



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences et de la technologie
Département de chimie industrielle

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences et Techniques
Filière : Science de l'environnement
Spécialité : Génie des procédés de l'environnement

Réf. :

Présenté et soutenu par :
Zineb RAIS

Le : dimanche 7 juillet 2019

Etude des pansements médicaux à base des biopolymères cellulosiques et de la membrane d'œufs

Jury :

Dr. Sana ALMI	MCA	Université de Biskra	Président
Dr. Fatima ADJAL	MCA	Université de Biskra	Rapporteur
Dr. Hanane RAHALI	MCB	Université de Biskra	Examineur

Dédicace

Je dédie ce mémoire

*A mes chers parents **Brahim** et **Nazika** pour leurs amours, leurs
patiences, leurs encouragements et leurs aides*

*A mes frères **Ahmed el Bachir** et **Abed el Moez***

*A mes sœurs **Selsabil** et **Wissal***

A toute ma famille

A la mémoire de mes grands pères

A tous mes amis

A toute promotion chimie industrielle 2019

Remerciement

Je remercie notre encadreur **Dr. Adjal Fatima** pour avoir accepté d'encadrer ce travail, ses efforts et ses conseils.

Nous tenons tout d'abord à remercier grandement **Dr. Almi Sana** pour sa grande disponibilité et ses précieux conseils et ses encouragements.

Je remercie également **Dr. Rahali Hanane** membres de jury qui ont accepté de juger ce travail.

J'exprime ma gratitude et un profond respect sans limite à madame **Berkane Nabila** et chef du laboratoire madame **Loacif Amina** et **Houili Zine Elabidine** et tout l'équipe de l'**ENICAB Biskra**.

Je remercie de même monsieur **Atar Fouad** pour ses conseils et tout le groupe de l'**institut de Hassani Bounab Biskra**.

Merci à **Dr. Boutamine Zineb** à ses conseils et ses engagements.

Je remercie les ingénieurs de laboratoire chimie industrielle pour leurs efforts.

Enfin je veux dire merci à tous les enseignants du département de chimie industrielle l'université de Biskra pour l'aide pendant ma formation d'étude.

Résumé

Pour réduire le volume des déchets et protéger l'environnement, nous tenons dans ce travail la valorisation des déchets du bois et les coquilles d'œufs aux pansements médicaux, par la préparation des biopolymères à base de la cellulose extrait des déchets du bois, et par la préparation de la membrane d'œufs comme inhibiteur de croissance bactérienne et pour guérir les plaies.

المخلص

لتقليل حجم النفايات وحماية البيئة، قمنا في هذا العمل بتحويل نفايات الخشب وقشور البيض إلى ضمادات طبية، عن طريق تحضير البوليمرات الحيوية القائمة على السليلوز المستخرج من نفايات الخشب، وعن طريق إعداد غشاء البيض كمثبط للنمو البكتيري وتضميد الجروح.

Abstract

To reduce the volume of waste and protect the environment, in this work, we take the valuation of wood waste and eggshells to medical dressings, by the preparation of biopolymers based on cellulose extracted from wood waste, and by preparing the eggshell membrane as a bacterial growth inhibitor and to heal wounds.

Mots-clés : pansement médicale, biopolymère cellulosique, la membrane d'œufs, la cellulose.

Liste de figures

Chapitre I

Figure I.1 :	Paroi cellulaire du bois.....	3
Figure I.2 :	Schéma représentant l'assemblage particulier de la cellulose, de la lignine et de l'hémicellulose au sein de la paroi végétale.....	4
Figure I.3 :	Modèle simplifier de la paroi primaire.....	5
Figure I.4:	Représentation schématique des sous-couches de la paroi secondaire.....	5
Figure I.5 :	Les compositions chimiques du bois.....	6
Figure I.6:	Structure de la cellulose.....	7
Figure I.7:	Les sucres monomériques pouvant être observés dans la composition de l'hémicellulose.....	7
Figure I.8 :	Représentation de la structure de la lignine et modèle moléculaire de la lignine dérivée du bois.....	8
Figure I.9 :	Structure schématisée des principales pectines.....	9
Figure I.10 :	Structure chimique de la cellulose.....	12
Figure I.11:	Représentations schématiques des mailles élémentaires des allomorphes I α et I β de la cellulose I et du réseau de liaisons hydrogène intra et inter-chaînes.....	12
Figure I.12 :	Ponts hydrogène intramoléculaires et intermoléculaires entre deux macromolécules adjacentes de cellulose.....	13
Figure I.13:	Représentation des micros fibrilles constituant la fibre de cellulose.....	13

Chapitre II

Figure II.1 :	Schéma représente les compositions d'œuf.....	20
Figure II.2 :	Représentation schématique d'une coupe transversale de la coquille.....	24
Figure II.3 :	Photographie en microscopie à balayage électronique de la coquille.....	24
Figure II.4 :	La structure de la membrane coquillière.....	25

Chapitre III

Figure III.1 :	Extracteur de Soxhlet.....	30
-----------------------	----------------------------	----

Figure III.2 :	Spectroscopie IRTF.....	31
Figure III.4 :	Duromètre.....	31
Figure III.4 :	Machine de traction.....	32
Figure III.5 :	Autoclave.....	32
Figure III.6:	Etapes d'élimination les matières extractibles.....	33
Figure III.7 :	Etapes d'élimination la lignine.....	34
Figure III.8 :	Etapes d'élimination les hémicelluloses.....	35
Figure III.9 :	Etapes d'extraction la membrane d'œuf.....	36
Figure III.10 :	Etapes de préparation les biofilms de cellulose.....	36
Figure III.11 :	Ré-isolement les souches bactériennes.....	37
Figure III.12 :	Etapes de l'ensemencement des bactéries.....	37
Figure III.13 :	Préparation des disques.....	38
Figure III.14 :	Etapes d'applications des disques.....	38
Figure III.15 :	Test de biodégradabilité.....	40
Figure III.16 :	Test de gonflement.....	41
Figure III.17 :	Test de la solubilité à l'eau.....	41
Figure III.18 :	Composition chimique du bois (% en poids)	43
Figure III.19 :	Spectre infrarouge de la cellulose extraite du bois.....	44
Figure III.20 :	Spectre IRTF de la membrane d'œuf.....	49
Figure III.21 :	Effet de temps sur la dégradation des biofilms.....	47
Figure III.22 :	Test de gonflement.....	48
Figure III.23 :	Test de la solubilité à l'eau.....	49
Figure III.24 :	La traction de biofilm de la cellulose.....	50
Figure III.25 :	Résultats de l'activité antibactérienne.....	52
Figure III.26 :	Histogramme présente les zones d'inhibition pour toutes les souches bactériennes de la membrane d'œuf.....	54

Liste des tableaux

Chapitre II

Tableau II.1 :	Vitamines et minéraux contenant d'entier d'œuf, blanc d'œuf et jaune d'œuf (à 100 g, sans la coquille)	22
Tableau II.2 :	Les acides aminés contenant à la membrane coquillière d'œuf.....	26

Chapitre III

Tableau III.1 :	Produits utilisés dans ce travail.....	28
Tableau III.2 :	Matériels utilisés dans ce travail.....	30
Tableau III.3 :	Interprétation du spectre infrarouge de la cellulose.....	44
Tableau III.4 :	TCI, HBI, LOI de la cellulose.....	45
Tableau III.5 :	La solubilité de la membrane d'œuf.....	45
Tableau III.6 :	Interprétation de IRTF de la membrane coquillière.....	46
Tableau III.7 :	Test de la biodégradabilité.....	48
Tableau III.8 :	Module de Young.....	51
Tableau III.9 :	La dureté des biofilms cellulose.....	51
Tableau III.10 :	Diamètre des zones d'inhibition de la membrane.....	53

Liste d'abréviation

AFEX: Ammonia Fiber Explosion/Expansion.

BminCl: 1-butyl-3-methylimidazolium.

cadoxen : cadmium éthylènediamine.

CESA : complexe enzymatique de cellulose synthase.

CMI : concentration minimale inhibitrice.

cN/tex : unité en pratique de module d'élasticité.

Cp : chaleur spécifique.

cuam : 'hydroxyde de cuprammonium.

cuen : cupriéthylène diamine.

DMAC : diméthylacétamide.

DMSO : diméthylsulfoxyde.

EminAc: 1-ethyl-3-methylimidazolium.

HAC : curcumine hydroxylée acétylée.

HBI : Intensité de liaison hydrogène.

HG : Homogalacturonane.

IRTF : spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier.

KDa : Kilo Dalton (unité mesure la masse molaire des protéines).

LM : membrane limitante.

LOI : Indice d'ordre latéral.

NMMO : l'oxyde de N-méthylmorpholin.

p/p: poids/poids.

RG I : Rhamnogalacturonane I.

RG II : Rhamnogalacturonane II.

RMN : résonance magnétique nucléaire.

TCI : Indice de cristallinité total.

Tg : température de transition vitreuse.

v/v : volume/volume.

WS : solubilité à l'eau (water solubility).

Sommaire

Résumé

Liste des figures

Listes des tableaux

Liste d'abréviation

Introduction générale.....1

Chapitre I

I.1. Le bois.....3

I.1.1. Paroi végétale : principale composante.....3

I.1.2. Composition chimique du bois.....6

I.1.2.1. La cellulose.....6

I.1.2.2. L'hémicellulose.....7

I.1.2.3. La lignine.....7

I.1.2.4. Les extractibles simples.....8

I.1.2.4.a. Les pectines.....8

I.1.2.4.b. Les cires.....9

I.1.2.5. Les substances minérales.....9

I.2. La cellulose.....9

I.2.1. Historique.....9

I.2.2. La biosynthèse.....10

I.2.3. La structure.....11

I.2.2.3.1. Structure moléculaire.....11

I.2.2.3.1. Structure supramoléculaire.....	12
I.2.4. La cristallinité.....	13
I.2.5. Propriétés de la cellulose.....	14
I.3. Extraction de la cellulose.....	15

Chapitre II

II.1. Généralité sur les œufs.....	20
II.1.1. Composition de l'œuf.....	20
II.1.1.1. Le jaune.....	20
II.1.1.2. La membrane vitelline.....	21
II.1.1.3. Le blanc (albumine).....	21
II.1.1.4. La coquille.....	23
II.2. La membrane coquillière.....	24
II.2.1. Structure et morphologie.....	24
II.2.2. Composition chimique.....	25
II.2.3. L'activité antimicrobienne de la membrane.....	26
II.2.4. La membrane dans les traitements des plâs.....	27

Chapitre III : partie expérimentale

III.1. Matériels et produits.....	28
III.1.1. Produits.....	28
III.1.2. Matériels.....	29
III.1.3. Appareillage.....	30
III.2. Méthodes.....	33
III.2.1. Extraction de la cellulose.....	33

III.2.2.	Extraction de la membrane d'œuf.....	35
III.2.3.	Préparation de la biofilm.....	36
III.2.3.	Activité antimicrobienne.....	36
III.3.	Tests et caractérisations.....	39
III.3.1.	Analyse par IRTF.....	39
III.3.2.	Effet du temps sur la perte des molécules d'eau des biofilms.....	39
III.3.3.	Test de biodégradabilité.....	40
III.3.4.	Test de gonflement.....	40
III.3.5.	Test de la solubilité à l'eau.....	41
III.3.6.	Test de la traction.....	41
III.3.7.	La dureté des biofilms.....	42
III.4.	Résultats et discussion.....	43
III.4.1.	La cellulose.....	43
	-Le rendement d'extraction.....	43
	-Spectre IRTF.....	43
III.4.2.	La membrane d'œuf.....	45
	-La solubilité.....	45
	-Spectre IRTF.....	46
III.4.3.	Les biofilms.....	46
	- Effet du temps sur la perte des molécules d'eau des biofilms	46
	-Test de biodégradabilité.....	47
	-Test de gonflement.....	48
	-Solubilité à l'eau.....	49

-Test de traction.....	49
-La dureté.....	51
III.4.4. L'activité antimicrobienne.....	51
Conclusion générale	55
Références bibliographiques.....	57



Introduction générale

Introduction générale

L'environnement est un ensemble des éléments physiques (l'eau, la terre, l'air, ressources naturelles, faune et flore) ainsi que des interrelations entre ces éléments et entre l'homme. Malheureusement depuis quelques décennies, l'environnement est apparu comme un problème majeur à travers la dégradation continue des ressources naturelles, qui représente un danger pour le présent et l'avenir de l'humanité. Toute activité humaine de production ou de consommation génère des déchets (industrielles ou ménagères), qui sont souvent associés à la détérioration de notre environnement et a de multiples risques pour la santé humaine.

Aujourd'hui, la protection de l'environnement est devenue une préoccupation collective, malgré plusieurs projets dans le domaine de la gestion des déchets. La gestion ou la valorisation des déchets, généralement considérée comme une solution préférable à l'élimination des déchets, est un ensemble de procédés par lesquels on transforme un déchet matériel ou organique dans l'objectif d'un usage spécifique.

L'objectif principal de cette étude est de contribuer à une meilleure gestion et valorisation des déchets solides. Dans ce travail on a utilisé les déchets du bois pour préparer biopolymère cellulosique et les coquilles d'œufs comme antibiotique pour fabriquer un pansement médical utiliser sur les plaie chroniques.

Cette étude est organisée en trois chapitres comme suit:

Le premier chapitre présente une généralité sur les biopolymères cellulosiques : le bois (les principales composantes de la paroi végétale et les compositions chimiques du bois), la cellulose (historique, la biosynthèse, la structure, la cristallinité et ses propriétés) et quelques méthodes d'extraction de la cellulose à partir du bois.

Le deuxième chapitre présente une synthèse bibliographique sur la membrane d'œufs : généralités sur les œufs (les compositions de l'œuf) et sur la membrane coquillière (structure, compositions chimiques, l'activité antibactérienne et les effets de la membrane sur les traitements des plaie).

Le troisième chapitre représente la partie expérimentale, il est composé en deux parties, la première partie a décrit les dispositifs expérimentaux, les équipements analytiques, les méthodes (extraction de la cellulose, extraction de la membrane, préparation des biofilms), les techniques et les tests de caractérisation (caractérisations de la cellulose et de la membrane d'œufs, les tests sur les biofilms et le activité antibactérienne) dédiés à la mesure des

Introduction générale

grandeurs nécessaires pour atteindre les objectifs de la recherche. La deuxième partie représente les résultats et leurs discussions et leurs interprétations.

Enfin, on termine par une conclusion générale.

Chapitre I

Généralité sur Les biopolymères cellulosiques

Un composé dit biosourcé est un composé dérivé de la biomasse, c'est-à-dire de ressources biologiques renouvelables comme les plantes, les algues, les arbres, les organismes marins et les déchets agroalimentaires. Par ailleurs, l'intérêt pour la biomasse végétale croît continuellement depuis le début du XXI^e siècle. Cette ressource, jugée quasi-inépuisable, suscite de plus en plus l'intérêt du monde industriel. Leur but est de trouver de nouveaux synthons chimiques ou encore de remplacer ceux issus de ressources pétrolières. Le fait de s'affranchir des fluctuations du pétrole est un enjeu majeur pour le développement stratégique des pays et des industries. Cela permet de diminuer les dépenses en matières premières et surtout de diminuer les risques financiers [1].

I.1. Le bois

Le bois est une importante ressource naturelle renouvelable largement utilisée comme matière première industrielle. En plus d'être une source de plusieurs produits chimiques industriels importants, il est la source principale de fibre pour la pâte, le papier, les panneaux de fibres, les panneaux de particules, le contreplaqué, ... etc.

Chimiquement, le bois est principalement composé de trois polymères naturels qui sont la cellulose (40-60 %), les hémicelluloses (20-40 %) et la lignine (10-25 %) [2]. Des composés pectiques et des protéines entrent également dans la composition des cellules [3].

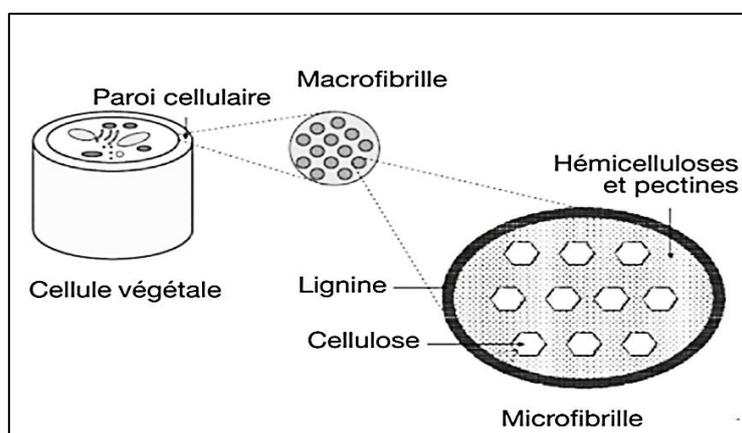


Figure I.1 : Paroi cellulaire du bois [4].

I.1.1. Paroi végétale : principale composante

La paroi végétale fonctionne comme un exosquelette participant à la forme des différents types cellulaires des tissus végétaux. Cette structure dynamique et modelable contrebalance la pression de turgescence des cellules en croissance, participe aux mécanismes

de défense, signalisation et différenciation cellulaire et approche rigidité et soutien aux organes végétaux, en particulier dans les tissus de soutien et de conduction.

A l'arrêt de la croissance cellulaire, les parois des fibres s'épaississent avec la formation d'une strate pariétale (la paroi secondaire) étroitement associée aux couches préexistantes (lamelle moyenne, paroi primaire). A maturité de la fibre, la paroi peut être assimilée à un réseau composite pluristratifié composé d'une armature fibrillaire, les microfibrilles de cellulose, enrobée par une matrice amorphe de polymères (pectines, hémicellulose, protéine) susceptible d'être incrustée par un polymère phénolique, la lignine.

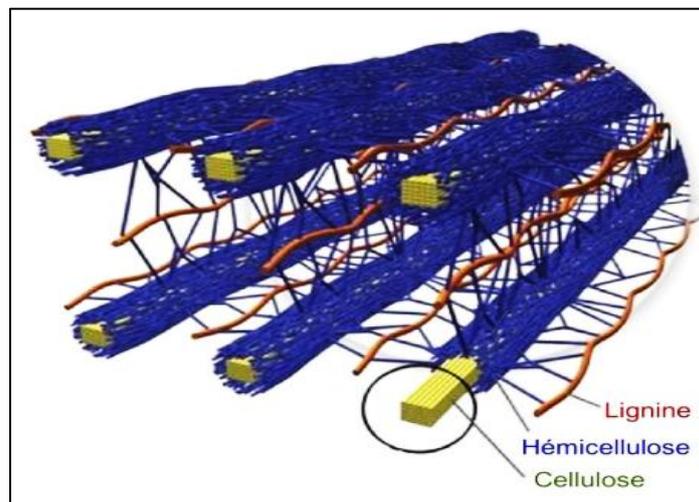


Figure I.2 : Schéma représentant l'assemblage particulier de la cellulose, de la lignine et de l'hémicellulose au sein de la paroi végétale [5].

- **La lamelle moyenne**, région mitoyenne entre les cellules, d'épaisseur inférieure à 0,5 μm ; c'est la première strate formée au cours de la division cellulaire [6] ; c'est une membrane complexe, renfermant principalement de la lignine (60 à 90 %) qui sert de lien entre les fibres, le reste (10 à 40 %) des substances pectiques, hémicelluloses et cellulose [4] ;
- **La paroi primaire** correspond à la paroi déposée dans la cellule en croissance, et forme une fine couche étroitement reliée à la lamelle moyenne. Les microfibrilles de cellulose sont dispersées dans une matrice riche en hémicelluloses et pectines [6]. Elle est hydrophile, l'eau représenter jusqu'à 90 % de son poids [7] ;

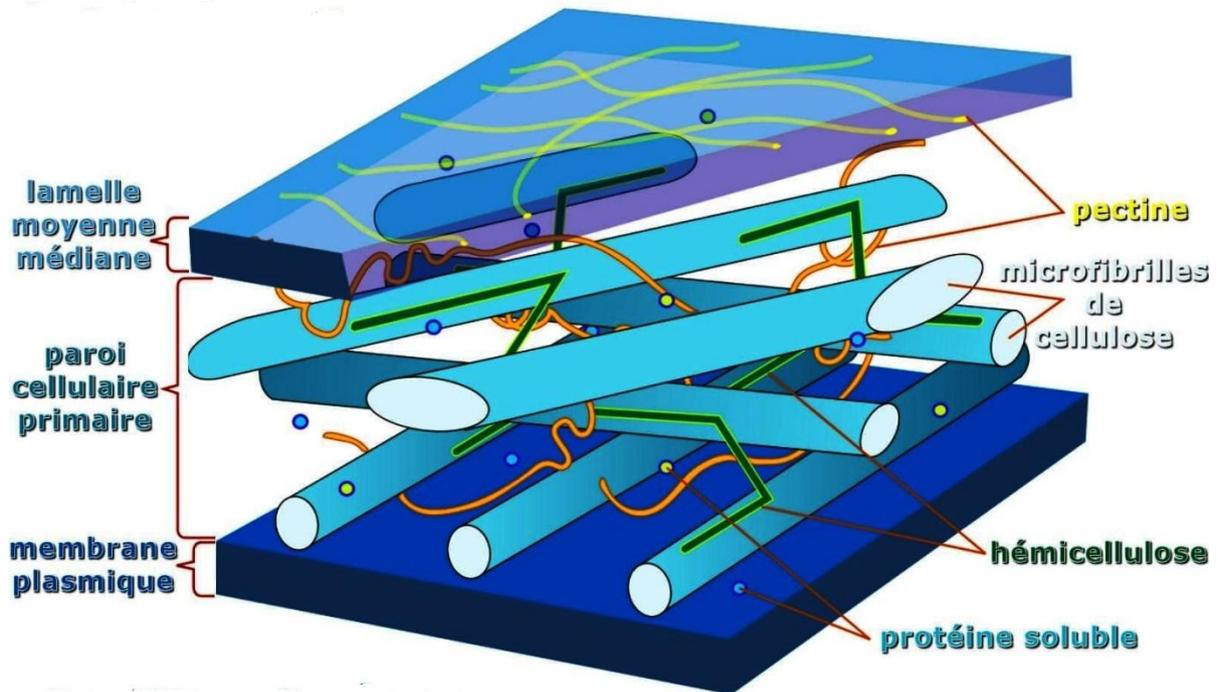


Figure I.3 : Modèle simplifié de la paroi primaire [8].

