

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات
Ecole Nationale Polytechnique

ÉCOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

DEPARTEMENT DE GENIE DE L'ENVIRONNEMENT

LABORATOIRE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE L'ENVIRONNEMENT

Projet de fin d'études

*Pour l'obtention du diplôme
D'Ingénieur d'Etat en Génie de l'Environnement*

Présenté par : Melle TOUNSI HANANE

Thème

BIODEGRADATION D'UN POLYMERE SYNTHETISE A PARTIR D'HUILE VEGETALE

Soutenu le 27/06/2011 devant le jury :

Président :	Mr KERBACHI Rabah	Professeur	ENP
Examineur :	Mr GRIB Hocine	Maitre de conférences	ENP
Promotrices :	Mme Belhaneche Naima	Professeur	ENP
	Mme Irinislimane Ratiba	Maitre assistante	UMBB
Invitée :	Mme Chemlal Radia	Doctorante	ENP

ENP 10, Avenue Hassan Badi, El-Harrach, Alger.

Année universitaire 2010/2011

Dédicaces

Je dédie ce travail

A ma très chère mère qui a trop souffert pour nous

A ma grand mère et mon grand père

Que dieu les garde

A mes sœurs et mes frères: Fella , Amina , Amine et Bilel.

A mes oncles, mes tantes et leurs familles.

A tous mes amis sans exception

ET à tous ceux qui me connaissent de près ou de loin.

Remerciements

Avant tout, je remercie **Allah** qui m'a donné la patience et le courage pour arriver à faire ce travail.

Je remercie vivement mes deux promotrices, madame **N.BELHANECHÉ**, professeur à l'ENP, et madame **R. IRINISLIMANE**, maître-assistante à l'université de Boumerdes et chercheur au sein du Laboratoire des Sciences et Techniques de l'Environnement (LSTE) pour m'avoir suivie et soutenue pour réaliser ce travail. Je leur exprime ma gratitude pour leur disponibilité, leurs précieux conseils et pour le soutien qu'elles m'ont apporté tout au long de la préparation de ce mémoire.

Je tiens à remercier monsieur **R.KERBACHI**, professeur à l'ENP, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider le jury de ma soutenance.

Mes vifs remerciements vont aussi à monsieur **H.GRIB**, maître de conférences à l'ENP, pour avoir accepté d'évaluer ce travail.

Je remercie également madame **R.Chemlal**, doctorante à l'ENP, d'avoir accepté d'être dans mon jury.

Ma reconnaissance va également à l'ensemble du personnel du département pédologie de l'INA pour leur accueil et leur aide.

Un énorme remerciement assez particulier est adressé à **Melle Lamia** ainsi qu'à **Melle Hassina**, étudiantes en magister à l'INA qui m'ont beaucoup aidée.

Mes remerciements vont aussi à **Ami Amar**, technicien au laboratoire de pédologie de l'INA pour toute l'aide qu'il m'a apportée lors de mes travaux pratiques à l'INA, je le remercie vivement pour sa collaboration.

Je n'oublierai pas de remercier madame **F.ZERROUK**, chargée de cours à l'INA, pour ses précieuses informations et explications.

Je remercie aussi monsieur **Y.Kerchiche** pour l'analyse chromatographique en phase gazeuse.

Je remercie particulièrement monsieur **Bahloul** de m'avoir aidé ainsi que ses précieux conseils.

Un remerciement spécial a Ahmed pour son précieux aide, je le remercie infiniment.

Enfin, je tiens à remercier toute personne qui a contribué à la réalisation de ce travail.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau II.1: Températures critiques de quelques huiles végétales.....	24
Tableau III.1: Echelle texturale (taille des grains).....	33
Tableau III.2: les organismes du sol.....	35
Tableau III.3 : Constituants du sol.....	36
Tableau V.1 : Substances d'essai.....	43
Tableau VI.1 : Caractéristiques du sol utilisé.....	56
Tableau VI.2 : Composition du sol utilisé.....	56

LISTE DES FIGURES

Figure I.1 : Mécanismes de biodégradation, deux phases essentielles.....	7
Figure I.2: courbe de croissance microbienne et de consommation du substrat.....	17
Figure I.3 : Évolution du taux de croissance bactérienne μ en fonction du substrat.....	18
Figure II.1: Polymère développé à base d'huile de castor.	27
Figure IV.1 Schéma d'un spectrophotomètre.....	40
Figure IV.2 Schéma d'un appareil de CPG.....	41
Figure V.1: Polymère d'essai.....	45
Figure V.2: Différentes étapes de détermination de la biomasse.....	49
Figure V.3: Extracteur Soxhlet.....	53
Figure V.4: Dispositif de respirométrie.....	57
Figure VI.1 : Biomasse bactérienne.....	58
Figure VI.2: Production quotidienne de CO ₂	59
Figure VI.3: Production cumulée de CO ₂	60
Figure VI.4 : Evolution du taux de biodégradation en fonction du temps.....	62
Figure VI.5 : Chromatogrammes de l'extrait l'HTE.....	62
Figure VI.6 : Chromatogrammes de l'extrait de l' HTEA.....	63
Figure VI.7 : Chromatogrammes de l'extrait du polymère.....	63
Figure VI. 8: Chromatogrammes du solvant.....	65
Figure VI. 9: Spectres IRTF de l'HTE avant et après biodégradation.....	65
Figure VI. 10: Spectres IRTF de l'HTEA avant et après biodégradation.....	65
Figure VI. 11: Spectres IRTF du polymère avant et après biodégradation.....	66
Figure VI.12 : Surface du polymère avant enfouissement dans le sol.....	67
Figure VI.13 : Surface du polymère après 15 jours d'enfouissement dans le sol.....	67
Figure VI.14 : Surface du polymère après 48 jours d'enfouissement dans le sol.....	67

LISTE D'ABREVIATIONS

ADN : Acide désoxyribose nucléique.

C.O : Carbone organique.

C.O.T : Carbone organique totale.

CO₂ : Dioxyde de carbone.

CH₄: Méthane.

CPG : Chromatographie en phase gazeuse.

HCl : Acide chlorhydrique.

HTE : Huile de tournesol époxydée.

HTEA : Huile de tournesol époxydée acrylée.

HPLC : Chromatographie à haute performance.

IRTF : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier.

MO : Matière organique.

NaOH : Hydroxyde de Sodium.

NH₃ : Ammoniac.

N₂O : Protoxyde d'azote.

PVC : Polychlorure de vinyle.

RMN : Résonance magnétique nucléaire.

UV : Ultra violet.

Sommaire

Dédicaces.	
Remerciements.	
Liste des tableaux.	
Liste des figures	
Liste d'abréviations	

INTRODUCTION GENERALE	1
------------------------------------	---

CHAPITRE I : La biodégradation

I.1 Introduction.....	4
I.2 Définition.....	4
I.3 Mécanismes de dégradation	5
I.3.1 Hydrolyse chimique.....	5
I.3.2 Hydrolyse biologique.....	5
I.3.3 Oxydation biologique.....	5
I.4 Etapes de la biodégradation.....	6
I.4.1 Première étape.....	6
I.4.2 Seconde étape.....	6
I.5 Eléments, facteurs influençant la biodégradation.....	7
I.5.1 Conditions de la biodégradation.....	7
I.5.1.1 Conditions aérobies.....	7
I.5.1.2 Conditions anaérobies.....	7
I.5.2. Facteurs biologiques du milieu de dégradation.....	7
I.5.2.1 Miro-organismes.....	7
I.5.2.2 Enzymes.....	8
I.5.3. Paramètres intervenant dans la biodégradation.....	9
I.5.3.1 Paramètres physico-chimiques.....	9
I.5.3.2 Paramètres microbiologiques.....	10
I.5.3.3 Structure et propriétés des polymères.....	10
I.5.3.4 Conditions de transformation et additifs incorporés dans le polymère.....	11
I.6. Polymères biodégradables.....	11
I.6.1 Polymères naturels synthétisés par les systèmes vivants.....	11
I.6.2 Polymères artificiels issus de l'agrochimie ou de la pétrochimie.....	11
I.6.3 Polymères composites.....	11
I.6.4 Polymères additifs pour être oxo-biodégradables.....	11
I.7. Test d'étude de la biodégradabilité des polymères.....	12
I.7.1 Tests in situ.....	12
I.7.2 Tests in vitro.....	12
I.8 Méthodes d'évaluation de la biodégradabilité des polymères.....	12
I.8.1 Méthodes microbiologiques.....	13
I.8.1.1 Méthode des zones claires.....	13
I.8.1.2 Méthode d'envahissement.....	13
I.8.1.3 Méthode respirométrique.....	13
I.8.1.4 Méthode de mesure de perte de poids du polymère.....	14
I.8.2 Méthode enzymatique.....	15
I.9 Croissance bactérienne.....	15
I.9.1 Courbe de croissance.....	15
I.9.2 Modélisation de la courbe de croissance.....	17
I.9.3 Croissance en milieu non renouvelé.....	18

Sommaire

CHAPITRE II : Les huiles végétales

II.1. Introduction.....	20
II.2. Définition	20
II.3. Origine des huiles végétales.....	21
II.4. Composition en acides gras.....	21
II.5. Propriétés et utilisations.....	23
II.6. Rôle.....	24
II.7. Modification chimique des huiles végétales.....	25
II.8. Polymères synthétisés à base d'huile végétale	26
II.9. Méthodes de polymérisation.....	27
II.9.1. Polymérisation radicalaire ou vinylique.....	27
II.9.2. Polymérisation par polyaddition.....	28
II.9.3. Polymérisation par polycondensation	29

