

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université A. M. OULHADJ - Bouira  
Faculté des Sciences et des Sciences Appliquées  
Département de Génie des Procédés



# Mémoire

Présenté par

**FACI Djamila**

Pour l'obtention du diplôme de

## MASTER

Filière : *Génie des Procédés*

Spécialité : *Sciences et Génie de l'Environnement*

*Etude de la Biodégradation de  
Polyhydroxyalcanoates (PHAs) sous Différents  
Environnements*

A présenté le 01/12/2020

Devant le jury composé de :

ZIANI Salima	MCA	Université de Bouira	Examineur
DEHOUCHE Nadjet	MCA	Université de Bejaia	Examineur
SAHNOUNE Mohamed	MAB	Université de Bouira	Encadrant
IGGUI Kahina	MCB	Université de Bouira	Co-encadrante



## Remerciement

Je remercie avant tout, ALLAH le tout puissant  
qui m'a donné le courage d'accomplir mon cursus et d'achever  
ce modeste travail.

Je tien à remercier tout d'abord mes encadrants,  
Monsieur Sahnoune Mohamed et madame Iggui Kahina  
Pour leur confiance, leur patience, et surtout pour leurs remarques  
et leurs conseils,

Leur disponibilité et leur bienveillance.

Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde gratitude.

Je voudrai également remercier les membres du jury

Pour avoir accepté d'évaluer ce travail.

Mes vifs remerciements à tous mes enseignants, en signe d'un grand  
respect et d'un profond amour pour sont suivis  
durant mes cycles d'études.

Je tiens à remercier vivement tous ceux qui m'ont apportés un soutien  
pour l'élaboration de ce mémoire de fin d'étude,  
Particulièrement ma famille et mes amis.

Merci à vous tous



---

## **DEDICACES**

JE DEDIE CE MODESTE TRAVAIL

A MES ADORABLES PARENTS

A TOUTE MA FAMILLE

A TOUTES MES AMIES

A TOUS MES ENSEIGNANTS

A TOUS MES COLLEGUES D'ETUDES

A TOUT CEUX QUI M'AIMENT

**DJAMILA**



## Abréviations

---

### Abréviations

CEN : Comité Européen de Normalisation.

DBO : Demande biologique en oxygène

Dt% : le pourcentage de biodégradabilité.

Mw : Masse moléculaire moyenne en poids.

MEB : Microscopie électronique à balayage.

PCL : Poly(caprolactone).

PGA : Poly (acide glycolique).

PHAs : Polyhydroxyalcanoate

PHB : Poly(3-hydroxybutyrate).

PHBV ou P (3HB-co-3HV) :Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalérate).

PHH : le poly(3-hydroxyhexanoate)

PHP : le poly(3-hydroxypropionate)

PHV : Poly-HydroxyValerate

PHBHHx : Poly(3-hydroxybutyrate-co-hydroxyhexanoate).

PLA : Polylactide (ou acide polylactique)

### Liste des figures

Figure I. 1 : Production des bioplastiques.

Figure I. 2 : Classification des polymères biodégradables selon leur origine.

Figure I. 3 : Formule générale des polyhydroxyalcanoates (PHA).

Figure I.4 : Granulés de PHAs au sein d'une bactérie observée au microscope électronique à transmission.

Figure I. 5 : Les homopolymères PHB et PHV et leur copolymère.

Figure I. 6 : La biosynthèse de PHBV.

Figure I.7: Modèle schématique du processus de dégradation enzymatique des cristaux lamellaires de PHAs par la PHA dépolymérase.

Figure I. 8 : Déroulement du mécanisme de biodégradation.

Figure I. 9 : Mécanisme de bio-assimilation en surface d'un polymère dans des conditions aérobies adapté.

Figure II. 1 : Evolution de pourcentage de rétention de masse du PHB en fonction du temps.

Figure II. 2 : Evolution de pourcentage de rétention de masse du PHBV en fonction du temps.

Figure II. 3 : Les courbes de biodégradation des échantillons de PHB et PHBV.

Figure II. 4 : Variations de température de la boîte de compostage pendant la dégradation.

Figure II. 5 : La dépendance de la concentration en oxygène au temps de compostage.

Figure II. 6 : La dépendance de la concentration totale de CO<sub>2</sub> au temps de compostage.

Figure II. 7 : La dépendance de la valeur du pH au temps de compostage.

Figure II. 8 : Photos numériques des films de PHBV pendant le compostage.

Figure II. 9 : Images MEB d'un film PHBV à différents temps de dégradation. (a) 15 jours, (b) 20 jours, (c) 26 jours, (d) 32 jours, (e) 39 jours.

## Liste des figures

---

Figure II. 10 : Micrographies MEB de PHBV. (a) : échantillon non dégradé. (b) : échantillon dégradé par hydrolyse (eau stérile à 60 °C- pH 7). (c) : échantillon dégradé thermiquement (air à 60 °C). (d) : échantillon dans compost.

Figure II. 11 : (a) masse moléculaire moyen en poids et (b) : masse moléculaire moyen en nombre du PHBV dégradé dans de l'eau stérile, dans l'air et dans un compost de déchets de jardin.

Figure II. 12 : Evolution de la perte de masse des spécimens des granulés (A) et des films (B).

Figure II. 13 : Photos numériques des spécimens de PHAs (films (A) et granulés (B)) après différentes périodes (jours) d'exposition marine.

Figure II.14: Micrographies électroniques de films PHAs ; (A) échantillons initiaux et (B) échantillons après exposition en mer pendant 160 jours.

Figure II.15: Micrographies électroniques de pastilles de PHAs : (A) échantillons initiaux, (B) échantillons après une exposition marine pendant 160 jours.

Figure II.16: Cinétique de la biodégradation (A) et taux de biodégradation (B) des charges à base d'OP dans le sol.

Figure II.17 : Photos MEB de charge à base de grignons d'olive.

Figure II.18: Cinétique de la biodégradation (A) et taux de biodégradation (B) des OP/PHBV.

Figure II.19 : Images MEB de surfaces de biocomposites à base d'OP/PHBV.

## Liste des tableaux

---

### Liste des tableaux

Tableau I.1 : Propriétés spécifiques des biopolymères et les applications attendues

Tableau I.2: Normes ISO relatives au compostage.

Tableau I.3 : Normes EN relatives à la biodégradation et au compostage

Tableau I.4: Normes ASTM relatives au compostage et à la biodégradation.

Tableau. II.1 : Paramètres hydro chimiques de l'eau de mer dans la mer de Chine méridionale.

Tableau II.2 : Caractérisation comparative de la masse molaire en poids des spécimens de PHAs avant et après l'exposition

.

# **Sommaire**



---

<b>Introduction générale</b> .....	1
<b>Chapitre I : Généralités sur les biopolymères</b>	
I. Les biopolymères.....	3
I.1. Définition d'un polymère .....	3
I.2. Définition et production des biopolymères.....	3
I.3. Les matériaux polymères biodégradables.....	4
I.3.1. Classification des polymères biodégradable .....	5
I.3.2. Propriétés des polymères biodégradables .....	6
I.3.3. Applications des polymères biodégradables.....	8
I.4. Les polyhydroxyalcanoates (PHAs) .....	9
I.4.1. Structure chimique des PHAs.....	9
I.4.2. Synthèse des PHAs.....	10
I.4.3. Propriétés des PHAs.....	11
I.4.4. Applications des PHAs.....	11
I.5. Le poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalérate) (PHBV).....	12
I.5.1. Structure chimique du PHBV.....	12
I.5.2. La biosynthèse du PHBV.....	12
I.5.3. Propriétés et applications du PHBV.....	13
II. La dégradation des biopolymères.....	14
II.1. Définition de la dégradation.....	14
II.2. Mécanisme de dégradation.....	14
II.2.1. L'hydrolyse .....	14
II.2.2. Oxydation.....	16
II.3. Etude de la biodégradation des polymères.....	17
II.3.1. Définition de la biodégradation.....	17
II.3.2. Le mécanisme de biodégradation.....	17
II.4. Facteurs influençant la biodégradation.....	18
II.4.1. Les paramètres physico-chimiques du milieu de dégradation.....	18
II.4.2. Les paramètres microbiologiques du milieu de dégradation .....	19
II.4.3. La structure et les propriétés des polymères constituant le matériau.....	20
II.4.4. Le procédé de fabrication du matériau.....	20
II.5. Méthodes d'évaluation de la biodégradation.....	20
II.5.1- Mesure de la biodégradation par méthodes respirométriques.....	21
II.5.2- Compostage.....	22

II.6. Normes internationales d'évaluation de la biodégradation.....	22
<b>Chapitre II : Synthèse bibliographique</b>	
II.1. Effet de température sur la biodégradation du PHBV.....	25
II.1.1. Préparation des échantillons.....	25
II.1.2. Procédure de dégradation.....	25
II.1.3. Résultats obtenus.....	25
II.1.4. Discussion de résultats.....	27
II.1.5. Conclusion.....	28
II. 2. Effet de milieu sur la biodégradation de PHBV.....	28
II.2. 1. Étude de biodégradation de PHBV par compostage à l'échelle pilote.....	28
II.2.1. 1. Préparation des échantillons PHBV (3 mol% HV).....	29
II.2.1.2. Procédure de dégradation par compostage.....	29
II.2.1.3. Résultats obtenus.....	29
II.2.1.4. Conclusion.....	34
II.2.2. Effet des facteurs abiotiques sur la dégradation de PHBV .....	34
II.2.2.1. Préparation des échantillons.....	34
II.2.2.2. Procédures de dégradations.....	34
II.2.2. 3. Résultats obtenus .....	35
II.2.2.4. Conclusion.....	37
II.2.3. Étude de la dégradation du PHBV dans un milieu marin.....	37
II.2.3.1. Préparation des échantillons.....	37
II.2.3.2. Procédure de dégradation et dispositif d'échantillonnage.....	37
II.2.3.3. Résultats obtenus.....	37
II.2.3.4. Conclusion.....	42
II.3. Effet d'ajout de charge sur la biodégradation du PHB.....	43
II.3.1. Préparation des échantillons.....	43
II.3.2. Tests de biodégradation.....	43
II.3.3. Résultats obtenus.....	44
II.3. 4. Conclusion.....	47
<b>Conclusion générale.....</b>	<b>48</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>49</b>

# **Introduction générale**

### Introduction générale

Le développement des matières plastiques d'origine synthétique et leurs exploitations intensives pour des usages courants, se sont traduits par l'accumulation dans l'environnement de déchets non biodégradables à durée de vie très longue. Ces plastiques représentent une véritable source de nuisance visuelle, d'encombrement des décharges et de pollution des sols et des milieux maritimes.

Plusieurs solutions ont alors été mises en place pour réduire leur impact sur l'environnement [1]. En effet, ces dernières années, la fabrication de polymères à partir de ressources renouvelables s'est avérée être une solution prometteuse et un nouvel enjeu économique, celui-ci est lié à la prise de conscience de la part des scientifiques et des industries vis-à-vis de l'impact des matériaux plastiques qui connaissent un réel essor [2]. C'est pourquoi les recherches sur les polymères biodégradables produits à partir de ressources renouvelables constituent aujourd'hui un enjeu majeur. Dans ce domaine, les polyhydroxyalcanoates (PHAs) apparaissent comme des candidats prometteurs pour offrir une alternative aux polymères issus de la pétrochimie [3].

Les polyhydroxyalcanoates (PHAs) sont des polyesters linéaires produits dans la nature par fermentation bactérienne de sucres ou lipides. Ils sont produits par les bactéries pour stocker du carbone et de l'énergie, Les PHAs les plus communs sont le poly(3-hydroxypropionate) connu aussi sous l'abréviation PHP, le poly(3-hydroxybutyrate) connu aussi sous l'abréviation PHB, le poly(3-hydroxyvalérate) connu aussi sous l'abréviation PHV et le poly(3-hydroxyhexanoate) connu aussi sous l'abréviation PHH. Ces polyesters apparaissent prometteurs pour trois raisons, ils sont synthétisés par des bactéries à partir de ressources renouvelables, ils peuvent être utilisés pour la fabrication d'emballages et ils sont totalement biodégradables. Les PHAs ont comme avantages d'être biodégradables /compostables, biocompatibles et semi cristallins [4]. Dans cette famille, le poly (hydroxybutyrate-co-hydroxyvalérate) (PHBV) a attiré l'attention des universités et de l'industrie en raison de son origine naturelle et ses propriétés proches des thermoplastiques conventionnels [5].

L'objectif principal de notre travail consiste à étudier l'effet de certains facteurs environnementaux sur la biodégradabilité du PHBV en se basant sur des recherches scientifiques et des études effectuées. Ainsi ce manuscrit est divisé en deux chapitres :

## **Introduction générale**

---

Le premier chapitre est consacré à une étude bibliographique qui décrit les connaissances essentielles dans le domaine des biopolymères. Il rassemble des généralités sur les biopolymères, les polyhydroxyalcanoates (PHAs), les mécanismes de dégradation, de biodégradations et l'accent est mis sur le règlement des processus de dégradation des biopolymères (normes relatives à la biodégradation et compostage).

Le second chapitre est sous forme d'une synthèse bibliographique d'articles scientifiques ayant trait à quelques facteurs importants affectant la biodégradation du PHBV et à savoir : la température, le milieu de dégradation et la présence de nanocharges dans la matrice.

# **Chapitre I**

## **Généralités sur les biopolymères**

## I. Les biopolymères

### I.1. Définition d'un polymère

On appelle polymère une macromolécule constituée d'unités fondamentales appelées monomères (ou motifs monomères) reliées par des liaisons covalentes. Contrairement au polymère, un monomère est un composé constitué de molécules simples, de faible masse moléculaire.

La polymérisation est la réaction qui conduit au polymère par enchainement de motifs monomères. Il existe deux types de polymère :

- Un homopolymère ; qui comporte des motifs monomères tous identiques.
- Un copolymère : qui comporte deux ou plus de motifs monomères de natures différentes.

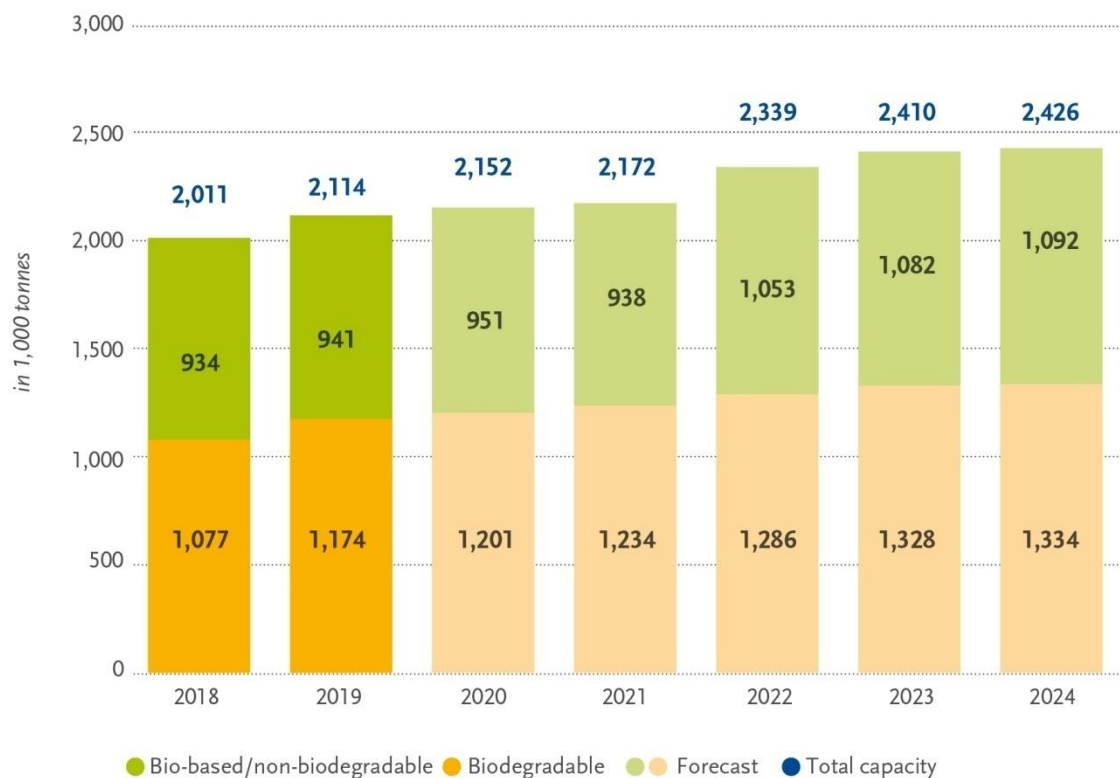
Les polymères peuvent être d'origine naturelle (animale ou végétale) ou d'origine synthétique. Les macromolécules naturelles sont les caoutchoucs, les polysaccharides, le glycogène, l'ADN, les protéines... Les macromolécules synthétiques sont représentées par exemple par le polyéthylène, le polypropylène, le polystyrène, les polyesters, les polycarbonates etc. [6].

### I.2. Définition et production des biopolymères

Les biopolymères sont issus exclusivement d'organismes vivants ou de polymères synthétisés à partir de ressources renouvelables. Ces polymères connaissent depuis quelques années un réel essor du fait de leurs origines biologiques et surtout de leur caractère biodégradable. Leurs utilisations en substitution ou même en mélange à d'autres polymères synthétisés à partir d'hydrocarbures offrent donc des applications intéressantes. Les biopolymères rassemblent les polymères biosourcés, biodégradables et biocompatibles.

En effet, dans un monde où les matériaux recyclables ou biodégradables prennent peu à peu plus de place, les biopolymères sont de plus en plus valorisés [2]. Le marché mondial des biopolymères est en croissance, même si la production de ces matériaux ne représente que 0,10 % du total des plastiques produits dans le monde. Leur production annuelle devrait passer d'environ 2 millions de tonnes en 2017 à environ 2,4 millions de tonnes en 2022 (Figure I.1).

*Global production capacities of bioplastics*



Source: European Bioplastics, nova-Institute (2019)  
 More information: [www.european-bioplastics.org/market](http://www.european-bioplastics.org/market) and [www.bio-based.eu/markets](http://www.bio-based.eu/markets)

**Figure I.1** : Production des bioplastiques [7].

**I.3. Les matériaux polymères biodégradables**

Les matériaux biodégradables sont des matériaux qui sont aptes à subir un processus de décomposition sous forme de dioxyde de carbone, de méthane, d'eau, de composés non organiques ou de biomasse, le tout sous l'action enzymatique des micro-organismes. La biodégradabilité d'un matériau se définit, alors, comme la capacité intrinsèque du matériau à être dégradé par une attaque microbienne, pour simplifier progressivement sa structure et finalement se convertir en CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O et/ou CH<sub>4</sub> et une nouvelle biomasse. Différentes sources de polymères peuvent être utilisées pour produire de tels matériaux. Ainsi, selon l'origine des matières premières et des voies de synthèse, on distingue deux possibilités de production des matériaux biodégradables : la voie des polymères biodégradables issus de l'industrie pétrochimique et celle des polymères biodégradables issus de ressources renouvelables. [8].