- **La paroi secondaire** est mise en place dans les fibres à l'arrêt de la croissance cellulaire. Avec une épaisseur variable de 1 à 20 μm selon le type de fibre, cette région est la composante majeure des fibres. La cellulose est le constituant principal de la paroi secondaire. L'organisation des microfibrilles de cellulose permet de distinguer trois sous-couches selon leur inclinaison par rapport à l'axe de la cellule : S1, S2 la plus épaisse et S3 [6].

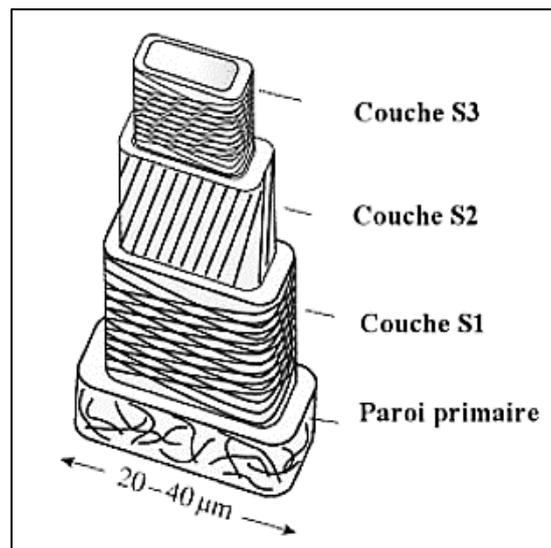


Figure I.4: Représentation schématique des sous-couches de la paroi secondaire [9].

I.1.2. Composition chimique du bois

La composition chimique du bois est complexe et présente une grande hétérogénéité. Le bois est essentiellement constitué de composants macromoléculaires (cellulose, hémicelluloses et lignine) et de composants minoritaires à bas poids moléculaires tels que les substances minérales et extractibles qui contribuent généralement peu aux propriétés mécaniques du bois, mais lui donnent principalement sa couleur, son odeur et améliorent sa durabilité.

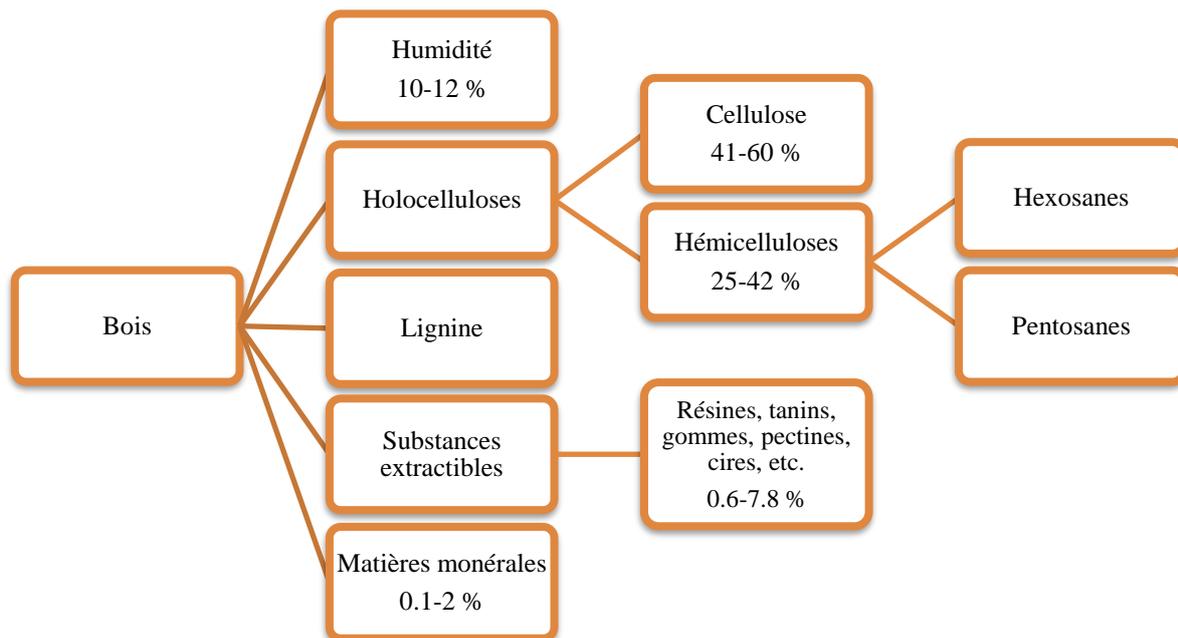


Figure I.5 : Les compositions chimiques du bois [7].

I.1.2.1. La cellulose

La cellulose est le constituant le plus important du bois. C'est un polysaccharide linéaire, homogène, non réticulé, de très haut poids moléculaire formé de motifs répétitifs de cellobiose. La cellobiose est constituée d'unités D-anhydroglucose attachées par des liaisons glycosidiques β -(1 \rightarrow 4).

Dans la paroi cellulaire, en particulier dans la paroi secondaire où la cellulose est fortement concentrée, les chaînes moléculaires de cellulose se sont rassemblées sous forme de longs filaments minces appelés microfibrilles. Ces microfibrilles sont disposées en régions cristallines et en régions amorphes [10].

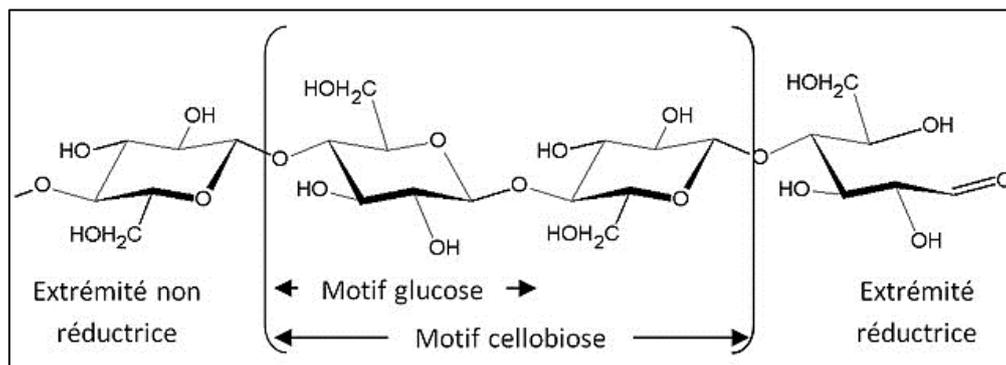


Figure I.6: Structure de la cellulose [6].

I.1.2.2. L'hémicellulose

L'hémicellulose est un hétéropolysaccharide constitué de 13 unités monomériques répertoriés en deux familles : les furanoses (hétérocycles à 5 éléments) et les pyranoses (cycle à 6 éléments). L'hémicellulose est un polymère amorphe, dû à de nombreuses ramifications et un degré de polymérisation généralement faible (de l'ordre 200) [11].

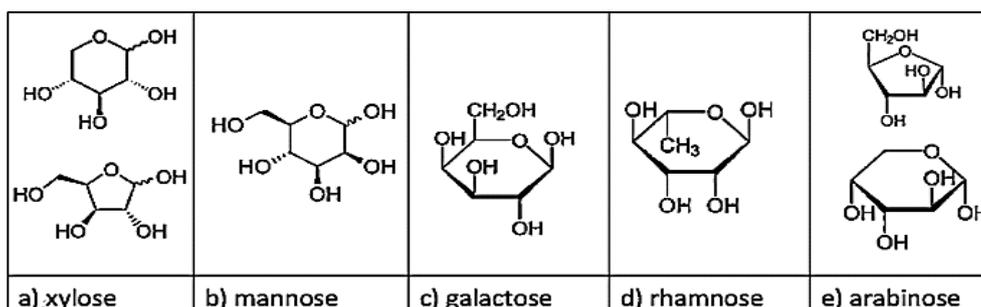


Figure I.7: Les sucres monomériques pouvant être observés dans la composition de l'hémicellulose [12].

I.1.2.3. La lignine

La lignine est un polymère hydrocarboné complexe à constituants aliphatiques et aromatiques [13]. La lignine est constituée de polymères phénoliques tridimensionnels, amorphes possédant trois unités différentes de type phénylpropane : les alcools sp-coumarylique, coniférylique et sinapylique [14]. La lignine a une structure très hétérogène qui varie en fonction des différentes espèces végétales [15]. La lignine est non hydrolysée par des acides ; mais soluble dans une solution alcaline chaude. La lignine est totalement amorphe et de nature hydrophobe. C'est le composé qui donne la rigidité aux plantes [13]. La lignine

est thermiquement stable ; mais elle est responsable de la dégradation de la fibre par les ultraviolets (UV) [16].

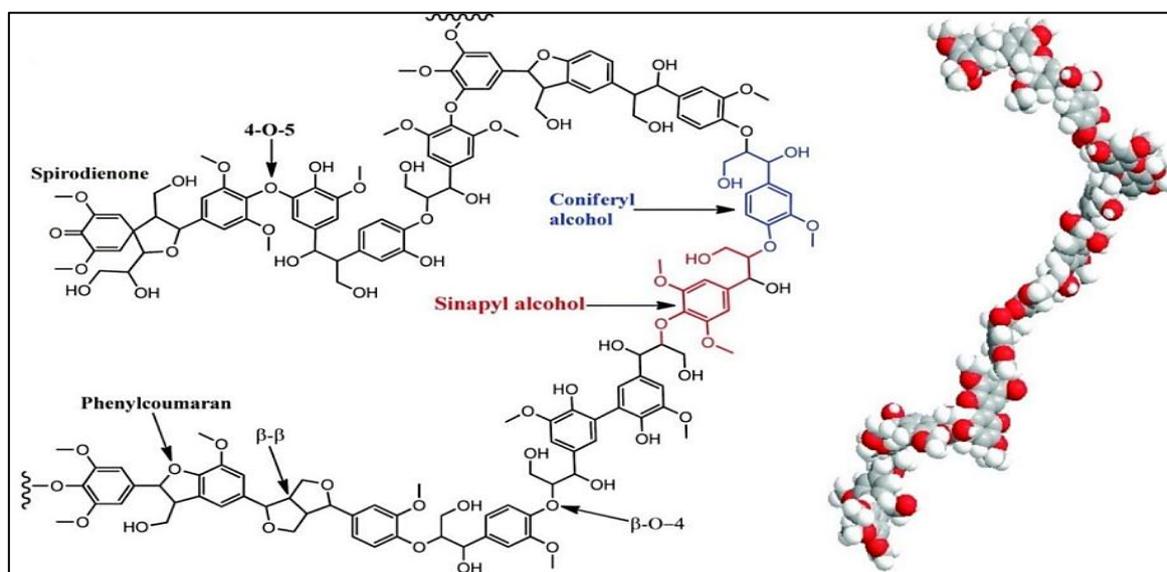


Figure I.8 : Représentation de la structure de la lignine et modèle moléculaire de la lignine dérivée du bois [17].

I.1.2.4. Les extractibles simples

Les extractibles sont des composés solubles dans des solvants organiques ou dans l'eau. Ce terme d'extractibles peut englober les constituants du bois autres que la cellulose, les hémicelluloses et la lignine. Ils comprennent un très large éventail de substances chimiques (plusieurs milliers de composés), la plupart ayant des masses moléculaires faibles. Ces substances peuvent être lipophiles ou hydrophiles et sont non structurales du bois qui représente environ 2 à 8 % de la matière sèche.

I.1.2.4.a. Les pectines

Les pectines forment un groupe de polysaccharides complexes qui ont comme caractéristique d'être extraits de la paroi par de l'eau chaude, des acides dilués ou des chélateurs de calcium. On considère qu'il existe trois domaines parmi les pectines : L'homogalacturonane (HG), le rhamnogalacturonane I (RG-I) et le rhamnogalacturonane II (RG-II) [18].

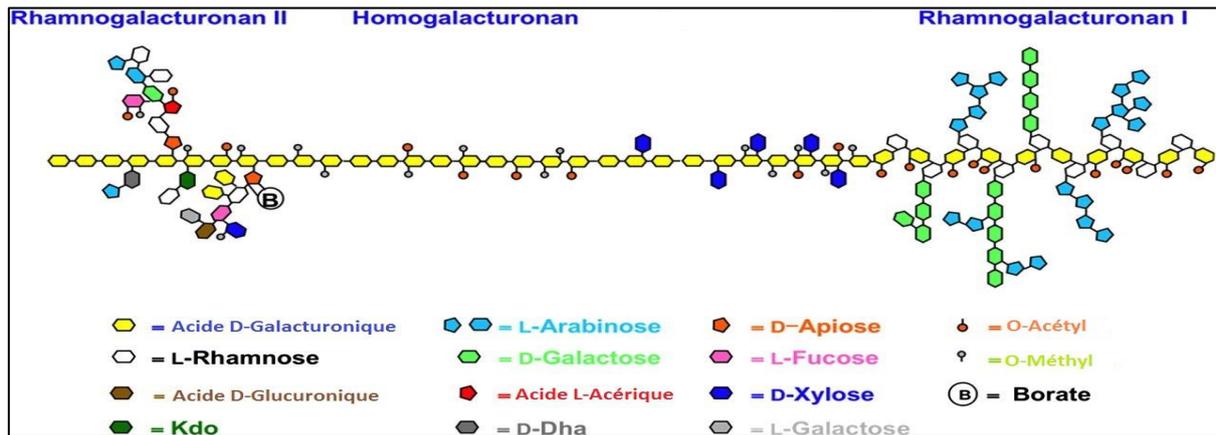


Figure I.9 : structure schématisée des principales pectines [6].

I.1.2.4.b. Les cires

Elles sont des composantes des fibres végétales qui peuvent être extraites avec des solutions organiques. Elles sont constituées de différents types d'alcools insolubles dans l'eau et de plusieurs acides comme l'acide palmitique, l'acide oléagineux et l'acide stéarique [13],[19].

I.1.2.5. Les substances minérales

Les métaux alcalins ou alcalino-terreux Ca, Mg et K comptent pour plus de 80 % de tous les constituants inorganiques [20].

I.2. La cellulose

I.2.1. Historique

La première description de la cellulose remonte à 1838, par Anselme Payen qui suggère que les cellules des plantes sont presque toutes composées d'une même substance fibreuse qui subsiste à des traitements à l'acide ou à l'ammoniaque. Le terme « cellulose » a été utilisé pour la première fois en 1839 dans un rapport de l'académie française sur les travaux de Payen [21]. Il a fallu ensuite attendre un peu plus de cinquante ans pour déterminer sa formule chimique basique ($C_6H_{10}O_5$) révélée par Weill Statter [22].

Au cours du 19^{ème} siècle, de nombreux procédés d'extraction ont été développés afin d'extraire une cellulose, la plus pure possible :

- 1853 : procédé de cuisson à la soude à 170 °C permettant l'obtention d'une pâte marron dédiée à l'emballage avec un taux de cellulose de 70-80 % ;

- 1866 : procédé Bisulfite acide utilisant l'acide de calcium ($\text{Ca}(\text{HSO}_3)_2$) et le dioxyde de soufre (SO_2) à 140 °C ;
- 1879 : procédé Kraft à base de soude et de sulfure de sodium (Na_2S) [23].

I.2.2. La biosynthèse de la cellulose

La cellulose est le constituant majoritaire des parois cellulaires, où elle assure le soutien des organismes végétaux, avec une teneur variant de 30% à 50% [24]. La cellulose peut aussi être présente dans le squelette de certains animaux marins ou bien obtenu à partir de bactérie ou d'algues [25,26]. Sa structure chimique est bien connue mais son organisation cristalline et fibreuse est, elle, moins bien résolue. Sa structure peut être décrite à différentes échelles :

- A l'échelle moléculaire, la cellulose est représentée par une macromolécule linéaire d'unités glucopyranose reliées entre elles par des liaisons β -(1,4). La cellulose est synthétisée au niveau de la membrane plasmique de la cellule végétale par un complexe enzymatique de cellulose synthase (CESA) regroupé par six pour former des sous unités, elles-mêmes regroupées par six pour former des rosettes d'une dimension de l'ordre de 25 nm. Chaque rosette produit ainsi 36 chaînes de cellulose [27] ;
- Une échelle d'agrégation, la constitution chimique, la conformation spatiale des chaînes de cellulose et les liaisons de Van der Waals [28] tendent à faire agréger les chaînes entre elles. La présence de groupements hydroxyles en C2, C3 et C6 permet la formation de liaisons hydrogène intra et inter-moléculaires formant des structures cristallines ordonnées, les microfibrilles (dimension de 5 à 20 nm). La microfibrille représente la plus petite entité pouvant être extraite de la paroi cellulaire ;
- A l'échelle macroscopique qui représente l'organisation des blocs élémentaires. Les microfibrilles s'associent pour former des fibres de taille plus importantes (15 à 20 μm). Les fibres sont composées de plusieurs couches de microfibrilles avec une orientation bien définie [29].

I.2.3. La structure de la cellulose

Le nom cellulose indique qu'il s'agit d'un sucre « ose » issu de cellules [30]. La composition élémentaire massique des macromolécules de cellulose est de 49,4 % en oxygène, 44,4 % en carbone et de 6,2 % en hydrogène [31].

I.2.3.1. Structure moléculaire

Les premières étapes de la caractérisation structurale de la cellulose datent de 1920 avec la détermination de la structure polymère de la cellulose par Staudinger [32]. Les travaux d'Irvine et Hirst [33] puis ceux de Freudenberg et Braun [34] ont ensuite montré que les carbones C2, C3 et C6 de la cellulose portent des groupements hydroxyles. Les travaux d'Haworth et al [35] qui ont découvert que la cellobiose constitue la composante basique de la cellulose, ont permis de comprendre qu'il s'agit d'un homopolymère constitué d'unités d'anhydroglucopyranose reliées par des liaisons glycosidiques β (1-4). Chu et Jeffrey [36] ont ensuite montré que les cycles D-glucopyranose avaient une conformation chaise $4C_1$. L'unité de répétition, la cellobiose, est constituée de deux motifs de glucose orientés à 180° l'un par rapport à l'autre autour de la liaison glycosidiques C1-O-C4. Les deux extrémités des chaînes de cellulose ne sont pas équivalentes chimiquement. Une extrémité est constituée d'un D-glucopyranose dont le carbone anomère est engagé dans une liaison glycosidique et qui possède une fonction alcool secondaire libre sur le C4. L'autre extrémité est une unité D-glucopyranose dont le carbone anomère est libre : on a donc une fonction cyclique qui est en équilibre avec une forme aldéhydrique minoritaire. Cette extrémité, dite "réductrice" a la capacité de réduire des ions Cu^{2+} dans une solution de Fehling en ion Cu^+ . Cela confère à la cellulose une polarité chimique.

Chaque unité anhydroglucose porte trois groupements hydroxyles libres : une fonction alcool primaire sur le carbone 6 et deux fonctions alcool secondaire sur les carbones 2 et 3. Ces liaisons ainsi que les liaisons glycosidiques sont en position équatoriale alors que les liaisons avec les atomes d'hydrogène sont en position axiale.

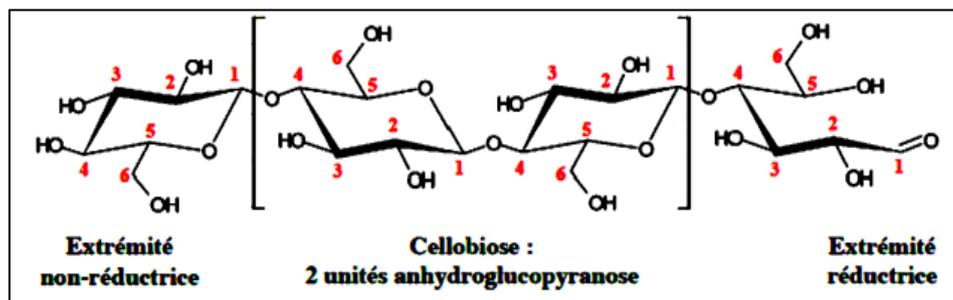


Figure I.10 : structure chimique de la cellulose [37].