CHAPITRE III : Le sol

III.1 Introduction	30
III.2 Définition.....	30
III.3 Formation du sol.....	30
III.4 Fonctions du sol.....	31
III.4.1 Fonctions économiques.....	31
III.4.1 Fonctions écologiques.....	31
III.4.1 Fonctions biologiques.....	32
III.5 Propriétés du sol.....	32
III.5.1 Propriétés physiques.....	32
III.5.1.1 La texture.....	33
III.5.1.2 La structure.....	33
III.5.1.3 La porosité.....	33
III.5.1.4 Le régime hydrique, l'eau du sol.....	33
III.5.2 Propriétés chimiques.....	34
III.5.2.1 La capacité d'échange.....	34
III.5.2.2 Le pH.....	34
III.5.2.3 La température.....	34
III.5.2.4 Le potentiel d'oxydoréduction.....	34
III.5.3 Propriétés biologiques.....	35
III.5.3.1 Les microorganismes.....	35
III.5.3.2 la faune.....	35
III.6 Constituants des sols.....	35
III.7 Biodégradation des matières organiques dans les sols.....	36
III.8 Contamination des sols.....	37
III.9 Quelques procédés de traitement des sols.....	37

CHAPITRE IV: Méthodes de caractérisations utilisées

IV.1 Introduction.....	39
IV.2 Spectroscopie infrarouge a transformée de Fourier.....	39
IV.3 Chromatographie en phase gazeuse.....	41

Sommaire

CHAPITRE V: Méthodologie expérimentale

V.1 Produits utilisés.....	43
V.1.1 Substances d'essais.....	43
V.1.2 Sol utilisé.....	45
V.2 Méthodes d'analyses du sol.....	45
V.2.1 Analyse physico-chimiques du sol.....	46
✓ Détermination du PH réel.....	46
✓ Granulométrie.....	46
✓ Mesure de la capacité de rétention en eau.....	46
✓ Mesure de l'humidité à la capacité de rétention en eau.....	46
✓ Détermination du phosphore assimilable.....	46
V.2.2 Analyses biologiques du sol.....	47
✓ Dosage du carbone organique totale.....	47
✓ Dosage de l'azote total.....	47
V.3 Biomasse microbienne.....	48
V.3.1 Préparation des dilutions.....	48
V.3.2 Ensemencement et incubation.....	48
V.3.3 Dénombrement de la flore totale.....	48
V.4 Test de respirométrie.....	49
V.4.1 Critères de validité.....	50
V.4.2 Principe.....	50
V.4.3 Dispositif d'incubation.....	50
V.4.4 Dispositif de déplacement de CO ₂	50
V.4.5 Dosage du CO ₂ dégagé.....	51
V.4.6 Calcul du taux de biodégradation.....	52
V.5 Extraction au soxhlet.....	52
V.6 Caractérisation des extraits par chromatographie en phase gazeuse.....	55
V.7 Caractérisation des extraits par spectroscopie infrarouge.....	55
V.8 Analyse microscopique.....	55

CHAPITRE VI: Résultats obtenus et discussion

VI.1 Caractéristiques du sol.....	56
VI.2 Composition du sol utilisé.....	56
VI.3 Résultats de la biomasse microbienne.....	56
VI.4 Test de respirométrie.....	57
VI.4.1 production quotidienne de CO ₂	57
VI.4.2 production cumulée de CO ₂	59
V.4.3 Taux de biodégradation.....	59
V.4: Analyse chromatographique en phase gazeuse.....	61
V.5 Analyse spectroscopie par infrarouge.....	64
V.6 Observation microscopique.....	66
Conclusion générale.	
Références bibliographiques.	
Annexes.	

INTRODUCTION

GÉNÉRALE

INTRODUCTION

GÉNÉRALE

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Une des propriétés fondamentales des matières plastiques qui a largement contribué à leur succès commercial est leur inertie vis à vis des agressions d'origine biologique et/ou physico-chimique. Cette particularité, alliée à d'autres avantages, comme le faible coût de production, le rapport poids/volume ou encore une mise en forme aisée, a permis de multiples applications dans tous les domaines [1] : l'emballage, le bâtiment, le transport, les équipements électriques et électroniques, l'ameublement et la décoration, le loisir . Ainsi, les plastiques protègent « tout de tout », ils sont présents dès qu'il est question de mettre une barrière entre un produit, quel qu'il soit, et son environnement extérieur [1].

Si cette résistance aux divers facteurs de dégradation et d'altération est une des principales qualités des matériaux plastiques au cours de leur utilisation [1], elle est également la raison pour laquelle l'accumulation de déchets plastiques en fin de vie est devenue un problème environnemental majeur. Les plastiques courants, comme le polyéthylène ou le polypropylène, demeurent très longtemps dans un milieu naturel en se dégradant lentement par fragmentations successives. Ce processus lent entraîne la disparition visuelle d'une masse de déchets par la dissémination de particules plus ou moins importantes qui vont envahir tous les écosystèmes. Une autre conséquence peut être un mode de dégradation qui va entraîner la concentration dans les sols de composés toxiques pour le développement de la flore, comme la libération de diisocyanates dans le cas des polyuréthanes. De manière générale, on peut dire que n'importe quel matériau qui sera stocké dans la nature, et dont nous ne connaissons pas, ou ne savons pas gérer le mode de dégradation, sera un danger potentiel pour notre environnement [1].

Il existe plusieurs voies pour diminuer les déchets dus aux matières plastiques. D'abord, l'incinération, mais cela produit l'émission importante du CO₂ et certains matériaux comme le polychlorure de vinyle (PVC) peuvent conduire au dégagement de gaz toxiques, ensuite, le recyclage, mais il n'est malheureusement pas possible de recycler indéfiniment car les propriétés mécaniques diminuent à chaque recyclage. De plus, il y a des difficultés de collecte, de tri et de recombinaison à cause des sources de plastiques très variées. Enfin l'enfouissement mais ce n'est pas une solution efficace car les plastiques issus de la

pétrochimie ne sont pas biodégradables, et peuvent interagir avec le milieu au contact en relarguant les additifs qu'ils contiennent [2,3].

La voie des matières plastiques dites biodégradables permet à la fois de répondre à la question des ressources renouvelables et à celle de la biodégradabilité. La prise de conscience croissante des problèmes liés à l'environnement, la diminution des espaces pouvant être convertis en décharges, associés à la raréfaction du pétrole avec les conséquences économiques que cela entraîne, incite à trouver de nouvelles solutions plus judicieuses pour traiter le problème que représentent, aujourd'hui, les matières plastiques d'origine pétrochimique [4].

Une alternative serait de remplacer les quantités de matières plastiques non dégradables par des substituts biodégradables et éco-compatibles, dont les chaînes carbonées, si elles sont issues de matières renouvelables, font partie du cycle naturel du carbone, et sont donc recyclables par compostage ou par combustion. Ces matériaux sont obtenus à partir de polymères biodégradables. Différentes sources de polymères peuvent être utilisées pour produire de tels matériaux. Ainsi, selon l'origine des matières premières et les 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. De tels matériaux biodégradables sont en plein essor depuis quelques années [2].

Le présent travail porte sur l'étude de la biodégradabilité de différentes substances issues de l'huile de tournesol et qui sont l'huile de tournesol époxydée (HTE), l'huile de tournesol époxydée acrylée (HTEA) et un caoutchouc (polymère solide) synthétisé à partir de l'HTE et l'acide succinique.

On a procédé à l'étude de la biodégradabilité par respirométrie en se basant sur la détermination de la production de CO_2 dégagé par l'activité microbienne pour dégrader les substances d'essai considérées (HTE, HTEA et le polymère solide).

Une fois l'essai de respirométrie terminé, on a procédé à l'extraction des huiles et du polymère à partir du milieu de dégradation (le sol) afin de récupérer ces substrats dégradés pour procéder ensuite à des analyses chromatographie en phase gazeuse et par spectroscopie

infrarouge afin d'identifier les modifications structurales des substrats dues à l'attaque bactérienne.

Le présent mémoire comporte 6 chapitres.

Les chapitres I , II et III comportent, respectivement, des généralités sur la biodégradation, les huiles végétales et le sol.

Le chapitre IV décrit les méthodes d'analyses utilisées.

Le chapitre V décrit la méthodologie expérimentale adoptée.

Le chapitre VI regroupe les résultats obtenus et leur discussion.

CHAPITRE I

LA

BIODÉGRADATION

I.1 INTRODUCTION :

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 petites tailles. Ces derniers sont assimilables par les micro-organismes pour leur biosynthèse en libérant du CO₂ et de l'eau.

Ce n'est pas le cas des thermoplastiques non dégradables (PE, PP, etc.) dont le squelette carboné est constitué de liaisons covalentes C—C stables.

Grâce aux enzymes qu'elles sécrètent, les micro-organismes peuvent utiliser les polymères et leurs produits de dégradation comme source de carbone et d'énergie. Les champignons et les bactéries en sont les principaux acteurs.

Les polysaccharides comme les amidons sont dégradés par les enzymes pour libérer des sucres. La biodégradabilité des polymères à base d'amidon apparaît dès le premier jour. Ils sont directement assimilables par les micro-organismes.

La dégradation s'opère en deux étapes ; elle s'effectue par **hydrolyse** et par **fragmentation**, par rupture de la liaison ester dans la chaîne macromoléculaire. Pour cela, la masse molaire est réduite jusqu'à ce que l'acide lactique et les oligomères de basses masses molaires soient métabolisés naturellement par les micro-organismes en produisant du CO₂ et de l'eau (H₂O). La dégradation est plus rapide dans un environnement à grande humidité, par exemple les systèmes de compostage actifs. Inversement, des températures basses et un faible taux d'humidité de l'air diminuent passablement la dégradation [4].

I.2 DEFINITION :

La **biodégradation** peut être décrite comme un phénomène de dégradation, de décomposition de matières organiques par **l'action des micro-organismes** (bactéries, enzymes, champignons). Il s'agit d'une fragmentation avec modification chimique et perte des propriétés mécaniques.

Le matériau est converti en dioxyde de carbone (CO₂), en eau (H₂O), et/ou en méthane (CH₄) et éventuellement en une nouvelle biomasse et des résidus. La norme CEN 15351:2006 (Plastiques - Guide pour le vocabulaire dans le domaine des polymères et des produits plastiques dégradables et biodégradables) définit :

- la **biodégradabilité** d'un polymère : aptitude à subir une biodégradation ;

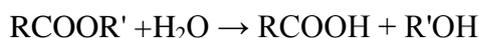
- la **biodégradation** : la dégradation d'un système polymère due à un phénomène résultant de l'action de cellules ;
- l'**oxo-biodégradation** : dégradation identifiée combinant des phénomènes oxydatifs et l'action des cellules, ces phénomènes étant simultanés ou successifs [5].