### I.3.1. Classification des polymères biodégradable

Les polymères biodégradables peuvent être classés en quatre grands groupes (Fig. I.2).

#### a. Polymères biodégradables issus de la pétrochimie

Ces polymères peuvent être divisés en quatre sous-groupes :

- Les polyesters aliphatiques, comme l'acide polyglycolique, le polybutylène succinate et le polycaprolactone.
- Les polyesters aromatiques ou mélanges de polyesters aliphatiques et aromatiques, tel que le butylène succinate téréphtalate.
- Les alcools polyvinyliques.
- Les polyoléfines (comme le polyéthylène ou le polypropylène) modifiés avec des agents spécifiques sensibles à la température ou à la lumière [9].

#### b. Polymères biodégradables issus d'agro-ressources

Ce sont des matériaux synthétisés par les êtres vivants : végétaux, animaux et micro-organismes. La famille la plus importante est celle des polysaccharides comme l'amidon dont les sources principales sont le maïs, le blé et la pomme de terre, la cellulose (papier), la lignine (bois) ou le chitosane (chitine des crustacées). Une autre famille est constituée par les protéines qui sont issus des plantes oléagineuses (colza, tournesol, soja), des protéagineux (pois, féveroles), du son des céréales (gluten du blé) ou de tissus animaux (collagène, gélatine) ou de produits animaux (caséine). Enfin, on pourrait citer les élastomères hydrocarbonés produits par les plantes (caoutchouc naturel).

#### c. Polymères biodégradables issus d'origine bactérienne

Ces polymères sont issus de la fermentation par des bactéries (biotechnologie). Il s'agit de la fabrication « in situ » de polymère qui s'accumule dans le cytoplasme de certaines bactéries placées en condition de fermentation. Les matières premières fermentescibles sont principalement les sucres et l'amidon. Parmi ces polymères, les plus connus sont le PHB, le PHV et le PHBV. Certains les appellent semi-biosynthétiques. La synthèse de ces polymères peut également être réalisée dans la plante grâce à une modification génétique. On les appelle alors les biosynthétiques.

**d. Polymères biodégradable issus de biotechnologie**

Obtenus également par la voie fermentaire, on les appelle polymères synthétiques ou chimio synthétiques en raison de leur mode de fabrication. En effet, celui-ci consiste en une polycondensation de monomères naturels ou identiques aux naturels. Le plus connu est le PLA (Poly Acide Lactique) provenant de la polymérisation de molécules d'acide lactique [8].

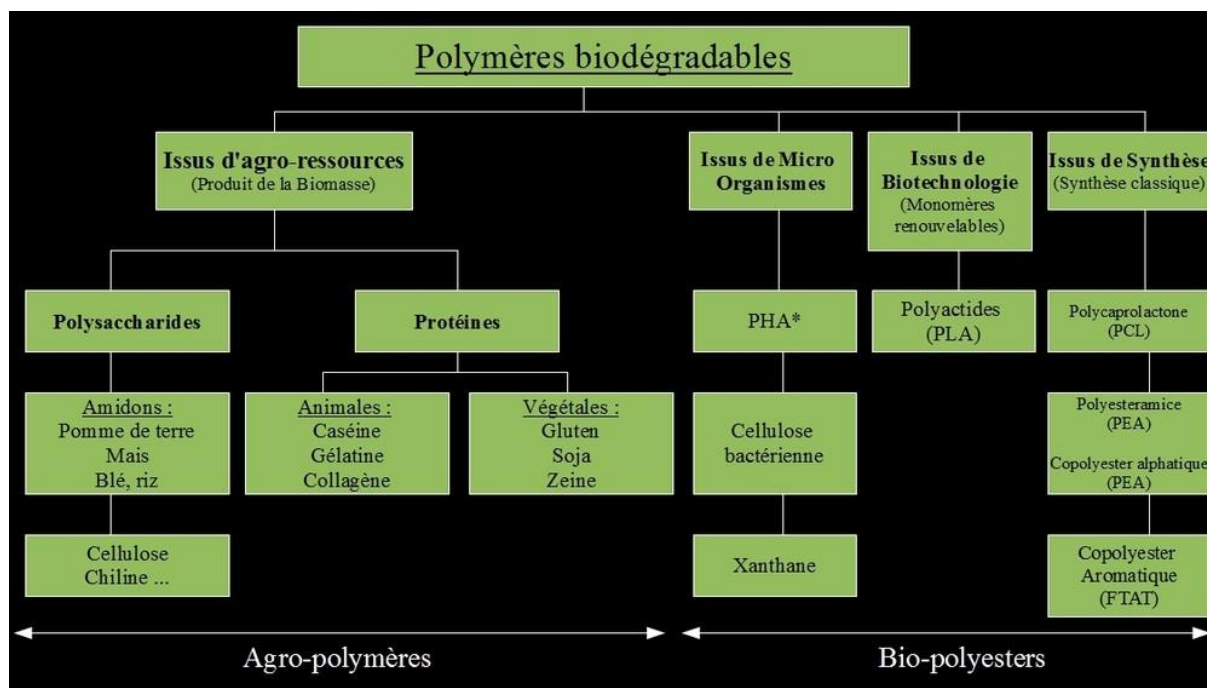


Figure. I.2 : Classification des polymères biodégradables selon leur origine. [10].

**I.3.2. Propriétés des polymères biodégradables**

Les polymères biodégradables présentent des propriétés particulières et intéressantes pour des applications bien spécifiques dans l'industrie des matières plastiques, on peut citer [11] :

- **Biodégradabilité**

Un matériau est dit biodégradable s'il est dégradé par des microorganismes (bactéries, champignons), le résultat étant la formation d'eau, de CO<sub>2</sub> et de CH<sub>4</sub> et, éventuellement, d'une nouvelle biomasse non toxique pour l'homme et pour l'environnement [12]. La biodégradabilité est un des paramètres les plus importants pour caractériser l'impact d'un produit organique sur l'environnement. Elle est liée à la vitesse de disparition du produit en milieu biologique naturel [11]. La biodégradabilité de la plupart des polymères biodégradables est due à la présence de liaisons facilement clivables comme les liaisons esters ou amides

conduisant à la formation de molécules simples et de fragments de plus petite taille. Ces derniers sont assimilables par les microorganismes pour leur biosynthèse [13].

- **Compostabilité**

Le compostage est une mise en œuvre contrôlée et optimisée du processus naturel de biodégradation. Aussi, un matériau biodégradable est par définition, toujours compostable. La solution de la compostabilité offre l'avantage de mieux contrôler le processus, en intervenant sur la quantité d'air, le pourcentage d'humidité et la température. L'optimisation du système permet de réduire la durée de compostage de 6 mois à seulement 45 jours. Ainsi, selon la norme ASTM D6400, un matériau compostable doit être susceptible de subir une décomposition biologique aboutissant à la formation d'un compost [14].

- **Biocompatibilité et biorésorbabilité**

Un matériau biocompatible est un matériau qui est capable d'assurer une fonction avec une réponse appropriée et sans effets indésirables sur l'environnement biologique dans lequel il est appelé à fonctionner. La réponse biologique d'un matériau dépend de 3 facteurs : ses propriétés, la caractéristique de l'hôte et la demande fonctionnelle pour le matériau [15]. En plus de la biocompatibilité, on recherche également pour des applications médicales spécifiques des matériaux biorésorbables pouvant se décomposer tout naturellement dans l'organisme humain pour être remplacés par un tissu vivant. Les polymères biodégradables sont dégradés naturellement dans l'organisme humain par hydrolyse (enzymatique) et libèrent des molécules assimilables et non toxiques [16].

- **Perméabilité à la vapeur d'eau**

La plupart des polymères biodégradables comme l'amidon, la cellulose et les protéines sont hydrophiles, ce qui leur confère des propriétés de perméabilité à la vapeur d'eau. Ces propriétés sont dues notamment à la présence de fonctions polaires hydroxyle et/ou amine qui ont une forte réactivité avec l'eau par formation de ponts hydrogènes [17] ; ce qui leur confère aussi une propriété antistatique. La perméabilité à la vapeur d'eau pourrait être un inconvénient dans certaines applications, notamment pour les emballages alimentaires. Par exemple, les viennoiseries ne peuvent pas se trouver dans un endroit trop humide pour conserver leur fraîcheur. Par contre, pour certains types d'emballage, elle est avantageuse. En effet, en évitant les condensations, la durée de conservation des produits frais est allongée. Cette propriété

trouve également une application dans les emballages des produits humides leur laissant la possibilité de continuer de sécher pendant les étapes de stockage et de transport.

- **Propriétés chimiques**

La présence de fonctions chimiques sur les molécules leur attribue des propriétés particulières et des facilités à réagir avec d'autres molécules. Leur réactivité est due à la présence des fonctions alcool, acide, amine ou aldéhyde qui réagissent facilement grâce à leur site nucléophile et électrophile [18]. La présence de certaines insaturations et des groupements hydroxyles sur les chaînes alkyles des triglycérides permet leur fonctionnalisation et conduit à la formation de polyuréthanes, polyamides ou polyesters.

Une autre particularité des polymères biodégradables est l'existence de stéréo-isomères due à la présence de carbone asymétrique sur certains bio-monomères comme l'acide lactique. Cette propriété influence les propriétés physiques des polymères. Dès lors, on peut modifier les propriétés physiques et mécaniques des polymères ainsi que leurs applications [19].

### **I.3.3. Applications des polymères biodégradables**

En conséquence des propriétés citées, plusieurs domaines et industries font appel aux polymères biodégradables. Les grands axes d'applications concernent l'emballage, la médecine et l'agriculture.

- ❖ **Applications dans l'emballage**

L'utilisation continue des plastiques traditionnels dans le domaine de l'emballage conduit à un problème de gestion et d'élimination des déchets ce qui permet aux matériaux biopolymères, du fait de leur biodégradabilité, de s'accaparer d'une grande part dans ce secteur toujours en expansion. On les retrouve, de part, leur biodégradabilité et effet barrière dans l'emballage alimentaire, industriel et dans l'encapsulation médicale. Leur transparence et leur résistance aux sollicitations mécaniques consolident aussi l'utilisation des matériaux biopolymères dans des secteurs spécifiques.

- ❖ **Applications médicales**

L'utilisation des biomatériaux dans ce secteur nécessite une très bonne maîtrise de la technologie thérapeutique. Ainsi le choix de l'utilisation d'un matériau biocompatible dans un corps vivant doit être accompagné d'une connaissance approfondie de la relation contrôlée entre les propriétés mécaniques et le temps de dégradation [20]. On peut trouver ces biopolymères

dans les fils de sutures chirurgicales, le greffage vasculaire, les peaux artificielles et comme système de libération contrôlée de médicaments [21].

#### ❖ Applications agricoles

Dans le domaine de l'agriculture, il est important de connaître les enjeux économiques et environnementaux. Les biopolymères utilisés doivent remplir quelques critères, tels que la biodégradation et la durée de vie. [22]. Les films plastiques sont utilisés par les cultivateurs pour favoriser la croissance des plantes et quand ils se photo-dégradent dans les champs, cela évite le coût du ramassage. Ces films servent à conserver l'humidité, réduire les mauvaises herbes, augmenter la température du sol. Le but est d'améliorer la croissance des plantes [2].

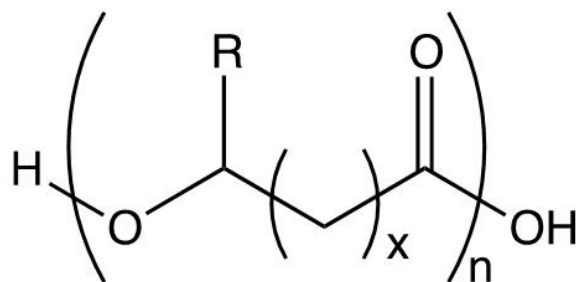
**Tableau I.1** : Propriétés spécifiques des biopolymères et les applications attendues. [2]

Biopolymères	Propriétés particulières	Applications ciblées
Polymères à base d'amidon	Antistatiques, anti condensation, toucher naturel	Emballages et sacs
Polymères à base de cellulose	Transparences, antistatiques	Emballages
Polymères de synthèse à base d'acide lactique	Anticondensations, brillances, antibactériens	Emballages, textiles
Polyesters bactériens (Polyhydroxyalcanoates)	Propriétés piézoélectriques, antioxydants, insolubilité dans l'eau	Médical, matériau ostéosynthétique, emballage rigide

## I.4. Les polyhydroxyalcanoates (PHAs)

### I.4.1. Structure chimique des PHAs

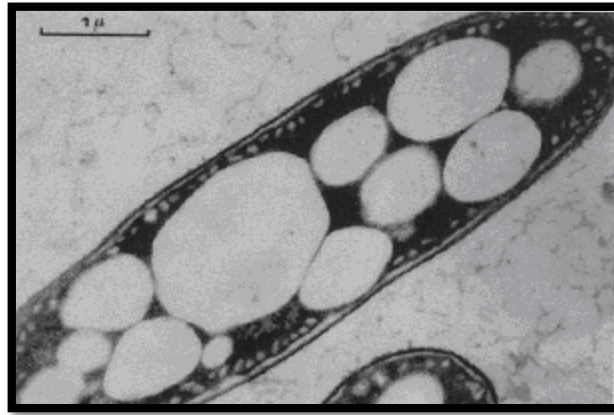
Les polyhydroxyalcanoates ou PHAs sont des polyesters linéaires d'hydroxyalcanoates (HA) [3]. Les polyhydroxyalcanoates, dont la formule générale est présentée sur la figure (I.3), sont des polyesters naturels produits par certaines bactéries. Selon le type de bactérie et en fonction des conditions de culture, il est possible d'obtenir toute une gamme de PHAs aux propriétés différentes. Selon la nature de la chaîne carbonée latérale R et le nombre (x) de carbones du motif de répétition constituant la chaîne principale, il sera possible de jouer sur leur souplesse, leur extensibilité ou encore leur cristallinité. Les plus communs des PHAs sont le polyhydroxybutyrate (PHB) et le poly(hydroxybutyrate-co-valérate) (PHBV) [23].



**Figure I.3:** Formule générale des polyhydroxyalcanoates (PHAs) [23].

#### I.4.2. Synthèse des PHAs

Les PHAs (polyhydroxyalcanoates) sont des biopolymères accumulés au sein des cellules bactériennes sous forme de granules. Cette accumulation intervient lorsqu'un nutriment (source d'azote, de phosphate, oligo-éléments...) nécessaire à leur croissance devient limitant, cela en présence d'un excès de substrat carboné. Pour les microorganismes concernés, on peut aussi parler d'un déséquilibre nutritionnel favorisant la synthèse de ces molécules de réserve. « De réserve », car l'objectif pour la bactérie est bien de se constituer une réserve énergétique et nutritionnelle pour faire face à une situation prolongée défavorable à sa croissance. Cette synthèse est le fait de nombreuses bactéries (Gram positif et Gram négatif), de quelques cyanobactéries, mais aussi de rares cellules eucaryotiques. Près de 300 microorganismes ont été identifiés comme capables de synthétiser ces biopolymères. Mais à ce jour, seulement quelques-uns ont le potentiel d'un développement industriel [7]. Jusqu'à présent, les bactéries constituent l'unique source de ces polyesters mais, dans le futur, le développement de plantes transgéniques devrait permettre leur utilisation pour la production des PHAs. [24]. Le poly (3-hydroxybutyrate) (PHB) constitue une réserve de carbone dans bon nombre de bactéries et a attiré l'attention en tant que polyester thermoplastique biodégradable. Ce polyester fut commercialisé au début des années 1980. Cependant, ses performances mécaniques restreintes et les difficultés de mise en œuvre à l'état fondu ont limité son développement à une plus grande échelle. Ces polymères sont obtenus par voie métabolique, voie qui fait intervenir des enzymes spécifiques à chaque étape de biosynthèse [3]. Afin d'accroître leurs propriétés et permettre leur utilisation en remplacement des plastiques conventionnels, de nombreux copolymères ont également vu le jour tel que le PHBV [24].



**Figure I.4 :** Granulés de PHAs au sein d'une bactérie observée au microscope électronique à transmission [5].

### I.4.3. Propriétés des PHAs

Les PHAs sont des polymères thermoplastiques. Leurs propriétés diffèrent en fonction de leur composition chimique. Certaines des caractéristiques générales de PHAs sont résumées comme suit [4] :

- Insolubles dans l'eau et relativement résistants à la dégradation hydrolytique en conditions neutres.
- Bonne résistance aux UV mais faible résistance aux acides et aux bases.
- Soluble dans le chloroforme et autres hydrocarbures chlorés.
- Biocompatibles et de là convenable pour des applications médicales. Plus denses que l'eau, facilitant leur biodégradation anaérobie dans les sédiments.
- Non toxiques.

### I.4.4. Applications des PHAs

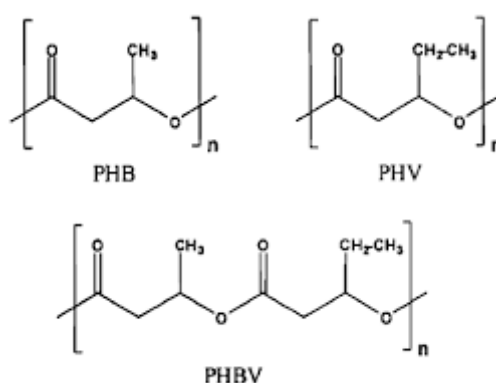
Les PHAs ont un intérêt industriel important pour des applications variées du fait de leurs propriétés de biodégradabilité et/ou de biocompatibilité. Les applications potentielles des polyhydroxyalcanoates sont nombreuses et couvrent de nombreux domaines : emballage, médecine, agriculture, nanocomposites, mélanges de polymères et synthèse chirale. De très nombreuses études académiques ont été menées sur la production des PHAs et leurs applications. La plupart d'entre elles sont basées sur la recherche de sources de carbone bon marché pour réduire le coût de production des PHAs et sur l'augmentation de la productivité par l'ingénierie génétique. Cependant, la majorité de toutes ces connaissances n'est à l'heure actuelle pas utilisée pour amener des produits sur le marché. En effet, seulement quelques PHAs

ont pu être produits en grandes quantités à l'échelle industrielle. Il s'agit principalement du PHB, du PHBV et du PHBHH x [25].