I.2.3.2. Structure supramoléculaire

Les trois groupements hydroxyles présents dans la structure chimique de la cellulose permettent la formation de liaisons hydrogène intra et inter-moléculaires, donnant naissance à une structure très organisée qui a été le sujet d'intenses recherches depuis plusieurs décennies [38,39]. Gardner et Blackwell [40] avaient décrit la structure de la cellulose native selon une maille monoclinique contenant deux chaînes. Ce n'est qu'avec le développement d'une nouvelle technique, la RMN ^{13}C à l'état solide, que l'on a identifié deux allomorphes pour la cellulose native, dite de type I : l'allomorphe $\text{I}\alpha$ possède une maille triclinique et une chaîne par maille tandis que l'allomorphe $\text{I}\beta$ a une maille monoclinique et deux chaînes par maille [41,42]. La proportion des allomorphes $\text{I}\alpha$ et $\text{I}\beta$ diffère suivant les espèces. On retrouve principalement la phase $\text{I}\alpha$ dans la cellulose produite par des organismes dits primitifs comme les algues ou les bactéries, alors que la cellulose $\text{I}\beta$ se trouve principalement dans la cellulose produite par les plantes supérieures (bois, coton) et dans l'enveloppe d'un animal marin, le tunicier [43]. L'allomorphe $\text{I}\alpha$ peut être converti en phase $\text{I}\beta$, thermodynamiquement plus stable, par traitement hydrothermal à $260\text{ }^\circ\text{C}$ ou par recuit dans des solvants organiques de polarités différentes [44].

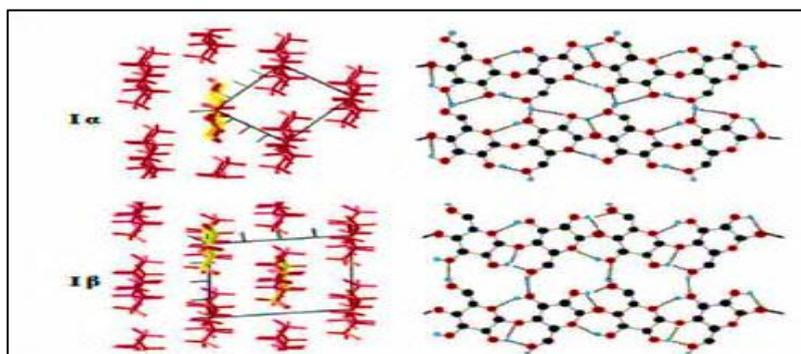


Figure I.11 : Représentations schématiques des mailles élémentaires des allomorphes $\text{I}\alpha$ et $\text{I}\beta$ de la cellulose I et du réseau de liaisons hydrogène intra et inter-chaînes [45].

I.2.4. La cristallinité

La cristallisation de la cellulose est rendue possible par le caractère linéaire de sa chaîne. Les nombreux groupements hydroxyles (-OH) sont responsables du comportement physicochimique de la cellulose. Ainsi, selon leur position dans l'unité de glucose, deux types de liaisons hydrogènes peuvent être établis :

- Des liaisons intramoléculaires, entre deux fonctions hydroxyles adjacentes présentes dans la même chaîne de cellulose, stabilisant la cellulose dans son orientation linéaire ce qui lui confère une certaine rigidité ;
- Des liaisons intermoléculaires, entre deux fonctions hydroxyles issues de deux chaînes adjacentes, qui relient plusieurs macromolécules et les maintiennent disposées parallèlement [46,47].

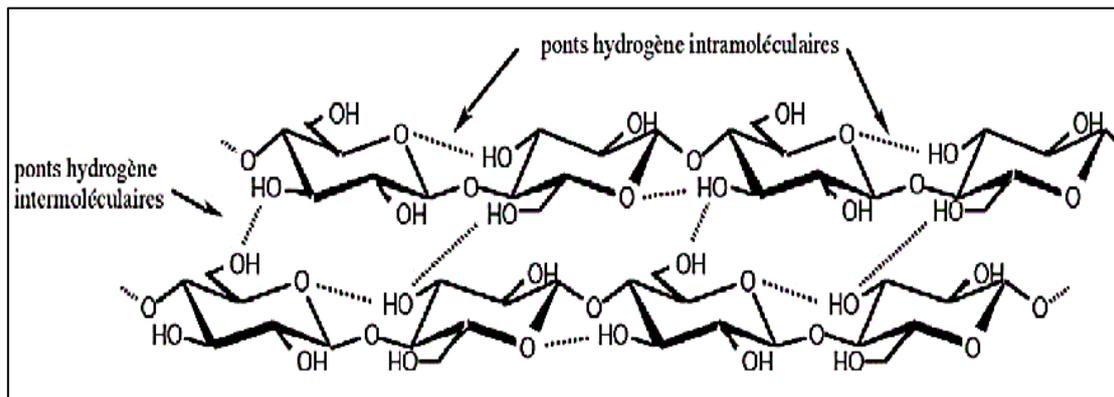


Figure I.12 : Ponts hydrogène intramoléculaires et intermoléculaires entre deux macromolécules adjacentes de cellulose [48].

Ainsi, l'association de nombreuses chaînes de cellulose favorise l'établissement d'un état solide ordonné, partiellement cristallin et permet la formation d'un édifice plus complexe les microfibrilles. Les microfibrilles de cellulose sont constituées de zones cristallines hautement ordonnées et de zones amorphes, au contraire totalement désordonnées.

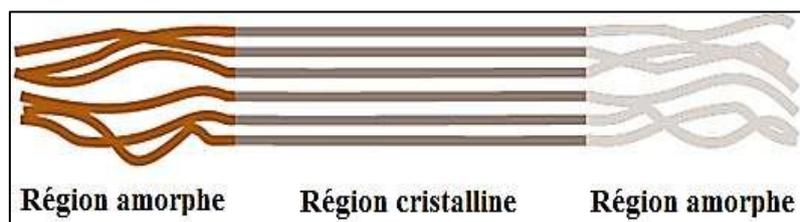


Figure I.13: Représentation des micros fibrilles constituant la fibre de cellulose [47].

Le taux de cristallinité de la cellulose peut être mesuré par plusieurs méthodes. Les plus courantes sont la spectroscopie infrarouge (rapport des aires de bandes caractéristiques), la diffraction des rayons X (différence de spectres entre la cellulose I et la cellulose II) et la spectroscopie RMN du ^{13}C [48].

Le degré de cristallinité dépend de l'origine de la cellulose et des prétraitements subis [49]. Le taux de cristallinité de la cellulose est de 40 à 50 % pour le bois, 60 % pour le coton et supérieur à 70 % pour certaines algues marines [50]. La présence de ces liaisons hydrogènes, inter et intramoléculaires, rend la cellulose insoluble dans l'eau ainsi que dans la majorité des solvants organiques [49].

I.2.5. Propriétés de la cellulose

- La masse molaire de la chaîne de cellulose varie beaucoup (entre $1,5 \cdot 10^4$ et $2,5 \cdot 10^6$ $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$) en fonction de l'origine du végétal et du traitement d'extraction utilisé ;
- La masse molaire du motif élémentaire de (anhydroglucose) est de 162,1 g/mol [51] ;
- La densité de la cellulose est classiquement comprise entre 1,50 et 1,55 g/cm^3 ;
- La chaleur spécifique C_p : 1,32 à 1,78 $\text{J/g} \cdot \text{K}$ (à 273 K) [52] ;
- Allongement à la rupture : 20 à 40 % ;
- Ténacité : 13 à 23 cN/tex ;
- Coefficient de dilatation thermique : $80 \cdot 10^{-6} \text{ K}^{-1}$;
- Conductivité thermique : 0,06 $\text{W/m} \cdot \text{K}$ à 23 °C ;
- La fibre de cellulose est inflammable [53] ;
- La température de dégradation est entre 330-350 °C [6] ;
- Température de transition vitreuse (T_g): 220-245 °C amorphe, 243-433 °C cristalline ;
- Enthalpie de cristallisation : 121,8 KJ/g [54] ;
- La cellulose est difficile à dissoudre, elle est insoluble dans l'eau et dans la plupart des solvants organiques. Parmi les solvants capables de dissoudre la cellulose [55,56] :
 - Les solvants aqueux : les agents complexant tels que l'hydroxyde de cuprammonium (cuam), la cupriéthylène diamine (cuen) ou le cadmium éthylènediamine (cadoxen) [57,58] ;
 - Les solvants non-aqueux : DMAC (diméthylacétamide), avec des composés aminés (cupriéthylènediamine) ou des sels (chlorure de lithium...), l'oxyde de N-méthylmorpholine (NMMO) ;

- Certains liquides ioniques tels que le 1-butyl-3-methylimidazolium (BminCl) ou 1-ethyl-3-methylimidazolium (EminAc) [59].

I.3. Extraction de la cellulose

Plusieurs méthodes d'obtention de la cellulose à partir de la biomasse ont été décrites. Les traitements appliqués peuvent être chimiques ou physico-chimiques.

Méthode I

Broyage ; tamisage ; rinçage ; traitement à la soude NaOH 2% à 80°C pendant 2h, (x2) ; blanchiment par NaOCl₂ à 70°C pendant 1h (x2) [61].

Méthode II

Le résidu végétal brut est traité dans un Soxhlet par un mélange éthanol/toluène. L'étape suivante peut être réalisée par action d'HCl dans le dioxane ou de NaClO₂/CH₃COOH ou d'H₂O₂ à pH=11,5. La cellulose est ensuite obtenue par action de solutions basiques : KOH à 0,1 %, puis NaOH à 1 % et NaOH à 18 % [60,62,63].

Méthode III

Les fibres ont été lavées plusieurs fois avec de l'eau distillée et séchées dans un four à 80 °C pendant 24 h. Ensuite, ils ont été coupés à une longueur approximative de 5 à 10 mm. Enfin, une étape de déparaffinage a été réalisée : ébullition dans un mélange toluène/éthanol (2:1 v/v) dans un Soxhlet pendant 6 h. Les fibres déparaffinées ont ensuite été filtrées, lavées à l'éthanol pendant 30 min et séchées.

Par la suite, deux procédures différentes ont été utilisées pour l'extraction de la cellulose :

Procédure 1

- a. Prétraitement avec NaOH 0,1 M dans 50 % d'EtOH à 45 °C pendant 3 h sous agitation continue ;
- b. Traitement avec du H₂O₂ à pH=11,5 (solution tampon) et 45 °C : 0,5 % de H₂O₂, 1 % de H₂O₂, 2 % de H₂O₂ et 3 % de H₂O₂ pendant 3 h chacun sous agitation continue ;
- c. Traitement avec 10 % NaOH, 1 % Na₂B₄O₇-10 H₂O à 28 °C pendant 15 h, sous agitation continue ;
- d. Traitement avec HNO₃ 70 % + HAc, 80 % (1/10 v/v) à 120 °C pendant 15 min ;

- e. Lavage avec l'EtOH à 95 % puis avec l'eau puis lavé à nouveau avec l'EtOH à 95 % ;
- f. Séchage à l'étuve à 60 ° C jusqu'à poids constant ;

Procédure 2

- a. Traitement avec NaClO₂ à 0,7 % à pH 4 (solution tampon), on fait bouillir pendant 2 h en utilisant un rapport fibres sur liqueur de 1:50 et en traitant avec NaHSO₄ à 5 % ;
- b. Traitement avec une solution de NaOH à 17,5 % ;
- c. Filtration, lavage à l'eau distillée et séchage à 60 ° C dans une étuve à vide jusqu'à poids constant [64].

Méthode IV

- a. Technique physique : broyage mécanique ;
- b. Techniques thermo-physico-chimiques

- Thermo-hydrolyse

Le procédé de thermo-hydrolyse est un procédé discontinu, et se réalise à des températures comprises entre 200 et 230 °C pour une durée de 15 à 60 minutes (pression > 5 MPa) [65] ;

- Explosion à la vapeur

Le procédé d'explosion à la vapeur de la cellulose s'effectue à haute pression par injection de vapeur saturée (1 ou 5 MPa) et à 185-260 °C, où s'ensuit une détente brutale pour revenir à pression atmosphérique dans le but de désintégrer la matière [66] ;

- Procédé AFEX

Le procédé AFEX consiste à traiter la matière lignocellulosique avec de l'ammoniac liquide anhydre, sous pression (0,1 à 0,4 MPa) et à des températures modérées (50 à 90 °C), sous agitation pendant 30 minutes [67] ;

- c. Techniques-physico-chimiques

- Hydrolyse à l'acide dilué

Le prétraitement à l'acide dilué s'effectue en présence d'acide liquide dilué de type H₂SO₄, HCl ou HNO₃ (0.5 à 3 % par rapport à la teneur en matière sèche du matériau lignocellulosique), à des températures comprises entre 60-200 °C pour des temps de séjour de l'ordre de 10 s en réacteur piston ou de 30 min en réaction à percolation [68,69] ;

- Prétraitement en milieu alcalin

Le prétraitement en milieu alcalin s'effectue en présence de soude (8 à 12 % par rapport à la teneur en matière sèche du matériau lignocellulosique) à des températures entre 80-120 °C, pour des temps de séjours de 30 à 60 min ;

- Procédé Organosolv

Ce procédé consiste à traiter le matériau lignocellulosique dans un solvant organique (méthanol ou éthanol) en présence d'HCl ou H₂SO₄ pour des températures inférieures à 185 °C ;

- Procédé d'oxydation chimique

Les prétraitements par oxydation chimique, ozonolyse (barbotage O₃ à 10 % en poids par rapport au matériau, 4 °C, 30 à 90 min) ou oxydation humide (H₂O₂ de 0.5 à 2 % en poids par rapport au matériau, 90-120 °C, 30 à 90 min) [70].

Méthode V

- a. Préparation de la matière première

Dans un premier temps, la biomasse nettoyée et broyée est extraite dans un Soxhlet par un mélange azéotropique éthanol/toluène (2:1, v/v) pendant au moins 7 h [71] ;

- b. Le procédé Kraft

La cuisson Kraft consiste à chauffer, pendant 120 min à 170 °C, des copeaux de bois immergés dans une solution de soude et de sulfure de sodium (mélange de 60 g/L de sulfure de sodium et 110 g/L d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium, v / v / v, 11:20:69) appelée "liqueur blanche". Le rapport solide / liquide a été fixé (1:7, poids sec) [72] ;

- c. Procédé Organosolv

La biomasse lignocellulosique ont été traités avec une solution aqueuse (EtOH/H₂O : 65/35 v/v) en présence d'acide sulfurique (1,25%) comme catalyseur. Le mélange a été chauffé à 180 °C pendant 60 min dans un réacteur sous pression. Le rapport solide / liquide utilisé est de 1: 7. À la fin du processus, le résidu solide a été filtré et lavé avec un mélange éthanol/eau à 60 °C (8/2, 3 × 50 ml) puis séché à 40 °C [73-74] ;

- d. Extraction de la cellulose

L'holocellulose est obtenue en traitant la pâte obtenue (non blanchie) avec une solution aqueuse de NaClO₂ : Pour chaque 1.5 g de matière lignocellulosique sèche, 1 g de NaClO₂ et 1 ml d'acide acétique sont ajouté à 125 ml d'eau distillée. L'addition

de chlorite de sodium et de l'acide acétique est répétée plusieurs fois jusqu'à l'obtention d'un résidu solide blanchâtre. Le précipité solide est ensuite filtré sous vide puis rincé plusieurs fois à l'eau distillée et séché à 40 °C pendant 24 h ;
1g d'holocellulose est traitée avec une solution de soude à 17.5 % (50 ml) à 25 °C pendant 30 min, suivi d'un autre traitement dans une solution de soude à 8.75 %. La cellulose obtenue est filtrée et rincée avec une solution d'acide acétique à 1 % (50 ml) puis avec de l'eau distillée (100 ml) [75, 76]. Après filtration et séchage à 40 °C pendant 24 h [77].

Méthode VI

a. Solubilité des fibres dans un mélange éthanol-toluène

Les fibres séchées sont traitées par 100 ml de mélange éthanol - toluène (en proportion volumique 1:2) dans un erlenmeyer sous agitation et à reflux à 80 °C pendant 8 h. Puis, le résidu est filtré et séché dans un dessiccateur à 100 °C jusqu'à poids constant ;

b. Solubilité des fibres dans l'eau chaude

Les fibres séchées sont traitées deux fois par 100 ml d'eau à reflux à 85 °C pendant 3 h. Puis, le résidu est filtré et lavé à l'eau, séché dans un dessiccateur à 100 °C ;

c. Teneur en lignine

Les fibres sont agitées dans une solution de H₂SO₄ à 75 % pendant 2 h (tous les % utilisés pour les solutions dans cette étude sont des % massiques). Puis 560 ml d'eau sont ajoutés pour réduire la teneur en acide à 3 % et la solution est chauffée à ébullition et à reflux pendant 4 h. Le résidu est ensuite filtré et lavé avec 500 ml d'eau, séché à 100 °C et pesé ;

d. Teneur en Holocellulose

Les fibres récupérées sont mises dans une fiole contenant 150 ml d'eau distillée, 0,2 ml d'acide acétique glacial et 1 g de NaClO₂. Cette fiole est chauffée dans un bain d'eau maintenu à 70–80 °C durant 5 h sous agitation. Chaque heure, 0,2 ml d'acide acétique glacial et 1 g de NaClO₂ sont ajoutés. Au bout de cinq heures, la fiole est placée dans un bain d'eau glacée jusqu'à ce que la température de la solution ait atteint 10 °C. Le contenu de la fiole est ensuite filtré et le résidu est lavé avec 500 ml d'eau distillée (le résidu change de couleur et vire du jaune au blanc). Le résidu est ensuite séché à 100 °C jusqu'à poids constant ;

e. Teneur en cellulose

L'holocellulose séchée, sont traitées par une solution de soude à 17,5 % massique, pendant 30 min. 50 ml d'eau distillée sont ensuite ajoutés et le mélange est agité pendant 5 min. Puis, le résidu est filtré et lavé par une solution de soude à 8,3 % puis par 40 ml d'acide acétique à 10 %, par 1000 ml d'eau et enfin séché à 100 °C jusqu'à poids constant [78].

Chapitre II

Synthèse Bibliographique sur la membrane d'œufs

Les déchets de coquille d'œuf, ayant la propriété de biodégradabilité, sont un sous-produit ménager courant dans le monde entier. Ces matériaux sont disponibles à faible coût, sont abondants et peuvent entraîner des risques pour l'environnement lorsqu'ils sont déposés en grande quantité. Une gestion appropriée de ces déchets est hautement pertinente dans le scénario environnemental actuel. Depuis une vingtaine d'années, divers chercheurs ont entrepris une étude scientifique approfondie de ces matériaux afin de déterminer leurs applications chimiques, biologiques, physiques, industrielles et environnementales, de manière à ce qu'ils puissent trouver des utilisations appropriées dans divers domaines de la société humaine et au même temps [88].

II.1. Généralités sur les œufs

L'œuf a un jaune au centre, entouré d'albumine (blanc d'œuf), tous deux enfermés dans une membrane. La structure détaillée est illustrée à la figure II.1.

En moyenne, la coquille, l'albumine et le jaune constituent respectivement 10, 60 et 30 % de l'œuf. Les solides totaux respectifs de l'albumine et du jaune sont d'environ 11 et 51 %. Les coquilles sont plus généralement blanches ou brunes mais peuvent être bleues ou vertes, déterminées par le génotype de la poule [79].

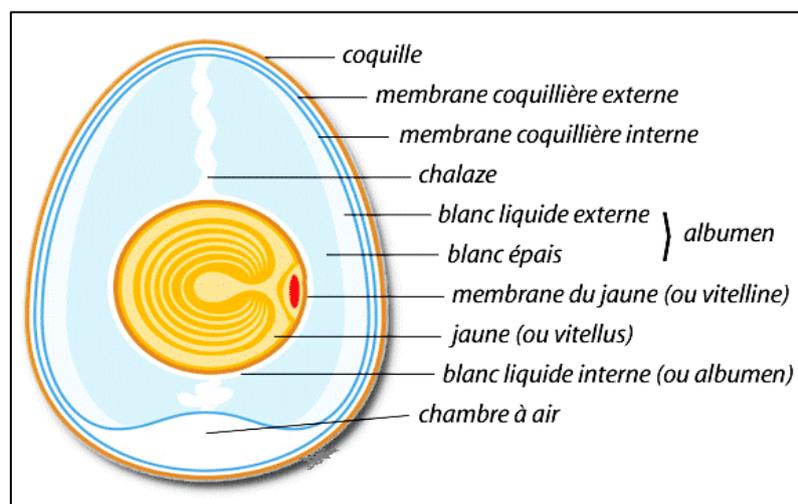


Figure II.1 : Schéma représente les compositions d'œuf [79].

II.1.1 Compositions de l'œuf

II.1.1.1 Le jaune

Le jaune est composé de 51 % d'eau, de 30 % de lipides, de 16 % de protéines et de 0,6 % de glucides. Il est également riche en phosphore, contient la plupart du fer de l'œuf et

renferme des vitamines (la totalité des vitamines liposolubles et un certain nombre de vitamines hydrosolubles) [81]. Les principaux composants sont des lipides (environ 65 % de la matière sèche) et le rapport lipides/protéines est d'environ 2:1. Les lipides du jaune sont exclusivement associés aux assemblages de lipoprotéines. Ils sont composés de 62 % de triglycérides, de 33 % de phospholipides et de moins de 5 % de cholestérol. Les caroténoïdes représentent moins de 1 % des lipides du vitellus et lui donnent sa couleur. Les protéines sont présentes sous forme de protéines libres ou d'apoprotéines. Les interactions entre les lipides et les protéines entraînent la formation de lipoprotéines (basse et haute densité), qui constituent les principaux constituants du jaune [80].