1.3 MECANISMES DE DEGRADATION :

L'hydrolyse et l'oxydation peuvent être initiées par des composés chimiques ou biologiques [6] :

II.3.1. Hydrolyse chimique :

L'hydrolyse chimique est catalysée par un composé acide ou basique. Dans le cas particulier des polyesters, la réaction est la suivante :



Le sous-produit RCOOH est un acide qui est capable d'accélérer l'hydrolyse par autocatalyse. D'un point de vue macroscopique, cette hydrolyse s'effectue en deux étapes : La première est une hydrolyse chimique au hasard de la chaîne, qui conduit à une diminution de la masse moléculaire. Au cours de la deuxième étape, les fragments moléculaires sont solubilisés et assimilés par un processus biologique. Cette dégradation a lieu préférentiellement dans la partie amorphe du polymère.

II.3.2. Hydrolyse biologique :

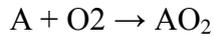
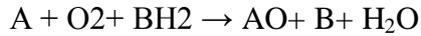
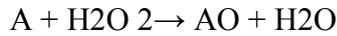
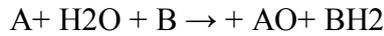
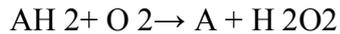
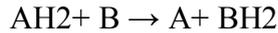
Contrairement à l'hydrolyse chimique, l'hydrolyse biologique est catalysée par des enzymes. Un nombre important d'enzymes est utilisé, dépendant du type de liaisons à hydrolyser.

En général, ce sont des dépolymérase. Les liaisons glycosidiques, peptidiques et esters sont affectées par ce type de réaction.

Les produits de dégradation d'une hydrolyse biologique ou chimique sont les mêmes. La différence réside dans le type de catalyse mise en œuvre. A cause de la taille des enzymes, les réactions biologiques ont lieu à la surface du polymère. Ainsi, avec une hydrolyse enzymatique, la masse du polymère décroît, alors que sa masse molaire ne change pas. Le phénomène contraire est observé pour l'hydrolyse chimique.

II.3.3 Oxydation biologique :

L'oxydation biologique est catalysée par un large groupe d'enzymes appelées oxydoréductases. Les réactions pouvant être catalysées par ces enzymes sont les suivantes :



La biodégradation de polyéthylène glycols de faibles masses moléculaires est un exemple de dégradation par oxydation enzymatique.

I.4 ETAPES DE LA BIODEGRADATION :

La biodégradation a lieu en deux étapes (figure I.1) [5]:

I.4.1 Première étape : détérioration du polymère, biofragmentation

Cette première étape correspond soit à une *détérioration physico-chimique* du produit, soit à une *biofragmentation* du produit. Dans le cas de la détérioration physico-chimique, elle est généralement provoquée par des agents extérieurs (mécanique comme le broyage, chimique comme l'irradiation UV ou thermique comme la pasteurisation). Dans le cas d'une biofragmentation, elle est provoquée par des êtres vivants (bactéries, champignons, vers de terre, insectes...).

Cette première étape, très utile, a pour résultats le morcellement du matériau qui permet une augmentation de la surface en contact avec les micro-organismes.

I.4.2 Seconde étape : bioassimilation, minéralisation

Il s'agit de la digestion du matériau par les micro-organismes et les enzymes (bioassimilation) qui vont le transformer en métabolites, assimilés par la suite dans les cellules, puis minéralisés. Il y a alors formation de molécules simples, telles que CO₂, CH₄, H₂O, et d'une nouvelle biomasse.

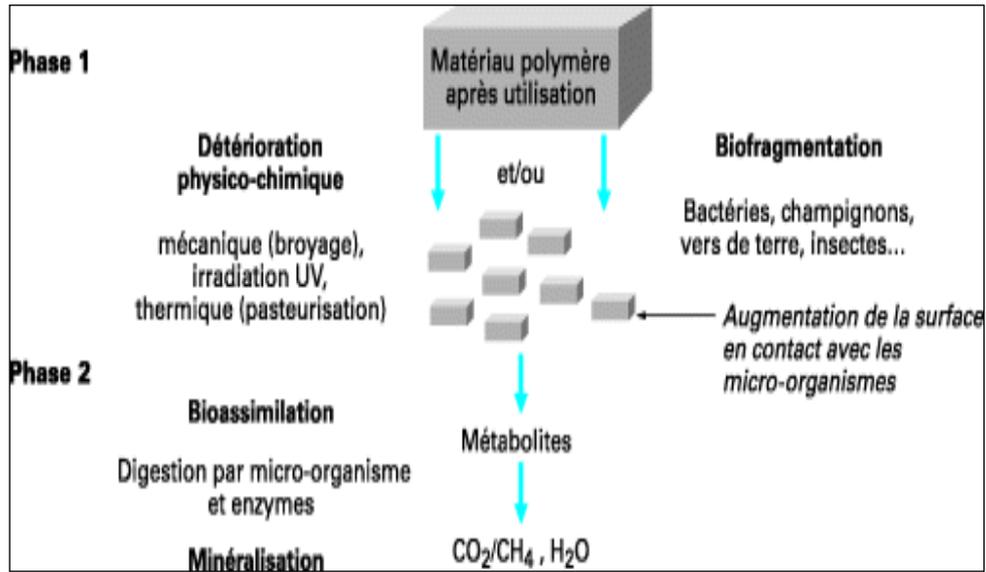


Figure I.1 : Mécanisme de biodégradation : deux phases essentielles [5].

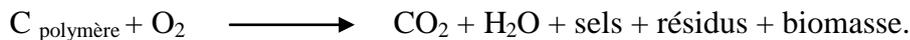
I.5 ÉLÉMENTS, FACTEURS INFLUENÇANT LA BIODEGRADATION :

La biodégradation des matériaux est influencée par un certain nombre de facteurs [5] :

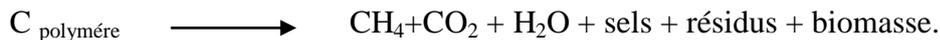
I.5.1 Conditions de biodégradation :

Le processus de biodégradation peut se traduire par les réactions chimiques suivantes selon les conditions aérobies ou anaérobies.

I.5.1.1 Conditions aérobies :



I.5.1.2 Conditions anaérobies :



I.5.2 Facteurs biologiques du milieu de dégradation :

I.5.2.1 Micro-organismes

Un **micro-organisme** est un être vivant de taille microscopique, il est présent dans toute la nature, utile dans les biotechnologies.

On distingue deux groupes principaux :

Chapitre I: La biodégradation

- Les **procaryotes** dont les dimensions sont de l'ordre de quelques micromètres ; ils peuvent être aérobies ou anaérobies (bactéries, cyanophycées) ;
- Les **eucaryotes**, organismes possédant un noyau isolé du cytoplasme et qui contiennent de l'ADN. Ils comprennent les protozoaires, les algues unicellulaires, les champignons [4].

La nutrition des micro-organismes peut se décomposer en quatre phases [7]:

- **transport** des aliments depuis le liquide jusqu'à la surface de la bactérie ;
- **adsorption** des aliments sur la membrane cellulaire (pour les organismes incapables de se mouvoir pour prendre leur nourriture) ;
- **prédigestion** par des exoenzymes ou des enzymes de surface, pour réduire les dimensions des molécules ;
- **perméation** ou franchissement de la membrane cellulaire ; métabolismes avec ses deux aspects : anabolisme et catabolisme.

Le milieu de culture, où évoluent les microorganismes, doit par sa composition satisfaire deux fonctions [7]:

- mettre à la disposition des microorganismes un composé facilement dégradable dont l'énergie de dégradation pourra être récupérée par eux pour l'édification de nouvelles cellules ;
- mettre à la disposition des microorganismes les éléments indispensables à l'édification de ces nouvelles cellules : eau, carbone surtout mais aussi azote, phosphore, soufre, potassium, sodium, magnésium, etc....

La présence d'un de ces éléments en quantité insuffisante induit une carence dans le milieu de culture. Un élément est dit limitant dans le cas où son épuisement après consommation par les microorganismes provoque un arrêt de la croissance, c'est donc cet élément qui règle la croissance.

I.5.2.2 Enzymes

Les **enzymes** sont des protéines qui ont pour mission d'accélérer, de catalyser les réactions chimiques dans les organismes vivants [5].

Chapitre I: La biodégradation

On distingue de nombreuses classes d'enzymes dont [5] :

- les oxydo-réducteurs ;
- les transférases ;
- les hydrolases ;
- les lyases ;
- les isomérases ;
- les ligases.

I.5.3 Paramètres intervenant dans la biodégradation :

La biodégradation est influencée par un certain nombre de facteurs tels que :

I.5.3.1 Paramètres physico-chimiques :

- **le milieu** : enfoui dans la terre, surface du sol, eau douce, mer, composteur [5] ;
- **la teneur en eau** : La teneur relative en eau est évidemment un facteur limitant de la croissance des micro-organismes et donc du taux de dégradation d'un polymère dans quelque milieu que ce soit. C'est le taux d'humidité relative qui va faciliter ou non l'accessibilité des micro-organismes du milieu u substrat à dégrader. Dans le cas d'un test de biodégradation en milieu liquide sous agitation constante, le polymère à dégrader sera forcément en contact avec les micro-organismes alors que dans un milieu solide (à base de compost ou de sol) agité périodiquement par l'action de l'opérateur, le polymère est moins facilement accessible, ce phénomène a été mis en évidence en observant la biodégradation d'un polymère naturel facilement biodégradable comme l'amidon dans un milieu minéral liquide et un compost. Dans les deux cas on obtient un taux de minéralisation équivalent mais pour le milieu liquide la disparition de l'amidon est atteinte au bout de seulement 8 jours, alors qu'il faut attendre le onzième jour dans le compost [1].
- **la température [8]** : - Entre 4 et 35 °C (aérobiose)
- Entre 10 et 65 °C (anaérobiose)
- pH du milieu ;
- Teneur en agents nutritifs (azote, phosphore) ;
- Teneur en oxygène ;
- Conditions de mélange et de turbulence ;
- Salinité.