## I.5. Le poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalérate) (PHBV)

### I.5.1. Structure chimique du PHBV

Le PHBV peut être produit par fermentation bactérienne de bioproduits tels que le glucose contenant de l'acide propionique ou valérique, suivie d'une étape d'extraction et de purification du polymère. La figure (I.5) illustre les homopolymères, PHB, PHV et leur copolymère PHBV [26].



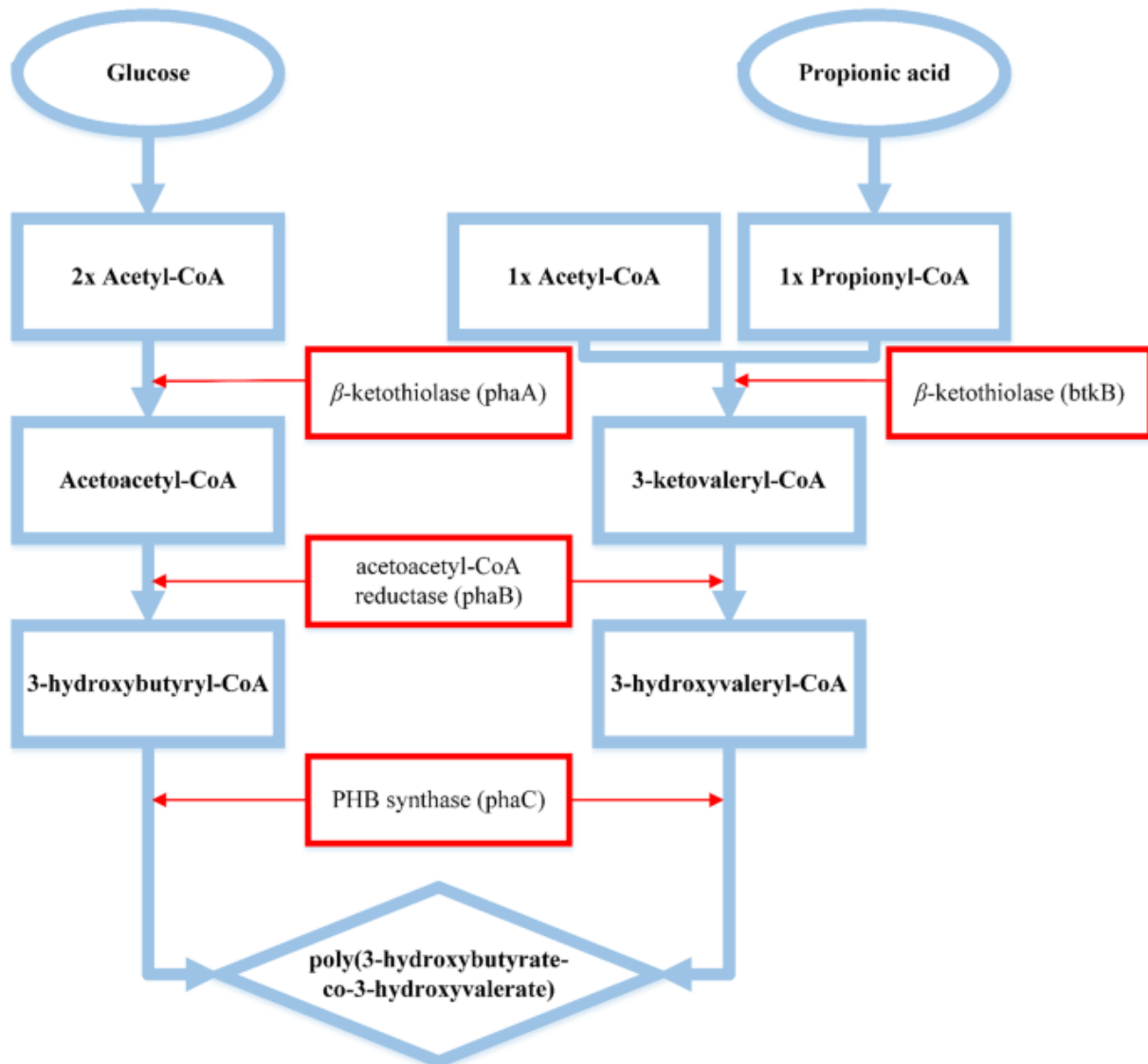
**Figure I.5** : Les homopolymères PHB et PHV et leur copolymère [26].

### I.5.2. La biosynthèse du PHBV

La biosynthèse des PHAs est un ensemble complexe de réactions impliquant différentes enzymes [27]. Des bactéries comme *Alcaligenes eutrophus*, *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas oleovorans*, etc., possèdent des gènes codant les enzymes responsables de la synthèse : la bêta-cétothiolase, l'acétoacétyl CoA réductase et la polyhydroxyalcanoate synthase (PHAsynthase).

La biosynthèse du poly-3-hydroxybutyrate (PHB) et du poly-3-hydroxybutyrate-3 hydroxyvalérate (PHBV), proposée par Doi, 1990 et Steinbüchel, 1991, débute avec la condensation de deux molécules de l'acétylcoenzyme A (acétyl-CoA) avec l'acétoacétyl-CoA en présence de l'enzyme 3 cétothiolase (3-ketothiolase). Ceci est suivi de l'action de la réductase de l'acétoacétyl-CoA qui réduit l'acétoacétyl-CoA à R (-)-3-hydroxybutyryl-CoA. La PHA-synthase polymérise alors le R (-) - 3-hydroxybutyryl-CoA pour former le PHB et/ou le R(-)- 3-hydroxyvaleryl CoA pour obtenir le copolymère, noté PHBV ou P(3HB-co3HV)[3].





**Figure I.6 :** La biosynthèse de PHBV [27].

### I.5.3. Propriétés et applications du PHBV

Le PHBV, fait l'objet d'un grand intérêt de la part des chercheurs et des industriels pour plusieurs raisons dont notamment son origine naturelle, sa biodégradabilité, sa biocompatibilité et sa thermoplasticité. Ces diverses propriétés rendent ce biomatériau prometteur pour les industriels mais son coût onéreux reste un inconvénient majeur [26].

Les propriétés du PHBV dépendent du rapport massique de ces deux monomères. L'acide 3-hydroxybutyrate fournit la rigidité tandis l'acide 3-hydroxypentanoïque favorise la souplesse. L'augmentation du rapport entre l'acide 3-hydroxybutanoïque et d'acide 3-hydroxypentanoïque engendre une augmentation de la température de fusion, la température de transition vitreuse ( $T_g$ ), la perméabilité à l'eau et la résistance à la traction. Cependant, la résistance aux chocs est réduite [28]. Les PHBV sont reconnus pour n'être que très peu ou pas

sensibles aux facteurs abiotiques du milieu de dégradation dans lequel ils sont placés. De plus les micro-organismes qui les produisent possèdent naturellement le pack enzymatique nécessaire pour les dégrader et les utiliser comme sources de carbone [29]. Les applications industrielles du PHBV sont très diversifiées mettant en valeur la polyvalence du matériau, telles que : emballages alimentaires (sacs de stockage, sacs à provisions, etc.), films, carton enduit, bouteilles d'eau, etc. Il suscite beaucoup d'attention dans le domaine biomédical car il possède la propriété de biocompatibilité qui lui permet d'être introduit dans le corps humain sans causer de phénomène de rejet [26].

## II. La dégradation des biopolymères

### II.1. Définition de la dégradation

Selon le Comité Européen de Normalisation (CEN), les notions de « dégradation » et de « matériau dégradable » sont décrites comme suit : « La dégradation est un processus irréversible entraînant un changement significatif dans la structure du matériau, ce changement est classiquement caractérisé par un changement de la structure chimique et la structure moléculaire et aussi par une perte des propriétés initiales (thermiques et mécaniques) et/ou une fragmentation. La dégradation est affectée par les paramètres environnementaux et se déroule en une ou plusieurs étapes. Le terme dégradation rassemble donc les phénomènes biotiques et abiotiques que le matériau subit lorsqu'il est placé dans un milieu particulier pour être traité en fin de vie, sans distinction d'origine. « Un matériau est considéré comme dégradable dans certaines conditions s'il subit une dégradation quelconque déterminée dans un temps donné et selon une méthode de mesure standardisée adaptée » [30].

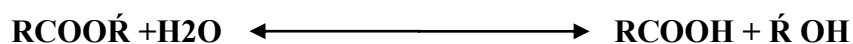
### II.2. Mécanisme de dégradation

Les deux principaux mécanismes mis en jeu lors de la dégradation d'un matériau sont l'oxydation et l'hydrolyse qui peuvent être d'origine chimique ou biologique.

#### II.2.1. L'hydrolyse

##### a-Hydrolyse chimique

L'hydrolyse chimique se caractérise par une dégradation du polymère en milieu aqueux (liquide ou gazeux). L'hydrolyse de manière générale est caractérisée par l'équation bilan suivante :



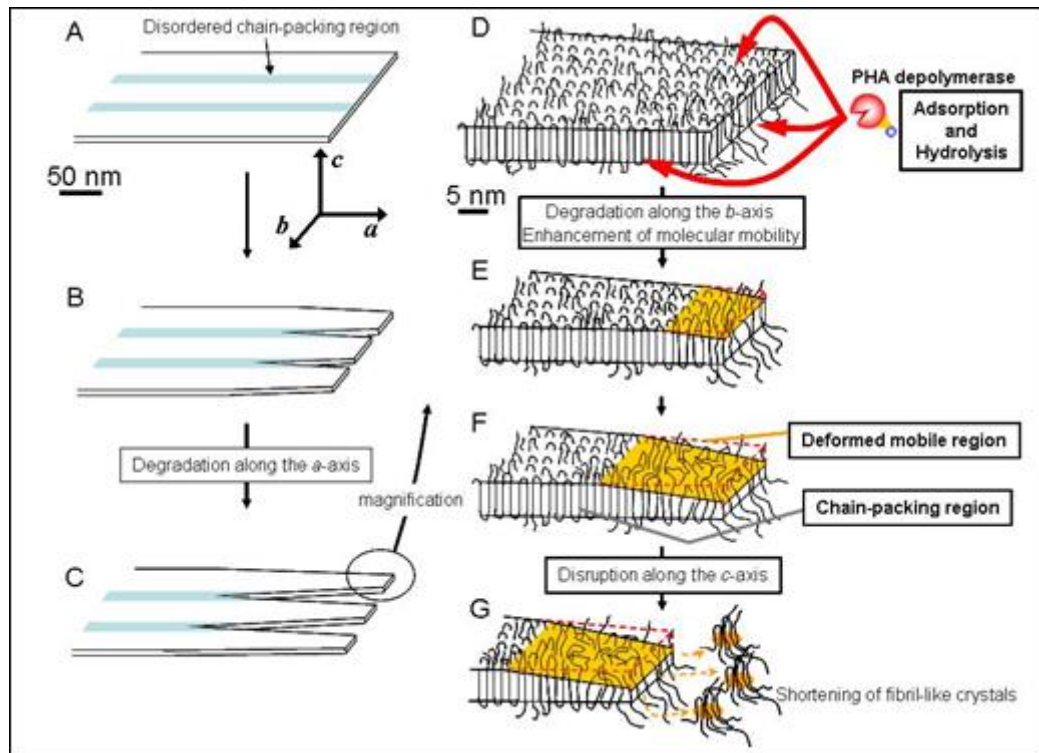
L'hydrolyse des polyesters aliphatiques notamment les PHAs se traduit par des coupures de chaînes, d'où une diminution de la masse molaire [31]. En effet l'action de l'eau sur le polyester en milieu basique va entraîner des scissions aléatoires au niveau de la fonction ester de la chaîne hydrocarbonée, en produisant des groupements carboxyliques qui eux-mêmes agiront comme catalyseurs de la réaction. Ce phénomène dénommé autocatalyse a été mis en évidence par Li *et al.* [32]. L'hydrolyse acide se fera préférentiellement en fin de chaîne. L'hydrolyse libre des oligomères de plus petites tailles qui peuvent catalyser l'hydrolyse et migrer dans le milieu extérieur où ils pourront à leur tour être dégradés par les microorganismes [33].

### **b-Hydrolyse biologique**

Contrairement à l'hydrolyse chimique, l'hydrolyse biologique est catalysée par des enzymes. En fonction du type de liaison à hydrolyser un nombre important d'enzymes est utilisé. En général, ceux sont les dépolymérasés (hydrolases par exemple) qui provoquent l'hydrolyse des liaisons esters [34].

Il existe de très nombreux micro-organismes produisant les enzymes susceptibles d'hydrolyser des polyesters dans le sol, le compost ou d'autres milieux aquatiques. Certains micro-organismes produisent naturellement les enzymes hydrolysant le Poly ( $\beta$ -hydroxyalcanoates). L'hydrolyse enzymatique peut se dérouler de deux manières différentes.

Dans le premier cas des endo-enzymes provoquent les ruptures aléatoires des liaisons esters de la chaîne carbonée du polyester libérant ainsi des polymères de masse molaire plus faible. Le deuxième cas correspond à l'action des exo-enzymes qui hydrolysent spécifiquement les liaisons esters situées en bout de chaîne, libérant des monomères. La masse molaire moyenne du polymère n'en est que très peu affectée alors que l'on peut observer une perte de masse globale. Ces premières ruptures de chaînes sont réalisées par des enzymes extracellulaires car les longues chaînes carbonées de polyesters ne sont pas solubles et trop importantes pour pénétrer dans la cellule. Ce ne sont que les sous-produits d'hydrolyse (enzymatique ou chimique) de tailles plus réduites et solubles qui sont incorporés dans la cellule pour être minéralisés sous forme de CO<sub>2</sub> (ou de méthane en absence d'oxygène) ou incorporés dans la nouvelle biomasse [33]. La figure (I.7) illustre le modèle.



**Figure I.7 :** Modèle schématique du processus de dégradation enzymatique des cristaux lamellaires de PHAs par la PHA dépolymérase [35].

## II.2.2. Oxydation

### a-Oxydation chimique

Généralement la photooxydation et la thermooxydation sont les plus étudiées dans le cas des polymères. La photooxydation est généralement provoquée par le rayonnement UV en présence d'oxygène (qui produit des radicaux) subi par le matériau lors d'une exposition plus ou moins prolongée à la lumière du soleil [33]. Par contre la thermooxydation est provoquée par l'effet combiné de la température et de l'oxygène. En photooxydation, par exemple, le PLA subit un processus de dégradation par coupures de chaînes qui consiste à l'arrachement d'un atome d'hydrogène du carbone tertiaire en position  $\alpha$  de la fonction ester de la chaîne principale du PLA. Cette réaction est initiée par l'absorption de la lumière par les groupements chromophores présents dans la structure, conduisant à la formation de macroradicaux. Ces derniers réagissent avec l'oxygène pour former un radical peroxyde. Ce radical étant très réactif, arrache un atome d'hydrogène labile pour générer un hydroperoxyde, propageant ainsi les réactions d'oxydation. Les hydroperoxydes formés sont instables et subissent une décomposition induisant la formation d'un alkoxyde et d'un hydroxyle.

## b- Oxydation biologique

L'oxydation biologique est catalysée par des enzymes appelées oxydoréductases. Cette oxydation permet également à ces enzymes de dégrader la matière. Elle est possible en condition aérobie qui assure un accès au système à l'oxygène de l'air [34]. L'oxygène a un rôle particulier dans le métabolisme des organismes aérobies. Dans de nombreux cas, l'oxygène est directement inséré dans le substrat sous l'action des enzymes hydroxylases (monooxégénases) qui catalysent l'insertion d'un seul atome d'oxygène dans le substrat. Les oxygénases (dioxygénases) catalysent l'introduction d'une molécule entière d'oxygène dans le substrat. Un autre type d'oxydation biologique existe, à savoir, le processus où l'oxygène n'est pas inséré dans le substrat mais il fonctionne comme un atome d'hydrogène accepteur, c'est à dire des électrons accepteurs. Les enzymes de ce type d'oxydation sont appelés les oxydases.

### II.3. Etude de la biodégradation des polymères

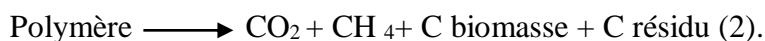
#### II.3.1. Définition de la biodégradation

D'une manière plus spécifique, le CEN aborde également la notion de « biodégradation » et la définit comme étant « un type de dégradation engendrée par une activité biologique, particulièrement des attaques enzymatiques, entraînant un changement significatif dans la structure chimique du matériau » [30]. Par conséquent, le processus de biodégradation peut s'effectuer en conditions aérobie et anaérobie. Les produits finaux sont le CO<sub>2</sub>, une nouvelle biomasse et de l'eau (en aérobie) ou du méthane (en anaérobie) [36].

- biodégradation aérobie.



- Biodégradation anaérobie



#### II.3.2. Le mécanisme de biodégradation

Le mécanisme se déroule en plusieurs étapes (figure I.8) : tout d'abord, on assiste à la détérioration physico-chimique ou fragmentation du polymère biodégradable, provoquée par des agents extérieurs (broyage, irradiations UV ou thermique) et provoquée par des micro-organismes (bactéries, champignons, etc.). Ensuite, le matériau est digéré par les micro-organismes et les enzymes : c'est la bioassimilation. Le matériau est transformé en métabolites et assimilé dans les cellules.

Pour finir, une étape de minéralisation des cellules conduit à la formation de molécules simples telles que le CO<sub>2</sub>, l'O<sub>2</sub>, le CH<sub>4</sub> et d'une nouvelle biomasse [11].

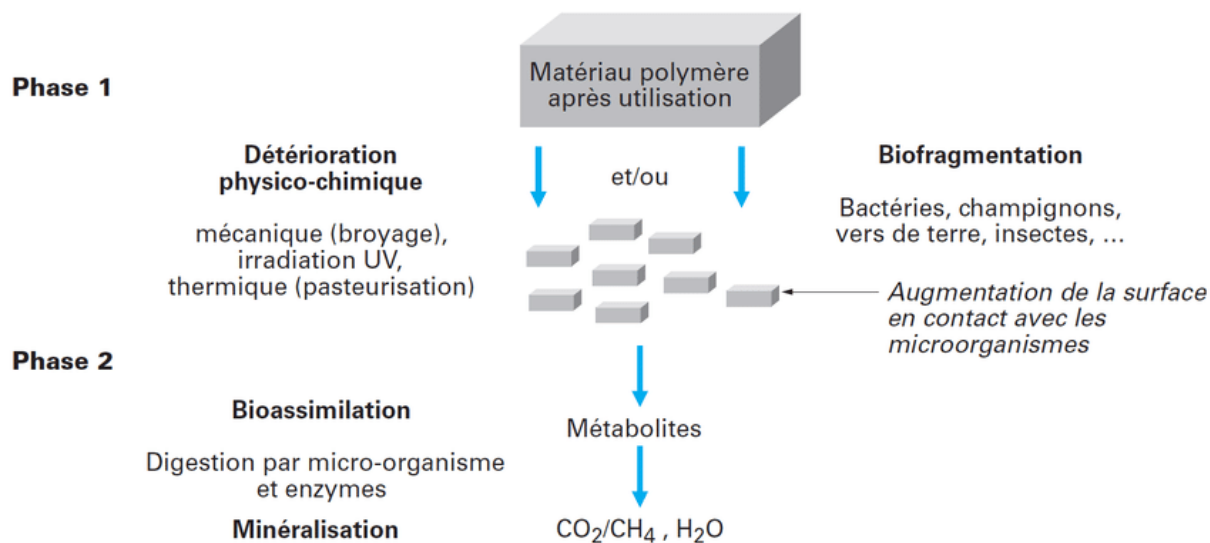


Figure I.8. : Déroulement du mécanisme de biodégradation [11].