II.1.1.2 La membrane vitelline

La membrane vitelline est de nature protéique ; elle entoure et contient le jaune [82]. Elle a une épaisseur totale d'environ 10 μm [83] et peut être divisée en trois couches : une couche médiane continue au centre compris entre deux couches fibreuses que sont la couche interne et la couche externe [82]. Une étude protéomique a permis l'identification de 137 protéines présentes dans la membrane vitelline [86].

II.1.1.3 Le blanc (albumine)

Le blanc d'œuf représente environ 60 % du poids total de l'œuf. Il consiste en une solution aqueuse de protéines contenant peu de minéraux et de glucides. Les protéines représentent plus de 90 % de la matière sèche du blanc d'œuf. Les protéines de blanc d'œuf sont principalement des protéines globulaires et acides ou neutres, à l'exception du lysozyme et de l'avidine, qui sont des protéines hautement alcalines. Tous sont glycosylés, à l'exception de la cystatine et de la forme principale du lysozyme. La principale protéine du blanc d'œuf est l'ovalbumine, protéine globulaire et phosphorylée de 45 kDa. L'ovotransferrine (13 % du total des protéines) a un poids moléculaire d'environ 78 kDa. Cette protéine est constituée de deux lobes, chacun contenant un site de liaison spécifique pour le fer (ou Cu, Zn, Al). C'est la protéine de blanc d'œuf la plus sensible à la chaleur, mais la complexation du fer ou de l'aluminium augmente considérablement sa stabilité à la chaleur. Ovomucoïde est une protéine hautement glycosylée (jusqu'à 25 % de glucides, p/p) de 28 kDa. L'ovomucine est également une protéine hautement glycosylée, de poids moléculaire très élevé (104 kDa). Le lysozyme est une petite protéine globulaire (14 kDa), sa structure est très rigide, stabilisée par quatre ponts disulfures. La fraction glucidique du blanc d'œuf est composée de glucose libre (0,5 % p/p) et d'hydrates de carbone liés aux protéines (0,5 % p/p). La fraction minérale est

composée principalement de Na^+ , K^+ et Cl^- , sous forme de minéraux libres, alors que P et S sont essentiellement des éléments constitutifs de protéines. Le blanc d'œuf contient également du CO_2 , en équilibre avec le bicarbonate, qui joue un rôle majeur dans le contrôle du pH [80].

Tableau II.1 : Vitamines et minéraux contenant d'œuf entier, blanc d'œuf et jaune d'œuf (à 100 g, sans la coquille) [87].

Nutriments	Blanc d'œuf	Jaune d'œuf	Œuf entier
Minéraux (mg/100 g)			
Sodium	155	50	120
Chlore	175	162	172
Potassium	140	100	125
Calcium	8	133	50
Phosphore	18	530	193
Fer	0.1	4.8	1.7
Magnésium	10	15	12
Soufre	163	165	164
Zinc	0.12	3.9	1.4
Cuivre	0.02	0.14	0.06
Manganèse	0.007	0.11	0.04
Iode	0.003	0.14	0.05
Vitamines ($\mu\text{g}/100\text{g}$)			
Acide ascorbique	0	0	0
Vitamine A	0	450	150
Vitamine D	0	4.5	1.5
Vitamine E	0	3.6	1.2
Vitamine B1	10	250	913
Vitamine B2	430	480	447
Vitamine B6	10	370	133
Vitamine B12	0.1	2.8	1
Acide folique	12	140	56
Niacine	90	60	79
Biotine	7	60	25
Acide pantothénique	250	4.5	1.7

II.1.1.4 La coquille

La coquille de l'œuf est une structure parfaitement définie, son premier rôle est de protéger le contenu de l'œuf de l'environnement physique et microbien, le second de permettre les échanges d'eau et de gaz au travers de pores pour assurer le développement extra-utérin de l'embryon et le troisième de fournir le calcium pour assurer la calcification osseuse de ce même embryon [84]. La coquille d'œuf de poule représente environ 8,5% du poids total de l'œuf et son épaisseur est d'environ 355 μm . La coquille est en grande partie composée de carbonate de calcium (94 %), de carbonate de magnésium (1 %), de phosphate de calcium (1 %) et de matière organique, principalement des protéines (4 %). La coquille d'œuf avec les membranes respectives est composée de membranes de coquille interne et externe, d'une couche mamillaire, d'une couche de palissade, d'une couche de cristaux de surface et de la cuticule.

La membrane de la coquille interne épouse la surface de l'albumine, tandis que la membrane externe est reliée à la partie calcifiée de la coquille de l'œuf. Ces membranes sont composées de protéines (environ 95 %) avec une petite quantité de polysaccharide. La membrane interne de la coquille du poulet mesure environ 20 μm et l'externe environ 50 μm d'épaisseur. Ces membranes empêchent la pénétration de microorganismes dans l'œuf.

La couche cristalline de surface, la partie calcifiée finale de la coquille d'œuf, repose directement au-dessus de la couche de palissade et au-dessous de la cuticule. C'est une couche mince de cristal alignée à peu près perpendiculairement à la surface de la coquille de l'œuf. La surface externe de la coquille est entourée par la cuticule qui est une couche organique cireuse ; son épaisseur chez le poulet varie de 0,5 à 12,8 μm . La cuticule est composée de 90 % de protéines, qui se distinguent des protéines de la coque et de la matrice par leur teneur plus élevée en tyrosine, glycine et lysine, mais par une teneur plus faible en cystine. L'hexosamine est présente avec le galactose, le mannose et le fucose. La cuticule peut faciliter la rotation de l'œuf dans l'utérus, servant éventuellement de lubrifiant. La cuticule aide à maintenir la fraîcheur des œufs et empêche également la pénétration de microorganismes dans les œufs en bloquant les pores [79].

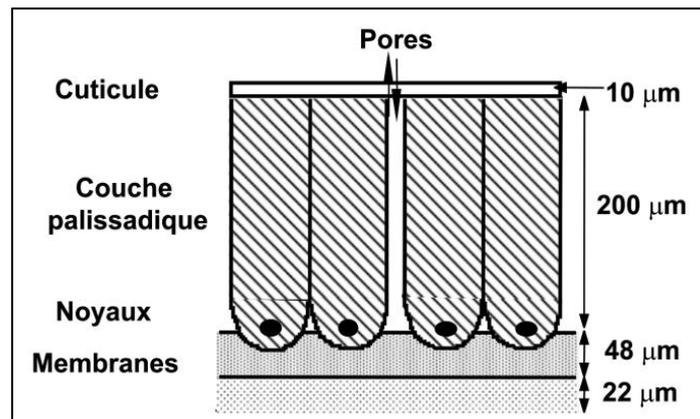


Figure II.2 : Représentation schématique d'une coupe transversale de la coquille [84].

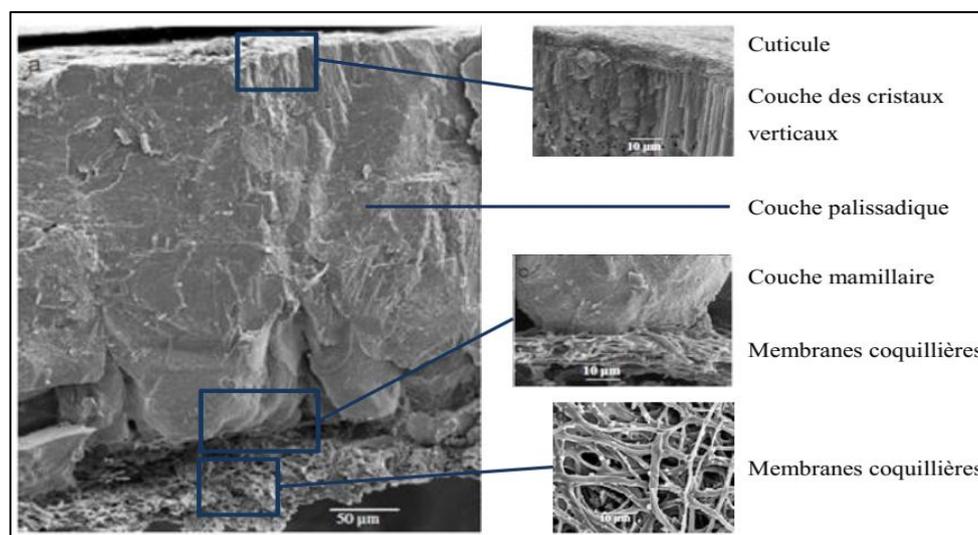


Figure II.3 : Photographie en microscopie à balayage électronique de la coquille [85].

II.2. La membrane coquillière

II.2.1. Structure et morphologie

La membrane de la coquille est une structure fibreuse située entre la coquille et le blanc de l'œuf. Il s'agit d'un réseau fibreux biopolymère essentiel à la formation de la coquille et qui fournit une plate-forme non minéralisée pour la minéralisation externe de la coquille et, de l'autre, empêche la minéralisation du blanc d'œuf de l'intérieur.

La membrane coquillière externe est située juste sous la coquille et l'épaisseur de ses fibres est comprise entre 1 µm et 7 µm. Les fibres de la membrane externe de la coquille s'étendent dans les boutons mamillaires de la coquille. L'épaisseur de toute la couche de membrane externe est d'environ 50 à 70 µm.

La membrane coquillière interne est séparée de la membrane coquillière externe par la cellule d'air. L'écart entre ces deux structures est le plus important de la cellule pneumatique. En comparaison avec la membrane externe, les fibres de la membrane interne ont un diamètre inférieur, leur épaisseur est comprise entre 0,1 et 3 μm et la couche de membrane interne dans son ensemble est plus fine, son épaisseur est comprise entre 15 et 26 μm . Les fibres de la membrane coquillière interne sont entrelacées avec la membrane externe. La membrane limitante représente la structure la plus interne très fine de la membrane entourant le blanc d'œuf.

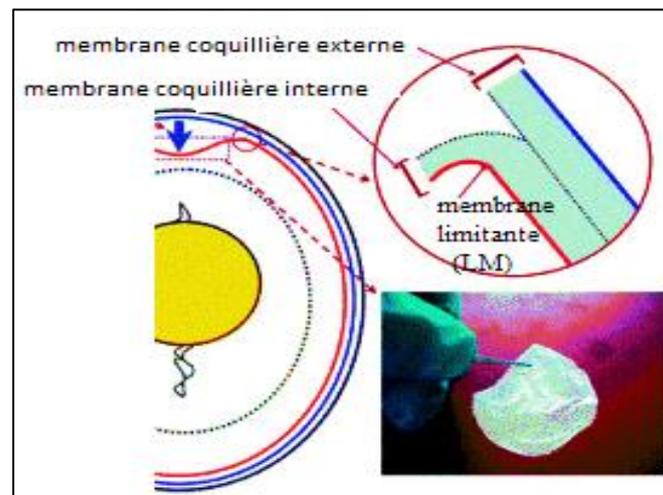


Figure II.4 : Structure de la membrane coquillière [89].

II.2.2. Composition chimique

La membrane de la coquille peut être considérée comme un mélange complexe de fibres de protéines entrelacées et de polysaccharides, dont au moins 70 % de la matrice sont des protéines et 11 %, des polysaccharides [87]. Le collagène constitue 10 % de la teneur totale en protéines de la membrane de l'œuf. Des collagènes de type I, V et X ont été trouvés et identifiés dans la membrane de la coquille [90,91].

De plus, des protéines telles que l'avidine et l'ovalbumine ont été identifiées dans les boutons mammifères de la matrice de la coquille de l'œuf. L'ovalbumine est l'une des premières protéines de blanc d'œuf à avoir été identifiée dans la matrice de la coquille et est sécrétée en grande quantité dans le liquide utérin au cours des premiers stades de la formation de la coquille. Un certain nombre de protéines différentes qui sont nouvelles et spécifiques à la matrice de coquille d'œuf, telles que l'ovocléidine-17, l'ovocléidine-16, ont été rapportées.

Un certain nombre de glycoprotéines ont également été isolées et caractérisées dans la membrane de la coquille [87].

Tableau II.2 : Les acides aminés contenant à la membrane coquillière d'œuf [89,92].

Acide aminé	ESM intérieure %	ESM extérieure %	ESM %
Proline	11.6	12	11.92
Acide glutamique	11.1	11.9	9.69
Glycine	11.1	10.6	9.67
Serine	9.2	9.2	6
Hydroxyproline	1.5	1.4	
Acide aspartique	8.4	8.8	7.45
Valine	7.2	7.9	7.9
Thréonine	6.9	6.9	5.67
Arginine	5.7	5.8	5.45
Leucine	5.6	4.8	4.78
Alanine	4.6	4.1	4.01
Histidine	4.1	4.3	3.3
Lysine	3.6	3.4	3.37
Isoleucine	3.3	3.4	3.57
Méthionine	2.3	2.3	3.04
Tyrosine	2.2	1.7	1.4
Phénylalanine	1.6	1.5	1.47
OH-Proline			0.89
OH-Lysine			0.1
Desmosines			0.01

II.2.3. L'activité antimicrobienne de la membrane

L'exploitation de nouveaux biomatériaux naturels suscite un intérêt croissant dans le domaine du génie biomédical en raison de leurs propriétés uniques telles que la non toxicité, la biocompatibilité et la biodégradabilité. La membrane de la coquille d'œuf est une ressource protéique naturelle abondante et peut être facilement obtenue presque n'importe où en tant que déchets. Jusqu'à présent, seules quelques applications ont été rapportées, notamment les

substrats pour la culture cellulaire, les pansements biologiques pour les brûlures, les plateformes pour l'immobilisation d'enzymes, les modèles pour la formation de réseaux tubulaires ordonnés, les matrices pour l'adsorption d'ions de métaux lourds, et ainsi de suite. La membrane de coquille d'œuf naturelle possédait une propriété antibactérienne qui est importante dans certaines applications médicales. De plus, la biodégradabilité est une exigence fondamentale dans certaines applications telles que les échafaudages pour l'ingénierie tissulaire [93].

II.2.4. La membrane dans le traitement des plaies

La membrane de coquille des œufs de poule est largement utilisée en équateur comme remède à la maison pour les lacérations et les abrasions. Des preuves anecdotiques supplémentaires de leur utilisation dans la cicatrisation des plaies ont été rapportées en France, en Ukraine et en Californie. À Taiwan, une étude clinique a évalué leur efficacité dans le traitement des brûlures. Bien que la médecine occidentale utilisât autrefois les membranes d'œuf dans les traitements ophtalmiques, peu de données de recherche ont évalué son efficacité et son innocuité.

La membrane de l'œuf est un tissu hautement collagénisé dont la teneur en protéines est de 90%. Les principaux types de collagène sont I, IV et V. Les autres composants principaux incluent l'albumine, l'acide uronique et l'acide sialique. Lorsqu'il est appliqué à la maison ou sur le terrain, une partie du blanc d'œuf est conservée, ce qui confère des propriétés adhésives, tandis que la membrane conserve la perméabilité aux gaz. Le blanc d'œuf contient du lysozyme, de l'avidine (un liant à la biotine), de l'ovotransferrine (un liant du fer), des collagénases et du sulfate de chondroïtine. La membrane se durcit et se contracte en séchant, ce qui facilite la fermeture de la plaie [94].

Chapitre III

Partie expérimentale

III.1. Matériels et produits

III.1.1. Produits

Pour cette étude, on utilise les déchets de bois et les coquille d'œuf. Tous les produits qui ont été utilisés dans ce travail présentent dans le tableau suivant :

Tableau III.1 : Produits utilisés dans ce travail

Produits et réactifs
Toluène : (pureté 99,5 % ; formule moléculaire C_7H_8 ; masse molaire 92,14 g/mol) : SIGMA-ALDRICH
Ethanol (pureté 99 % ; formule moléculaire C_2H_5OH ; masse molaire 46,07 g/mol) : AnalaR NORMAPUR
Acide sulfurique (pureté 98 % ; formule moléculaire H_2SO_4 ; masse molaire 98,079 g/mol) : EMSURE
Hypochlorite de sodium (eau de javel 15° Cl : $NaClO$) : Bref
Acide acétique (pureté 99-100 % ; formule moléculaire CH_3COOH) : RECTAPUR.
Hydroxyde de sodium (pureté 96 % ; formule moléculaire $NaOH$; masse molaire 40 g/mol) : BIOCHEM.
Propanol (pureté 99.8 % ; formule moléculaire C_3H_8O ; masse molaire 60,09 g/mol) : EMSURE
n-heptane (pureté 99 % ; formule moléculaire C_7H_{16}) : CARLO ERBA.
Acétone (pureté 99 % ; formule moléculaire C_3H_6O ; masse molaire 58,08 g/mol) : BIOCHEM.
DMSO (pureté 99.9 % ; formule moléculaire C_2H_6OS ; masse molaire 78,13 g/mol) : SIGMA-ALDRICH.
Benzène (pureté 95.5 % ; formule moléculaire C_6H_6 ; masse molaire 78.11 g/mol) : BIOCHEM.
Acétate d'éthyle (pureté 99.8 % ; formule molaire $C_4H_8O_2$; masse molaire 88.11 g/mol) : EMSURE.
Dichlorométhane (pureté 99.9 % ; formule molaire CH_2Cl_2 ; masse molaire 84,93 g/mol) : SIGMA-ALDRICH.
Acide chlorhydrique (pureté 37 % ; formule moléculaire HCl ; masse molaire 36.46 g/mol) : SIGMA-ALDRICH

Acide perchlorique (pureté 70 % ; formule moléculaire HClO_4 ; masse molaire 100,46 g/mol) : BIOCHEM.
Méthanol (pureté 99 % ; formule moléculaire CH_3OH ; masse molaire 32.04 g/mol) : BIOCHEM.
Chloroforme (pureté 99 % ; formule moléculaire CHCl_3 ; masse molaire 119,38 g/mol) : SIGMA-ALDRICH
Cyclohexane (pureté 99.5 % ; formule moléculaire C_6H_{12} ; masse molaire 84.16 g/mol) : BIOCHEM.
Perchlorate de sodium monohydraté (formule moléculaire $\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; la masse molaire 140,46 g/mol) : EMSURE.
Eau physiologique (9 g/l de NaCl)
Agar agar ($\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_9$) _x ; Fluka : est un polymère de galactose (galactane) contenu dans la paroi cellulaire de certaines espèces d'algues rouges appartenant aux familles des Gelidiacées (Gelidium et Pterocladia) et des Gracilariacées (Gracilaria).
Glycérol ou glycérine (masse molaire 92.09 g/mol ; formule moléculaire $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$) ; BIOCHEM : Liquide visqueux, incolore, inodore. Le glycérol est un composé organique dont la structure comporte trois groupes -OH, également appelé le propane 1,2,3-triol.
Gélose nutritive (commercial) : La Gélose Nutritive est un milieu largement utilisé pour la culture des microorganismes.
Gélose Mueller Hinton (commercial) : La gélose Mueller-Hinton est le milieu de référence pour les tests de sensibilité des germes aux antibiotiques et sulfamides.
Bouillon nutritif : constitue un milieu d'utilisation générale pour la croissance d'un grand nombre de microorganismes. Il est constitué d'un mélange de Tryptone et d'extrait de viande.
Les souches bactériennes (Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli et Klebsiella pneumoniae) : Hôpital Hakim Saadane Biskra.

III.1.2. Matériels

Les matériels de laboratoire qui ont été utilisés dans ce travail présentent dans le tableau suivant :

Tableau III.2 : Matériels utilisés dans ce travail.

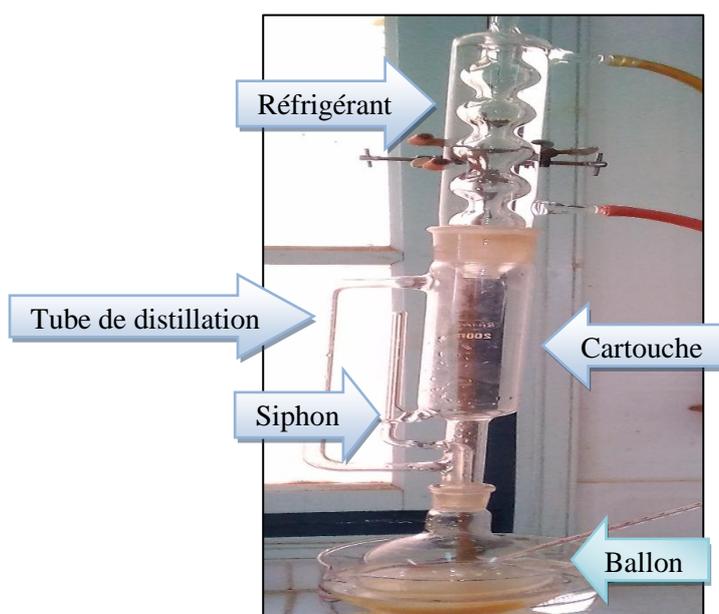
Matériels				
Pompe sous vide	Papier filtre	Entonnoir	Ballon	Bicher
Boîtes pétri en verre	Barau magnétique	Thermomètre	Cristallisoir	Balance
Papier Whatman D= 6 mm	Tubes d'essai stériles	Réfrigérant	Bec bunsen	Ecouvillon
Boîtes pétri stériles	Pipette pasteur	Anse platine	Règle	

III.1.3. Appareillage

Les appareils laboratoire qui ont été utilisés dans ce travail sont :

- Broyeur ; Tamiseur (D= 1mm) ; Etuve ; Plaque chauffante.
- **Soxhlet**

L'extracteur Soxhlet est un dispositif en verre permettant l'extraction d'une substance. Il est principalement utilisé dans la préparation d'échantillons avant analyse, dans la détermination de matières grasses dans les eaux, de détergents, ...etc. Un ensemble Soxhlet est constitué d'un ballon, d'un réfrigérant et d'un extracteur. Ce dernier présente un système de tube permettant la vidange du réservoir. Le système doit être complété à l'aide d'une cartouche en cellulose, placée dans le réservoir, destinée à recevoir le composé à extraire.