Chapitre I: La biodégradation

- Nature des substances organiques présentes et leur concentration (phénomène de diauxie).
- Présence de substances toxiques ou métabolites intermédiaires toxiques.
- L'éclairement.

I.5.3.2 Paramètres microbiologiques [5] :

Il s'agit de :

- la densité de la population (concentration) ;
- le conditionnement antérieur (adaptation et acclimatation) ;
- la distribution dans l'espace ;
- la diversité microbienne et des métabolismes.

I.5.3.3 Structure et propriétés des polymères [5] :

La nature du ou des polymères constituant le produit est aussi un élément déterminant dans la biodégradation ; citons :

- ***la constitution chimique et le degré de linéarité des chaînes de polymères.***
- ***le degré de polymérisation*** : une faible masse moléculaire du polymère favorise la biodégradation ;
- ***le caractère hydrophile ou hydrophobe du matériau*** : Il est couramment admis qu'un matériau hydrophile sera plus sensible aux diverses attaques chimiques et biologiques auxquelles il est exposé. Les enzymes sont peu ou pas actives dans les parties hydrophobes des polymères. De même, le développement de biofilm et l'adsorption des micro-organismes à la surface du polymère seront favorisés par les matrices hydrophiles [3].
- ***le taux de cristallinité du polymère*** : L'organisation structurale du polymère a une influence sur sa capacité à être dégradée. En effet, plusieurs expériences ont montré que ce sont les parties amorphes d'un polymère qui sont dégradées en premier. Cela se traduit par une augmentation du taux de cristallinité du résidu non dégradé au cours du test de dégradation. Cela peut s'expliquer par le degré d'organisation élevé des chaînes de polymère dans les parties cristallines du matériau qui limite leur accessibilité aux enzymes susceptibles de rompre les liaisons. La pénétration de l'eau dans le matériau est également meilleure dans les parties amorphes [1] et donc plus le taux de cristallinité est élevé, plus la biodégradation est lente [5].

- **L'épaisseur du matériau** : elle intervient sur la vitesse de dégradation, c.-à-d. plus l'épaisseur du polymère est réduite, plus elle sera attaquée facilement par les microorganismes, plus la vitesse de dégradation augmente [1].
- **Surface de contact spécifique micro-organismes/substrat**: La taille, le format et la granulométrie de l'échantillon sont directement en rapport avec la surface de contact spécifique micro-organismes/substrat. On observe donc que le même matériau subira une biodégradation d'autant plus rapide que la surface de contact est importante [1].

1.5.3.4 Conditions de transformation et additifs incorporés dans le polymère :

Les conditions de transformation (pressions, températures), les additifs incorporés comme plastifiants, lubrifiants, matières colorantes, protecteurs UV... vont donner des matériaux aux caractéristiques différentes induisant des biodégradations différentes [5].

1.6 POLYMERES BIODEGRADABLES :

Il existe plusieurs types de polymères biodégradables que l'on peut classer de différentes manières; en fonction de leurs origines (ressources fossiles ou renouvelables), de leur nature chimique ou encore de leur processus de biodégradation [1] On distingue [5] :

1.6.1 Polymères naturels synthétisés par les systèmes vivants :

Ces polymères sont formés (synthétisés) par les êtres vivants (animaux, végétaux, micro-organismes). Leur synthèse est généralement catalysée par des enzymes.

1.6.2 Polymères artificiels issus de l'agrochimie ou de la pétrochimie :

A titre d'exemple on cite :

- Les polylactides sont issus de développements de la filière agrochimique.
- Les polyvinylalcool (PVA), le poly (ϵ -caprolactone) (PCL), le polyéthylène téréphtalate (PET), le poly (butylène succinate) (PBS) et le Poly (butylène succinate-co-butylène adipate) (PBSA) sont issus de développements de la filière pétrochimique.

1.6.3 Polymères composites :

Un **matériau composite** est un matériau solide et hétérogène obtenu en associant deux phases dont les qualités respectives se complètent pour former un matériau aux performances

Chapitre I: La biodégradation

globales améliorées. Les matériaux composites existent abondamment dans la nature : le bois et les os en sont deux exemples.

1.6.4 Polymères conçus pour être oxo-biodégradables :

Les **polymères oxo-biodégradables** sont constitués à partir de polymères intrinsèquement non biodégradables (polyoléfines, PVC...) auxquels sont ajoutés des systèmes d'additifs visant à les doter d'une capacité de dégradation en fin de vie, contrôlée en fonction des applications.

Le mécanisme se déroule en deux étapes :

- une étape de dégradation abiotique (oxygène, chaleur, UV) indispensable pour permettre à l'additif de déclencher une réduction de la longueur des chaînes polymériques par scission ;
- une étape de biodégradation.

I.7 TESTS D'ETUDE DE LA BIODEGRADABILITE DES POLYMERES :

Lors de l'étude de la biodégradabilité des polymères, les paramètres à prendre en considération sont [5]:

- la durée ;
- les conditions climatiques ;
- le type de sol ;
- la composition chimique du matériau ;
- la toxicité ;
- le compostage.

Il existe actuellement plusieurs tests permettant d'évaluer la biodégradabilité :

1.7.1 Tests in situ (test de terrain) : ces tests sont réalisés sur sols et dans les composts. On mesure la perte de masse des pièces laissées à l'abandon dans un champ (dépôt de surface).

1.7.2 Tests in vitro ou tests de Sturm (tests de laboratoire) : on mesure la quantité de carbone consommé par la biodégradation aérobie sur sol terreux.

I.8 METHODES D'EVALUATION DE LA BIODEGRADABILITE DES POLYMERES :

Chapitre I: La biodégradation

La biodégradabilité d'un matériau plastique ne peut être estimée par une seule méthode du fait de la complexité biologique impliquée dans le phénomène de biodégradation et le nombre de paramètres à prendre en compte. Cependant, les méthodes microbiologiques peuvent être complétées par les méthodes enzymatiques afin de pouvoir confirmer la biodégradabilité du polymère testé. Néanmoins, les tests menés dans un laboratoire ne peuvent pas exclure des tests dans des conditions similaires à celles de l'environnement [9].

I.8.1 Méthodes microbiologiques :

Ce sont des méthodes qui se basent sur le développement microbien pour déterminer la capacité des microorganismes (Bactéries ou Champignons) à dégrader un polymère particulier. Pour se faire, la croissance de ces microorganismes est mise en évidence en utilisant le polymère comme source de carbone. Ces méthodes sont qualitatives [9].

I.8.1.1 Méthode des zones claires :

C'est une méthode utilisée pour les tests réalisés sur un milieu gélosé. Le polymère constitue la seule source de carbone dans le milieu de culture et il peut être déposé à la surface sous forme de film ou ajouté à la gélose sous forme de poudre, ce qui rend dans ce cas la gélose opaque. Après inoculation avec le surnageant d'une boue active ou d'un sol, la croissance des souches ayant le pouvoir de dégrader le polymère provoquera l'apparition de zones claires [9].

I.8.1.2 Méthode d'envahissement :

L'envahissement des polymères par les microorganismes permet de mettre en évidence la sensibilité des matériaux étudiés à l'attaque microbienne. Le film plastique est déposé à la surface d'un milieu gélosé après étalement de la suspension microbienne. L'estimation de la biodégradabilité basée sur la méthode d'envahissement est fondée sur l'observation directe du matériau envahi par les microorganismes.

Que ce soient les zones claires ou l'envahissement, ces méthodes sont seulement d'ordre qualitatif mais facile à mettre en œuvre. Elles constituent un test rapide qui permet l'orientation des formulations polymériques vers du biodégradable et la sélection des souches biodégradant les matériaux [9].

I.8.1.3 Méthode respirométrique :

Chapitre I: La biodégradation

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

- la quantité d'oxygène consommée par les micro-organismes du milieu pour minéraliser spécifiquement le polymère sous forme de dioxyde de carbone.
- la quantité de dioxyde de carbone libérée due à la minéralisation spécifique du matériau à tester par les micro-organismes du milieu [1].

➤ **Mesure de la consommation d'oxygène :**

Dans des conditions aérobies, les micro-organismes consomment de l'oxygène pour oxyder le carbone du polymère sous forme de dioxyde de carbone. On peut calculer la quantité théorique d'oxygène nécessaire pour oxyder l'ensemble du carbone présent dans le polymère. Grâce à une électrode spécifique, on peut connaître la quantité d'oxygène consommée par le milieu durant le test pour oxyder le matériau test. Le degré de biodégradation atteint par le polymère en fin de test sera donc donné par la quantité d'oxygène consommée rapportée à la quantité d'oxygène consommée si le polymère est complètement dégradé par les micro-organismes sous forme de CO₂ [1].

➤ **Mesure de la production de dioxyde de carbone :**

La mesure de la quantité de dioxyde de carbone produit pendant la respiration des microorganismes en utilisant le matériau comme seule source de carbone est la technique la plus utilisée pour les tests de respirométrie. Le dioxyde de carbone issu de la biodégradation du polymère est utilisé pour le calcul du pourcentage de la minéralisation. Lors de cette méthode, l'inoculum microbien utilisé produit naturellement du dioxyde de carbone pendant la respiration endogène, cette valeur doit être retranchée en utilisant un témoin sans polymère. De nombreux dispositifs pilotent ont été développés pour la mise en place de ce test de biodégradation [9].

1.8.1.4 Méthode de mesure de perte de poids du polymère :

Chapitre I: La biodégradation

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

Une comparaison de la structure de surface d'un film plastique avant et après le test donne une information sur la dégradation de la morphologie liée à l'action des microorganismes. Le microscope électronique à balayage permet de confirmer le développement des colonies microbiennes provoquant ainsi une dégradation importante au niveau de la surface [9].

I.8.2 Méthode enzymatique :

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

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

Pour la méthode enzymatique, l'évaluation de la biodégradabilité se base sur le dosage des produits d'hydrolyse par chromatographie à haute performance (HPLC), chromatographie en phase gazeuse (CPG) ou l'identification de la structure des différents composés solubles par résonance magnétique nucléaire (RMN) [9].