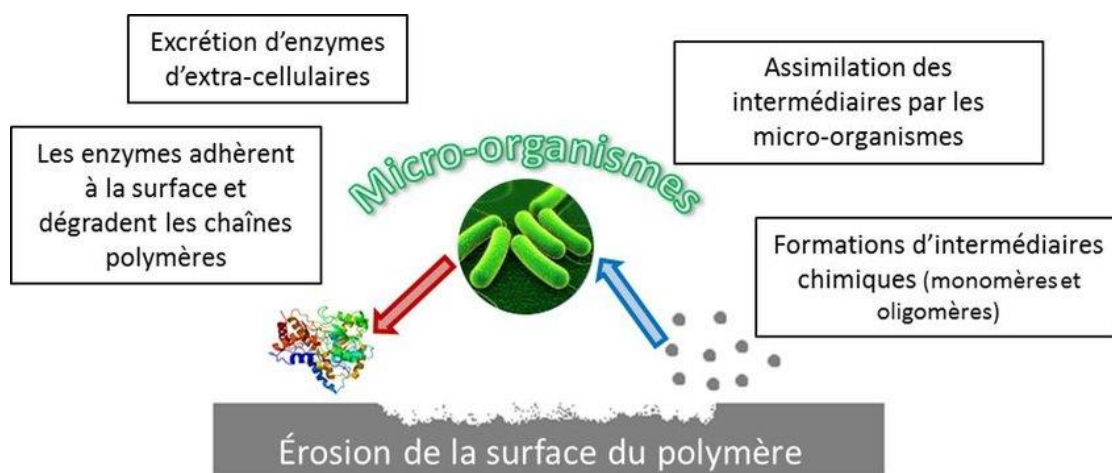


Figure I.9 : Mécanisme de bio-assimilation en surface d'un polymère dans des conditions aérobies adapté [37].

## II.4. Facteurs influençant la biodégradation

La biodégradation est influencée par un certain nombre de facteurs qui pourraient être regroupés en quatre catégories :

### II.4.1. Les paramètres physico-chimiques du milieu de dégradation

Ils sont déterminants non seulement pour la croissance des micro-organismes intervenants dans la dégradation mais aussi pour le matériau amené à être dégradé.

Trois facteurs sont mis en jeu :

- La température qui favorise l'activité microbienne
- La teneur en eau du milieu qui doit être suffisante pour permettre aux fonctions des micro-organismes de s'exprimer.
- Le pH du milieu qui doit être neutre ou alcalin

#### **II.4.2. Les paramètres microbiologiques du milieu de dégradation**

Chaque écosystème est également caractérisé par des facteurs microbiologiques qui lui sont propres. Ainsi certains matériaux sont davantage biodégradables par compostage que dans le sol. D'une manière générale, dans tous les milieux, la biodégradation a lieu si des micro-organismes capables de dégrader le polymère considéré sont présents. En effet, la vitesse de dégradation dépend de la colonisation microbienne à la surface du matériau. Seules les cellules vivantes sont capables d'adhérer à la matrice du polymère. Ce phénomène « d'accrochage » est aussi dépendant des propriétés physiques du matériau (hydrophilie, porosité) [38].

##### **❖ Les micro-organismes**

Les microorganismes sont des êtres vivants unicellulaires ou pluricellulaires. Ce terme regroupe des organismes procaryotes qui n'ont pas de noyau (virus et les archaebactéries) et les eucaryotes (algues, protozoaires et champignons). Les bactéries et les champignons sont responsables de la décomposition des matières organiques complexes de l'environnement (les polymères naturels et synthétiques) en substances organiques simples et en composés inorganiques.

##### **❖ Les enzymes**

Les enzymes sont des protéines présentes dans tous les êtres vivants. Elles sont produites par des cellules animales, végétales ou microbiennes. Leur rôle consiste à catalyser les réactions chimiques. Les enzymes présentent dans leur structure un site actif où le substrat de la réaction enzymatique vient s'insérer par de liaisons non covalentes.

Pour les PHAs, ce sont les PHAs dépolymérase extracellulaires qui sont responsables de l'hydrolyse enzymatique. Jusqu'à maintenant, plus de 80 PHA dépolymérases ont été isolées et caractérisées à partir de nombreux microorganismes [39].

### **II.4.3. La structure et les propriétés des polymères constituant le matériau.**

Le degré de polymérisation (agencement des motifs monomères) peut fortement influencer la biodégradation. Il est couramment admis qu'une faible masse molaire du polymère facilite la biodégradation, surtout l'action des enzymes. Parmi les autres facteurs, on peut citer le caractère hydrophile ou hydrophobe du matériau ; sa porosité qui peut déterminer la diffusion des enzymes à travers la masse du polymère et le niveau de colonisation des microbes, sa cristallinité dont l'importance peut ralentir la biodégradation ; enfin, la présence de liaisons facilement hydrophobes dans le polymère, telles que les liaisons ester et même des doubles liaisons qui facilitent la biodégradation de celui-ci [38].

### **II.4.4. Le procédé de fabrication du matériau**

Le procédé de fabrication envisagé (extrusion, injection, thermoformage ...) ainsi que les conditions de mise en forme du matériau (température, pression, utilisation de plastifiants, d'additifs) vont donner des matériaux aux caractéristiques très différentes tant au niveau de leur cristallinité que de leur composition ou encore de leur comportement vis à vis de l'eau, induisant des biodégradations différentes. Un matériau de grande pureté présentera des propriétés mécaniques importantes. L'épaisseur du matériau est également un paramètre déterminant dans le processus de dégradation d'un polymère. Généralement la cinétique de dégradation d'un matériau épais est relativement lente, si on considère une dégradation comme étant une érosion surfacique [38].

### **II.5. Méthodes d'évaluation de la biodégradation**

Selon la directive OCDE, un composé est considéré biodégradable si, lors d'un essai de biodégradabilité ultime (OCDE 301 et versions apparentées), il possède une biodégradabilité supérieure ou égale à 70 % par la mesure du carbone organique dissous ou 60% par la mesure du dégagement de CO<sub>2</sub> ou consommation d'O<sub>2</sub> en 28 jours [38]. De nombreux tests et méthodes ont été développés pour évaluer la biodégradabilité des polymères, en se basant sur l'observation visuelle ou quantitativement en mesurant la perte de masse, la distribution de la masse molaire, le degré de fragmentation, les propriétés en traction, les dosages enzymatiques, l'écotoxicité, la demande biologique en oxygène (DBO) et la production de CO<sub>2</sub> lors de l'assimilation du substrat à dégrader [40].

Les tests de biodégradabilité sont presque tous encadrés par des normes qui peuvent être internationales (ISO), européennes (EN) ou encore américaines (ASTM). La mise en place de



ces procédures permet d'assurer une homogénéité et une comparabilité des résultats obtenus. Elles permettent également de garantir que les nouveaux matériaux mis sur les marchés répondent aux critères éco toxicologiques. Les méthodes les plus utilisées à l'échelle de laboratoire pour étudier le processus de la biodégradation des matériaux polymères comprennent les méthodes respirométriques en milieu liquide et le compostage. Ces deux méthodes peuvent constituer des tests accélérés pour estimer l'aptitude d'un matériau à être biodégradé [41].

### **II.5.1. Mesure de la biodégradation par méthodes respirométriques**

En conditions aérobie, le but des mesures dites de respirométrie est de quantifier la dégradation ultime du matériau, c'est-à-dire son assimilation complète par les microorganismes présents dans le milieu. Cette estimation de la biodégradabilité peut se faire en mesurant l'un ou l'autre des paramètres suivants :

- La quantité d'oxygène consommée
- La quantité de dioxyde de carbone libérée.

#### **❖ Mesure de la demande biologique en oxygène (DBO)**

La demande biologique en oxygène (DBO) est une méthode directe de mesure de l'activité biologique en présence de polymère. Elle consiste à mesurer la quantité d'oxygène consommée par des microorganismes pour oxyder le carbone du polymère sous forme de dioxyde de carbone. Le test de DBO est un test normalisé de biodégradation des matériaux plastiques réalisé selon la norme ISO 14851 sur une durée de 28 jours. Si les microorganismes en présence sont capables de biodégrader le matériau polymère testé, ils vont pouvoir l'utiliser comme source de nourriture et ainsi se développer. Cette activité de développement va engendrer une consommation d'oxygène plus importante. La DBO des micro-organismes est ainsi indirectement représentative de la quantité de polymère biodégradée. Le tracé de la courbe de DBO en fonction du temps donne la cinétique de biodégradation et permet le calcul du taux de biodégradation ( $D_t$ , en %) des produits testés en fonction du temps d'incubation [42].

#### **❖ Mesure de la production de dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>)**

Cette méthode consiste à suivre la quantité de dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) résultant de la respiration des micro-organismes utilisant le polymère comme nutriment. La quantité de CO<sub>2</sub> libérée peut être mesurée par spectroscopie infrarouge, par chromatographie et par piégeage chimique. Le piégeage chimique consiste à piéger le CO<sub>2</sub> libéré lors de minéralisation du

polymère dans une solution alcaline de soude ou d'hydroxyde de baryum en large excès de concentration connue. Le degré de biodégradation est alors exprimé comme un pourcentage du CO<sub>2</sub> théorique total [43].

### II.5.2. Compostage

Dans les tests in situ dans les sols et les composts, les échantillons sont enfouis selon un protocole précis. Après un temps d'exposition déterminé, les changements visuels et massiques sont notés pour chaque échantillon. Ces tests sont en cours d'amélioration en vue d'une normalisation ultérieure [38]. Le compostage est un procédé de dégradation biologique aérobie de la matière organique [44]. Il s'applique aussi bien aux déchets ménagers et assimilés (boues d'assainissement, déchets verts) qu'aux déchets agricoles et agroalimentaires. Le processus aérobie se déroule en deux phases bien distinctes : phase de fermentation et phase de maturation, pour lesquelles plusieurs paramètres (pH, température, taux d'oxygène et activité microbienne) présentent des variations.

### II.6. Normes internationales d'évaluation de la biodégradation dans différents environnements et conditions

**Tableau I.2:** Normes ISO relatives au compostage.

Standard	Titre
ISO 17088:2008	Spécifications pour les plastiques compostables
ISO 14851:1999 ISO 14851:1999/Cor 1 :2005	Détermination de la biodégradabilité aérobie ultime des matières plastiques en milieu aqueux. Méthode par mesure de la demande en oxygène dans un respiromètre fermé
ISO 14852:1999 ISO 14852:1999/Cor 1 :2005	Détermination de la biodégradabilité aérobie ultime des matières plastiques en milieu aqueux Méthode par analyse du dioxyde de carbone évolué
ISO 14855-1:2005 ISO 14855-1:2005/Cor 1 :2009	Détermination de la biodégradabilité aérobie ultime des matières plastiques dans des conditions de compostage contrôlées - Méthode par analyse du dioxyde de carbone évolué - Partie 1 : Méthode générale
ISO 14855-2:2007	Détermination de la biodégradabilité aérobie ultime des matières plastiques dans des conditions de compostage

ISO 1 4855-2:2007 /Cor 1 :2009	contrôlées - Méthode par analyse du dioxyde de carbone évolué - Partie 2 : Mesure gravimétrique du dioxyde de carbone dégagé lors d'un essai en laboratoire.
ISO 16929:2002	Détermination du degré de désintégration des matières plastiques dans des conditions de compostage définies dans le cadre d'un test à l'échelle pilote
ISO 17556:2003	Détermination de la biodégradabilité aérobie ultime dans le sol en mesurant la demande en oxygène dans un respiromètre ou la quantité de dioxyde de carbone dégagée
ISO 20200:2004	Détermination du degré de désintégration des matières plastiques dans des conditions de compostage simulées lors d'un test en laboratoire

**Tableau I.3** : Normes EN relatives à la biodégradation et au compostage.

Standard	Titre
EN ISO 14851:2004	Détermination de la biodégradabilité aérobie ultime des matières plastiques en milieu aqueux - Méthode par mesure de la demande en oxygène dans un respiromètre fermé
EN ISO 14852:2004	Détermination de la biodégradabilité aérobie ultime des matières plastiques en milieu aqueux - Méthode par analyse du dioxyde de carbone évolué
EN ISO 14855-1:2007	Détermination de la biodégradabilité aérobie ultime des matières plastiques dans des conditions de compostage contrôlées - Méthode par analyse du dioxyde de carbone évolué - Partie 1 : Méthode générale
EN ISO 1 4855-1 :2007 I AC:2009 EN ISO 14855-2:2009	Détermination de la biodégradabilité aérobie ultime des matières plastiques dans des conditions contrôlées de compostage - Méthode par analyse du dioxyde de carbone dégagé - Partie 2 : Mesure gravimétrique du dioxyde de carbone dégagé lors d'un essai en laboratoire
EN ISO 17556:2004	Détermination de la biodégradabilité aérobie ultime dans le sol en mesurant la demande en oxygène dans un respiromètre ou la quantité de dioxyde de carbone dégagée

EN ISO 20200:2005	Détermination du degré de désintégration des matières plastiques dans des conditions de compostage simulées lors d'un test en laboratoire.
-------------------	--

**Tableau I.4:** Normes ASTM relatives au compostage et à la biodégradation.

Standard	Titre
ASTM D6400-04	Spécification standard pour les plastiques compostables
ASTM D 6340-98(2007)	Méthodes d'essai standard pour déterminer la biodégradation aérobie des matières plastiques radiomarquées dans un environnement aqueux ou de compost
ASTM D 7081-05	Spécification standard pour les plastiques biodégradables non flottants dans l'environnement marin
ASTM D 5210-92(2007)	Méthode d'essai standard pour déterminer la biodégradation en anaérobiose des matières plastiques en présence de boues d'épuration municipales
ASTM D 5929-96(2009)	Méthode d'essai standard pour déterminer la biodégradabilité des matériaux exposés aux conditions de compostage des déchets solides municipaux par respirométrie du compost
ASTM D 5526-94(2011)e1	Méthode d'essai standard pour déterminer la biodégradation anaérobie des matières plastiques dans des conditions de mise en décharge accélérée
ASTM D 6691:09	Méthode d'essai pour déterminer la biodégradation aérobie du plastique dans l'environnement marin par un "consortium" microbien défini ou un inoculum naturel d'eau de mer

## **Chapitre II**

# **Synthèse bibliographique**

La biodégradabilité d'un matériau plastique ne peut pas être estimée par une seule méthode du fait de la complexité des mécanismes biologiques impliqués dans le phénomène de biodégradation et du nombre de paramètres à prendre en compte (humidité, température, pH, présence ou non d'oxygène, concentration des microorganismes, etc.). IL existe des tests qui s'effectuent à l'échelle industrielle ou à l'échelle de laboratoire. En laboratoire, différentes méthodes d'estimation de la biodégradation en milieu liquide ou solide (par voie aérobie ou anaérobie) peuvent être employées pour le suivi de la cinétique de biodégradation des matériaux polymères [41].

A fin d'étudier l'effet des principaux facteurs affectant la biodégradabilité des PHAs nous avons réalisé cette synthèse bibliographique.

### **II.1. Effet de température sur la biodégradation du PHBV**

Afin d'examiner l'effet de la température sur la biodégradation, Lotto *et al* [46] ont étudié la biodégradation du polycaprolactone (PCL), du PHB et du PHBV dans un milieu de compostage en sol à 46°C et à température ambiante de 24°C, respectivement. Ils ont évalué la biodégradation des biopolymères sur la base de la rétention de masse.

#### **II.1.1. Préparation des échantillons**

Les biopolymères testés sont : le PCL, le PHB, et le PHBV. Le PCL a été fourni sous forme de granulés et le PHB et le PHBV ont été fournis sous forme de poudre. Les échantillons ont été moulés par injection.

#### **II.1.2. Procédure de dégradation**

Des échantillons de PHB, PHBV et PCL ont été pesés et enterrés dans du compost de sol à 46±3 °C, et à température ambiante (24 °C). La biodégradation a été contrôlée tous les 15 jours pendant environ 10 mois en mesurant la rétention de masse. Au besoin, les échantillons enterrés ont été récupérés, lavés à l'eau distillée, séchés à température ambiante et pesés. Ensuite, ils ont été enterrés à nouveau dans leurs plateaux respectifs.

#### **II.1.3. Résultats obtenus**

Les résultats de biodégradation obtenus en fonction de la rétention de la masse sont présentés sur les figures suivantes :

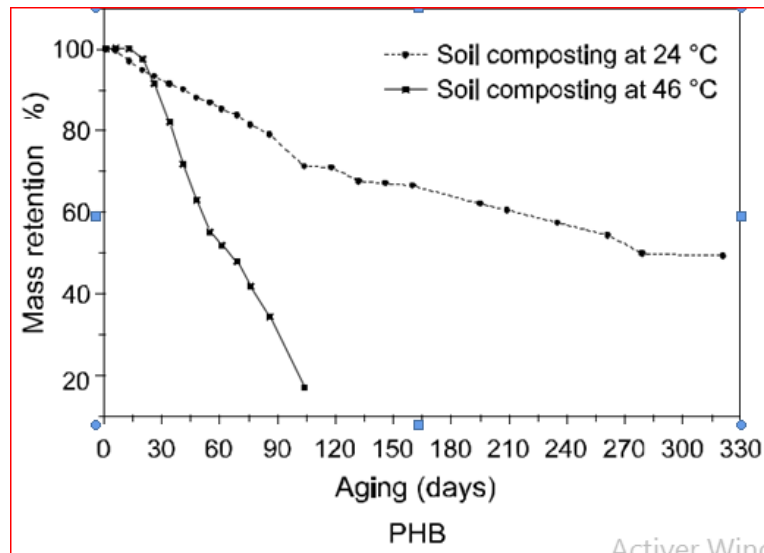


Figure II.1 : Evolution de pourcentage de rétention de masse du PHB en fonction du temps.