**Figure III.1** : Extracteur de Soxhlet.

– La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier ou spectroscopie IRTF (ou encore FTIR, de l'anglais Fourier Transform InfraRed spectroscopy) est une technique utilisée pour obtenir le spectre d'absorption, d'émission, la photoconductivité ou la diffusion Raman dans l'infrarouge d'un échantillon solide, liquide ou gazeux. L'analyse par spectroscopie infrarouge donne des informations sur les liaisons chimiques présentes dans nos échantillons. Les mesures sont réalisées en transmission entre 400 et 4000 cm^{-1} .



Figure III.2 : Spectroscopie IRTF.

– Duromètre

Un duromètre Shore est un instrument qui mesure typiquement la dureté des élastomères et de certains polymères thermoplastiques. Il détermine la profondeur d'enfoncement d'un pénétrateur normalisé par simple application sur l'échantillon.



Figure III.3 : Duromètre.

– Machine de traction

Cet instrument est dédié à la mesure de propriétés mécaniques de polymères à l'état solide. La traction est l'essai de base pour les plastiques homogènes ; elle permet de déterminer la contrainte à la rupture, l'allongement à la rupture, le module d'élasticité.



Figure III.4 : Machine de traction.

– Autoclave

Un autoclave est un récipient dont le couvercle est glissé à l'intérieur de l'enveloppe du récipient et qui se ferme hermétiquement sous l'effet de la pression intérieure de la vapeur. Il permet de dépasser la pression atmosphérique et donc de porter de l'eau liquide au-delà de 100°C. Un autoclave est un récipient à parois épaisses et à fermeture hermétique conçu pour réaliser sous pression (de quelques bars) soit une réaction industrielle, soit la cuisson ou la stérilisation à la vapeur.



Figure III.5 : Autoclave.

III.2. Méthodes

III.2.1. Extraction de la cellulose

– Préparation de la matière première

La biomasse nettoyée par l'eau distillée et séchée à l'étuve à 40 °C pendant 24 h ; puis la biomasse sèche broyée et tamisée à tamis de D= 1 mm.

– Extraction des matières extractibles

Nous avons pris 50 g de bois et le traité par 450 ml de mélange azéotrope toluène/éthanol (1 :2, v/v) pendant 7 h pour éliminer les cires, les pigments, les lipides, les tannins et les graisses. Puis on a filtré et lavé le solide par l'eau distillée et séché à 40 °C pendant 24 h.

Pour enlever la pectine et les matières inorganiques, le solide séché est traité (2 fois) par 400 ml d'eau distillée à reflux à 85 °C pendant 3 h. le résidu est filtré et lavé à l'eau distillée, puis séché à 40 °C pendant 24 h.

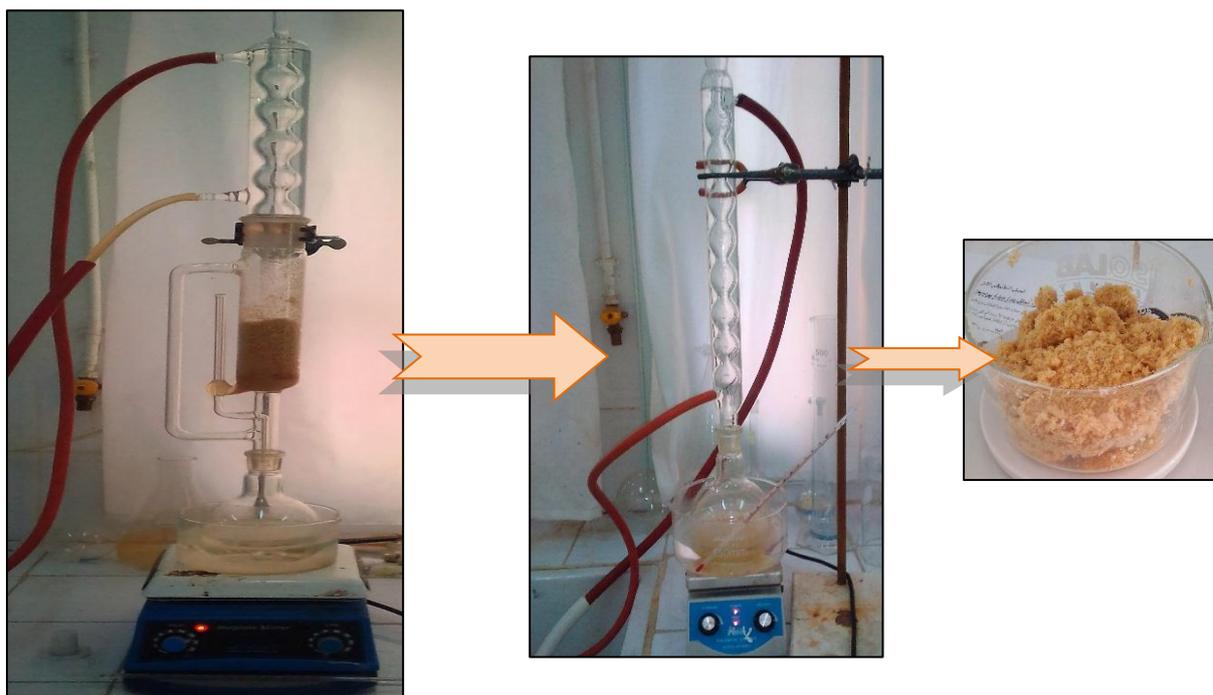


Figure III.6: Etapes d'élimination des matières extractibles.

– Extraction de la lignine

La biomasse lignocellulosique obtenue a été traitée à reflux avec 400 ml d'une solution aqueuse d'éthanol (EtOH/H₂O : 65/35, v/v) en présence d'acide sulfurique (1.25 %) comme

catalyseur. Le mélange a été chauffé à 90 °C pendant 1 h. le résidu est filtré et lavé à l'eau distillée et séché à 40 °C pendant 24 h.

L'holocellulose est obtenu en traitant le solide non blanchi obtenu avec une solution aqueuse d'eau de javel 100 ml et 2 ml d'acide acétique sont ajoutés à 300 ml d'eau distillée dans un bicher de 600 ml à 60°C sous agitation. Cette étape est répétée plusieurs fois (chaque fois 45 min) pour éliminer les traces de pigments résiduels et jusqu'à délignification complète indiquée par l'obtention d'une pâte blanche. La pâte blanche obtenu est ensuite filtrée sous vide puis rincé plusieurs fois à l'eau distillée et séché à 40 °C pendant 24 h.

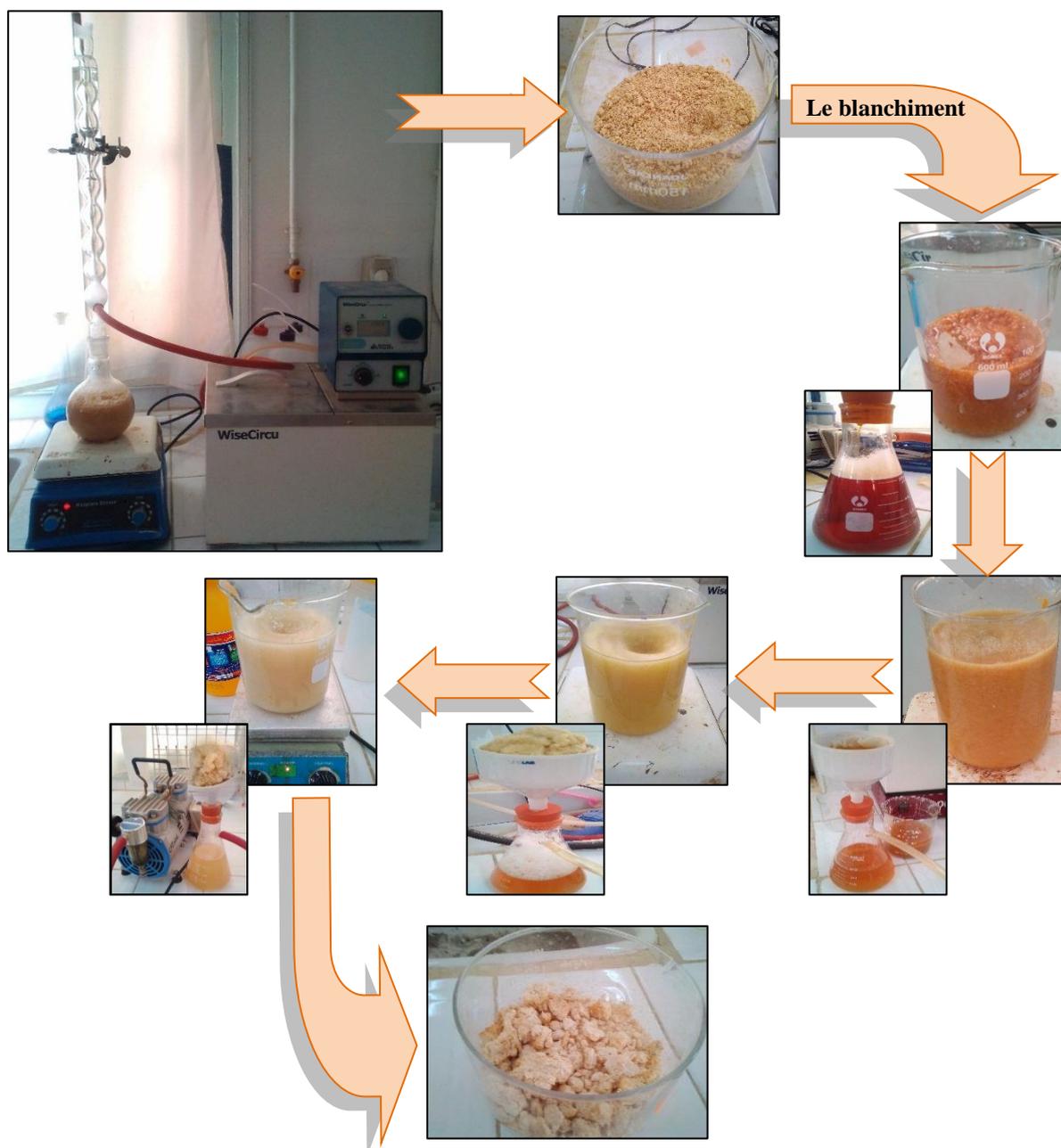


Figure III.7 : Etapes d'élimination la lignine.

– Extraction la cellulose

L'holocellulose est un mélange de cellulose et hémicelluloses. Afin d'extraire une cellulose pure et d'éliminer les hémicelluloses, l'holocellulose est traitée dans un bicher sous agitation avec une solution de soude à 17,5 % (200 ml) à 25 °C pendant 30 min, suivi d'un autre traitement dans une solution de soude à 8,75 % (200 ml) à 25 °C pendant 30 min. La cellulose obtenue est filtrée et rincée avec une solution de 200 ml d'acide acétique à 1 % puis avec 400 ml d'eau distillée. Après la filtration et le séchage à 40 °C pendant 24 h, une cellulose pure sous forme de α -cellulose est obtenue.

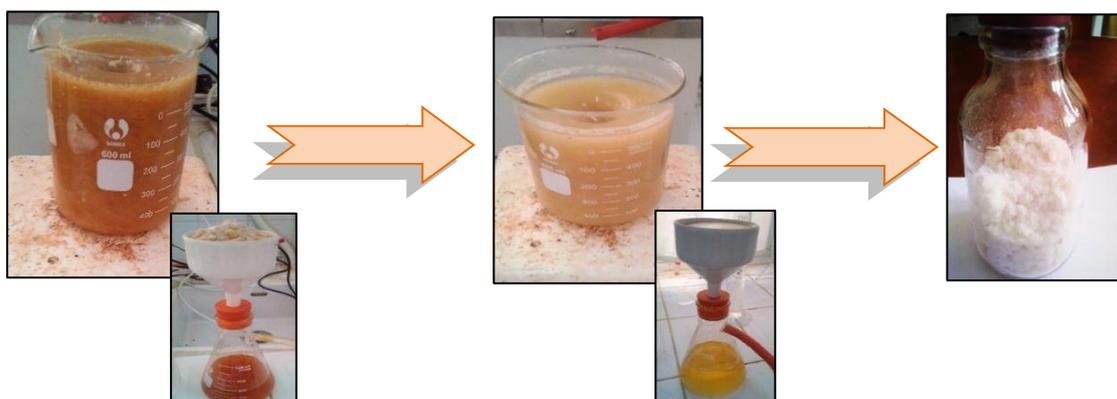


Figure III.8 : Etapes d'élimination des hémicelluloses.

– Rendement de l'extraction

Nous pouvons déterminer le rendement de la cellulose extrait par la relation suivante :

$$R \% = (m_1 / m_0) \cdot 100$$

R% : Rendement en pourcentage.

m_1 : la masse en gramme de la cellulose extrait.

m_0 : la masse en gramme du bois.

III.2.2. Extraction de la membrane d'œuf

Les coquilles d'œufs sont lavées à l'eau et une brosse puis rincées par l'eau distillée. Dans un cristallisateur avec une solution de 1 % d'acide acétique pesées les coquilles d'œufs et laissées pendant 10 min, puis enlève la membrane à mains par gants stérilisés. Les membranes sont séchées à 37 °C pendant 24 h, et stérilisées par 70 % d'éthanol pendant 24 h à température ambiante et enfin séchées à 37 °C pendant 24 h et broyées.



Figure III.9 : Etapes d'extraction la membrane d'œuf.

III.2.3. Préparation des biofilms

Pour préparer les biofilms de cellulose, 0,5 g de cellulose et 4 g d'agar agar ont été dissous dans 50 ml d'eau distillée et mélangés pendant 1 h à la température ambiante. 2 ml de glycérol ont été ajoutés à la suspension de fibres cellulosiques et ont été agités pendant 1 h à 90 °C. Puis, le mélange a été coulé sur les boîtes de Petri et séché pendant 24 h à température ambiante.

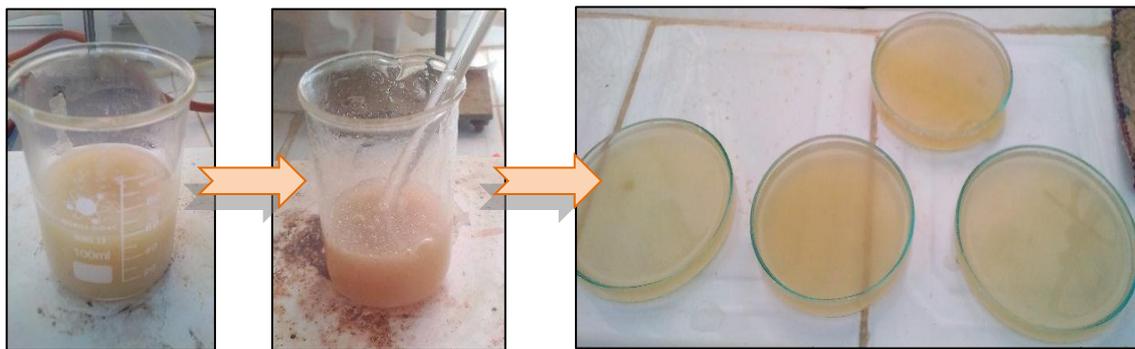


Figure III.10 : Etapes de préparation les biofilms de cellulose.

III.2.4. Activité antibactérienne de la membrane d'œuf

– Les souches bactériennes

On a utilisé les souches bactériennes pathogènes responsables d'infections de plaies tels que *Staphylococcus aureus* (ATCC25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853) et les bactéries appartenant à la famille des Enterobacteriaceae (*Escherichia coli* (ATCC25922), *Klebsiella pneumoniae* (S912)).

– Ré-isolement des souches bactériennes

On a prélevé les souches bactériennes par once de platine et isolées à 10 ml de bouillon nutritif à tube d'essai stérile, puis incubées à l'étuve à 37 °C pendant 1 h. Les souches microbiennes ont été cultivées etensemencées sur des boîtes de pétrie contenant la

gélose nutritive puis incubées à 37 °C pendant 24 h pour l'obtention des souches pures et jeunes.

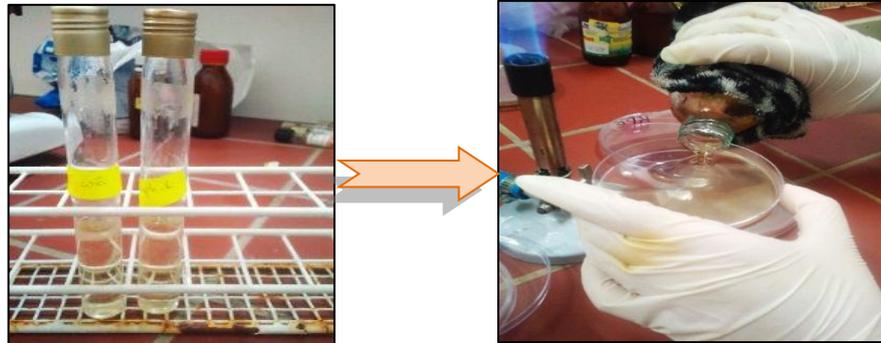


Figure III.11 : Ré-isolement des souches bactériennes

– Ensemencement

Racler à l'aide d'une anse de platine, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques introduire l'anse de platine dans 5 ml d'eau physiologique stérile. Tremper l'écouvillon dans la suspension microbienne, ensemercer la boîte en frottant délicatement l'écouvillon sur la gélose Mueller Hinton. Tourner plusieurs fois le boîte de façon à croiser les sites.

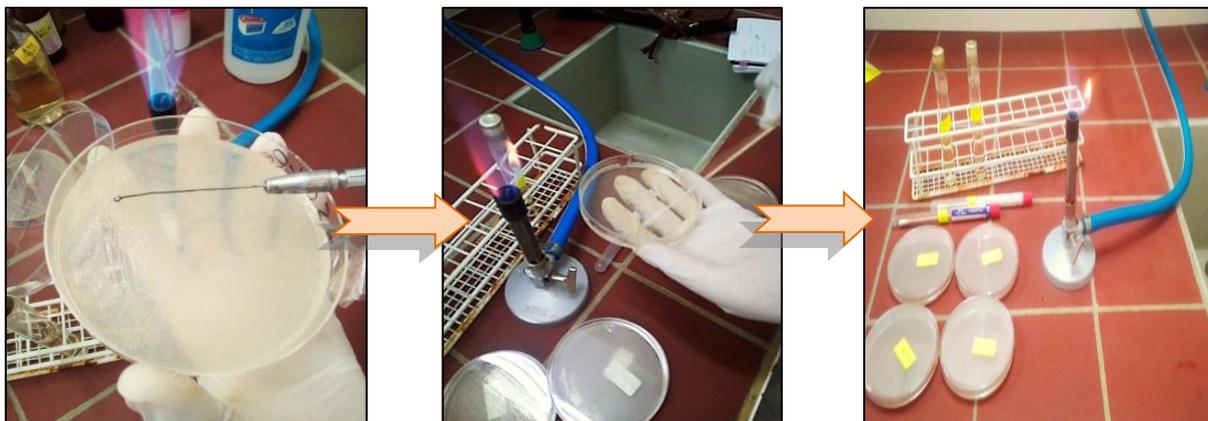


Figure III.12 : Etapes de l'ensemencement des bactéries.

– Applications de disques

Premièrement, on a préparé les disques à l'aide d'une perforuse, les disques sont découpés en diamètre de 6 mm à partir du papier Whatman, puis placés dans un tube à essai et stérilisés à l'autoclave pendant 20 min.



Figure III.13 : Préparation des disques.

À l'aide d'une pince stérile, les disques sont déposés à la surface d'un milieu ensemencé et imprégnés à l'aide d'une pipette Pasteur de différentes concentrations de la membrane d'œuf en suspension à l'eau distillée (0,1 g/ml ; 0,05 g/ml ; 0,025 g/ml ; 0,0125 g/ml). Ensuite, les boîtes sont placées à l'étuve pour une incubation de 24 heures à 37°C.



Figure III.14 : Etapes d'applications des disques.

– La lecture des résultats

Le résultat de cette activité est exprimé par le diamètre de la zone d'inhibitions autour des disques à l'aide d'une règle graduée sur le fond de la boîte. La souche ayant un diamètre :

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8 mm ;
- Sensible (+) : diamètre entre 9 à 14 mm ;
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm ;
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre >20 mm [95].