I.9 CROISSANCE BACTERIENNE :

I.9.1 Courbe de croissance:

La croissance bactérienne en milieu non renouvelé se déroule en quatre phases [10]:

➤ **Phase I: Phase de latence ou d'adaptation**

Chapitre I: La biodégradation

Pendant cette phase, les microorganismes synthétisent les enzymes qui leur sont nécessaires pour métaboliser le substrat. Aucune croissance n'y est perceptible. La durée de cette phase dépend de:

- *l'espèce étudiée* : certaines bactéries s'adaptent plus vite que d'autres ;
- *l'inoculum* : plus le nombre de cellules est élevé, plus la période d'adaptation est courte ;
- *l'âge de la bacteria* qui correspond à la phase initiale de prélèvement : plus la bactérie est jeune, plus la phase de latence est courte ;
- *La composition du milieu*: si l'inoculum est prélevé en phase exponentielle d'un milieu et est introduit dans un milieu neuf de composition identique, la phase de latence sera plus courte que si la composition des deux milieux est différente. Du point de vue pratique, il est important de réduire cette période au maximum. Cela peut être réalisé en :
 - ✓ inoculant une quantité importante de germes ;
 - ✓ travaillant à une température proche de la température optimale de croissance ;
 - ✓ utilisant un milieu de culture bien équilibré ;
 - ✓ mais surtout et essentiellement, en prélevant l'inoculum sur une colonie vivant au stade de la phase exponentielle.

➤ **Phase II : Phase de croissance exponentielle**

Lors de cette phase il y a un accroissement des microorganismes jusqu'à l'atteinte d'un taux de croissance maximum, ce qui présuppose un milieu riche en éléments nutritifs. La vitesse de croissance augmente proportionnellement à la concentration microbienne, d'où l'allure exponentielle du phénomène (figure I.2). Le taux de croissance bactérienne est quant à lui constant et maximal :

$$\boxed{(1/x) (dx/dt) = \mu_{\max}} \quad (I.1)$$

x: concentration en biomasse à n'importe qu'elle phase de croissance ;

dx/dt : variation de la biomasse en fonction du temps.

μ_{\max} : taux de croissance maximal.

➤ **Phase III : Phase stationnaire**

Pendant la phase exponentielle les microorganismes consomment le substrat S jusqu'à épuisement; le milieu devient alors de moins en moins favorable à la croissance. La disparition

Chapitre I: La biodégradation

du substrat S induit donc un ralentissement de la croissance qui tend vers une limite : l'arrêt de la multiplication des microorganismes.

➤ Phase IV: Phase de déclin

C'est une phase de respiration endogène ou d'autolyse au cours de laquelle le nombre de bactéries décroît.

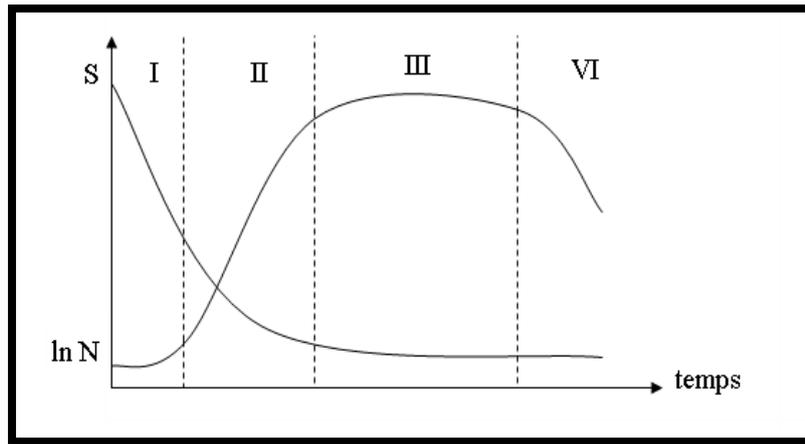


Figure I.2: courbe de croissance microbienne et de consommation du substrat [10].

I.9.2 Modélisation de la courbe de croissance:

La modélisation de la courbe de croissance microbienne consiste à traduire sous forme mathématique la courbe de croissance ainsi que l'influence de différents paramètres sur la forme de la courbe. Il existe de nombreux modèles qui traduisent la croissance des microorganismes tels que les modèles de Teisser, de Moser, de Powell, de Herbert, de Monod... Parmi tous ces modèles, celui de MONOD qui s'inspire des lois de la cinétique enzymatique, est l'un des plus anciens, des plus connus et des plus utilisés [7].

Cette équation qui représente le taux de croissance bactérienne en fonction de la concentration en substrat est utilisée pour décrire l'élimination d'un substrat unique. Nous avons donc:

$$\mu = \left(\frac{1}{x}\right) \left(\frac{dx}{dt}\right) = \mu_{\max} \frac{S}{(K_s + S)} \quad (I.2)$$

S : concentration en substrat principal ;

Chapitre I: La biodégradation

μ : taux de croissance

μ_{\max} : taux de croissance maximal ;

K_s : constante de MONOD qui représente la concentration seuil au-dessous de laquelle le taux de croissance devient dépendant de la concentration en substrat principal.

Pour une valeur de S qui tend vers K_s on a: $\mu = \mu_{\max}/2$;

Si x est la concentration en biomasse à n'importe qu'elle phase de croissance, dx/dt représente donc la variation de la biomasse en fonction du temps.

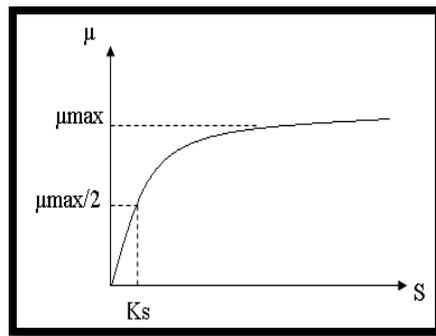


Figure I.3 : Évolution du taux de croissance bactérienne μ en fonction du substrat S [10].

I.9.3 Croissance en milieu non renouvelé:

La croissance bactérienne en milieu non renouvelé est définie à l'aide de deux paramètres qui sont [7] :

- **le temps de génération G [h]** : définie comme étant le temps nécessaire au dédoublement de génération ;
- **la vitesse spécifique de croissance μ [h^{-1}]** : plus souvent appelée taux de croissance, elle représente l'accroissement de biomasse par unité de temps ramené à l'unité de biomasse.

La croissance d'une biomasse peut se quantifier par l'expression :

$$\boxed{N = N_0 2^n} \quad (\text{I.3})$$

Où:

N_0 : nombre de bactéries au temps $t = 0$;

N : nombre de bactéries au temps t quelconque ;

Chapitre I: La biodégradation

n: nombre de divisions.

La concentration en substrat consommé, quant à elle, peut être représentée par l'équation suivante :

$$\boxed{dS/dt = - k S} \quad (\text{I.4})$$

dS/dt : variation de la concentration du substrat en fonction du temps ;

S : concentration en substrat à un temps t ;

k : constante de la cinétique de dégradation ;

Le signe moins représente la disparition du substrat.

CHAPITRE

II

LES HUILES

VÉGÉTALES

CHAPITRE II: LES HUILES VÉGÉTALES

II.1 INTRODUCTION :

L'huile symbole de fécondité, de pureté, est présente dans toutes les civilisations et religions et dans toutes les étapes de la vie [11] : On l'utilise pour cuisiner, pour fabriquer la margarine ou d'autres aliments préparés industriellement, pour l'élaboration de produits non alimentaires tels que le savon, les cosmétiques, les médicaments et même la peinture ainsi que dans la vie spirituelle [12].

Tout comme les protéines, les hydrates de carbone et l'eau, les lipides (huiles, graisses, cholestérol) sont classés comme macro-nutriments: ce sont les composants qui forment l'essentiel de l'alimentation [12].

Les principales huiles végétales, en termes de production, sont [13] :

- l'huile d'arachide.
- l'huile d'argan.
- l'huile de colza.
- l'huile de coprah.
- l'huile de noix.
- l'huile de lin.
- l'huile de maïs.
- l'huile d'olive .
- l'huile de palme.
- l'huile de ricin .
- l'huile de soja.
- l'huile de tournesol .
- l'huile de thé.

II.2 DÉFINITION:

L'huile végétale pure est définie comme **une huile provenant de plantes oléagineuses obtenue par pression, extraction ou procédés comparables, brute ou raffinée, mais sans modification chimique** [14].

Se sont des ressources renouvelables naturelles bien connues qui ont été employées pendant longtemps dans des applications comme les peintures, les encres, les adhésifs...etc.

CHAPITRE II: LES HUILES VÉGÉTALES

Les modifications chimiques possibles de ces structures, afin d'obtenir des polymères, se développe encore largement de nos jours [15].

II.3 ORIGINE DES HUILES VEGETALES:

L'huile végétale pure est issue d'un **procédé d'extraction mécanique s'opérant à froid et directement à la ferme**. Le procédé consiste à presser des graines issues de plantes oléagineuses permettant ainsi l'obtention de deux produits connexes : d'une part, de l'huile végétale valorisable en tant que carburant et, d'autre part, un co-produit valorisable en alimentation animale. En France, les deux principales cultures actuellement utilisées à des fins énergétiques sont le colza et le tournesol. Après pressage, on obtient en proportion environ 1/3 d'HVP (huile végétale pure) et 2/3 de tourteau. Ce procédé de fabrication permet par conséquent d'extraire environ 70% de l'huile contenue dans les graines ; le tourteau obtenu, appelé tourteau "gras" ou tourteau fermier, contient entre 12 et 20 % d'huile (le reste étant contenu dans les résidus appelés "pieds de presse").

Après l'étape de trituration, l'huile brute est ensuite décantée puis filtrée et stockée en respectant un certain nombre de critères stricts [14].

De la graine à l'huile raffinée et transformée, les technologies d'obtention et de transformation des huiles se doivent de garantir parfaitement la qualité du produit et de fournir au final un produit répondant à des spécifications très complètes ; ces technologies ont su évoluer pour répondre à cette problématique et intégrer les contraintes actuelles de l'industrie de rentabilité et de respect de l'environnement [16].