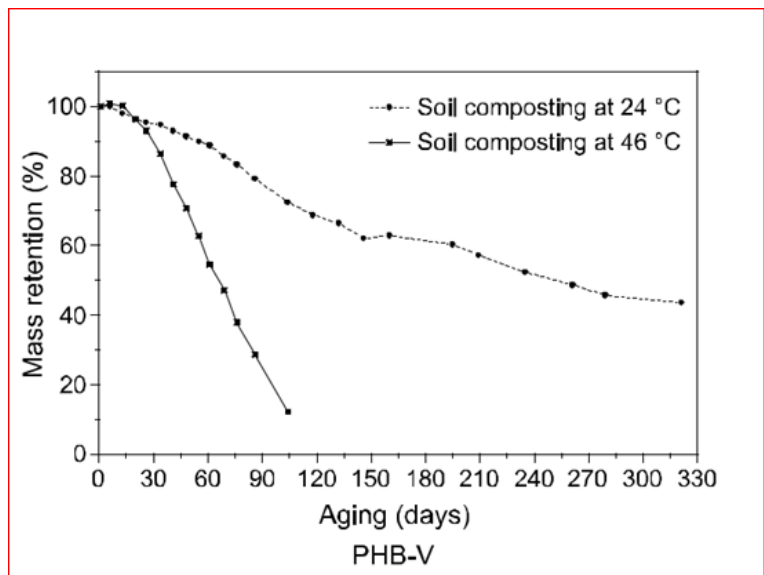


Figure II.2 : Evolution de pourcentage de rétention de masse du PHBV en fonction du temps.

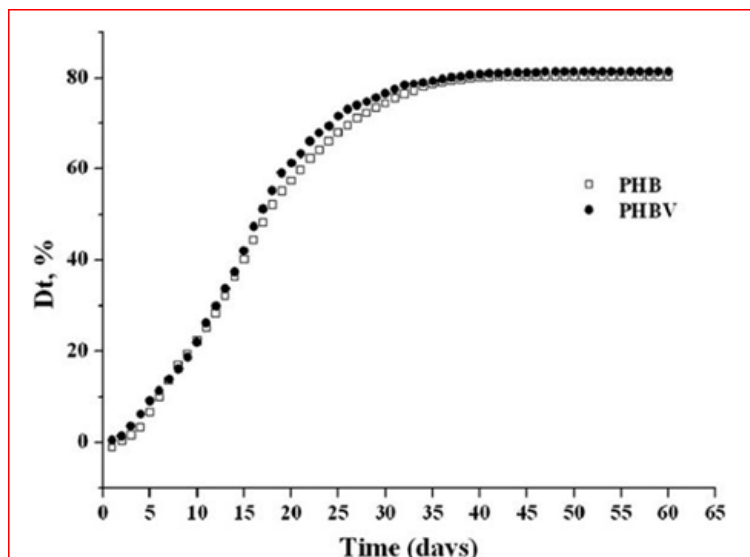


Figure II.3 : Les courbes de biodégradation des échantillons de PHB et PHBV.

#### II.1.4. Discussion des résultats

##### a- Température ambiante 24 °C

Parmi les polymères étudiés, le PHBV présente la meilleure biodégradation à température ambiante (Fig. II-2). La dégradation des polymères à température ambiante (24 °C) était relativement lente, avec des pertes de 51% et 56% pour le PHB et le PHBV, respectivement, après 321 jours de vieillissement. En revanche, le PCL ne présentait aucune biodégradation à température ambiante après près de 300 jours.

##### b- Température 46 °C

Tous les polymères étudiés ont montré une rétention de masse plus faible dans le compost du sol à 46 °C par rapport à la température ambiante, ce qui indique une dégradation plus importante à 46 °C. Le PHB et le PHBV ont été totalement dégradés après 104 jours de vieillissement dans le compost du sol à 46 °C et l'évaluation de biodégradation de PHB et PHBV est représenté en figure II.3, le PCL montre un pourcentage de biodégradabilité d'environ 36% après 120 jours de biodégradation en conditions de compostage.

La température élevée a augmenté le taux de dégradation, probablement en favorisant l'hydrolyse non enzymatique des liaisons esters, comme le suggère Reed et Gilding [47]. Ces auteurs ont rapporté que l'augmentation de la température a favorisé la dégradation des sutures en poly(acide glycolique) (PGA) sur la plage de 25 à 50 °C. Dans ce cas, l'hydrolyse initiale a été facilitée par la température élevée et plus tard par la présence de microorganismes



thermophyliques. Une température de 46 °C a facilité la biodégradation par les microorganismes qui ont utilisé les polymères comme nutriments. Dans les sols naturels, les polymères sont dégradés par divers microorganismes, notamment des bactéries et des champignons. Une température élevée (46 °C) pourrait sélectionner les microorganismes qui se développent mieux dans ces conditions et pourrait diminuer la compétition avec d'autres bactéries et champignons. Il n'y a pas eu de différence significative dans la biodégradation du PHB et du PHBV dans le compost du sol à 46 °C.

Au cours de vieillissement le pH a légèrement augmenté dans tous les sols, ce qui indique l'activité des microorganismes, qui ont produit des enzymes capables de modifier le pH du système de biodégradation.

### **II.1.5. Conclusion**

Une température élevée a favorisé la biodégradation de tous les polymères étudiés, comme le montre la plus faible rétention de masse dans le compost du sol à 46 °C par rapport à 24 °C. Cet effet peut impliquer une action directe sur le mécanisme de l'hydrolyse ou une action indirecte en renforçant l'activité des microorganismes thermophyliques. Bien que le PHB ait une cristallinité plus élevée que le PHBV, la température était un facteur plus important que la cristallinité dans la biodégradation des polymères.

## **II.2. Effet du milieu sur la biodégradation de PHBV**

Le milieu ou bien l'environnement peut avoir des effets importants sur la dégradation de PHBV. Afin de connaître ces effets, le PHBV a été exposé à différents environnements : sol, compost et milieu marin.

### **II.2.1. Étude de biodégradation de PHBV par compostage à l'échelle pilote**

Wenget *al* [48] ont étudié la biodégradabilité de PHBV dans des conditions de compostage, ils ont déterminé les valeurs de pH, température, les quantités d'oxygène O<sub>2</sub> et de dioxyde de carbone CO<sub>2</sub> périodiquement et ils ont également étudié les changements auxquels le PHBV était exposé.

### II.2.1.1. Préparation des échantillons PHBV (3 mol% HV)

3 g de poudre de PHBV ont été dissous dans 60 ml de chloroforme à 60 °C pendant 3 h, puis la solution a été versée uniformément sur une plaque de verre sous hotte. Trois heures plus tard, la fine pellicule a été retirée de la plaque de verre et séchée dans une étuve à 60 °C pendant 24 h.

### II.2.1.2. Procédure de dégradation par compostage

Le test de compostage du PHBV a été effectué conformément à la norme ISO 16929. La composition détaillée était la suivante : 15 kg de chou, 15 kg de pomme, 1 kg de péricarpe de pomme fraîche, 42 kg de déchets de bois, 38 kg d'aliments pour lapins, 39 kg de compost mature et 50 kg d'eau distillée. Le mélange de films PHBV (10 cm x 10 cm) et les déchets biologiques ci-dessus ont été mis dans une boîte de compostage en acier inoxydable de 200 L. La durée de l'incubation était de 12 semaines. Les échantillons ont été retirés de la boîte de compostage à intervalles réguliers pour être examinés. À la fin du test, les résidus ont été tamisés à l'aide de tamis standard de diamètre de 10 mm et 2 mm. Les échantillons ont ensuite été séchés à 105 °C jusqu'à ce qu'un poids constant soit atteint. Le degré de disintégration a été calculé à partir du poids des solides secs totaux.

### II.2.1.3. Résultats obtenus

Les variations enregistrées de pH, de température, d'O<sub>2</sub> et de CO<sub>2</sub> durant le test de compostage sont représentées sur les figures (II, 4, 5, 6,7).

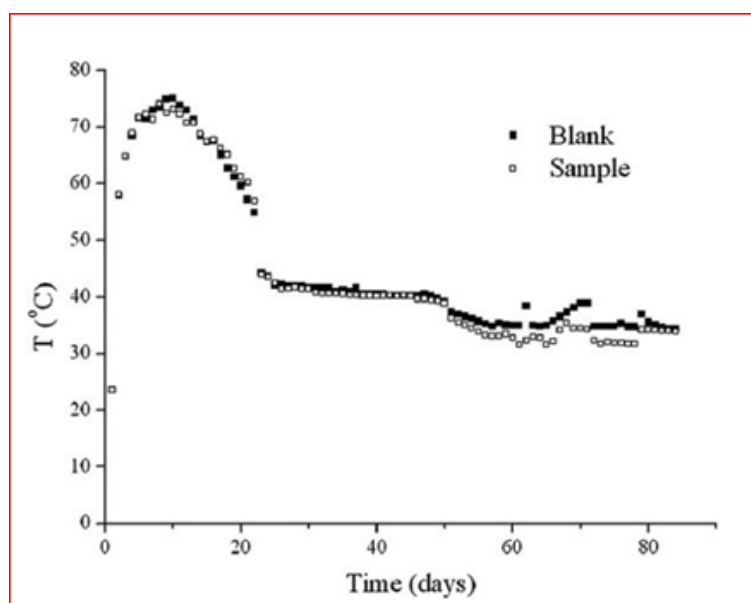
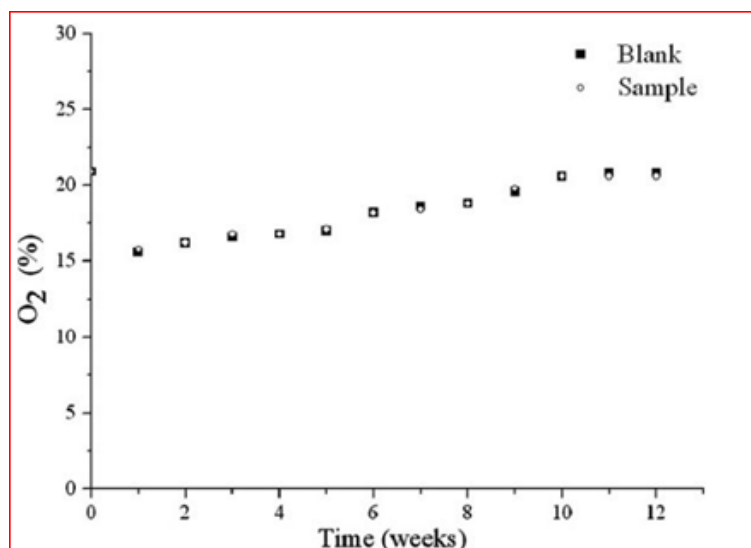


Figure II.4 : Variations de température de la boîte de compostage pendant la dégradation.

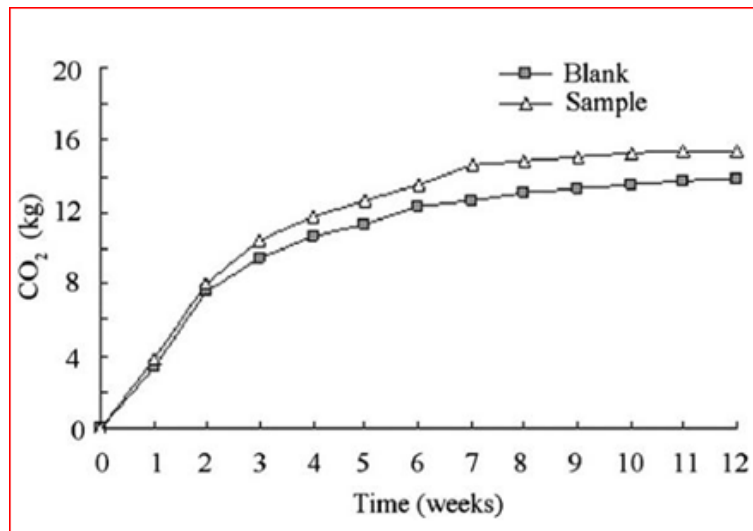
Pendant le compostage, la température du compost varierait en raison du métabolisme des microbes, ce qui affecterait le taux de dégradation des échantillons. Par conséquent, la variation de température de la boîte de compostage a été enregistrée. La norme ISO 16929 précise les exigences valables pour le test : le test est valable si, la température maximale pendant le compostage reste inférieure à 75 °C pendant la première semaine et inférieure à 65 °C par la suite ; la température reste supérieure à 60 °C pendant au moins 1 semaine et la température reste supérieure à 40 °C pendant au moins 4 semaines consécutives.

D'après la figure II.4, les auteurs ont remarqué que la température la plus élevée de la boîte d'essai à blanc augmente jusqu'à 70 °C, puis diminue jusqu'à environ 60 °C après 14 jours de dégradation. Dans le même temps, pour la boîte d'essai de l'échantillon, la température a atteint 73 °C après 3 jours, puis elle a diminué à environ 60 °C après 4 jours de dégradation. La période pendant laquelle la température était supérieure à 40 °C était d'environ 36 jours pour l'essai à blanc et l'essai sur échantillon.

Les concentrations d'oxygène et de CO<sub>2</sub> évacuées dans l'air ont été mesurées régulièrement, la dépendance des concentrations d'oxygène et de CO<sub>2</sub> au temps de compostage est représentée sur les figures (II.5 et II.6).

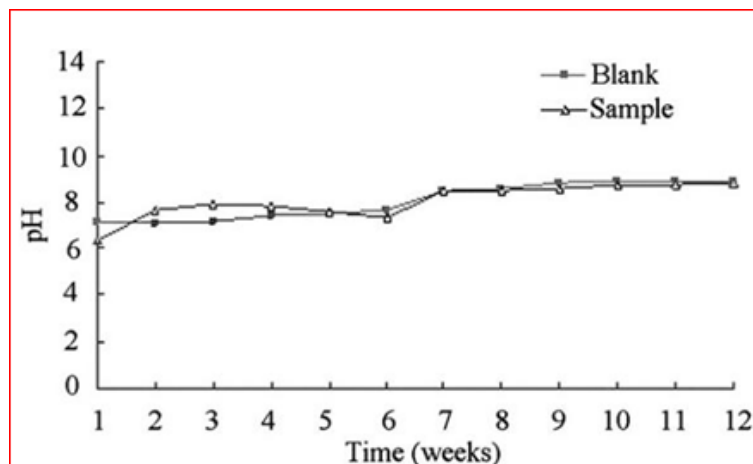


**Figure II.5 :** La dépendance de la concentration en oxygène au temps de compostage.



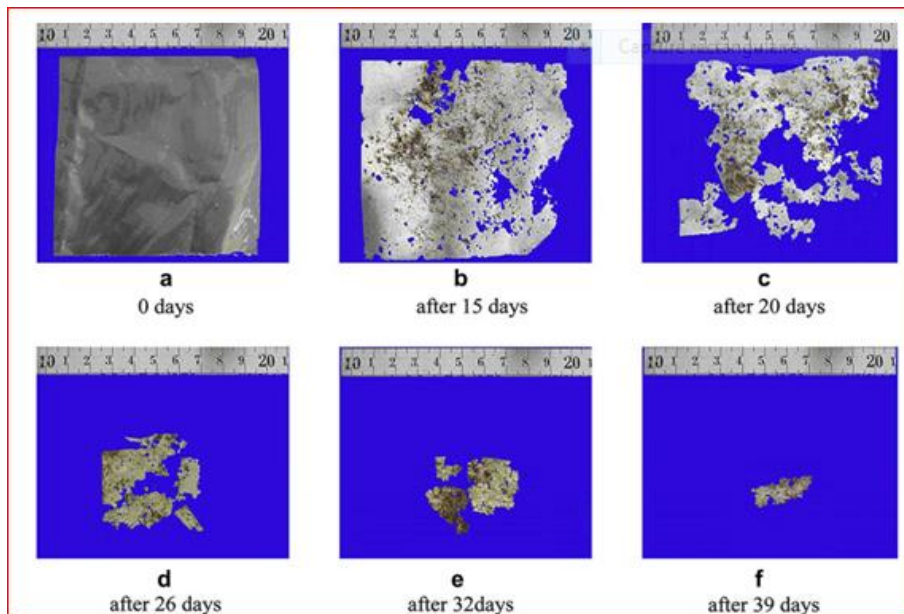
**Figure. II.6 :** La dépendance de la concentration totale de CO<sub>2</sub> au temps de compostage.

Ils ont constaté que la concentration en oxygène a diminué de 20,9 % à 15,6 %, puis a augmenté à 19 % après 8 semaines de dégradation. La concentration de CO<sub>2</sub> a augmenté au fur et à mesure de la dégradation. Au bout de 8 semaines, les deux se stabilisent. La norme ISO 16929 précise également le pH valable pour le test : le pH augmente à une valeur supérieure à 7 pendant le test et ne diminue pas en dessous de 5 pour assurer l'achèvement du processus normal de compostage.



**Figure II.7:** La dépendance de la valeur du pH au temps de compostage.

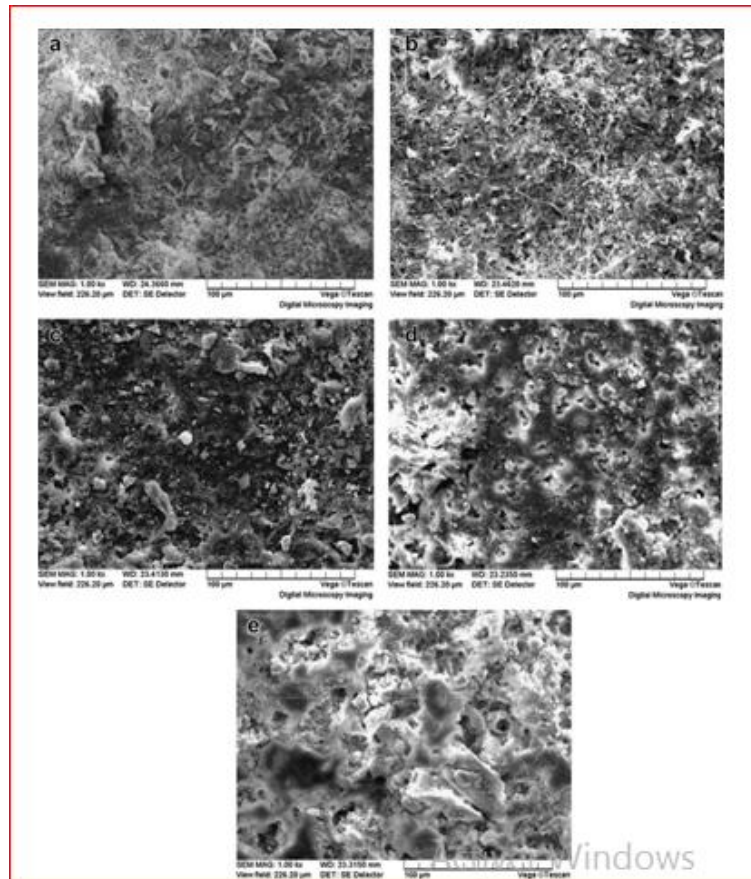
Ils ont constaté que la valeur du pH a augmenté avec la progression de la dégradation. La valeur de pH la plus élevée était de 8,8 et la plus basse est de 6,4.