III.3. Tests et caractérisations

III.3.1. Analyse par IRTF

L'analyse par IRTF de la cellulose extraite a été réalisée pour identifier le polysaccharide suivant les relations :

- **Indice de cristallinité total (TCI)** : est utilisé pour évaluer le taux de cristallinité. La bande 1380 cm^{-1} est due aux vibrations de déformation de la liaison C-H ; la bande à environs 2920 cm^{-1} correspond à vibration d'élongation de la liaison C-H.

$$\text{TCI} = \frac{a_{1380\text{cm}^{-1}}}{a_{2920\text{cm}^{-1}}}$$

- **Intensité de liaison hydrogène (HBI)** : liée au système cristallin et au degré de régularité intermoléculaire de la cellulose (la cristallinité). Les bandes 3400 cm^{-1} et 1450 cm^{-1} sont dues aux vibrations d'élongation et de déformation des liaisons OH respectivement.

$$\text{HBI} = \frac{a_{3400\text{cm}^{-1}}}{a_{1450\text{cm}^{-1}}}$$

- **Indice d'ordre latéral (LOI)** : le rapport entre l'intensité des deux bandes citées précédemment est utilisé pour étudier la variation de l'ordre du réseau cristallin et ainsi déterminer l'indice d'ordre latéral. La bande à 1450 cm^{-1} est associée au taux de zones cristallines de la cellulose tandis que la bande à 870 cm^{-1} indique le taux des zones amorphes.

$$\text{LOI} = \frac{a_{1450\text{cm}^{-1}}}{a_{870\text{cm}^{-1}}}$$

III.3.2. Effet du temps sur la perte des molécules d'eau des biofilms

Les biofilms préparés puis séchés pendant 48 h à température ambiante et mesurés la masse et le diamètre à un intervalle de 15 jours.

$$\% \text{ de masse perdu} = \frac{m_i - m_0}{m_0} \cdot 100$$

m_0 : la masse initiale de l'échantillon(g) ;

m_i : la masse en fonction de temps (g).

III.3.3. Test de biodégradabilité

Les biofilms ont été coupés, pesés dans une boîte contenant un sol humide. Le sol était hydraté chaque jour avec l'eau distillée et les échantillons étaient prélevés et mesurés le poids après 30 jours.

$$\% \text{ de poids perdu} = \frac{m_0 - m_f}{m_0} \cdot 100$$

m_0 : la masse initiale de l'échantillon (g) ;

m_f : la masse finals (g).



Figure III.15 : Test de biodégradabilité.

III.3.4. Test de gonflement

Mesure une masse m_1 de l'échantillon sèche, puis le déposer dans un bicher contenant 100 ml d'eau distillée. Les masses de l'échantillons ont été mesurées chaque 15 min (15, 30, 45, 60, 75, 90 min) ; et avant mesuré, la surface de l'eau de l'échantillons a été absorbés par papier filtre puis mesure m_t .

$$\text{Taux de gonflement} = \frac{m_t - m_1}{m_1} * 100$$

m_1 : la masse initiale d'échantillons (g) ;

m_t : la masse après certain temps (g) .

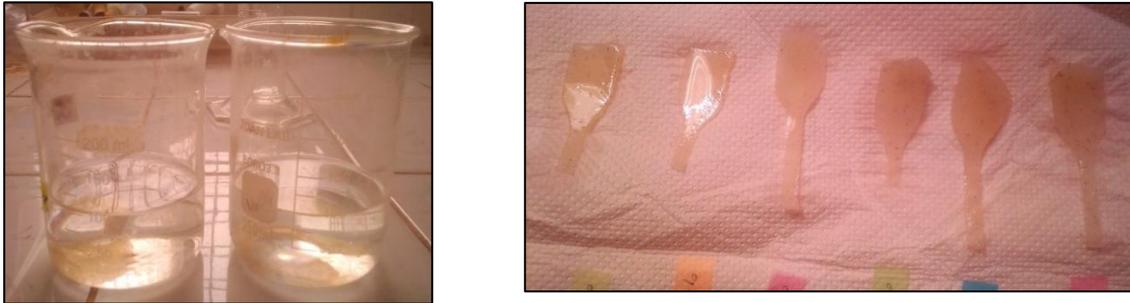


Figure III.16 : Test de gonflement.

III.3.5. Test de la solubilité à l'eau

Les biofilms séchés à 100 °C pendant 24 h et mesurés le poids (m_1). Les biofilms peser à 100 ml d'eau distillée à température ambiante pendant 24 h, puis enlève les biofilms et sécher à 100 °C pendant 24 h et mesure le poids (m_2).

$$\text{WS \%} = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \cdot 100$$

m_1 : la masse initiale (g);

m_2 : la masse finale après le séchage (g).

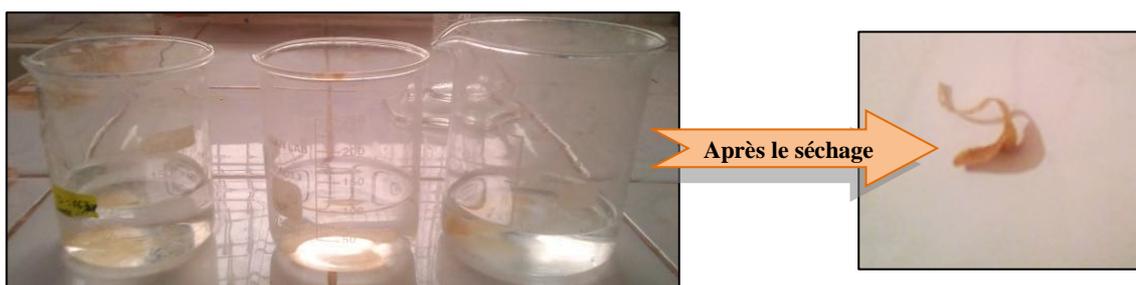


Figure III.17 : test de la solubilité à l'eau.

III.3.6. Test de la traction

Le test de traction est fréquemment utilisé pour déterminer la charge maximale (force de traction) des échantillons synthétisés. Le test de traction est basé sur une valeur de charge ou valeur d'allongement par extrapolation de la pente de la courbe dans le domaine élastique.

Le module de traction, module de Young ou module d'élasticité donne des informations sur le comportement du matériau soumis à des contraintes et caractérise la rigidité du matériau, il est exprimé par la loi de Hooke :

$$\mathbf{E} = \frac{\sigma}{\varepsilon}$$

E: module de Young (MPa);

σ : la contrainte (MPa) ;

ε : l'allongement relatif, ou déformation.

III.3.7. La dureté des biofilms

La dureté est la mesure de la résistance d'un matériau à la pénétration. On appelle indice de dureté de pénétration Shore ou plus couramment dureté Shore.

L'éprouvette peut avoir une forme quelconque (carrée, rectangulaire ou disque) à condition que les dimensions permettent l'obtention d'au moins cinq mesures en des emplacements différents distants entre eux d'au moins 6 mm et distants des bords de l'éprouvette d'au moins 12 mm. La face de l'éprouvette sur laquelle doit être effectuée la mesure doit être aussi plane que possible.

La dureté Shore est exprimée de la manière suivante :

$$\mathbf{Dur. Shore X = M}$$

X : étant la lettre correspondante au type de duromètre Shore utilisé.

M : valeur moyenne calculée.

III.4. Résultats et discussion

III.4.1. La cellulose

– Le rendement d'extraction

Les résultats obtenus de la composition chimique du bois après les traitements sont représentés sur la figure III.18.

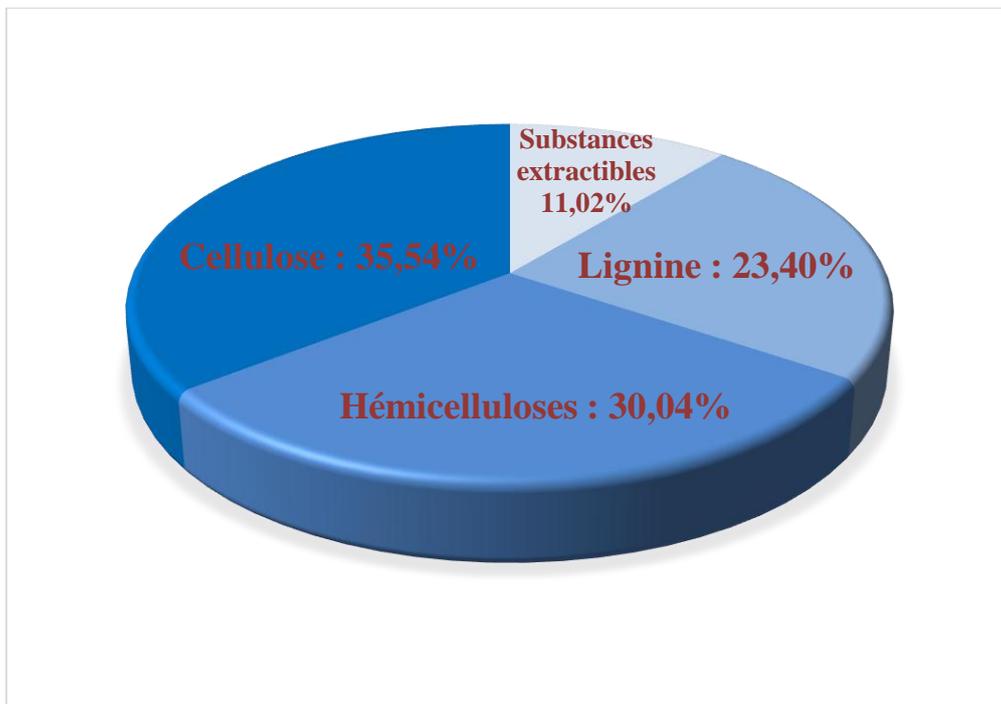


Figure III.18 : Composition chimique du bois (% en poids).

– Spectre IRTF

La figure III.19 présente le spectre Infrarouge de la cellulose du déchet du bois sous forme de pastille.

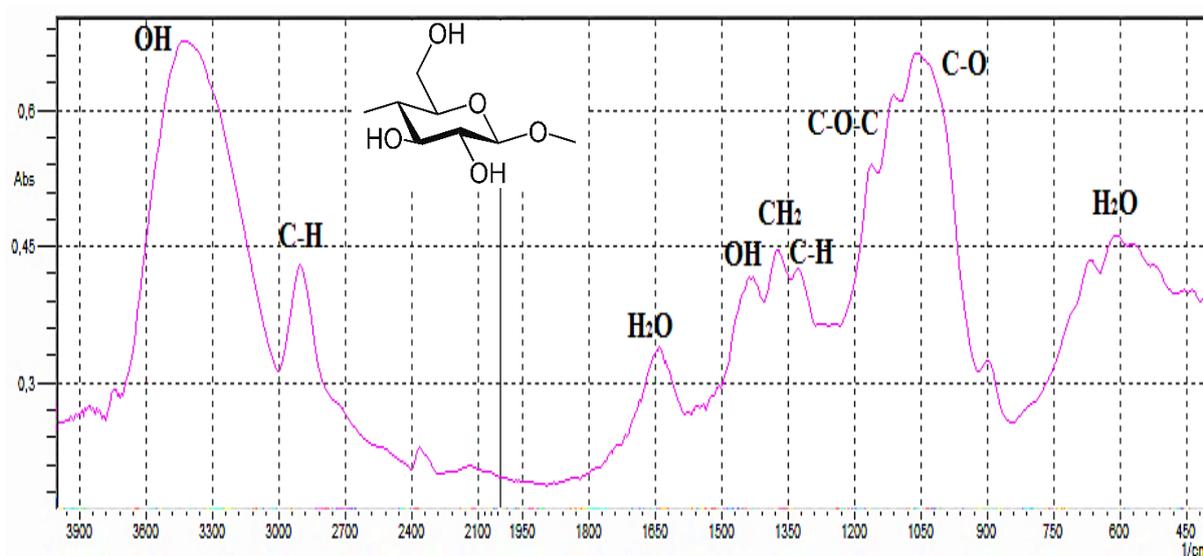


Figure III.19 : Spectre infrarouge de la cellulose extraite du bois.

Les principales bandes d'absorption caractérisent la cellulose sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau III.3 : Interprétation du spectre infrarouge de la cellulose.

Pics et bandes (cm ⁻¹)	Groupements
3400	Vibration d'élongation de la liaison O-H des fonctions alcools.
2920	Vibration de la liaison C-H (CH ₂).
1650 ; 680	L'eau adsorbée sur la cellulose apparaît vers 1650 cm ⁻¹ et aussi vers 680 cm ⁻¹ .
1450	Vibrations de déformation de la liaison O-H.
1380	Vibration de déformation de la liaison CH ₂ du cycle.
1317	Vibration de déformation de la liaison C-H du cycle.
1110-1170	Les vibrations d'élongation antisymétrique de la liaison glycosidique C-O-C.
1050	Les vibrations de la liaison C-O des carbones 2, 3 et 6.

Le tableau III.4 présente les valeurs de TCI, LOI, HBI calculés à base des résultats du spectre IRTF de la cellulose. Les valeurs de TCI et de LOI plus élevées indiquent un plus haut degré de cristallinité et une structure plus ordonnée de la cellulose dans le bois. D'un autre

côté, l'intensité de la liaison hydrogène peut être utilisée pour interpréter les changements qualitatifs de la cristallinité de la cellulose. En général quand la valeur de HBI augmente la cristallinité de la cellulose diminue.

Tableau III.4 : TCI, HBI, LOI de la cellulose.

Le biomasse	TCI	LOI	HBI	Références
Déchets du bois	1.07	1.67	1.66	Cette étude
Chêne zéen	0.87	1.36	2.07	[96]
Chêne afares	0.80	1.24	2.11	[96]
Pin d'Alep	0.82	1.33	2.03	[96]
Rachis de palmier dattier	0.94	1.59	1.81	[96]

III.4.2. La membrane d'œuf

– La solubilité

La solubilité de la membrane dans des quelques solvants est représentée dans le tableau III.5 :

Tableau III.5 : La solubilité de la membrane d'œuf.

La solubilité de la membrane	
Propan-1-ol (x)	Pentane (x)
Acétone (x)	n-heptane (x)
DMSO (x)	Toluène (x)
Benzène (x)	Méthanol (x)
Ethyle acétate (x)	Chloroforme (x)
Dichlorométhane (x)	Acide acétique (x)
Acide chlorhydrique (x)	Cyclohexane (x)
Ethanol (x)	Hypochlorite de sodium (x)

(x) : insoluble ; (✓) : soluble.

– Spectre IRTF

La figure III.20 représente le spectre IRTF de la membrane d'œuf.

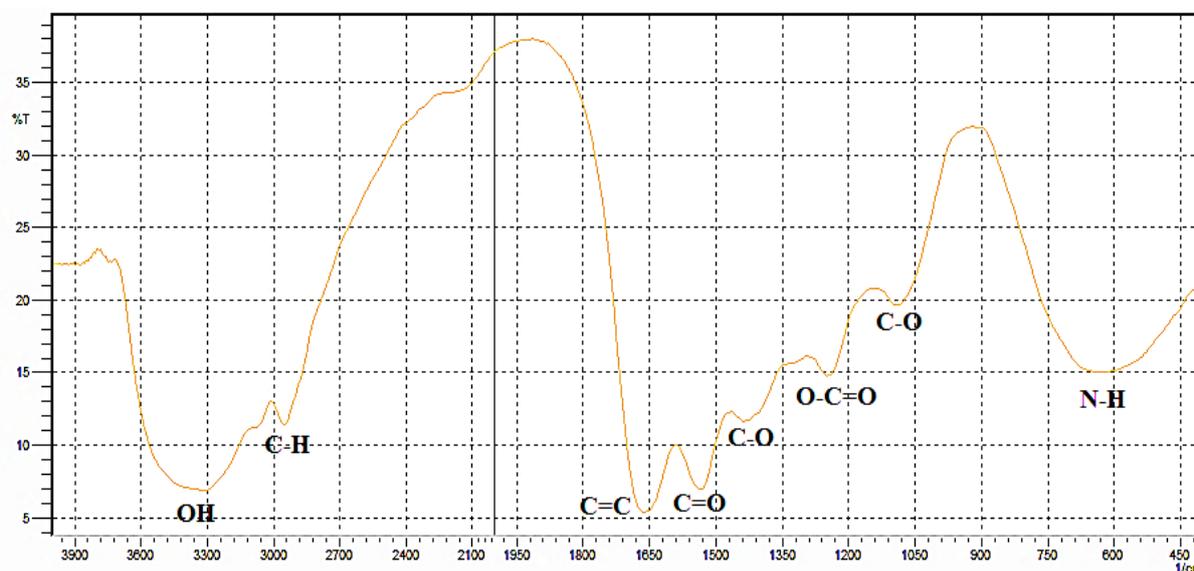


Figure III.20 : Spectre IRTF de la membrane d'œuf.

Tableau III.6 : Interprétation de IRTF de la membrane coquillière.

Les pics (cm ⁻¹)	Groupements
3400	Correspond les groupes O-H.
2900	Correspondant aux vibrations d'étirement asymétriques des liaisons C-H présentes dans les groupes =C-H et =CH ₂ .
1650	Vibrations du groupement C=C.
1550	Vibration de la liaison C=O.
1400	Correspond la liaison C-O.
1250	Correspondant la liaison O-C=O asymétrique.
1075	Correspondant d'élongation de la liaison C-O.
600	Vibration de la liaison N-H d'amine secondaire.

III.4.3. Les biofilms

– Effet de temps sur la perte des molécules d'eau des biofilms

La figure III.21 représente la perte de poids des biofilms en fonction de temps, cette figure montre que l'augmentation du poids perdu est proportionnelle au pourcentage de la

cellulose. L'augmentation de pourcentage de la cellulose augmente l'interaction de la matrice polymérique entre la cellulose et l'agar agar ; alors plus l'interaction est forte, plus la perte de la masse est importante (la perte des molécules d'eau).

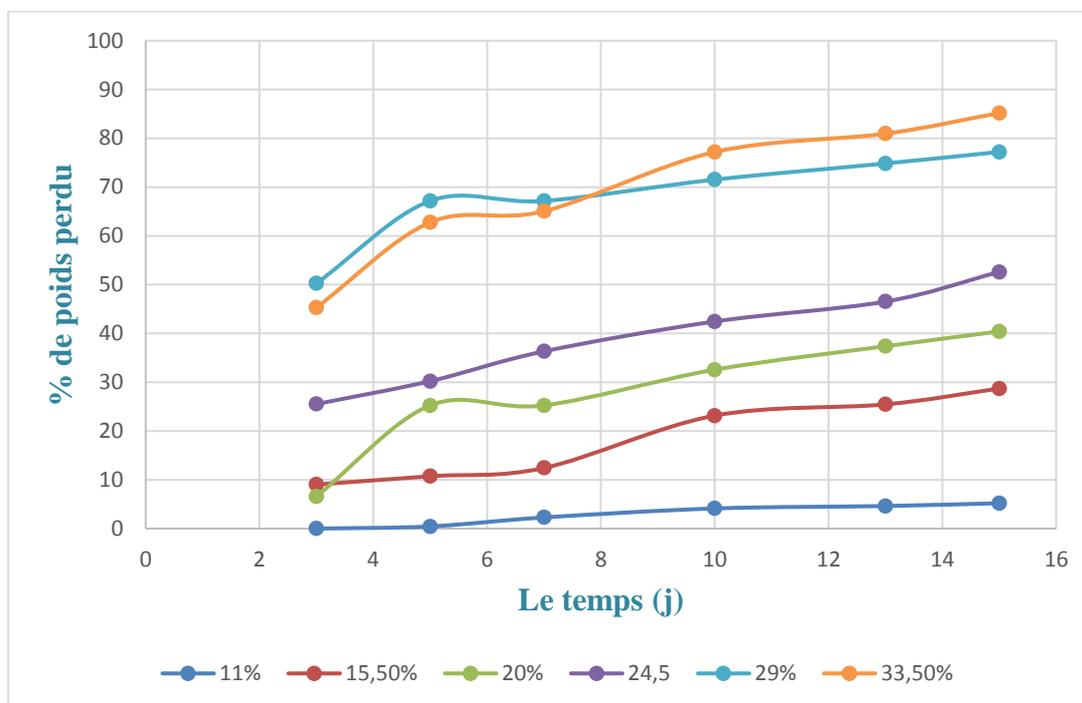


Figure III.21 : Effet de temps sur la perte de masse des biofilms.

– Test de biodégradabilité

Le tableau III.7 représente les résultats de test de la biodégradabilité des échantillons des biofilms préparés. Les résultats indiquent qu'il y a une augmentation de la perte de poids des biofilms lorsque le pourcentage de la cellulose est augmenté à la matrice d'agar agar. Ainsi, les résultats impliquent que les biofilms possèdent une biodégradabilité accrue, car la cellulose perd des propriétés mécaniques ou avec modification chimique. La structure de la matrice se simplifie pour finalement se convertir en H_2O , CO_2 , CH_4 et/ou une biomasse nouvelle et éventuellement un résidu non toxique pour l'homme et l'environnement.

