (D/C):

- ✓ Tryptone 40g
- ✓ Glucose 10g
- ✓ Phosphate bipotassique 5.4g
- ✓ Chlorure de sodium 10g
- ✓ Phosphate monopotassique 5.4g
- ✓ Azide de sodium 0.4g
- ✓ Eau concentration distillée 1000ml

Simple concentration (S/C):

- ✓ Tryptone 20g
- ✓ Glycose 5g
- ✓ Chlorure de sodium 5g
- ✓ Phosphate monopotassique 207g
- ✓ Azide de sodium 0.2g
- ✓ Eau distillée 1000ml

pH =6.8-7. Autoclaver pendant 15 mn à 121°C

1-3) bouillons glucosé à l'éthyle violet et Azide de sodium (EVA) :

- ✓ Tryptone 20g
- ✓ Glucose 5g
- ✓ Chlorure de sodium 5g
- ✓ Phosphate bi potassique 2.7g
- ✓ Azide de sodium 0.3g
- ✓ Ethyle violet 0.0005g
- ✓ Eau distillée 1 000 ml

pH=7, autoclaver 20 min à 115°C

1-4) milieu Schubert:

- ✓ Tryptone 20g
- ✓ Glycose 5g
- ✓ Chlorure de sodium 5g
- ✓ Phosphate mono potassique 0.3g
- ✓ Azide de sodium 0.3g
- ✓ Solution d'éthyle violet 5ml
- ✓ Eau distillée 1 000ml

Autoclaver 20 min à 120°C

NB: Les milieux « BPCL et Schubert» reçoivent d'une cloche de durham.

1-5) milieux litsky:

- ✓ Tryptone 20mg
- ✓ Glucose 5mg
- ✓ Chlorure de sodium 2.7mg
- ✓ Phosphate mono potassique 2.7mg
- ✓ Phosphate di potassique 2.7mg
- ✓ Azide se sodium 0.3 mg
- ✓ Solution d'éthyle violet 5ml
- ✓ Eau distillée 1000ml

pH6.7 Autoclaver pendant 20 min à 115 °C

2) milieux solides:

2-1) gélose tryptone glucose Extrait de levure (TGEA)

- ✓ tryptone 5g

- ✓ glucose 1g
- ✓ extrait de levure 25g
- ✓ gélose 15g
- ✓ eau distillée 1 000 ml

PH=7. Autoclaver pendant 20 min à 120°C

2-2) gélose viande-foie (VF)

- ✓ Base viande-foie 20g
- ✓ Glucose 0.75g
- ✓ Amidon 0.75g
- ✓ Sulfite de sodium 1.2g
- ✓ Sodium carbonate 0.67g
- ✓ Agar-agar 11g
- ✓ Eau distillée 1 000ml

pH=7.6. Autoclaver pendant 15 min à 120°C. Dissoudre les constituants, répartir en tubes ou flacons.

Annexe V : les résultats des analyses réalisées sur l'eau des principaux forages et principales sources exploités pour l'alimentation en eau potable au niveau de la wilaya de Sidi Bel Abbès

- **Ain Skhouna** : eau bicarbonatée, magnésienne, de bonne qualité chimique ;
- **Ain Mekhreg** : eau bicarbonatée, calcique, de bonne qualité chimique ;
- **F3 "Tenira "**: eau bicarbonatée, magnésienne, de qualité chimique bonne à passable ;
- **Barrage sidi Abdeli** : eau de bonne qualité chimique.
- **Barrage Chorfa** : eau de bonne qualité chimique sauf un degré de salinité très élevé.

Annexe

paramètre	unité	Les échantillons d'eau superficielle						Les échantillons d'eau souterraine		
		Barrages Sidi abdelli				Barrage Chorfa		les sources Sidi Ali Ben Youb		Forage Tenira
		D44 Eau traitée	D36 Eau mélangée	D8 Eau dessalée	A Eau brute	Eau traitée	Eau brute	Ain Mekhreg	Ain Skhouana	F3
Température	⁰ C	21.4	22.2	23.1	25.2	23	25.4	10.23	11.40	11.40
pH	-	7.21	7.47	7.55	8.41	7.58	8.34	7.68	7.60	7.12
Turbidité	NTU	4.04	0.3	1.74	6.31	13.1	19.9	2.50	3.20	0.49
Conductivité	μs/cm à 20°	1046	862	700	1044	2711	2655	1116	1083	816
Oxydabilité	mg d'O ₂ /l	4.9	5.7	5.9	6.9	/	4.6	14	11.70	11.50
Salinité	mg/l	514	422	321	531	/	346	162	81	231
MES	mg/l	4	3	3	8	11	17	00	1	00
TA/TAC	mg/l en CaCO ₃	188	170	179	189	200	190	130	122	113
TH	mg/l en CaCO ₃	450	560	700	620	640	640	360	352	421
Phosphate PO ₄ ⁻³	mg/l	0.06	0.20	0.44	0.01	0.43	0.93	0.03	00	00
Magnésium Mg ²⁺	mg/l	90.2	112	110	95.7	94.5	104.5	50	34	75
Calcium Ca ²⁺	mg/l	150.3	152	155	142	150	134	152	160	131
Chlorures Cl ⁻	mg/l	/	/	150	/	980	950	116	56	157
Sulfates SO ₄ ⁻⁻	mg/l	113.5	260.5	240.7	104.1	276.2	238.9	96	60	47
Nitrates NO ₃ ⁻	mg/l	0.02	2.1	6.5	1.5	0.06	0.03	25	7	45
Nitrites NO ₂ ⁻	mg/l	0.03	0.03	0.02	0.06	0.25	0.86	00	00	00
Sodium Na ⁺	mg/l	24	21	22.4	23.1	23.56	22	51	20	75
Potassium K ⁺	mg/l	3.1	3.2	4.02	2.01	2.02	1.83	1	2	1
Bicarbonate HCO ₃ ⁻	mg/l	/	140	/	145	/	/	342	381	374