**Figure II.8.** : Photos numériques des films de PHBV pendant le compostage.

Les photos des films résiduels de PHBV dans le compost sont présentées en figure II.8. On constate que le film de PHBV s'est progressivement désintégré en résidus de petite taille. Après 15 jours de dégradation, il y avait de nombreuses cavités à la surface des films, puis le film s'est désintégré en fragments. Après 39 jours de dégradation, il était difficile de retrouver la pellicule dans le compost. A la fin du test, aucun fragment de plus de 2 mm n'a pu être trouvé.

Des échantillons sélectionnés régulièrement à partir des composts ont été également caractérisés par microscopie électronique à balayage (MEB), les résultats obtenus sont représentés en figure II.9.



**Figure. II.9:** Images MEB d'un film PHBV à différents temps de dégradation. (a) 15 jours, (b) 20 jours, (c) 26 jours, (d) 32 jours, (e) 39 jours.

Comme le montre cette figure, il est observé qu'après 15 jours de dégradation, la surface du film PHBV a été érodée et la surface est devenue rugueuse (la figure (a)). Lorsque le temps de dégradation a atteint 20 jours, de nombreux filaments ont pu être observés (figure(b)). Ces filaments ont disparu et de nombreuses cavités ont été trouvées après 26 et 32 jours, les films de PHBV étaient presque désintégrés (les figures(c-d)). Et après 39 jours de dégradation, il est difficile de voir les cavités et il n'y a que des fragments de PHBV (figure (e)).

Les observations obtenues suggèrent un processus de dégradation du PHBV comme suit : premièrement, les micro-organismes ont érodé la surface des échantillons de PHBV, ce qui a entraîné le début de la dégradation et, au fur et à mesure de la dégradation, de nombreux résidus filamenteux se sont formés. Ensuite, ces filaments ont commencé à se dégrader en trois dimensions, et ont formé de nombreuses cavités. Finalement, les cavités ont disparu et les films de PHBV ont été complètement biodégradés et le degré de désintégration du film PHBV pourrait atteindre 100%.

#### II.2.1.4. Conclusion

Les auteurs ont conclu que le PHBV est biodégradable dans les conditions de compostage et le degré de biodégradabilité était de 100%.

#### II.2.2. Effet des facteurs abiotiques sur la dégradation de PHBV par compostage

Eldsaeter *et al* [49] ont étudié la dégradation biologique du PHBV sous des environnements simulés et naturels en l'exposant à de l'eau stérile à 60 °C, à l'air à 60 °C et au compostage des déchets de jardin.

##### II.2.2.1. Préparation des échantillons

Dans cette étude, les auteurs ont utilisé du PHBV commercial (biopoleD300g) avec 6% en mole de HV. Les échantillons ont une épaisseur de 50 mm.

##### II.2.2.2. Procédures de dégradation

###### a. Dégradation dans l'eau stérile

La dégradation dans l'eau stérile a été effectuée dans des flacons de verre de 15 ml scellés. Dans chaque flacon, 1 g de polymère, coupé en 13 morceaux de 13 mm, a été placé. Chaque flacon contenait 9 ml d'eau stérile (qualité HPLC) avec un pH initial de 7. Les flacons ont été maintenus dans un four à 60 °C pendant une période de 347 jours et pendant cette période, des échantillons ont été prélevés. La phase aqueuse de chaque flacon a été éliminée et le polymère a été séché à 60 °C pendant 24h. Cette température de 60 °C a été choisie sur la base des températures typiques atteintes dans un compost actif.

###### b. Dégradation thermique dans l'air

La dégradation dans l'air a été effectuée dans des flacons de verre de 15 ml scellés. Dans chaque flacon, 1 g de PHBV, coupé en 13 morceaux de 13 mm, a été placé. Chaque flacon ne contenait que le polymère et l'air contenu. Les flacons ont été maintenus en étuve à 60 °C, sélectionnée pour représenter une température typique dans un compost actif, pendant une période de 298 jours et pendant cette période, des flacons ont été échantillonnés.

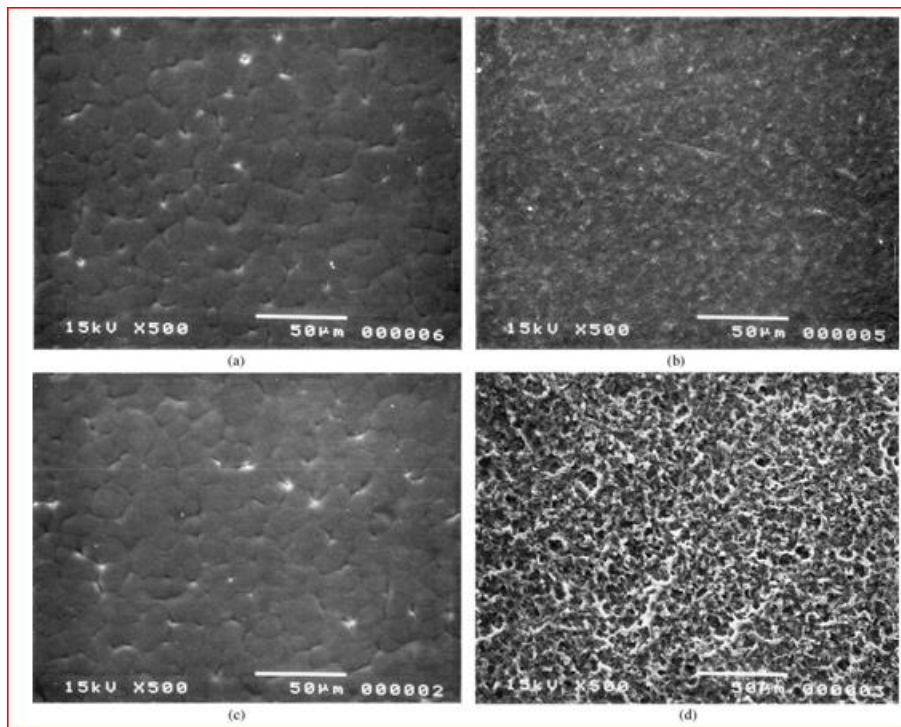
###### c- Compostage.

Le compostage a été effectué dans une installation de compostage tournante de 270 litres sur une période de 50 jours. L'installation a été isolée avec une mousse de polyéthylène de 5

cm sans chauffage externe et la masse de compostage était constituée de déchets de jardin typiques, tels que des tontes de gazon et des feuilles. La température la plus élevée enregistrée à l'intérieur du compost était de 64 °C et le taux d'humidité était d'environ 60 % en poids.

### II.2.2.3. Résultats obtenus

Les résultats obtenus sont représentés sur les figures suivantes :

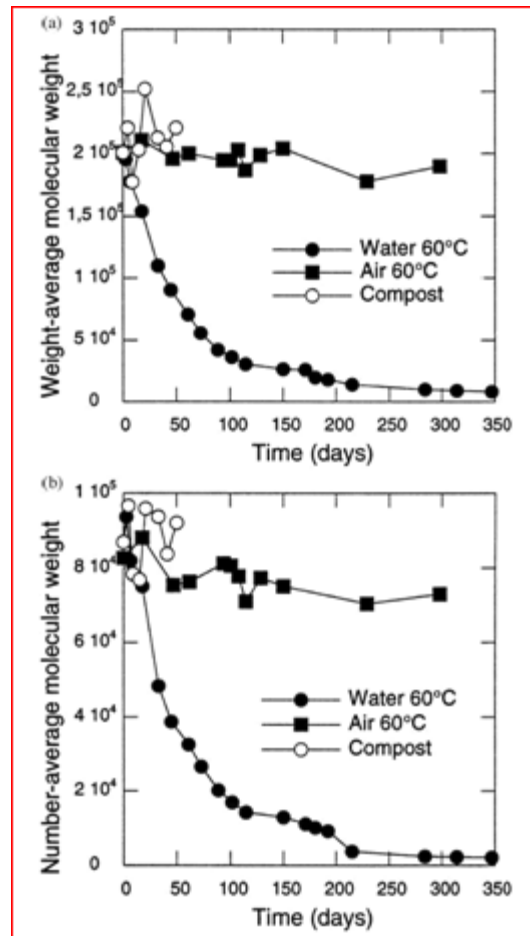


**Figure II.10 :** Micrographies MEB de PHBV. **(a) :** échantillon non dégradé. **(b) :** échantillon dégradé par hydrolyse (eau stérile à 60 °C- pH 7). **(c) :** échantillon dégradé thermiquement (air à 60 °C). **(d) :** échantillon dans compost.

La figure II.10 (a) montre un film non dégradé avec une surface hétérogène. Après immersion dans de l'eau stérile à 60 °C pendant 347 jours, la figure II.10 (b), montre une topographie de surface aplatie avec la présence de petites zones blanches de matériau plus poreux. La figure II.10 (c) relative aux échantillons dégradés dans l'air à 60 °C pendant 298 jours, ne révèle aucune dégradation. Ceci est conforme aux résultats précédents. Les échantillons dégradés en conditions de compostage montrent une topographie de surface (figure II.10 (d)) irrégulière, l'échantillon est dégradé en surface. Les différences dans la topographie de la surface et dans les mécanismes de dégradation sont probablement dues à des différences dans la taille des molécules de dégradation. Lorsque le polymère est dégradé par hydrolyse, les molécules d'eau sont suffisamment petites pour pénétrer dans la matrice polymère et les chaînes polymériques peuvent ainsi être clivées de manière aléatoire. Lorsque, au contraire, le polymère



est dégradé par des enzymes extracellulaires produites par des champignons ou d'autres micro-organismes, seule la surface est attaquée en raison de la taille plus importante de l'enzyme.



**Figure II.11 :**(a) masse moléculaire moyen en poids et (b) : masse moléculaire moyen en nombre du PHBV dégradé dans de l'eau stérile, dans l'air et dans un compost de déchets de jardin.

D'après la figure II.11, on observe que le poids moléculaire moyen du PHBV diminue progressivement lors de l'immersion dans de l'eau stérile à 60 °C et que cette dégradation suit un processus de scission en chaîne aléatoire. Lors de la dégradation thermique du PHBV à 60 °C dans l'air, aucune diminution du poids moléculaire moyen n'a été observée pendant 298 jours et pendant le compostage du PHBV dans le compost, les variations du poids moléculaire moyen sont très irrégulières, avec des données éparpillées, bien que la tendance générale ne montre aucune diminution du poids moléculaire moyen. Ces résultats indiquent que ni l'hydrolyse abiotique ni la dégradation thermique n'ont d'effet sur la dégradation du PHBV dans le compost de déchets de jardin.

#### II.2.2.4. Conclusion

On peut conclure que les facteurs abiotiques, l'eau et l'air, ont peu ou pas d'effet sur la dégradation du PHBV dans un environnement de compost dans une perspective à court terme (50 jours) et que la dégradation du PHBV dans un compost est uniquement due à l'action microbienne.

#### II.2.3. Étude de la dégradation du PHBV dans un milieu marin

La dégradation des PHAs avec différentes structures chimiques dans l'environnement marin tropical a été étudiée par Volova *et al* [50].

##### II.2.3.1. Préparation des échantillons

Les échantillons testés de PHAs sont synthétisés par la bactérie *Ralstonia eutropha*. Un polymère (3-PHB) et un copolymère (3-PHB/3-PHV) contenant 11 % en mole d'hydroxyvalérate ont été utilisés. Les films ont été préparés en solution par le solvant chloroforme (à partir de 3 % p/v), puis sont séchés à température ambiante pendant 3 jours dans une boîte de Petri.

##### II.2.3.2. Procédure de dégradation et dispositif d'échantillonnage

Les spécimens de PHAs (film 3-PHB, film 3-PHB/3-PHV, pastille 3-PHB et pastille 3-PHB/3-PHV) ont été pesés et placés dans la chambre de la plate-forme flottante (5 x 8 m, 40 m<sup>2</sup>) ; les spécimens ont été submergés dans un milieu marin à une profondeur de 120 cm.

Les changements dans la masse des polymères ont été suivis en tenant compte des propriétés de l'eau de mer. Tous les 20 jours, 3 échantillons de chaque type ont été sortis de l'eau, soigneusement nettoyés pour éliminer le biofilm, rincés à l'eau distillée et séchés pendant 24 heures à la température de 40 °C.

##### II.2.3.3. Résultats obtenus

La température et le pH de l'eau de mer ainsi que la concentration d'oxygène dissous ont été mesurés aux mêmes moments, lorsque les spécimens de PHAs ont été récupérés. La dégradation biologique des PHAs a été évaluée sur la base des paramètres suivants : une diminution de la masse des spécimens et des changements dans la masse moléculaire.

Les échantillons de polymères ont été pesés avant la submersion et au cours de l'expérience, à l'aide d'une balance de classe de précision 4. La perte de masse a été calculée comme un rapport entre la masse finale et la masse initiale de l'échantillon (X, %)  $X = (X_1/X_2) * 100$  où  $X_1$  et  $X_2$  sont les masses de l'échantillon avant et après l'expérience respectivement, en mg.

La masse moléculaire des PHAs ont été examinées à l'aide d'un chromatographe à perméation de gel. La masse moléculaire moyenne a été calculée comme suit :

$M_n = \sum(N_i \cdot M_i / N)$  où  $N_i$  est le nombre de molécules de masse  $M_i$  ;  $N$  est le nombre total de molécules ;  $M_i$  est la masse des molécules de longueur  $M_i$ .

#### a. Evolution des paramètres physico-chimique :

Les paramètres hydro chimiques de l'eau de mer tout au long de l'expérience sont regroupés en tableau II.1.

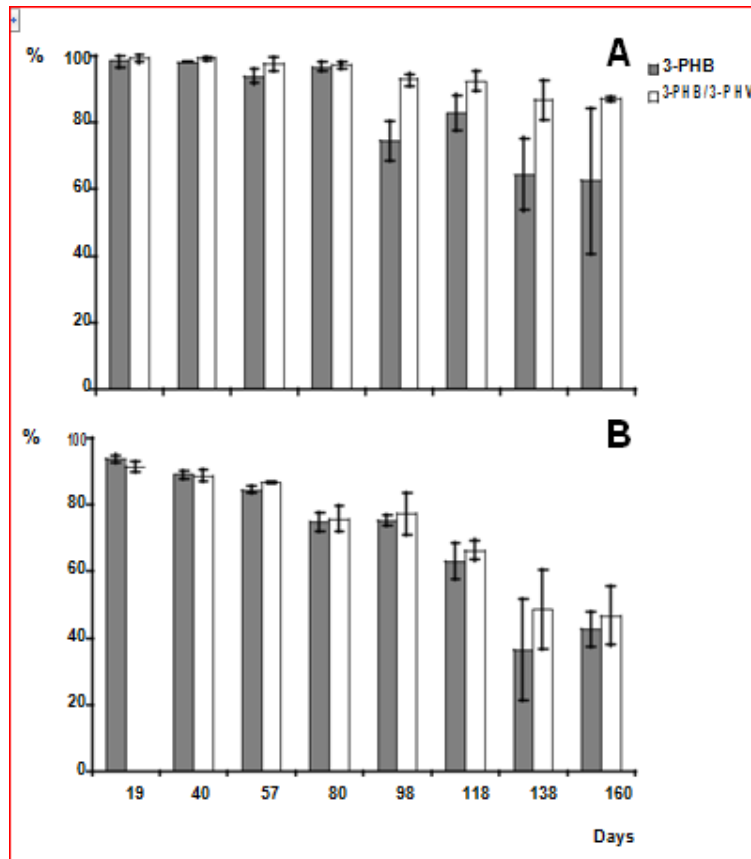
**Tableau II.1** : Paramètres hydrochimiques de l'eau de mer dans la mer de Chine méridionale.

Date de prélèvement	Température de l'eau °C.	PH	Salinité (ppm)	Oxygène (mg/ml)
11.03.2009	27.3	7.4	32	8.3
30.03.2009	28.6	7.5	34	7.4
20.04.2009	29.0	7.0	34	6.5
07.05.2009	27.1	7.1	33	6.1
28.05.2009	29.5	7.1	33	6.9
17.06.2009	28.7	7.2	35	5.4
07.07.2009	27.7	7.2	35	6.1
27.07.2009	30.4	7.4	34	5.7

Les paramètres hydrochimiques de l'eau de mer sont restés pratiquement inchangés. La température moyenne de l'eau était de  $28,75 \pm 1,65$  °C, avec un minimum de 27,1 °C et un maximum de 30,4 °C. Les valeurs du pH de l'eau étaient proches de la neutralité, variant de façon insignifiante, entre 7,0 et 7,5. La salinité de l'eau variait dans la fourchette 32-35 ; la salinité moyenne au cours de la période d'étude était de 34 %. La concentration d'oxygène dissous variait de 5,4 à 8,3 mg/ml.

### b. Evolution de perte de masse :

Les paramètres de perte de masse enregistrés de différents spécimens de PHAs sont présentés en figure II.12.



**Figure II.12 :** Evolution de la perte de masse des spécimens des granulés (A) et des films (B).

La dégradation la plus rapide a été enregistrée dans les films, après 160 jours d'immersion dans l'eau de mer, la masse résiduelle des films 3-PHB et 3-PHB/PHV était respectivement de 58% et 54%, c'est-à-dire que la perte de masse des spécimens était presque égale. Au cours des 120 premiers jours d'exposition, la perte de masse des spécimens s'est produite progressivement, c'est-à-dire que leur taux de dégradation est resté le même ; une perte de poids plus importante a été enregistrée pour les 20 jours suivants, ce qui laisse supposer une dégradation plus rapide.

Le schéma de dégradation des granulés de PHAs compactés 3D était quelque peu différent. Au cours des 80 premiers jours, la masse des spécimens est restée pratiquement inchangée ; la dégradation s'est produite entre 80 et 160 jours. La perte de masse des granulés de 3-PHB et de 3-PHB/PHV était de 38 % et 13 %, respectivement. Les granulés compactés ont une surface plus petite et, par conséquent, une surface d'interface polymère/eau plus petite

que les films polymères, ce qui engendre plus de temps aux micro-organismes pour s'attacher à la surface et plus de temps aux micro-organismes pour s'adapter au PHAs en tant que substrat qui a été soumis au compactage. Il pourrait y avoir deux phases de biodégradation du polymère dans la première phase les PHAs pourraient être dépolymérisés et leurs chaînes polymères dégradées sous l'impact des enzymes dépolymérisées ; dans la seconde phase, les produits de biodégradation du polymère pourraient être utilisés, ce qui entraînerait une diminution du poids moléculaire du polymère lui-même et une perte de masse totale des échantillons.