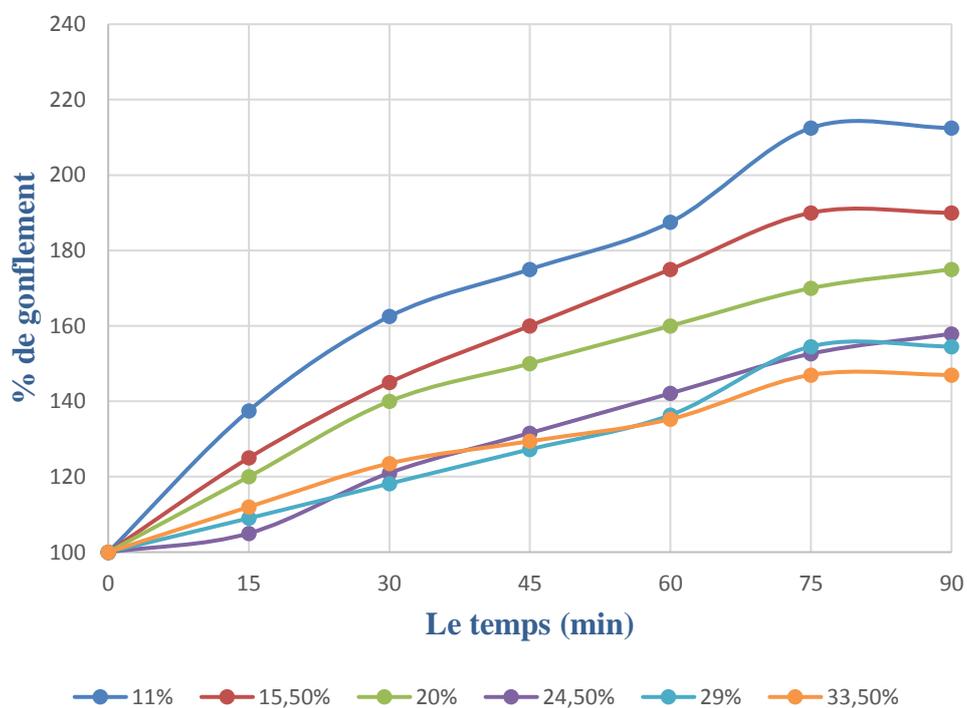


Tableau III.7 : Test de la biodégradabilité des biofilms.

% de la cellulose	% de la biodégradabilité
11	44.62
15.5	49.13
20	50.64
24.5	51.42
29	53.5
33.5	55.39

– Test de gonflement

La figure III.22 représente le test de gonflement des biofilms et montre la relation inverse entre le gonflement et le pourcentage de la cellulose (lorsque le pourcentage de la cellulose augmente, le pourcentage de gonflement diminue) car lorsque la cellulose se lie à l'agar agar, elle crée une interaction plus forte entre elles et réduit les valeurs de gonflement.

**Figure III.22** : Test de gonflement des biofilms.

– Solubilité à l'eau

La figure III.23 montre que la solubilité à l'eau des échantillons des biofilms préparés est influencée par le pourcentage de la cellulose, à cause de la formation d'une forte liaison hydrogène entre la matrice d'agar agar et la cellulose où la cellulose accroît sa propriété de cohésion entre l'agar agar et diminue la solubilité de l'eau.

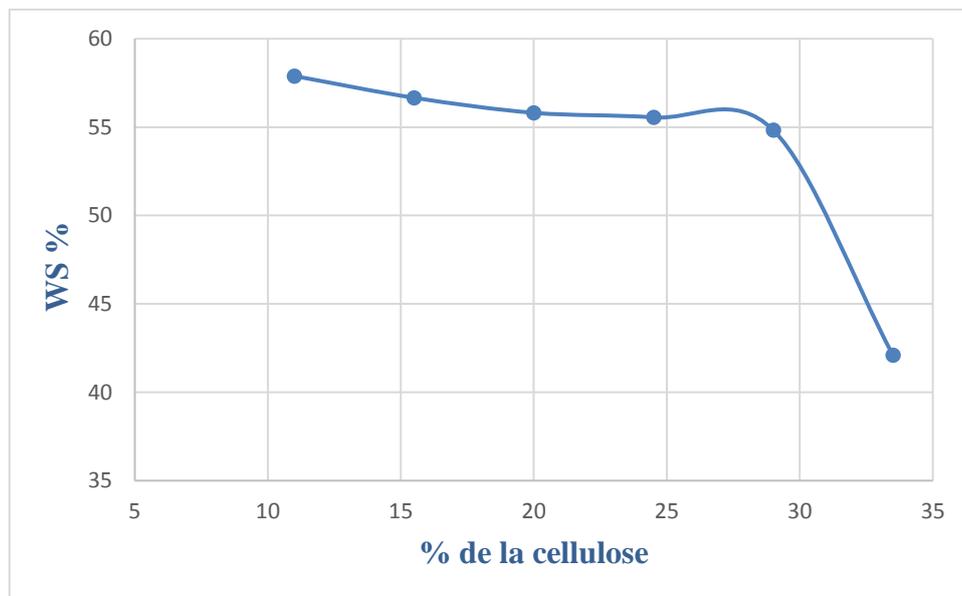


Figure III.23 : Test de la solubilité à l'eau des biofilms.

– Test de traction

A partir des résultats obtenus, la figure III.24 et le tableau III.8, on a observé une relation inverse entre le pourcentage de la cellulose et l'allongement des biofilms ; par contre, si la quantité de la cellulose est plus importante, le module de traction est plus élevé. Ces résultats montrent que l'augmentation de pourcentage de la cellulose forme une matrice plus rigide et réticulée.

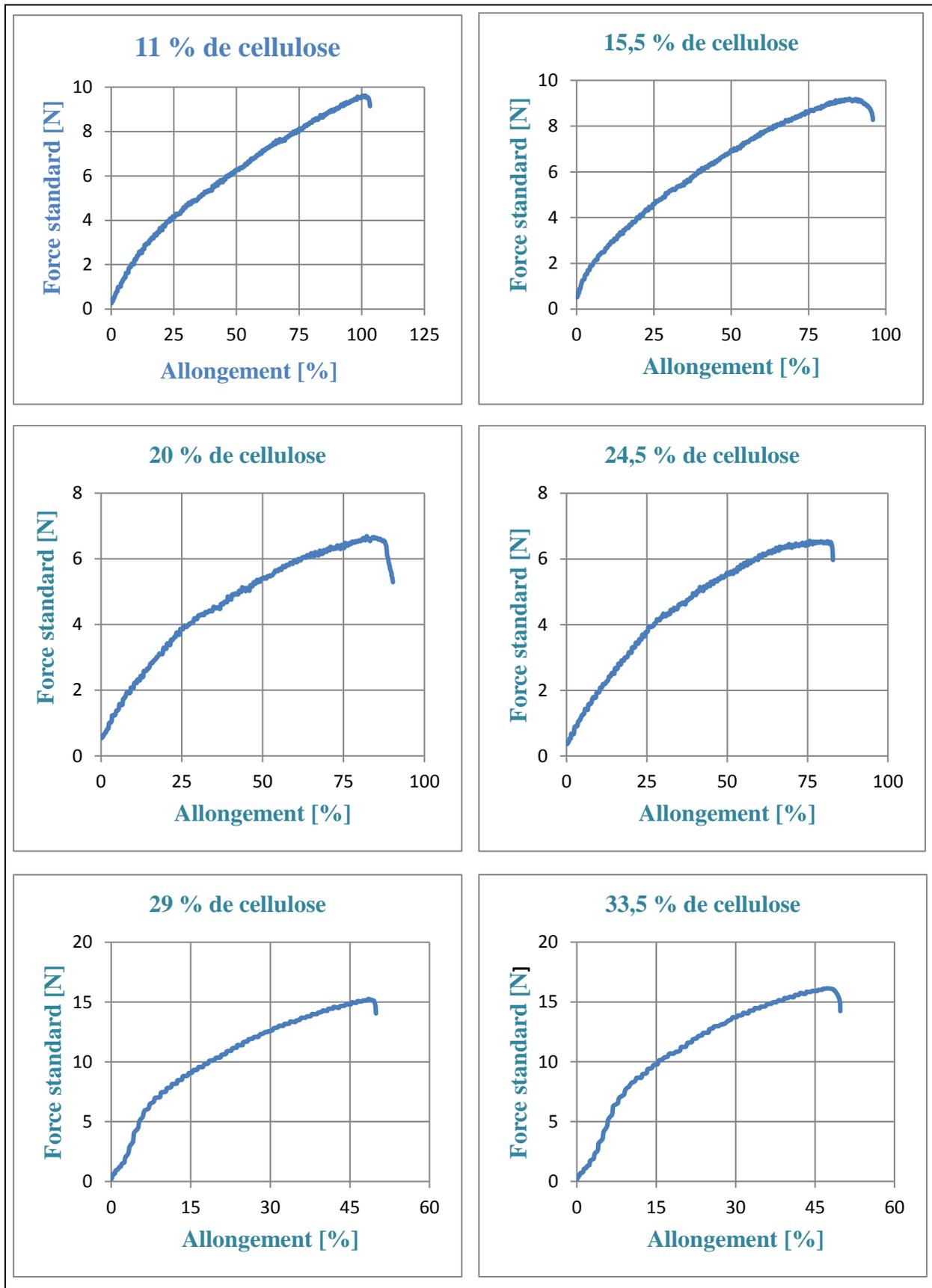


Figure III.24 : La traction des biofilms.

Tableau III.8 : Module de Young.

% de la cellulose	σ (MPa)	ϵ (%)	E (MPa)
11	6.03	103.3	0.06
15.5	5.75	95.8	0.06
20	6.07	90.3	0.07
24.5	6.39	82.9	0.08
29	13.4	49.9	0.27
33.5	19.3	49.8	0.39

– **La dureté**

Le tableau III.9 représente les résultats de la dureté Shore des biofilms cellulosiques. A base de ces résultats, on observe que le pourcentage de la cellulose est plus haut le matrix de la cellulose et l'agar agar est plus rigide à cause des forces d'interaction.

Tableau III.9 : La dureté des biofilms cellulosique.

% de la cellulose	La dureté
11	43.64
15.5	47.78
20	49.94
24.5	52.34
29	54.58
33.5	58.48

III.4.4. L'activité antibactérienne

Les résultats relatifs à l'activité antibactérienne des différentes concentrations de la membrane d'œuf sur les bactéries sont présentés sur la figure III.25. Nous remarquons que l'effet antibactérien est proportionnel à la concentration utilisée.

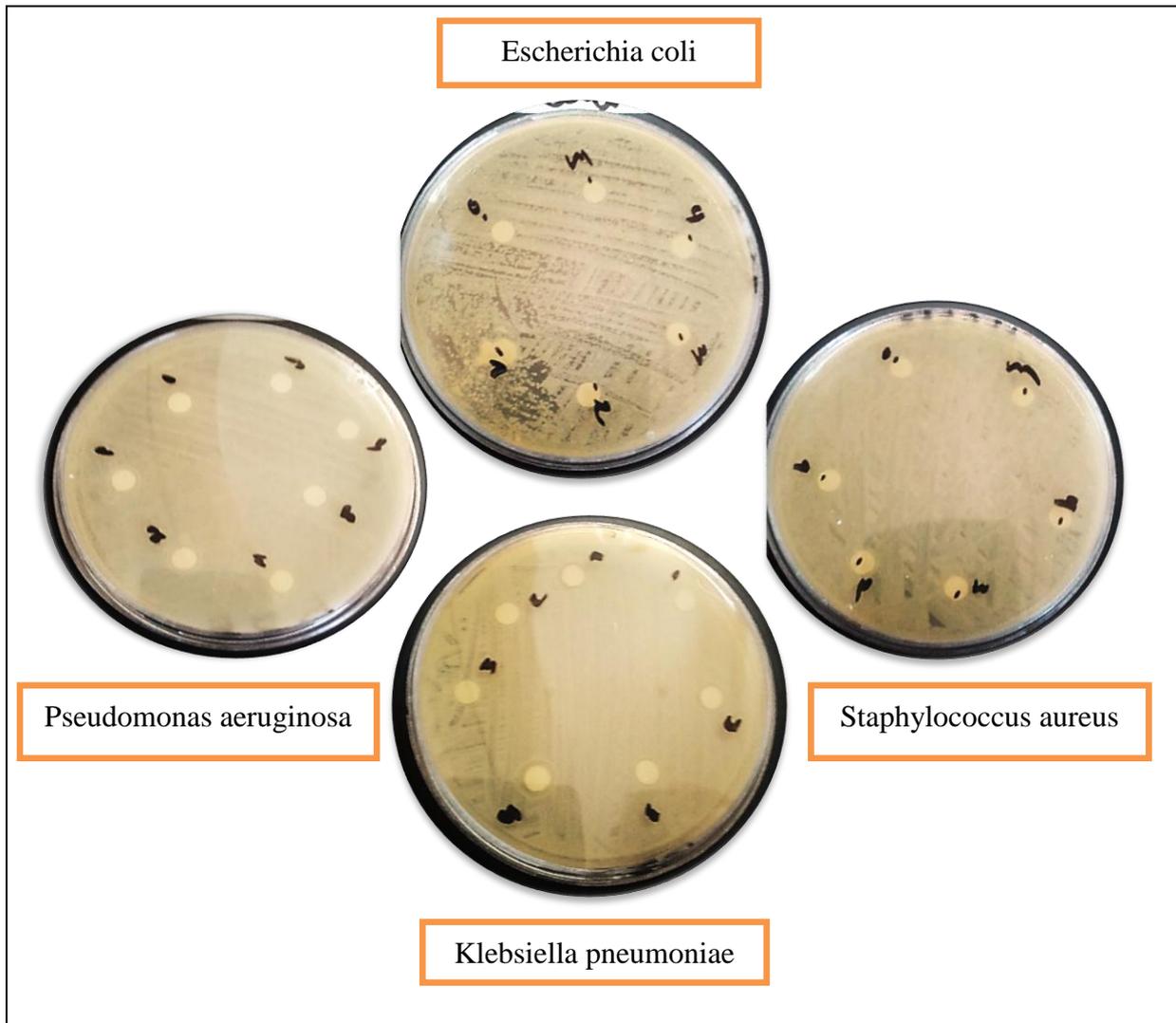


Figure III.25 : Résultats de l'activité antibactérienne.

Les résultats de l'activité antibactérienne de la membrane d'œuf ont montrés que toutes les bactéries sont résistantes à la concentration 0.0125 g/ml.

D'autre part, la concentration 0.025 g/ml a montré que tous les bactéries Staph. aureus est sensible mais E. coli, pseudo. coccus et Klebsiella pneumoniae sont résistantes.

Nous remarquons aussi tous les souches bactériennes sont sensibles à la concentration 0.05 g/ml de la membrane.

Ces résultats montrent aussi à la concentration 0.1 g/ml, Staph. aureus est très sensible et les autres souches sont sensibles.

Alors :

La CMI (concentration minimale inhibitrice) de la membrane pour les souches de *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et d'*Escherichia coli* est de 0.05 g/ml, la souche *Staphylococcus aureus* à une CMI de 0.025 g/ml.

Tableau III.10 : Diamètre des zones d'inhibition de la membrane.

Les souches	Eau	0.0125 g/ml	0.025 g/ml	0.05 g/ml	0.1 g/ml
<i>E. coli</i>	- (6 mm)	- (7 mm)	- (8 mm)	+ (10 mm)	+ (12 mm)
<i>Staph.aireus</i>	- (6 mm)	- (8 mm)	+ (10 mm)	+ (13 mm)	++ (16 mm)
<i>Pseudo.coccus</i>	- (6 mm)	- (7 mm)	- (8 mm)	+ (9 mm)	+ (11 mm)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	- (6 mm)	- (7 mm)	- (8 mm)	+ (9 mm)	+ (11 mm)

En effet, l'inhibition de la croissance de *Staphylococcus aureus* par les différentes concentrations de la membrane est plus importante par rapport aux autres bactéries testées, c'est-à-dire la souche *Staphylococcus aureus* est sensible à toutes les concentrations.

A base des résultats de cette étude *in vitro*, nous rapportons que la poudre de la membrane de coquille d'œuf a des propriétés antibactériennes. Cette membrane contient de l'ovotransferrine qui est une glycoprotéine présente dans l'albumine de l'œuf et joue un rôle clé en tant qu'agent antimicrobien dans la protection des embryons en développement contre les infections bactériennes.

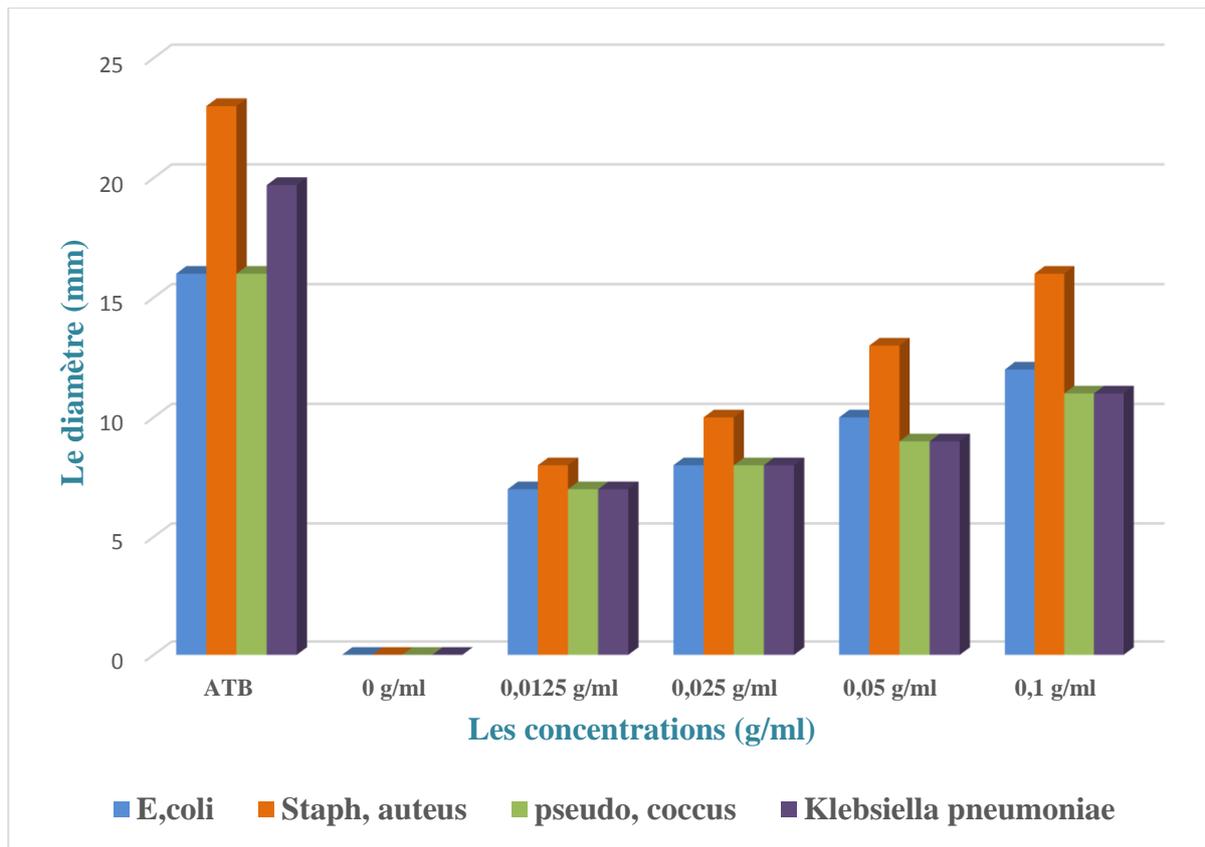


Figure III.26 : Histogramme présente les zones d'inhibition pour toutes les souches bactériennes de la membrane d'œuf.

Conclusion générale

Conclusion générale

La cellulose est le principal composant structural des parois cellulaires des plantes et constitue le polymère organique le plus abondant sur la terre. Il s'agit donc d'un biomatériau renouvelable, facilement disponible à faible coût.

Les chercheurs en biopolymères ont mis au point de nouvelles stratégies pour améliorer les propriétés des pansements pour les plaies au cours de la dernière décennie, qui est en train de devenir l'un des biomatériaux les plus expansion dans les domaines du biomédical et de la pharmacie. La cellulose est l'un des polymères qui remplit cette exigence pour les futurs pansements. La cellulose est un biopolymère naturel bien connu qui peut être utilisé sans danger et qui est biodégradable par nature. Pour inhiber la prolifération bactérienne dans les plaies en chargeant sur le pansement des agents antimicrobiens tels que la membrane de coquille d'œuf. La membrane de coquille d'œuf est un biomatériau naturel et biodégradable qui a été utilisé dans le domaine biomédical comme pansement naturel alternatif pour guérir les plaies.

De ce fait, l'objectif de ce travail a été d'étudier la possibilité de valoriser les déchets du bois et les coquilles d'œufs.

La première partie de cette étude consiste à l'extraction et la caractérisation de la cellulose et de la membrane de la coquille d'œuf. La teneur en cellulose de déchet du bois est de 37.54 %.

Le taux de cristallinité (TCI), l'intensité de liaison hydrogène (HBI) et l'indice d'ordre latéral (LOI) de la cellulose ont été déterminés par la spectroscopie infrarouge.

Dans la deuxième partie nous nous sommes intéressés à l'étude des propriétés physiques et mécaniques de biofilms préparés à base de cellulose.

Les principaux résultats des tests effectués sur les biofilms ont montré que :

- La perte de masse de biofilms est proportionnelle au pourcentage de cellulose ;
- Lorsque le pourcentage de la cellulose augmente, le pourcentage de gonflement diminue ;
- La solubilité à l'eau des biofilms préparés est influencée par le pourcentage de la cellulose ;
- L'allongement des biofilms est inversement proportionnel au pourcentage de la cellulose.