Abstract.

The pollution of water by certain Bacterial Pathogens has been the cause of some diseases. As result there is an increase in the demand of new devices for the water treatment. One of the possibilities to avoid this phenomenon is the development of materials having an antibacterial activity such as polymers. Indeed the use of polymers biodegradables having an antibacterial activity offers an advantage of minimizing the problems of contamination of the environment especially that of the water pollution by the chemical agents with low molecular weight.

In this study, we aimed to a coupling between a chemical synthesis of polymers poly(ester-amide)s biodegradable and a study of their antibacterial effect opposite some bacteria water-born such as staphylococcus aureus, Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa.

The poly(ester-amide)s were synthesized through the reaction of Poly(Ethylene Adipate) and Adipic Acid with bisoxazoline as chain extender. The polymers were analysed with FTIR, ¹H NMR and ¹³C NMR spectroscopy and were confirmed to possess final compositions very similar to the initial feed compositions. Biodegradation studies were carried out by incubating the poly(ester-amide)s with Aspergillus Niger and basillus subtilis for 48H at 30°C. The degradation was assessed by using the method of estimation of the growth of bacteria. The antimicrobial activity of the prepared polymers has been tested against the three bacteria by using three methods: agar disc diffusion, determination of minimum inhibitory concentration, The Minimum Bactericidal Concentration and in the water. The results obtained showed strong antibacterial activity against staphylococcus aureus and Escherichia coli, whereas it was less active against Pseudomonas aeruginosa.

The prepared polymers were found to inhibit both gram-positive and -negative bacteria. The activity was varied according to the tested microorganism as well as the polymer microstructure. The results of this study suggest that these novel antimicrobial polymers show promise for use in the field of biological water treatment.

Keywords: water, bacterium, polyesters, coupler of chain, poly (ester-amides), biodegradation, antibacterial.

Keywords: water; bacterium; poly (ester-amide); biodegradation, antibacterial activity.

Résumé.

La contamination des eaux par certaines bactéries pathogènes a pour résultat la transmission de maladies. Une des possibilités d'éviter ce phénomène est le développement de matériaux ayant une activité antibactérienne tels que des polymères. En effet, l'utilisation de polymères biodégradables ayant une activité antibactérienne offre un avantage de minimiser les problèmes de contamination de l'environnement notamment celui de la pollution de l'eau par les agents chimiques à faible poids moléculaire.

Dans cette étude, nous avons cherché à établir un couplage entre une synthèse chimique de polymères poly (ester-amide)s biodégradables et une étude de leur effet antibactérien contre certaines bactéries d'origine hydrique telles que: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Les poly (ester-amide) ont été synthétisés par la réaction de couplage de poly (éthylène adipate) et l'acide avec le bisoxazoline comme un coupleur de chaîne. Les polymères ont été caractérisés par FTIR, la spectroscopie RMN ^1H et ^{13}C , les spectres ont été confirmés les compositions finales des PEAs qui étaient très similaires aux compositions initiales.

les études de biodégradation ont été réalisées par incubation des poly (ester-amide)s avec l'*Aspergillus Niger* et *Basilus subtili* pendant 48 H à 30 ° C. La dégradation a été évaluée à l'aide de la méthode d'estimation de la croissance des bactéries. L'activité antibactérienne a été testée contre les trois bactéries par les trois méthodes suivantes: diffusion sur disque d'agar, la détermination de la concentration inhibitrice minimale, la concentration minimale bactéricide et dans l'eau. Les résultats obtenus ont montré une forte activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia Coli*, alors qu'il était moins actif contre *Pseudomonas aeruginosa*.

Les polymères préparés ont inhibé les bactéries Gram-positive que le gram-négative. L'activité a été variée en fonction du micro-organisme testé, ainsi que la microstructure du polymère. Les résultats de cette étude suggèrent que ces nouveaux polymères antimicrobiens sont prometteurs pour une utilisation dans le domaine du traitement biologique de l'eau.

Mots-clés : l'eau ; bactérie ; un poly (ester-amide); biodégradation; activité antibactérienne.