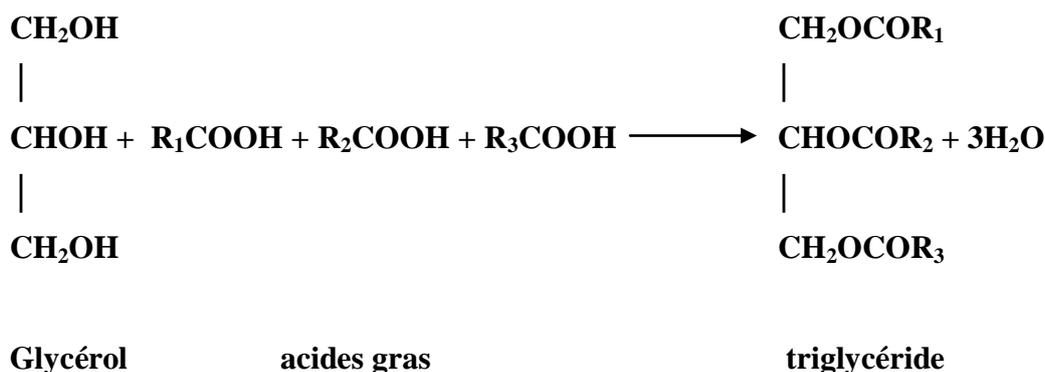
II.4 COMPOSITION EN ACIDES GRAS :

Les huiles végétales sont constituées essentiellement ($\approx 99\%$) de triacylglycérols (ou triglycérides). Les autres constituants tels que stérols, vitamines liposolubles et phospholipides sont mineurs ($\approx 1\%$) [17].

Les triacylglycérols (TAG) sont des triesters constitués de trois molécules d'acides gras pour une molécule de glycérol.

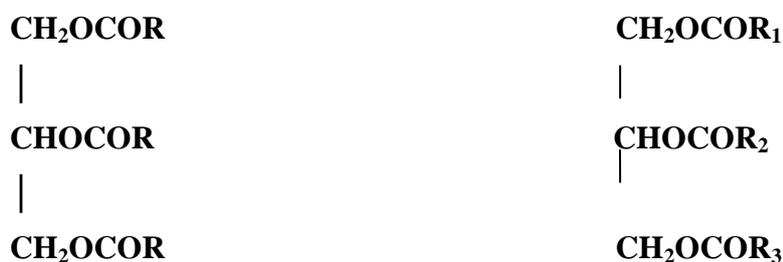
CHAPITRE II: LES HUILES VÉGÉTALES

Ils se forment selon la réaction :



Avec R1, R2, R3: groupes hydrocarbonés à chaînes ouvertes.

Lorsqu'une molécule de glycérol est liée à trois molécules d'un même acide gras (R1=R2=R3), le triglycéride formé est dit " homogène " ou " simple ". Dans le cas contraire (R1 ≠ R2 ≠ R3), le triglycéride est dit "mixte " [13].



Triglycéride simple

Triglycéride mixte

En général, ces trois acides gras diffèrent entre eux selon la longueur et/ou le nombre de doubles liaisons de la chaîne carbonée, on distingue :

- les **acides gras saturés (AGS)** : sans double liaison avec principalement des longueurs de chaîne comprises entre 16 (acide palmitique) et 18 atomes de carbone (acide stéarique).
- les **acides gras monoinsaturés (AGMI)** : se sont des chaînes hydrocarbonées comportant une double liaison, dont le principal représentant est **l'acide oléique** (C18 :1, n – 9 ou ω9), occupent préférentiellement les positions externes du squelette glycérol (sn1 et sn3).
- les **acides gras polyinsaturés (AGPI)** : chaînes hydrocarbonées comportant plusieurs doubles liaisons, dont on connaît les deux principaux que sont les acides **linoléique** (C18 :2

CHAPITRE II: LES HUILES VÉGÉTALES

n – 6 ou ω6) et **α-linoléique** (C18 :3 n – 3 ou ω3), acides gras essentiels et indispensables, chefs de file des séries d'AGPI correspondantes (ω6) et (ω3) qui sont des acides gras essentiels car notre corps ne sait pas les fabriquer [16].

La position interne (sn2) définit ainsi pour une huile sa « structure glycéridique ». En conséquence, chaque huile se caractérise par sa composition en acides gras, et également par sa structure glycéridique. Cette dernière peut avoir une implication sur la valeur nutritionnelle d'une huile, dans la mesure où la digestibilité des AGS, tels que les acides palmitique et stéarique, est moindre lorsqu'ils occupent les positions externes plutôt que la position interne. Les huiles végétales peuvent ainsi être regroupées en fonction de la nature de leurs acides gras majoritaires (ou spécifiques) : huiles oléiques, linoléiques ou α-linoléiques [16].

La présence d'acides gras *trans* (AGT) dans un corps gras d'origine végétale peut avoir deux origines technologiques, d'une part, l'hydrogénation partielle qui vise à augmenter son point de fusion et génère des isomères de position et géométriques *trans* octadécénoïques, dont le principal isomère est l'acide élaïdique (C18 : 1n-9*trans*), d'autre part les traitements thermiques qui peuvent conduire à la formation d'isomères, principalement mono-*trans*, des acides linoléique et linoléique . Dans chaque cas, la présence de ces isomères dans une matière grasse végétale est très limitée (< 1 % des acides gras totaux), en raison de l'abandon progressif de l'hydrogénation partielle et de la maîtrise des conditions de raffinage. Par ailleurs, on constate que la friture d'une huile linoléique (ex. : colza), conduite dans des conditions optimales génère de faibles quantités d'isomères polyinsaturés *trans* (< 0,7 % des acides gras totaux) [17].

II.5 PROPRIETES ET UTILISATION :

Les huiles végétales sont utilisées pour leurs propriétés propres (maintien du film hydrolipidique cutané, anti-âge...) ou pour leurs propriétés générales (participant à la phase grasse d'une émulsion, support d'une huile de modelage ou vectrices d'huiles essentielles, solubilisant de tensioactifs dans une huile démaquillante...).

Quand elles sont vierges et de première pression à froid, leur richesse en vitamines A, C et E leur confère des propriétés anti-oxydantes et anti-radicalaires ce qui leur donne une action dans la conservation du cosmétique, notamment quand il s'agit de cosmétiques naturels.

CHAPITRE II: LES HUILES VÉGÉTALES

En cosmétologie, elles sont choisies selon leurs propriétés sur la peau, mais aussi, leurs caractéristiques physico-chimiques [18].

Ainsi, du fait de leur structure glycéridique, les huiles et graisses présentent des caractéristiques de fusion spécifiques : ainsi, certaines huiles sont naturellement liquides à la température ambiante – telles que les huiles de tournesol, de colza, de soja... – d'autres semi-solides comme l'huile de palme, et d'autres enfin, sont totalement solides (huile de coprah) [16].

La différence essentielle entre les huiles et les graisses est leur température de fusion. Les huiles sont fluides à température ambiante, ce qui n'est pas le cas des graisses. Chacune d'elles contient des acides gras qui varient selon la longueur de la chaîne carbonée qui les compose et suivant leur degré de saturation. Cette dernière caractéristique engendre des graisses qu'on appelle saturées (hydrogénation complète) ou insaturées (incomplète). La longueur de la chaîne et le degré de saturation influent tous deux sur le point de fusion. C'est leur tendance à contenir d'avantage d'acides gras non saturés que les graisses animales qui donnent aux huiles végétales leur aspect liquide à température ambiante - l'inverse se vérifie pour les graisses animales -. Pourtant, les plantes produisent des acides gras dont la longueur de chaînes et le degré de saturation sont très divers. Ainsi, en augmentant les combinaisons, des propriétés distinctes apparaissent et par conséquent rendent possibles des utilisations très variées de l'huile [12]. Le tableau II.1 présente les températures critiques (c'est la température au-delà de laquelle une phase liquide ne peut pas exister, quelle que soit la pression) de quelques huiles végétales :

Tableau II.1 : Températures critiques de quelques huiles végétales

Huile végétale	arachide	germe de maïs	noix	olive	Séame	Soja	tournesol
Température critique (°C)	220	140	140	210	150	150	160

II.6 ROLE DES HUILES VEGETALES :

Les huiles végétales remplissent quatre rôles principaux [16] :

- nutritionnel : apport d'énergie et de nutriments (acides gras, vitamines liposolubles,

CHAPITRE II: LES HUILES VÉGÉTALES

constituants mineurs d'intérêt tels que les phytostérols ou les composés phénoliques pour l'huile d'olive) ;

- organoleptique (flaveur et support d'arômes) ;
- rhéologique (texture) ;
- technologique (fluide de transfert de chaleur, par exemple dans les utilisations en friture).

En parallèle, l'utilisation des huiles végétales se développe dans le secteur non alimentaire ; cela résulte de leurs caractéristiques, de leur origine renouvelable et de leur caractère **biodégradable**. La formule maintenant usitée « de l'or noir à l'or vert » illustre ce nouvel engouement pour une chimie basée sur les agroressources de notre planète. Le développement des **biocarburants** (esters d'huiles végétales) en est un exemple. Pour toutes ces applications des domaines alimentaire et non alimentaire, la maîtrise de procédés éprouvés et efficaces est nécessaire [16].

II.7 MODIFICATION CHIMIQUE DES HUILES VÉGÉTALES [19] :

La modification chimique des huiles végétales est souvent nécessaire afin de permettre l'utilisation de ces matières premières dans différentes applications industrielles. Parmi les réactions utilisées, la réaction d'époxydation est probablement celle qui représente le plus d'intérêt. Les huiles végétales époxydées peuvent être utilisées comme intermédiaires chimiques ou directement dans différents domaines tels que les biopolymères, la lubrification ou le domaine des surfactants pour ne citer que ces applications. Actuellement, une des méthodes les plus employées implique l'utilisation de quantité stoechiométrique en excès de peroxyde d'hydrogène et d'acide formique. Compte tenu des grandes quantités utilisées, de la toxicité de ces réactifs, de la disponibilité limitée de l'acide formique à l'échelle industrielle et des problèmes liés au transport du peroxyde d'hydrogène, l'utilisation d'une autre méthode serait souhaitable.