Les changements de masse moléculaire  $M_w$  (poids moléculaire moyen en poids) des échantillons de PHAs après l'exposition en eau de mer ont été analysés par chromatographie (tableau II. 2).

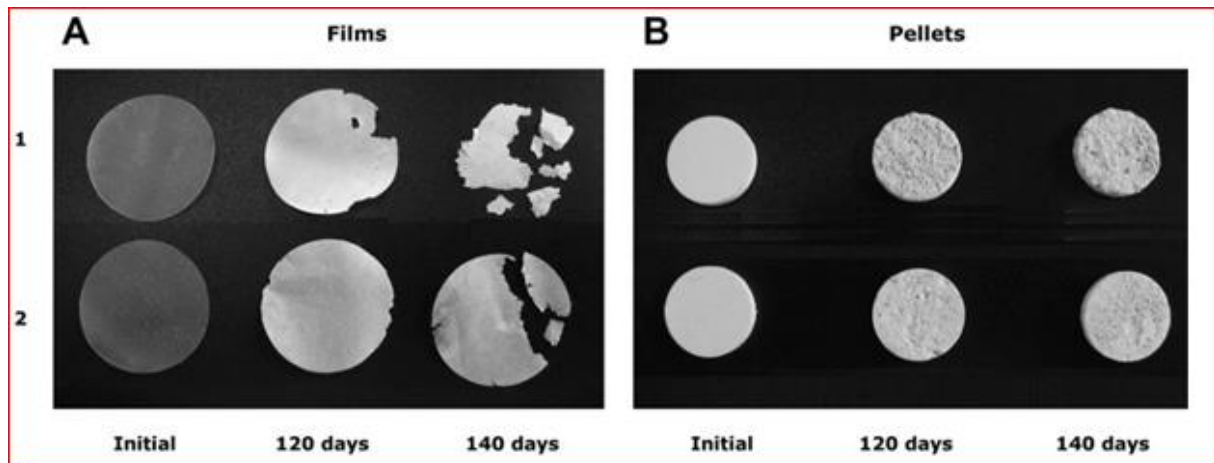
**Tableau II.2 :** Caractérisation comparative de la masse molaire en poids des spécimens de PHA avant et après l'exposition.

Paramètre	3 PHB initial	3PHB après 160 jours	3PHB-3PHV initial	3PHB-3PHV après 160 jours
$M_w$ (films)	1400	1040	1320	1110
$M_w$ (granulés)	1360	1090	1430	610

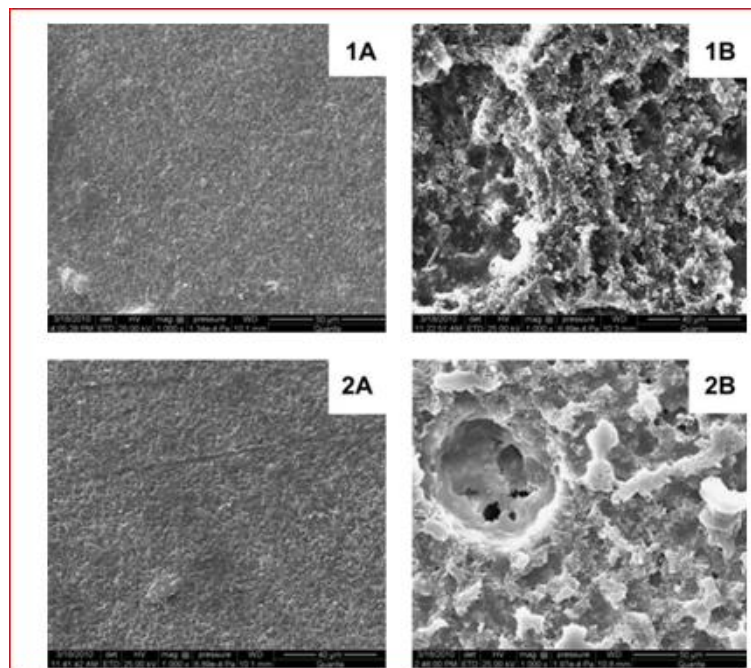
On constate que la masse moléculaire de tous les spécimens diminue au cours de la dégradation. Le pourcentage de perte en masse le plus élevé estimé à 57%, a été enregistré pour les granulés de copolymère ; dans les autres variantes, la diminution se situait entre 16 % et 26 %.

### c. Evolution de la morphologie des films et granulés de PHA

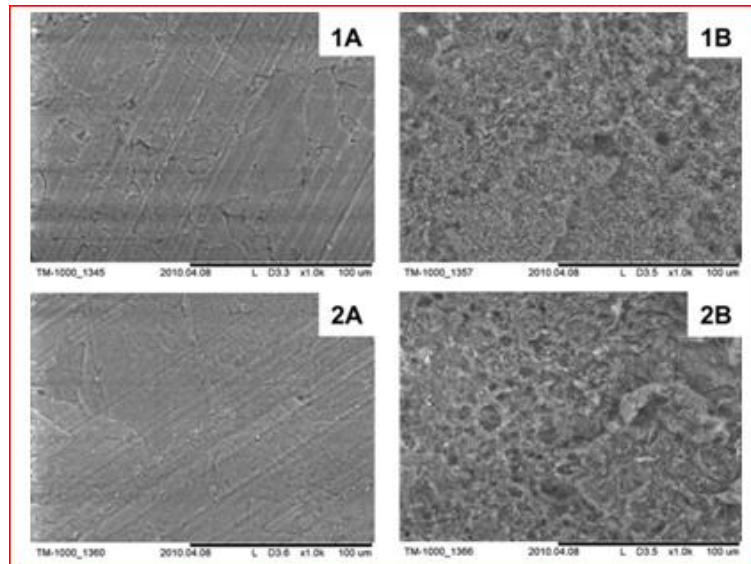
La dégradation et la perte de masse des spécimens ont modifié la morphologie de leur surface, en particulier celle des films, dont la dégradation était plus prononcée. Avec l'augmentation du nombre de trous, les films sont devenus sujets à la fragmentation (Fig. II.13.A). La surface des granulés compactés a changé de façon moins importante. D'abord, la surface des granulés est devenue rugueuse, puis des pores et des trous sont apparus (Fig. II.13.B).



**Figure II.13 :** Photos numériques de spécimens de PHA (films (A) et granulés (B)) après différentes périodes (jours) d'exposition marine.



**Figure II.14 :** Micrographies électroniques de films PHAs ; (A) échantillons initiaux et (B) échantillons après exposition en mer pendant 160 jours.



**Figure II.15** : Micrographies électroniques de pastilles de PHAs : (A) échantillons initiaux, (B) échantillons après une exposition marine pendant 160 jours.

Les micrographies électroniques montrent ces changements plus clairement : à mesure que les spécimens se sont dégradés, le nombre et la taille des pores et des trous, qui étaient absents sur les spécimens initiaux, ont augmenté (Fig. II.14 et II.15).

Des études microbiologiques ont montré que dans l'eau de la mer de Chine méridionale, le nombre total de bactéries hétérotrophes sur le milieu était de 1,6 10<sup>3</sup> CFU par ml et le nombre de champignons microscopiques de 1 10<sup>2</sup> CFU par ml. Des données similaires sont rapportées par d'autres auteurs, qui ont mené des enquêtes microbiologiques dans la mer du Japon et dans les eaux côtières du Vietnam [51,52]. Dans cette étude, l'analyse des microorganismes qui ont formé des biofilms sur des spécimens de PHAs incubés dans l'eau de mer dans la mer de Chine méridionale a révélé une grande variété de bactéries hétérotrophes et de microflore fongique. Cependant, seules quelques espèces ont été trouvées avec une activité de dépolymérisation des PHAs et ont pu se développer en utilisant les PHAs comme unique source de carbone et d'énergie.

#### II.2.3.4. Conclusion

La biodégradation des PHAs dans l'environnement marin chargé en bactérie est plutôt influencé par la forme de l'élément polymère (films ou granules compactés) et la technique de préparation que par la composition chimique du polymère. Les taux de biodégradation des films polymères dans l'eau de mer se sont avérés plus élevés que ceux des granules compactés.

### II.3. Effet d'ajout de charge sur la biodégradation

Lammiet *al* ont étudié comment les grignons d'olive peuvent être valorisé comme charges (OP) pour ajuster la biodégradation des composites à base de PHBV [53]. Ils ont évalué la biodégradation des PHBV et des biocomposites à base d'OP et PHBV/OP par des tests respirométriques effectués dans un environnement de sol standardisé pendant 4 mois.

#### II.3.1. Préparation des échantillons

##### a. Préparation et caractérisation des charges à base de grignons d'olive

Les fractions riches en pulpe et en pierre ont été isolées de l'échantillon de grignons d'olive bruts par fractionnement à sec avec sollicitation par friction dans un broyeur à boulets. Les fractions résultantes ont ensuite été tamisées et réduites en taille par des étapes successives de broyage à sec. Les poudres obtenues, c'est-à-dire la fraction riche en pulpe (PF), la fraction riche en pierre (SF) et la fraction OP brute (F0), présentaient un diamètre apparent médian de respectivement 55, 59 et 85  $\mu\text{m}$ .

##### b. Préparation et caractérisation des biocomposites à base d'OP/PHBV

Les granulés de PHBV et les charges à base d'OP (15 % en poids) ont été mélangés dans un mélangeur interne fonctionnant à une vitesse de rotor de 60 tr/min et à 170°C pendant 5 min. Les composés obtenus ont été refroidis à température ambiante puis broyés dans un broyeur à couteaux à une vitesse de 2200 tr/min à travers une grille de 4 mm pour obtenir des granulés composites. Les composés ont été séchés à 60 °C pendant au moins 8 h avant la préparation des matériaux. Les films biocomposites (carrés de 10,5 cm de large, épaisseur moyenne d'environ 250 micro mètre) ont été préparés en pressant à chaud les granulés entre deux plaques recouvertes de téflon à 170 °C. Ils ont laissé les échantillons fondre pendant 3 minutes. Ensuite, une pression de 150 bars a été appliquée pendant 2 min. Les films ont été refroidis à température ambiante avant d'être démoulés.

#### II.3.2. Tests de biodégradation

Des tests respirométriques ont été réalisés en conditions aérobies pour évaluer la vitesse de biodégradation des charges à base de OP, de la matrice PHBV et des biocomposites à base de PHBV/OP dans le milieu du sol. La méthode a été adaptée de la norme ASTM D5988-96, qui est une méthode d'essai standard pour déterminer la biodégradation aérobie dans le sol des matières plastiques. Le CO<sub>2</sub> libéré étant proportionnel au pourcentage de substrat biodégradé,



l'évolution du CO<sub>2</sub> mesure la dégradation finale (la minéralisation) dans laquelle une substance est décomposée en ses produits finaux. Au préalable, des échantillons de films ont été congelés sous azote liquide puis broyés avec un broyeur domestique pour obtenir des particules d'environ (1-2) mm.

Les caractéristiques du sol étaient les suivantes : pH 6,8 (H<sub>2</sub>O), 2,3 % en poids de matière organique, 16,85 % en poids d'argile, 26,85 % en poids de chaux et 56,3 % en poids de sable. Les tests de biodégradation ont été effectués dans des récipients cylindriques hermétiques en verre (capacité de 1000 ml) contenant trois petits flacons ouverts en polypropylène (capacité de 60 ml). Le premier flacon contenait 25 g de terre sèche mélangée à des échantillons dont le poids correspondait à 50 mg de carbone. La teneur en eau des échantillons de sol a été ajustée pour atteindre 80 % de la capacité de rétention d'eau du sol (410 ml/g en base humide). Le deuxième flacon contenait 10 ml de solution de NaOH (0,1 M) pour piéger le CO<sub>2</sub> produit par les micro-organismes. La troisième fiole contenait de l'eau distillée, afin de maintenir l'humidité relative à 100 % à l'intérieur du récipient. Les récipients en verre étaient fermés hermétiquement et incubés dans l'obscurité à 28 ± 1 °C. Chaque semaine, les récipients en verre étaient ouverts pour assurer le titrage inverse de l'excès de NaOH, qui n'a pas réagi avec le CO<sub>2</sub>. Avant de titrer le NaOH résiduel avec une solution de HCl en présence de thymophtaléine à 0,10 %, 5 ml de solution de chlorure de baryum étaient ajoutés dans chaque flacon pour précipiter les ions carbonate. Les expériences de biodégradation comprenaient des échantillons témoins et des échantillons à blanc. Les échantillons de contrôle étaient de la cellulose microcristalline, un matériau de référence positif bien connu pour ses propriétés de biodégradation. Les échantillons blancs correspondaient au sol seul, sans ajout d'une source de carbone externe pour mesurer à la fois le CO<sub>2</sub> produit par le substrat carboné du sol et celui présent dans l'air du récipient en verre. Toutes les expériences ont été réalisées trois fois.

### II.3.3. Résultats obtenus

#### a. Biodégradation des charges à base d'OP

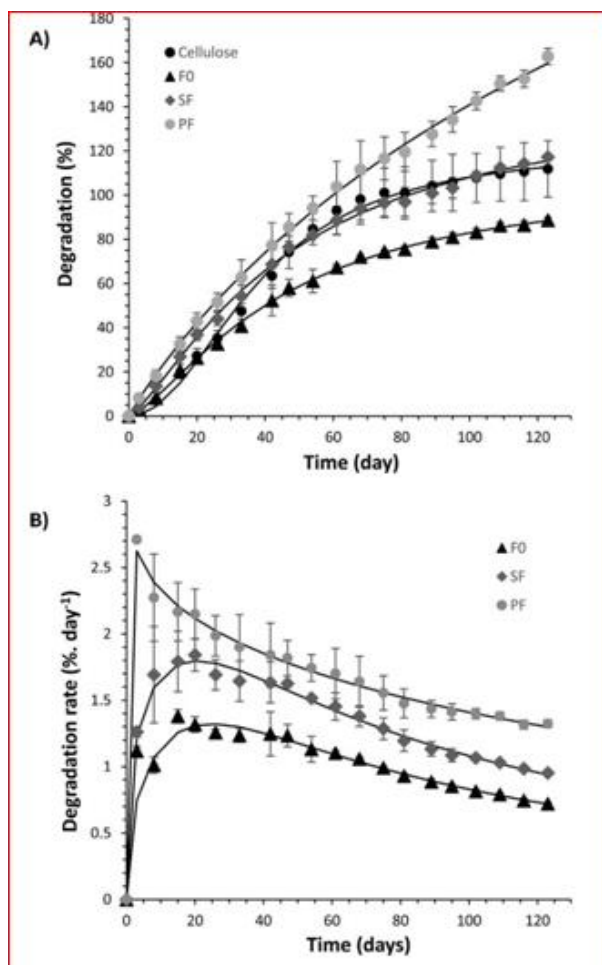
Les résultats ont été calculés en soustrayant la production de CO<sub>2</sub> du blanc. Le potentiel théorique maximum de CO<sub>2</sub> (CO<sub>2</sub> max (mg)) produit par l'oxydation totale du matériau est calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{CO}_2\text{max} = Cx (44,01/12,01) \quad (1)$$

Où C : est la quantité de carbone de l'échantillon introduit dans le sol pour l'essai (mg).

Le pourcentage de biodégradation (B) est calculé par l'équation :

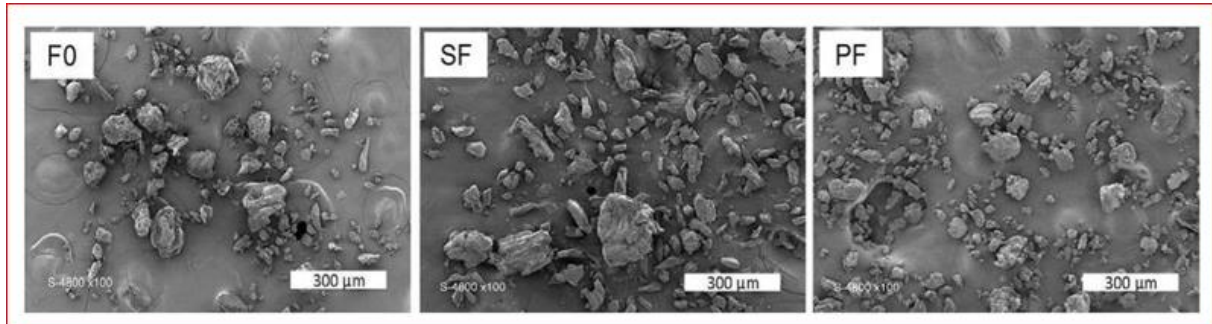
$$B = (\text{CO}_2 \text{ du matériau} - \text{CO}_2 \text{ dublanc}) / \text{CO}_2 \text{ max} \quad (2)$$



**Figure II.16:** Cinétique de la biodégradation (A) et taux de biodégradation (B) des charges à base d'OP dans le sol.

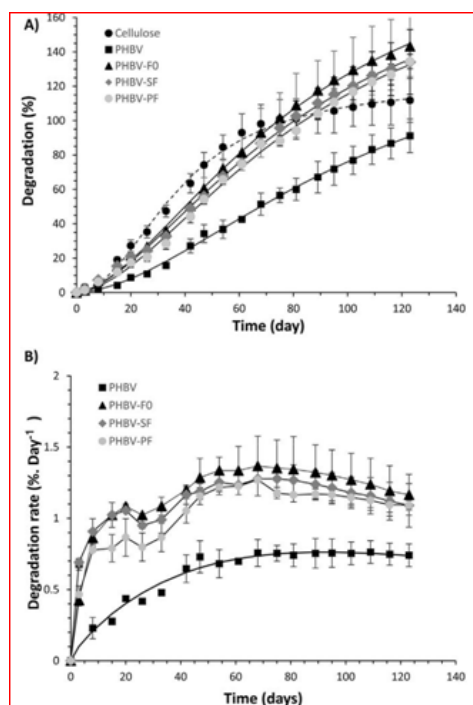
Des tests respirométriques ont été utilisés pour évaluer le degré et la vitesse de biodégradation aérobie des charges à base d'OP et des composites de PHBV en contact avec le sol. L'évolution du  $\text{CO}_2$  fournit un indicateur de la biodégradabilité ultime attribuée à la minéralisation des échantillons testés. La cinétique de biodégradation des trois charges à base d'OP sont présentés sur la figure II.16. Les tests respirométriques réalisés dans la présente étude ont été validés puisque le taux de biodégradation de la cellulose micronisée choisie ici comme matériau de référence, a atteint 70 % après seulement 45 jours, alors que ce seuil devrait être obtenu en moins de 183 jours (6 mois) pour considérer le test comme valide selon les exigences de la norme ASTM D5988-96.