Conclusion générale

La troisième et dernière partie de cette étude est consacrée à l'évaluation des propriétés antibactériennes de la membrane de coquille d'œufs extraites et caractérisées dans la première partie. Cette membrane a montré des résultats assez probants en révélant leur efficacité sur la croissance des souches bactérienne testés.

Les résultats montrent un pouvoir antibactérien très important de la membrane sur les souches bactériennes *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* et *Klebsiella pneumoniae*, dont l'effet antibactérien est proportionnel à la concentration utilisée de la membrane. Les résultats montrent aussi que la souche *Staphylococcus aureus* est sensible à toutes les concentrations de la membrane.

Sur la base de ces résultats, on peut affirmer que la membrane de coquilles d'œufs et la cellulose sont des matériaux très disponible et peu coûteux, peuvent facilement être les convertis en pansements médicaux.

Références bibliographiques

- [1]: Guillaume. F ; Huiles végétales époxydées et alcool furfurylique : deux types de monomères pour l'élaboration de therm durcissables et de composites biosourcés ; thèse de doctorat ; UNIVERSITE de Nice-Sophia Antipolis, France ; 2016.
- [2]: Bledzki. A; Composites Reinforced with Cellulose Based Fibres; Prog. Polym. Sci. 1999, 24, 221–274.
- [3]: Gandini. A; Polymers from Renewable Resources: A Challenge for the Future of Macromolecular Materials; Macromolecules 2008, 41 (24), 9491-9504.
- [4]: Bruno. G, Richard. A, Sébastien. G, Stéphane. L, Georges. S, Patrick. A, Gerin. J.G ; Revue bibliographique sur les méthodes d'analyse des polysaccharides structuraux des biomasses lignocellulosiques ; Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 2011 15(1), 165-182.
- [5]: Doherty. W. O. S, Mousavioun. P, Fellows. C. M.; Value-adding to cellulosic ethanol: Lignin polymers; Industrial Crops and Products 2011, 33 (2), 259-276.
- [6]: Françoise. B ; Composites polymers et fibres lignocellulosiques propriétés, transformation et caractérisation ; Lavoisier. 2017,4-12.
- [7]: Omar. A ; Recueil de manipulations de chimie du bois et de la cellulose ; office des publications universitaires. 2009, 12-14.
- [8]: Pérez.S, M. K; Conformation, Structures, and Morphologies of Celluloses. In Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility; New York; 200AD.
- [9]: Gibson L. J; The hierarchical structure and mechanics of plant materials; J. R. Soc. Interface. Nov 7, 2012; 9(76): 2749–2766.
- [10]: Grace, T. M, Leopold. B, Malcolm, E. W; Pulp and Paper Manufacture; Vol 5, 3è éd., CPPN TAPPI, Montréal, Canada, chapitre 14; 1989; 391-424.
- [11]: Ebringerová. A; Structural Diversity and Application Potential of Hemicelluloses; Macromol. Symp; vol. 232, no. 1; Dec. 2005; 1–12.
- [12]: <https://www.e-education.psu.edu/egee439/node/664>. [Accessed: 24-Aug-2018].

- [13]: John M.J, Thomas. S; Biofibres and biocomposites, Carbohydrate Polymers, 2008, Vol. 71, p 343-364.
- [14] : Thiebaud. S ; Valorisation chimique de composés lignocellulosiques : obtention de nouveaux matériaux ; Thèse de Doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse, France, 1995 ; 194.
- [15] : Ragoubi. M ; Contribution à l'amélioration de la compatibilité interfaciale fibres naturelles/matrice thermoplastique via un traitement sous décharge couronne ; Thèse de Doctorat, Université Henri Poincaré Nancy 1, 2010 ; 186.
- [16]: Sedan. D, Pagnoux. C, Smith. A, Chotard. T; Mechanical properties of hemp fibre reinforced cement: Influence of the fibre/matrix interaction; Journal of the European Ceramic Society; Vol 28; 2008; 183-192.
- [17]: Liu. W, Jiang. H, Yu. H; Thermochemical conversion of lignin for functional materials: A review and future directions; Green Chemistry; Vol 17; 2015; 4888-4907.
- [18]: Vincken. J, Schols. HA, Oomen. RJFJ, McCann. MC, Ulvskov. P, Voragen. AGJ and Visser. RGF; If homogalacturonan were a side chain of rhamnogalacturonan I. Implications for cell wall architecture; Plant Physiol; 2003; 132: 1781-1789.
- [19]: Bledzki A.K, Gassan J; Composites reinforced with cellulose based fibres; Progress in Polymer Science; 1999; Vol 24; 221-274.
- [20] : Stevanovic. T, Perrin. D ; Chimie du bois ; Presses Polytechniques et Universitaires Romandes,ed.; 2009.
- [21]: Zugenmaier.P; Crystalline Cellulose and Derivatives: Characterization and Structures; Springer Series in Wood Science; 2008; 7-51.
- [22]: Willstätter.R, Zechmeister.L; For the knowledge of the hydrolysis of cellulose I, B; European Journal of Inorganic Chemistry; 1913; 46; 2401–2412.
- [23]: Ragnar.M, Henriksson.G, Lindström.M.E, Wimby.M., Blechschmidt.J, Heinemann.S; Pulp. In Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry; New York: WileyVCH; 2000.
- [24]: Klemm.D, Heublein.B, Fink.H-P, Bohn. A; Cellulose: Fascinating biopolymer and sustainable raw material; Angewandte Chemie International Edition 44; 2005; 3358-3393.

- [25]: Vandamme.E.J, De Baets.S, Vanbaelen.A, Joris. K, De Wulf.P; Improved production of bacterial cellulose and its application potential; *Polymer Degradation and Stability*; 59; 1998; 93-99.
- [26]: Jonas.R; Farah.L.F; Production and application of microbial cellulose; *Polymer Degradation and Stability*; 59; 1998; 101-106.
- [27]: Delmer.D.P; Cellulose Biosynthesis: Exciting time for a difficult field of study; *Annual review of plant physiology and plant molecular biology*; 50; 1999; 245-276.
- [28]: Cousins.S.K, Brown Jr.R.M; Cellulose I microfibril assembly: computational molecular mechanics energy analysis favours bonding by van der Waals forces as the initial step in crystallization; *Polymer*; 36(20); 1995; 3885-3888.
- [29]: Cosgrove.D.J; Growth of the plant cell wall; *Nature Reviews Molecular Cell Biology*; 2005; 850-861.
- [30]: Payen A ; la composition du tissu propre des plantes et du ligneux ; mémoire de magister ; *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences*; 1052; 1838.
- [31]: Krassig H, Schurz J; Cellulose; *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*; 6 ed; Wiley; 2002.
- [32]: Staudinger.H; About polymerization. *Reports of Dtsch. Chem. Society A.B Ser*; 1920; 53; 1073–1085.
- [33]: Irvine.JC, Hirst.EL; LXIV-The Constitution of Polysaccharides, Part VI; The Molecular Structure of Cotton Cellulose. *J. Chem. Soc. Trans*; 1923; 123; 518–532.
- [34]: Freudenberg.K, Braun.E, Methycellulose; *Justus Liebigs Ann; Chem* 1928; 460; 288-304.
- [35]: Haworth.WN, Hirst.EL, Thomas.HA; The Existence of the Cellobiose Residue in Cellulose; *Nature*; 1930; 126; 438-442.
- [36]: Jeffrey.GA, Chu.S; The Refinement of the Crystal Structures of -D-Glucose and Cellobiose; *Acta Crystallogr; Sect. B*; 1968; 24; 830–838.

- [37]: Radavidson H ; Vésicules lipidiques biomimétiques décorées par un assemblage multicouche nanocristaux de cellulose/xyloglucane: élaboration et caractérisation mécanique ;thèse de doctorat ; Université Grenoble Alpes ; France ; 2016 ; 215.
- [38]: Meyer.KH, Misch.L ; Positions Des Atomes Dans Le Nouveau Modèle Spatial de La Cellulose, *Helv. Chim; Acta* 1937, 20, 232–244.
- [39]: Watanabe.GHM; No Title; *Nature* 1958, 181.
- [40]: Gardne.KH, Blackwell.J; *The Structure of Native Cellulose*; *Biopolymers*; 1974; 13; 1975–2001.
- [41]: Atalla.RH, Vanderhart.DL; *Native Cellulose: A Composite of Two Distinct Crystalline Forms*; *Science*, 80; 1984; 4633, 223–283.
- [42]: VanderHart.DL, Atalla.RH; *Studies of Microstructure in Native Celluloses Using Solid-State Carbon-13 NMR*; *Macromolecules*; 1984; 17; 1465–1472.
- [43]: Belton.PS; Tanner.SF; Cartier.N; Chanzy.H. *High-Resolution Solid-state¹³C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Tunicin, an Animal Cellulose*. *Macromolecules* 1989, 22, 1615–1617.
- [44]: Sugiyama.J, Okano.T, Yamamoto.H, Horii.F; *Transformation of Valonia Cellulose Crystals by an Alkaline Hydrothermal Treatment*; *Macromolecules*; 1990; 23; 3196–3198.
- [45]: Nishiyama.Y, Sugiyama.J, Chanzy.H, Langan.P; *Crystal Structure and Hydrogen Bonding System in Cellulose I α from Synchrotron X-Ray and Neutron Fiber Diffraction*; *J Am Chem Soc*; 2003; 125; 14300–14306.
- [46] : Thiebaud.S ; *Valorisation chimique de composés lignocellulosiques : obtention de nouveaux matériaux*. Thèse. Institut National Polytechnique de Toulouse ; N° d'ordre : 1087 ; 1995 ; 194.
- [47]: Overend.R.P, Milne.T.A, Mudge.L.K ; *Fundamentals of Thermochemical Biomass conversion*; Elsevier Applied Science Publishers; London; 1985.
- [48]: Pérez S., Mazeau K. (2005). *Conformations, structures, and morphologies of celluloses*, in : *Polysaccharides (2nd Edition)*, Ed. SEVERIAN, D., Marcel Dekker, Inc, New York. Pages : 41-68

- [49]: Mazza M ; Modification chimique de la cellulose en milieu liquide ionique et CO₂ supercritique. Thèse en Sciences des agro-ressources, Université de Toulouse, France. 2009. 171 pages.
- [50]: Lin J.S, Tang M.Y, et Fellers J.F; The structures of cellulose. ACS Symposium Series. 340 :233-254, 1987
- [51] : Lesec.J ; Chromatographie par perméation de gel/ chromatographie par exclusion stérique, P1465, Techniques de l'ingénieur, Paris, 1994
- [52]: Klemm D., Philipp B., Heinze T., Heinze U., Wagenknecht W; Comprehensive Cellulose Chemistry, volume 1, Fundamentals and analytical methods, Wiley, 1998.
- [53]: <http://www.inrs.fr/fichetox/> fibre cellulose, edition 2011, n°282 [Accessed: 01-04-2019].
- [54]: Brandrup.J, Immergut.E.H; Polymer handbook; New York: Wiley; 1989.
- [55]: Kontturi E, Tammelin T, Osterberg M; Cellulose: model films and the fundamental approach; Chem. Soc. Rev; vol. 35, no 12; 1287-1304; déc. 2006.
- [56]: Okano T, Sarko A; Mercerization of cellulose. I. X-ray diffraction evidence for intermediate structures; J. Appl. Polym. Sci.; vol. 29; no 12; 4175-4182; 1984.
- [57]: Sobue H, Kiessig H, Hess K; The cellulose-sodium hydroxide water system as a function of the temperature; Z Phys. Chem B; vol. 43; 309-328; 1939.
- [58]: Cai J, Zhang L; Rapid Dissolution of Cellulose in LiOH/Urea and NaOH/Urea Aqueous Solutions; Macromol. Biosci.; vol. 5; no 6; 539-548; juin 2005.
- [59]: Laus G, Bentivoglio G, Schottenberger H, Kahlenberg V, Kopacka H, Roeder H, Roeder T, Sixta H; Ionic liquids: current developments, potential and drawbacks for industrial applications; Lenzing. Berichte; vol. 84; Copyright (C) 2015 American Chemical Society (ACS); All Rights Reserved; 71-85, 2005.
- [60]: Sun R.C, Fang JM, Tomkinson J, CAS Hill.J; Wood Chem; Technol.; 19; 287-306; 1999.

- [61]: Bettaieb F. EP. KH ; Valorisation des déchets cellulosiques tunisiens ; Thèse en Mécanique des fluides, Procédés, Energétique ; Université Grenoble Alpes, France ; 2015 ; 190.
- [62]: Whistler RL, Feather MS; Methods Carbohydr; Chem.; 1965; 5; 144-145.
- [63]: Ibrahim M, Glasser WG; Bioresource Technol; 1999;70; 181-192.
- [64]: Juan I, Moran, Vera A, Alvarez, Viviana P; Cyras; Aanalía Vazquez; Cellulose; 2008; 15; 149–159.
- [65]: Ballerín.D ; Les Biocarburants : Etat Des Lieux, Perspectives et Enjeux Du Développement ; Edition Te 2006.
- [66]: Jeoh.T, Agblevor.FA; Characterization and Fermentation of Steam Exploded Cotton Gin Waste; Biomass and Bioenergy 2001; 21; 109–120.
- [67]: Holtzaple.MT, Jun.JH, Ashok.G, Patibandla.SL, Dale.BE; The Ammonia Freeze Explosion (AFEX) Process; Appl. Biochem. Biotechnol; 1991 59–74.
- [68]: Silverstein.RA, Chena.Y, Boyette.MD, Sharma-Shivappa.RR, Osborne.J; A Comparison of Chemical Pretreatment Methods for Improving Saccharification of Cotton Stalks; Bioresour; Technol; 2007; 98; 3000–3011.
- [69]: Rajesh.ARR, Rajesh.EM, Rajendran.R, Jeyachandran.S; Production of Bio-Ethanol from Cellulosic Cotton Waste Through microbial Extracellular Enzymatic Hydrolysis and Fermentation; Electron. J. Environ. Agric; food Chem; 2008; 7; 2984–2992.
- [70]: Kim.SB, Um.BHU, Park.SC; Effect of Pretreatment Reagent and Hydrogen Peroxide on Enzymatic Hydrolysis of Oak in Percolation Process; In Twenty Second Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals: Humana Press; 2001; 81–94.
- [71]: Sun R.C; Cereal Straw as a Resource for Sustainable Biomaterials and Biofuels: Chemistry, Extractives, Lignins, Hemicelluloses and Cellulose; Elsevier; 2010; 300 pages.
- [72]: Biermann.J.C; Chapter 3 Pulpig Fundamentals In: Handbook of Pulpig and Papermaking (Second Edition); 1996; 55-100.

- [73]: Mirmohamadsadeghi S, Karimi K, Zamani A, Amiri H & Horváth IS; Enhanced solid-state biogas production from lignocellulosic biomass by organosolv pretreatment. *Biomed Res Int*; 2014:350-414.
- [74]: Pan.X., Kadla.J.F, Ehara,K, Gilkes,N, Saddler.J.N; Organosolv ethanol lignin from hybrid poplar as a radical scavenger: relationship between lignin structure extraction conditions and antioxidant activity; *J Agric Food Chem*; 2006; 54:5806-13.
- [75]: Obama P, Ricochon G, Muniglia L, Brosse N; Combination of enzymatic hydrolysis and ethanol organosolv pretreatments: Effect on lignin structures, delignification yields and cellulose-to-glucose conversion; *Bioresource Technology*; 2012; 112; 156-163.
- [76]: Foston.M., Hubbell.C.A, Davis.M, Ragauskas.A.J; Cellulose isolation methodology for NMR analysis of cellulose ultrastructure; *Materials*; 2011; 4; 1985-2002.
- [77]: Carrier.M, Loppinet-Serani.A, Denux.D, Lasnier.J.M, Ham-Pichavant.F, Cansell.F, Aymonier.C; Thermogravimetric analysis as a new method to determine the lignocellulosic composition of biomass; *Biomass and Bioenergy*; 2011; 35(1); 298-307.
- [78]: Boudjema H.L; Elaboration de matériaux composites biodégradables issus de ressources renouvelables ; thèse en Sécurité Industrielle et Environnement ; Université d'Oran 2, Institut de Maintenance et de sécurité Industrielle, Algérie ; 2016 ; 163 pages
- [79]: Patricia Y.H; Egg Innovations and Strategies for Improvements; Academic Press, an imprint of Elsevier, 2017; pages: 5,6,135.
- [80]: Van Immerseel F, Nys Y and Bain M; Improving the safety and quality of eggs and egg products, volume 2: Egg safety and nutritional quality; Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition: Number 214, 2011.
- [81] : Guerin-Dubiard, Anton C.M, Gautron J, Nys Y and Nau F ; Composition de l'œuf, Science et technologie de l'œuf Volume II De l'œuf aux ovoproduits, F. Nau, C. Guerin-Dubiard, F. Baron and J.-L. Thapon :1-176 ; 2010.
- [82]: Nys, Y. and N. Guyot; Egg formation and chemistry, Improving the safety and quality of eggs and egg products. Volume 1: Egg chemistry, production and consumption, Y. Nys, M.Bain and F. v. Immerseel. Cambridge, UK, Woodhead Publishing Ltd: 83-132; 2011.

- [83]:** Mineki.M. and M.Kobayashi; Microstructure of yolk from fresh eggs by improved method; Journal of Food Science; 1997; 62, (4): 757-761.
- [84] :** Nys Y, M.-T. Hincke M.T, A. Hernandez-Hernandez A, Rodriguez-Navarro A.B, Gomez-Morales J, Jonchère V, Garcia-Ruiz J.M, Gautron J; Structure, propriétés et minéralisation de la coquille de l'œuf : rôle de la matrice organique dans le contrôle de sa fabrication ; Inra Productions Animales ; 2010 ; numéro 2 ; 143-154.
- [85]:** Nys, Y., J. Gautron, M. D. McKee, J. M. Garcia-Ruiz and T. Hincke; Biochemical and functional characterisation of eggshell matrix proteins in hens, Worlds Poultry Science Journal; 2001; 57, (4): 401-413.
- [86]:** Mann, K; Proteomic analysis of the chicken egg vitelline membrane, Proteomics; 2008; 8, (11): 2322-2332.
- [87]:** Gautron.J, and Nys.Y; Eggshell Matrix Proteins. In: Huopalahti, R., LopezFandino, R., Anton, M., and Schade, R. eds; Bioactive Egg Compounds. Springer; 2007.
- [88]:** ParthaSarathi G, Sukalyan D; Sorption on Eggshell Waste—A review on ultrastructure, biomineralization and other applications; Advances in Colloid and Interface Science, 2014; 1-79.
- [89]:** Matej B; Eggshell membrane biomaterial as a platform for applications in materials science; Acta Biomaterialia, 2014;1-50.
- [90]:** Arias.J.L, Fernandez.M.S, Dennis.J.E, Caplan.A.I; Collagens of the chicken eggshell membranes. Connective Tissue Research; 1990; **26**: 37-45.
- [91]:** Wong, M., Hendrix, M.J.C., Klaus, M.V.D., Little, C., and Stern, R; Collagen in the Egg Shell Membranes of the Hen; Developmental Biology; 1984; **104**: 28-36.
- [92]:** Sunho P, Kyoung S.C, Dohyeon L, Daun K Taek L, Kyeong-Hwan L, HoonSeonwoo, Jangho K; Eggshell membrane: Review and impact on engineering; biosystems engineering; 151 (2016); 446-463.
- [93]:** Feng YI, Jian YU, Qiang LI, Zhaoxia GUO; Soluble Eggshell Membrane Protein: Antibacterial Property and Biodegradability; Journal of Wuhan University of Technology-Mater. Sci. Ed. Feb. 2007.

[94]: Fernando Guarderas, MD; YaowareeLeavell, MD; Trisha Sengupta, BBA; Mariya Zhukova, BS; and Timothy L. Megraw, PhD; Assessment of Chicken-Egg Membrane as a Dressing for Wound Healing; ADVANCES IN SKIN & WOUND CARE & MARCH 2016.

[95]: Ponce A.G, Fritz R, del Valle C.E. Roura S.I; Antimicrobial activity of senschaft und- Technologie,; 2003; p 679-684.

[96]: Haddadou I; Etude des propriétés des membranes celluloses issues de différentes espèces de bois algériens ; thèse de doctorat ; université M'Hamed Bougara Boumerdes , Algérie ; 2014-2015.

Résumé

Pour réduire le volume des déchets et protéger l'environnement, nous tenons dans ce travail la valorisation des déchets du bois et les coquilles d'œufs aux pansements médicaux, par la préparation des biopolymères à base de la cellulose extrait des déchets du bois, et par la préparation de la membrane d'œufs comme inhibiteur de croissance bactérienne et pour guérir les plaies.

المخلص

لتقليل حجم النفايات وحماية البيئة، قمنا في هذا العمل بتحويل نفايات الخشب وقشور البيض إلى ضمادات طبية، عن طريق تحضير البوليمرات الحيوية القائمة على السليلوز المستخرج من نفايات الخشب، وعن طريق إعداد غشاء البيض كمثبط للنمو البكتيري وتضميد الجروح.

Abstract

To reduce the volume of waste and protect the environment, in this work, we take the valuation of wood waste and eggshells to medical dressings, by the preparation of biopolymers based on cellulose extracted from wood waste, and by preparing the eggshell membrane as a bacterial growth inhibitor and to heal wounds.

Mots-clés : pansement médicale, biopolymère cellulosique, la membrane d'œufs, la cellulose.