Depuis quelques années, un certain nombre de projets de recherche ont été entrepris afin de trouver des catalyseurs pour la réaction d'époxydation. Des chercheurs de l'Université Laval ont mis au point des matériaux catalytiques mésoporeux (diamètres de pores du catalyseur compris entre 2 et 50 nm) avec une distribution de diamètres des pores essentiellement monodispersée et un contrôle parfait de la taille de ceux-ci. Ces catalyseurs peuvent être utilisés pour un grand nombre de réactions dont l'époxydation catalytique. On

CHAPITRE II: LES HUILES VÉGÉTALES

a procédé à des essais préliminaires d'époxydation avec ces nouveaux catalyseurs. Trois composés dérivés d'huiles végétales, soit l'acide oléique, l'ester méthylique de l'acide oléique et l'huile de lin constituée de triglycérides comportant en moyenne six doubles liaisons, ont été testés. Ces essais préliminaires ont été considérés comme très encourageants même si des conversions assez faibles ont été obtenues avec l'huile de lin et l'ester méthylique (8 % et 1,5-2 % respectivement à 70 °C). L'acide oléique a quant à lui été converti à plus de 50 % en l'absence de solvant (résultats obtenus selon la méthode AOCS Cd9-57 «oxirane oxygen» et confirmés par une analyse RMN du proton).

II.8. POLYMERES SYNTHETISES A BASE D'HUILES VEGETALES :

Des polymères à base de différentes huiles végétales (huile de soja, huile de lin, huile de castor...etc.) destinés pour diverses applications sont aujourd'hui l'intérêt de plusieurs chercheurs. Ils sont actuellement synthétisés en utilisant différents types de polymérisation (polymérisation cationique, en chaîne ou par ouverture du cycle) et ce, bien sur, selon le type de polymère désiré (des résines, des caoutchoucs, des thermodurcissables et même des mousses polyuréthanes).

Les huiles végétales à base de triglycérides qui sont des produits naturels et biodégradables, ont montré leur capacité à se polymériser suivant des techniques de polymérisation différente telles que la polymérisation radicalaire, la polymérisation cationique, la polymérisation thermique ou la polymérisation par ouverture de cycle, en présence d'agents de réticulation.

Des travaux de recherche ont déjà permis d'obtenir différentes résines biodégradables à base d'huiles de soja époxydée, de lin et de ricin [20, 21, 22]. Une fois modifiée par l'acide acrylique (très réactif), l'huile de tournesol époxydée aura plus de groupes fonctionnels par greffage des groupes acrylates sur les triglycérides, les alcools, les esters et les doubles liaisons (C = C). La réaction d'acrylation a été étudiée afin d'obtenir les conditions optimales de réaction. Les huiles époxydées acrylées sont utilisées dans la synthèse de polymères de haut poids moléculaire et de densité de réticulation élevée [23,24].



Figure II.1 : Polymère développé à base d'huile de castor [25].

II.9 METHODES DE POLYMERISATION :

L'obtention des polymères synthétiques se fait par plusieurs méthodes de polymérisation [26] :

II.9.1 Polymérisation radicalaire ou vinylique :

Ce type de polymérisation permet de synthétiser soit des homopolymères soit des copolymères, et ce à condition que les monomères engagés dans la réaction possèdent des doubles liaisons :

- Si le motif monomère [A] se répète plusieurs fois, la macromolécule obtenue est un **homopolymère** qui est représenté schématiquement par la notation $\sim A-A-A-A \sim$ soit de manière simplifiée par $[A]_n$. Les liaisons chimiques entre les monomères sont de type covalent (liaison de forte énergie : plusieurs kcal/mole).
- Si deux motifs monomères A et B, de nature chimique différente, sont présents dans le composé macromoléculaire, on obtient un **Copolymère** qui s'écrit symboliquement : $\sim A-A-A-A-A-A-B-B-A-A-A \sim$ où $[A]_n[B]_m$ et où n et m représentent le nombre de motifs monomères dans la chaîne macromoléculaire. L'examen de cette représentation montre que les propriétés physico-chimiques dépendront non seulement de la nature chimique de chaque monomère mais aussi de leur pourcentage relatif dans le copolymère.

CHAPITRE II: LES HUILES VÉGÉTALES

les macromolécules obtenues par ce type de polymérisation le sont par une succession d'étapes : les phases d'initiation, de propagation et de terminaison.

- **Phase d'initiation** : C'est la phase durant laquelle des radicaux libres R^\bullet sont obtenus à partir d'initiateurs par rupture homolytique de leurs liaisons covalentes. Ces initiateurs, appelés aussi amorceurs de polymérisation, sont regroupés en quatre familles :
 - initiateurs **thermiques** dont les radicaux sont engendrés par la chaleur (peroxyde de benzoyle, par exemple) ;
 - initiateurs **redox** obtenus en présence de système oxydo-réducteur (peroxyde d'hydrogène/fer II) ;
 - initiateurs **photochimiques** dont les radicaux sont obtenus par l'action de radiations électromagnétiques ;
 - initiateurs **radiochimiques** dont les radicaux sont engendrés sous l'action de rayonnements de niveau énergétique élevé (rayons X, β).
- **Phase de propagation** : Cette étape, durant laquelle la chaîne polymérique croît, est la plus importante, car elle détermine la configuration de la macromolécule ainsi que sa masse moléculaire.
- **Phase de terminaison** : C'est l'étape qui traduit l'arrêt de la croissance du polymère.

II.9.2 Polymérisation par polyaddition :

Les polymères synthétisés par cette méthode permettent d'obtenir des résines époxydes, par réaction de l'épichlorhydrine avec des diols tels que le 4, 4'- dihydroxydiméthylméthane (ou bisphénol A) ou le 4, 4'- dihydroxyméthane.

la synthèse fait intervenir deux réactions :

- ✓ une réaction de condensation en milieu alcalin avec élimination d'acide chlorhydrique qui ne fait pas intervenir le cycle époxyde de l'épichlorhydrine ;
- ✓ une réaction d'addition sur la fonction époxyde ou oxirane.

CHAPITRE II: LES HUILES VÉGÉTALES

II.9.3 Polymérisation par polycondensation :

Les résines synthétiques (polyesters, résines aminoplastes ou phénoplastes) sont obtenues par réaction chimique entre deux monomères et élimination d'un tiers corps (eau, alcool, etc.).

CHAPITRE

III

LE SOL

III.1 INTRODUCTION :

En raison de leur position d'interface dans l'environnement, les sols jouent un rôle éminent dans les grands cycles biogéochimiques et le devenir des substances polluantes. Ils constituent un véritable système écologique, habitat d'une proportion importante de la biomasse continentale et réservoir d'une biodiversité considérable.

À la mort des végétaux et des animaux, les matières organiques s'accumulent dans le sol et y subissent des transformations physiques, chimiques et surtout biologiques. En effet, les organismes du sol utilisent les composés organiques comme ressource nutritive et leur font subir des transformations physiques (fragmentation) et biochimiques (minéralisation et humification) qui aboutissent à la création de matières organiques plus ou moins complexes.

Dans les sols, les matières organiques n'ont pas le même temps de résidence selon leur composition biochimique ; il peut aller de quelques mois à plusieurs années pour la fraction labile et jusqu'à des dizaines, voire des milliers d'années pour la fraction stable. En conditions normales d'aération, la majorité du carbone apporté au sol est labile (environ 75 % des apports annuels) [27].

III.2 DEFINITION :

Le sol est la couche la plus externe, marquée par les êtres vivants, de la croûte terrestre. Il est le siège d'un échange intense de matière et d'énergie entre l'air, l'eau et les roches. Le sol, en tant que partie de l'écosystème, occupe une position-clé dans les cycles globaux des matières, il doit assurer [28] :

- Un bon ancrage des racines ;
- Une bonne aération ;
- Une réserve en eau suffisante ;
- Un bon potentiel en minéraux.

III.3 FORMATION DES SOLS :

Un sol est le résultat d'une altération superficielle d'une roche mère, et d'un enrichissement de matières organiques issue des êtres vivants, du fait de la composition de la litière par les organismes décomposeurs, on a ainsi trois facteurs entrant en jeu dans la formation d'un sol : **la roche mère** : ses propriétés physiques ou sa composition chimique ont une influence directe sur la nature ou sur la rapidité de l'évolution d'un sol.

Chapitre III: Le sol

Les végétaux : fournisseurs de l'essentiel de la matière organique présente dans le sol, et qui influencent aussi son évolution.

Le climat : qui affecte les deux facteurs précédents par la température, en ce qui concerne l'altération de la roche mère, et les précipitations pour les phénomènes de migration qui se déroulent au niveau du sol [28].

Le sol croît par le haut (litière végétale et animale) et par le bas (dégradation de la roche mère) jusqu'à établir un équilibre : c'est la maturité du sol [30].

III.4 FONCTIONS DU SOL :

Le sol remplit des fonctions indispensables à la vie végétale, animale et humaine sur terre [30] :

III.4.1 Fonctions économiques :

- Le sol est le lieu de la *production agricole et sylvicole*
- Il est une *source de matières premières* : argile, sable, gravier,....
- Il sert de *support aux constructions humaines* : bâtiments, infrastructures de transports...

III.4.2 Fonctions écologiques :

- Le sol est *un puits pour le carbone* : c'est un site majeur de stockage du carbone provenant du CO₂ atmosphérique. Il est *une source potentielle d'émissions de gaz à effet de serre* (CO₂, CH₄, N₂O) qui varient en fonction des écosystèmes (forêts, zones humides, agrosystèmes,..). Par conséquent, le sol contribue pour une part à la régulation des cycles naturels de l'eau, de l'air, des substances minérales et organiques. C'est un maillon déterminant dans le flux incessant de l'énergie et de la matière au sein de l'écosystème.
- Le sol est une *source d'énergie et d'éléments nutritifs* pour l'ensemble de la diversité des organismes terrestres y compris l'homme.
- Le sol est un *milieu structuré offrant une diversité d'habitats*. Les micro- et macrohabitats du sol sont le cadre d'activités et de refuges de nombreux organismes vivants.
- Il est *un réservoir immense de la biodiversité microbienne et faunistique* répartie entre

Chapitre III: Le sol

les formes libres des microorganismes présents dans les différentes structures des sols et les formes liées aux systèmes racinaires, aux animaux du sol et aux autres microorganismes comme par exemple les champignons. Certains de ces microorganismes sont indispensables à l'assimilation et au fonctionnement des écosystèmes alors que d'autres sont pathogènes, ou peuvent le devenir à la suite de modifications de l'usage que l'on peut faire des sols.