Par rapport à la cellulose dont on sait qu'elle se biodégrade rapidement dans le sol, toutes les charges à base de OP se sont plutôt bien biodégradées, se classant comme suit  $F0 < SF < PF$ , avec un seuil de biodégradation supérieur à 70% (par rapport à la cellulose) atteint en 65, 43 et 37 jours respectivement.



**Figure II.17** : Photos MEB de charge à base de grignons d'olive.

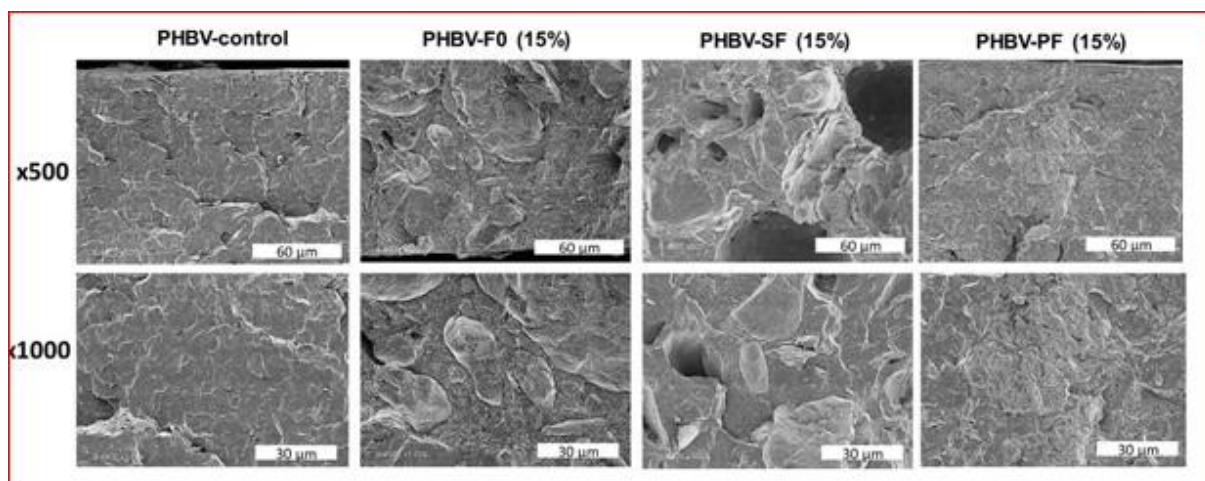
### b. Biodégradation des biocomposites à base d'OP.



**Figure II.18**: Cinétique de la biodégradation (A) et taux de biodégradation (B) des OP/PHBV.

La cinétique de biodégradation du PHBV pur et du OP/PHBV dans le sol, sont présentés sur la figure II.18. Le PHBV pur a présenté une cinétique de dégradation plus lente que les composites à base de OP/PHBV, quelle que soit la fraction OP utilisée comme charge. L'incorporation de charges OP jusqu'à 15 % en poids dans le PHBV accéléreraient la biodégradation des matériaux composites par rapport au polymère pur. En conclusion, les biocomposites à base de PHBV pourraient être considérés comme nettement plus biodégradables que la matrice

vierge de PHBV, quelles que soient les fractions OP utilisées. Le suivi de l'évolution du dioxyde de carbone au fil du temps par respirométrie a révélé que la cinétique de biodégradation des matériaux biocomposites suivait l'ordre : PHBV < PHBV-PF < PHBV-SF < PHBV-F0. Après 123 jours d'incubation dans le sol, les formulations PHBV-PF et PHBV-SF ont dépassé 134 % de biodégradation, et le film PHBV-F0 a dépassé 143 %.



**Figure II.19:** Images MEB de surfaces de biocomposites à base d'OP/PHBV.

L'étude microstructurale des matériaux composites révèle que la section transversale du PHBV présente une surface homogène et lisse, au contraire, les sections transversales des films PHBV-F0 et PHBV-SF qui sont rugueuses, avec l'apparition de fissures et de vides à l'interface OP/PHBV, cela permettrait aux micro-organismes de se fixer et de former des biofilms colonisant la surface du matériau. Dans le cas des composites PHBV/PF, les particules ont été entièrement mouillées par la matrice polymère, ce qui indique une bonne adhésion interfaciale charge/matrice. Ceci a été attribué à la grande affinité entre les charges PF et la matrice PHBV. En conséquence le matériau composite PHBV-PF se biodégrade à un taux inférieur à celui des deux autres composites contenant des charges F0 et SF.

#### II.3.4. Conclusion

Les résultats ont révélé que l'incorporation de charges à base d'OP dans les PHBV accélérât la cinétique de biodégradation des composites, qui dépassait 100 % au bout de 4 mois. Ces résultats ont été confirmés par les observations au MEB.

# **Conclusion générale**

### Conclusion générale

Le PHBV présente des propriétés particulièrement intéressantes en termes de biodégradation. L'objectif de notre travail a été l'étude de l'effet de trois facteurs principaux : la température, le milieu de dégradation et l'ajout de charge (OP) sur la biodégradation du PHBV. Cette dégradation a été caractérisée par des changements sur la morphologie, la masse, la masse molaire et le taux de dégradation.

Sur la base des différentes études effectuées qu'on a pu consulter et étudier on a pu tirer les principales conclusions suivantes :

- Il existe plusieurs facteurs qui peuvent affecter la biodégradation, parmi lesquels les paramètres physico chimiques de l'écosystème tel que la température, le pH, la teneur en oxygène ou encore les populations microbiennes.
- La dégradation du PHBV n'a pas d'effets négatifs sur l'environnement.
- La température favorise et augmente la biodégradation du PHBV.
- Le PHBV est décomposé par des mécanismes enzymatiques.
- Les données de dégradation obtenue diffèrent selon les conditions de milieu (compostage, sol, milieu marin).
- La présence de charge naturelle (comme le grignon d'olive) dans la matrice PHBV accélère le phénomène de dégradation.

Cette étude constitue une contribution à la recherche de solution sur la problématique liée à la durabilité des matières plastiques et en particulier les emballages plastiques. On a vu à travers ce travail que le PHBV est un composé biosourcé, biodégradable et compostable et les exemples sélectionnés dans notre synthèse montrent la diversité des efforts de recherche menés sur les biopolymères et en particulier sur les polyhydroxyalcanoates dans la perspective de les inscrire dans la problématique du développement durable.

# **Références bibliographiques**

### Références bibliographiques

- [1]. Fouzia Jbilou, Pascal Degraeve, et Issam Sebti, Synthèse sur les différentes méthodes d'évaluation de la biodégradabilité des polymères à base de ressources renouvelables Université Claude Bernard Lyon 1.
- [2]. Nathalie Jarroux, Les biopolymères : différentes familles, propriétés et applications, technique de l'ingénieur.
- [3]. Aimesther Ojitobetan court ; analyse, extraction et récupération de poly-3hydroxybutyrate présent dans la biomasse, université du Québec à Montréal, janvier 2008 ; mémoire présenté comme exigence partielle de la maîtrise en chimie.
- [4]. Jean-Luc Wertz ; Polymères biobasés : amidon, PLA, PHA, PE et PET ; valbiom novembre 2016.
- [5]. Lenz RW, Marchessault RH. Bacterial polyesters: biosynthesis, biodegradable plastics and biotechnology. *Bio macromolécules* 2005;6(1):1–8.
- [6]. P. Weiss ; la chimie des polymères ; p4 .
- [7]. Amirouche Chikh ; Etude des mélanges PHBV/PBS et des mélanges hybrides PHBV/PBS/sépiolite : Préparation, Caractérisation physico-mécanique et Durabilité » Thèse de doctorat.
- [8]. Direction des Energies Renouvelables, des Réseaux et des Marchés Energétiques Hilaire BEWA ; Matériaux polymères biodégradables et applications ; Note de synthèse II p2 ,4.
- [9]. Fatma Ben Dhieb Maîtrise en génie chimique ; mémoire développement et caractérisation de films biodégradables à base d'acide polylactique et de chitosane ; p5.
- [10]. J. Macromol, Avérous L (2004),. *Sci C Polym. Rev.* 3,231.
- [11]. D. Wyart. Les polymères biodégradables, *Techniques de l'Ingénieur*, publication am3579, 2007, 23 p.
- [12]. Delphine Rutot, Philippe Dubois *Chimie des matières renouvelables* p67.



## Références bibliographiques

---

- [13]. Rabetafika Holy Nadia, Paquot Michel, Dubois Philippe. Les polymères issus du végétal : matériaux à propriétés spécifiques pour des applications ciblées en industrie plastique. *Biotechnologie Agronomie Société et Environnement*, 2006, 10(3) :p. 185–196.
- [14]. Quelenis Nina. Les bioplastiques : caractéristiques et réglementation. Fiche technique emballage, Avril 2008 N°45.
- [15]. Middleton Jc, Tipton AJ. Synthetic biodegradable polymers as medical devices. *Med Plast Biomater Mag*, March 1998: p. 30–39.
- [16]. Hasirci V, Lewandrowski k, Gresser JD, Wise DL, Trantolo DJ. Versatility of biodegradable biopolymers: degradability and an in vivo application. *J Biotechnol*, 2011, (86): p. 135–150.
- [17]. Auras R., Harte B., Selke S. (2004). An overview of polylactides as Packaging Materials. *macromol.biosci.*4,p.835-864.
- [18]. Okada M. (2002). Chemical syntheses of biodegradable polymers. *Prog. Polym. Sci.*27, p. 87–133.
- [19]. Vert M. (2002). Polymères de fermentation. Les polyacides lactiques et leurs Précurseurs, les acides lactiques. *Actual. Chim.* 11-12, p. 79–82.
- [20]. A. Babanalbandi, D.J.T. Hill, J.H. O'donnell, P.J. Pomery. «An electron Spin Resonance Analysis on [Gamma]-irradiated Poly(Glycolic acid) and its copolymers with Lactic Acid, *Polym. Degrad. Stab.* 52 (1996) 59-66.
- [21]. M.L. Cairns, A. Sykes, G.R. Dickson, J.F. Orr, D. Farrar, A. Dumba, F.J. Buchanan. «Through-Thickness control of polymer bioresorption via electron beam irradiation, *Acta Biomater.* 7, (2011), 548-557.
- [22]. M.L. Cairns, G.R. Dickson, J.F. Orr, D. Farrar, K. Hawkins, F.J. Buchanan, «Electronbeam treatment of Poly(Lactic Acid) to control degradation profiles». *Polymer Degradation and Stability*, 96, (2011), 76-83.
- [23]. Jean-Luc Audic, Patrick Loulergue et Lydie Paugam,. Le PHA, un bioplastique bactérien. *L'actualité chimique* - juillet-août 2017 - n° 420.

## Références bibliographiques

---

- [24]. A. Elain, A. Le Grand, Y.-M. Corre, M. Le Fellic, N. Hachet, S. Bruzard V. Le Tilly, et al., Valorisation of local agro-industrial processing waters as growth media for polyhydroxyalkanoates (PHA) production, *Ind. Crops Prod.* 80 (2016) 1–5.
- [25]. Thibaut Gerard ; Elaboration et caractérisation de matériaux multiphasiques à base de polylactide (PLA) et de polyhydroxyalcanoates (PHA).2013.
- [26]. Salima Kennouche Étude de la Morphologie de Nanobiocomposites de Poly(3 Hydroxybutyrate-co-3-Hydroxyvalerate) (PHBV)/Nanotubes d'Halloysite et Évaluation de leurs Performances 2016.
- [27]. Ahmad Parveez Ghulam Kadir ;Novel products from transgenic oil palmArticle in CAB Reviews Perspectives in Agriculture Veterinary Science Nutrition and Natural Resources · January 2003.
- [28]. Vasile,G.Zaikov. " Environmentally Degradable Materials Based on Multicomponent Polymeric Systems"2012.
- [29]. Longieras Antoine. Mise au point d'un milieu solide inerte pour l'étude de la biodégradation des polymères dans le compost. Université de Reims Champagne Ardenne, 2005, 161p.
- [30]. ISO, Plastiques - Evaluation de l'action des micro-organismes. Organisation internationale de normalisation, 1997. Norme internationale ISO 846.
- [31]. Deroine M., A. L. Duigou, Corre Y.M. , Gac P.Y. , Davies P. , Cesar G. C. , Bruzard S. ,Accelerated ageing and lifetime prediction of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) in distilled water, *Polymer Testing* 39 (2014) 70-78.
- [32]. S. M. Li, I. Rashkov, J. L. Espartero, N. Manolova, M. Vert: Synthesis, characterization, and hydrolytic degradation of PLA/PEO/PLA triblock copolymers with long poly (l-lactic acid) blocks, *Macromolecules*, 29, 57-62, 1996.
- [33]. Lionel Sambha'a , contribution à l'étude de la structure et de la texture du PLA. Effet de la dégradation hydrothermale, Thèse doctorat, l'université de haute alsace.
- [34]. Chandra R., Rustgi R., Biodegradable polymers, *Progress in Polymer Science*, 23(1998) 1273-1335.

## Références bibliographiques

---

- [35]. Keiji Numata, Hideki Abe, and Tadahisa Iwata; Biodegradability of Poly(hydroxyalkanoate) materials ISSN 1996-1944.
- [36]. Erfan Dabaghi Zadeh; Développement et caractérisation de films biodégradables à base d'acide polylactique et de chitosane; p9.
- [37]. A.A. Shah, F. Hasan, A. Hameed, S. Ahmed. Biological degradation of plastics: A comprehensive review. *Biotechnology Advances*, Volume 26, Issue 3, May–June 2008, Pages 246-265, ISSN 0734- 9750.
- [38]. Direction des Energies Renouvelables, des Réseaux et des Marchés Energétiques Hilaire BEWA, Biodégradabilité et matériaux polymères biodégradables Note de synthèse I. p3.
- [39]. Deroiné M., thèse de doctorat, Université de Bretagne-Sud, 2014.
- [40]. Nikolic M. A. L., Dean K., Halley P. J., Chapter 16 Biodegradation and Applications of Nanobiocomposites, Avérous L. Pollet E. (eds.), *Environmental Silicate Nano-Biocomposites, Green Energy and Technology* 2012.
- [41]. Iggui Kahina; Etude de la Durabilité de Matériaux Nanobiocomposites à Base de Poly(3-Hydroxybutyrate-Co-3-Hydroxyvalérate)(PHBV)/Cloisite 30B dans Différents Environnements; , Thèse doctorat . Université A. Mira-Bejaia.
- [42]. EN ISO 14851, Determination of the ultimate aerobic biodegradability of plastic materials in an aqueous medium-method by measuring the oxygen demand in a closed respirometer, 2004.
- [43]. Kunioka M., Ninomiya F., Funabashi M., Biodegradation of poly (lactid acid) powders proposed as reference test materials for the international standard of biodegradation evaluation method with a microbial community, *Polymer Degradation and Stability* 91 (2006) 1919.
- [44]. Cesaro A., Belgiorno V., Guida M., Compost from organic solid waste: Quality assessment and European regulations for its sustainable use, *Resources, Conservation and Recycling* 94 (2015) 72-79.
- [45]. Handbook of Biodegradation and Bioremediation, Asrtcs (norms).

## Références bibliographiques

---

- [46]. N.T. Lotto et al, The effect of temperature on the biodegradation test; *Materials Science and Engineering C* 24 (2004) 659 – 662.
- [47]. A.M. Reed, D.K. Gilding, *Polymer* 22 (1981) 494.
- [48]. Y.-X. Weng et al, Biodegradation behavior of PHBV films in a pilot-scale composting condition, *Polymer Testing* 29 (2010) 579–587.
- [49]. C. Eldsäter et al, Effect of abiotic factors on the degradation of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) in simulated and natural composting environments, *Polymer Degradation and Stability* 64 (1999) 177±183.
- [50]. T.G. Volova et al, Biodegradation of polyhydroxyalkanoates (PHAs) in tropical coastal waters and identification of PHA-degrading bacteria, *Polymer Degradation and Stability* 95 (2010) 2350e2359.
- [51]. Beleneva IA, Zhukova NV, Le Lan H, Nguyen Tran DH. Taxonomic composition of bacteria associated with cultivated mollusks *Crassostrea lugubris* and *Perna viridis* and with the water of the Gulf of Nha Trang Lagoon, Vietnam. *Micro-biology* 2007;76(2):220e8.
- [52]. Beleneva IA, Zhukova NV. Seasonal dynamics of cell numbers and biodiversity of marine heterotrophic bacteria inhabiting invertebrates and water ecosystems of the Peter the Great Bay, Sea of Japan. *Microbiology* 2009;78(3): 369e75.
- [53]. S. Lammi et al. How olive pomace can be valorized as fillers to tune the biodegradation of PHBV based composites *Polymer Degradation and Stability* 166 (2019) 325e3.

## Résumé

Ce travail a consisté en l'étude de l'effet de trois facteurs principaux sur la biodégradation des poly(hydroxyalcanoates) (PHAs), en particulier le PHBV. Il est divisé en deux parties. La première partie est consacrée à un rappel des propriétés et applications des biopolymères et en particulier le PHBV, des mécanismes de dégradation, de biodégradation et des paramètres exerçant une influence sur cette dégradation. La deuxième partie est consacrée à l'étude de l'effet de la température, du milieu et de l'incorporation d'une charge sur la dégradation du PHBV. Les résultats obtenus ont été discutés par rapport aux polymères de base en termes de morphologie, de masse et masse molaire. Les résultats ont montré que le PHBV se détériorait plus rapidement sous l'influence des facteurs précédents.

## Abstract

This work consisted of a study on the effect of three main factors on the biodegradation of PHAs, particularly (PHBV). It is divided into two parts. The first part consisted of a reminder of the properties and applications of biopolymers and in particular PHBV, the mechanisms of degradation, biodegradation and the parameters exerting an influence on this degradation. The second part is devoted to the study of the effect of temperature, environment and the incorporation of a charge on the degradation of PHBV. The results obtained were discussed with respect to the basic polymers in terms of morphology, mass and molar mass. The results showed that PHBV deteriorated more rapidly under the influence of the above factors.

## ملخص:

يشمل هذا العمل دراسة تأثير ثلاثة عوامل رئيسية على التحلل البيولوجي للبولي (3 هيدروكسي بيوتيرات-3 هيدروكسي فاليرات) و هو مقسم الى جزأين خصص الجزء الاول لدراسة خصائص وتطبيقات البوليمرات الحيوية وخاصة البولوي (3 هيدروكسي بيوتيرات-3 هيدروكسي فاليرات) ، آليات التحلل والتحلل البيولوجي وكذلك العوامل المؤثرة عليها. الجزء الثاني خصص لدراسة تأثير الحرارة، البيئة وتأثير إدماج الشحنة على هذا التحلل، تمت مناقشة النتائج التي تم الحصول عليها من حيث الشكل، الكتلة والكتلة المولية، أظهرت النتائج أن التحلل يكون أسرع تحت تأثير العوامل السابقة.