- Il est le *lieu d'habitat d'espèces et de biocénoses* : d'une part le sol abrite des espèces protégées et d'autre part, il participe de l'équilibre des écosystèmes de surface dans les zones protégées telle que les biotopes.

- Les sols ont un rôle dans la *prévention de catastrophes par inondation ou coulées de boues* : importance de la qualité d'absorption des sols.

- Les sols constituent *un passage obligé intervenant directement dans les modifications de la qualité de l'eau*. L'essentiel des eaux de pluie circule dans des aquifères superficiels et dans les sols avant de venir gonfler les rivières essentiellement par un mode de circulation diffus.

III.4.3 Fonctions biologiques :

Le sol est un réacteur biogéochimique qui assure des fonctions de transformation, d'accumulation et de transfert.

- ✓ *Sol transformateur* : dégradation de la matière organique et autres substances, à l'aide d'organismes vivants. L'intégration de la matière organique au matériel minéral qui aboutit à la formation du complexe argilo-humique se fait sous l'influence de mécanismes physique, chimique et biochimique qui sont régulés par la faune et les microorganismes du sol ; ceci se traduit par la décomposition continue de biomasse morte dont les éléments sont en partie soit minéralisés, soit accumulés au sein de l'humus du sol.
- ✓ *Sol réservoir* : stockage et accumulation d'éléments en fonction de leur solubilité. Ce phénomène d'adsorption aux particules du sol et aux racines des plantes peut varier dans le temps (remobilisation).
- ✓ *Sol échangeur / filtre* : voie de passage vers d'autres compartiments des écosystèmes.

III.5 PROPRIETES DU SOL :

III.5.1 Propriétés physiques :

Chapitre III: Le sol

III.5.1.1 La texture : La texture d'un sol correspond à la composition granulométrique du sol définie par les proportions des particules minérales de taille inférieure à 2 mm [32].

Tableau III.1: Echelle textural du sol (taille des grains) [32].

Sable		Limon			Argile			
Très grossier	grossier	moyen	fin	très fin	fin	moyen	grossier	
1-2 mm	0.5-1 mm	0.25-0.5 mm	0.1-0.25 mm	0.05-0.1 mm	2-10 µm	10-20 µm	20-50 µm	0-2 µm

III.5.1.2 La structure : Elle désigne le mode d'assemblage, l'arrangement des particules minérales du sol et les liaisons éventuelles avec les colloïdes ou d'autres éléments.

On distingue trois types de structures [32]:

Particulaires: aucune cohésion (sables);

Continues: particules entièrement liées par un ciment, continuité parfaite entre les particules ;

Fragmentaires: agrégats individualisés (les plus courantes).

III.5.1.3 La porosité : Les vides du sol sont occupés en majeure partie soit par l'eau, soit par l'air. Leur ensemble représente la porosité. Cette dernière donne une bonne idée de l'état structural avec, avantage certain, la possibilité de mesures comparatives. Selon la taille des pores elle se subdivise en [28] :

Macroporosité : les vides sont $> 50 \mu\text{m}$, pouvant être remplis par l'eau de gravité rapidement drainée et souvent colonisés par les racines moyennes. Elle dépend surtout de la structure.

Mésoporosité (porosité capillaire) : elle est constituée des vides de 0,2 à 50 μm retenant l'eau utile aux plantes. Elle dépend beaucoup de la texture.

Microporosité : les vides sont $< 0,2 \mu\text{m}$ et retiennent l'eau inutilisable.

III.5.1.4 Le régime hydrique, l'eau du sol :

Le régime hydrique du sol dépend directement des trois propriétés précédentes [28] :

- La texture détermine les forces de rétention de l'eau.
- La structure influence la circulation de l'eau.
- La porosité définit le volume du réservoir hydrique du sol.

Chapitre III: Le sol

La circulation et la rétention de l'eau dans le sol se font grâce au réseau poreux. Ainsi l'eau est dite gravitaire si elle circule librement dans les fissures ou les pores de diamètre supérieur à 100 ou 50 μm . L'eau capillaire est retenue dans des pores plus fins avec une pression d'autant plus forte que la taille des pores diminue [33].

III.5.2 Propriétés chimiques :

III.5.2.1 La capacité d'échange : c'est la principale propriété chimique qui caractérise le sol, par rapport à une roche mère qui en est le plus souvent dépourvue.

La capacité d'échange des sols pour les cations dépend de la texture du sol, et plus particulièrement de la teneur en argile et de la matière organique.

On parle aussi de la capacité d'échange pour les anions ; soit les anions sont dits actifs comme les acides humiques et fulviques ou bien PO_4^{3-} et les échanges ne sont que faiblement réversibles, soit les anions sont inactifs comme SO_4^{2-} , Cl^- et NO_3^- , et les liaisons mises en jeu sont de nature électrostatique, c'est-à-dire relativement faibles et réversibles [34].

III.5.2.2 Le pH : C'est une autre propriété chimique essentielle qui détermine le comportement des éléments chimiques mais aussi le comportement des êtres vivants (macroflore-végétation). On mesurera en général le pH de l'eau ou d'une solution qui est en équilibre avec le sol. Le pH détermine le comportement des éléments et en particulier leur existence sous une forme cationique ou anionique ou sous la forme d'hydroxyde [33].

III.5.2.3 La température : dans un sol, en raison de son hétérogénéité et de son épaisseur, de nombreuses températures différentes coexistent au même instant, qui reflètent autant de bilans énergétiques ponctuels. La structure, le taux d'humidité, la couleur ou la charge en éléments grossiers influence la transmission de la chaleur ; pourtant, une seule source d'énergie calorifique est vraiment importante : le soleil, il agit dans le sol d'une manière directe, en le chauffant, et de manière indirecte via la photosynthèse et les chaînes alimentaires [28].

III.5.2.4 Le potentiel d'oxydoréduction : Les conditions d'oxydo-réduction ont un rôle très important en déterminant le comportement des éléments chimiques à plusieurs valences, mais surtout le fonctionnement biologique (racines, microorganismes) en présence ou en absence d'oxygène [33].

Chapitre III: Le sol

III.5.3 Propriétés biologiques :

Ces propriétés résultent de la large présence de différents organismes dans le sol. Ces organismes appartiennent d'une part à tous les groupes connus de micro-organismes (bactéries, champignons, actinomycètes, algues, protozoaires) et, d'autre part, à d'autres groupes d'animaux essentiellement des nématodes, des annélides et des arthropodes [33].

III.5.3.1 Les micro-organismes : ils constituent indépendamment des animaux et des végétaux, un troisième groupe d'organismes, les protistes. Ils sont unicellulaires ou multicellulaires, mais ne présentent pas de différenciation en tissus et organes. Ils comprennent deux groupes : les protistes inférieurs ou procaryotes et les protistes supérieurs, ou eucaryotes [33].

III.5.3.2 La faune : la faune du sol se répartit dans de nombreux groupes (Tableau II.1). Leur régime alimentaire peut être du type carnivore (consommation de proies vivantes), ils peuvent aussi consommer des fragments de plantes (herbivores, xylophages) ou de champignons (mycophages) ; ils peuvent enfin se nourrir d'animaux morts (nécrophages) ou de débris végétaux morts (saprophages) [33].

Tableau III.2 : Les organismes du sol [33].

Organisme	Nombre/ g sol sec
bactéries	10^8
actinomycètes	10^5 à 10^6
champignons	10^5
algues	10^4 à 10^5
protozoaires	10^4

III.6 CONSTITUANTS DU SOL :

Le sol est composé de trois fractions [28] :

- Solide (éléments minéraux et matières organiques).
- Liquide (solution du sol)
- Gazeuse (atmosphère du sol).

Le tableau III.3 présente ses différents constituants :

Chapitre III: Le sol

Tableau III.3 : Les constituants du sol [33].

	Constituants solides		Constituants liquides	Constituants gazeux
	Minéraux	Organiques	Solution du sol	Atmosphère du sol
Origine	Désagrégation physique et altération biochimique des roches	Décomposition des êtres vivants	Précipitations, nappes, ruissellement	Air hors sol, matières en décomposition, respiration
Critères de Classement	Taille granulométrie Qualité minéralogie	Etats Vivants, morts Qualité chimique Originelle, transformée	Origine Météorique, phréatique Etat physique Potentiel hydrique Qualité chimique	Origine Air, organismes Qualité chimique
Catégories	Selon granulométrie • Squelette > 2 mm • Terre fine < 2 mm Selon minéralogie • Quartz • Minéraux silicatés • Min. carbonatés	• Organismes vivants • Organismes morts • MO héritées : cellulose, lignine, résines • MO humifiées : acides fulviques et humiques, humines	• Eau • Substances dissoutes : glucides, alcools, acides organique et minéraux, cations et anions	• Gaz de l'air : O ₂ , CO ₂ , N ₂ , ... • Gaz issus de la respiration et de la décomposition des organismes : CO ₂ , H ₂ , CH ₄ , NH ₃ , N ₂ O, ...

III.6 LA BIODEGRADATION DES MATIERES ORGANIQUES DANS LE SOL :

Les produits d'origine végétale, animale ou microbienne subissent, dans le sol des transformations biochimiques qui font intervenir les organismes vivants et / ou les enzymes du sol et des transformations purement chimiques ou physico-chimiques.

Ces matières organiques plus ou moins biodégradables sont, si les conditions du milieu sont favorables, utilisés comme source de carbone et d'énergie par les micro-organismes hétérotrophes qui les transforment en nouveaux corps microbiens et en produits de métabolisme gazeux, liquides, solides, qui sont finalement minéralisés (CO₂, H₂O, NH₃, SO₄²⁻, PO₄³⁻, ...) [33].

- **Action des êtres vivants** : les êtres vivants jouent un rôle essentiel à la fois dans la formation du sol et dans son fonctionnement. On peut dire que grâce à la quantité et à la diversité des êtres vivants présents, le sol va constituer un véritable réacteur biologique. L'un des processus principaux concerne évidemment la dégradation de la

Chapitre III: Le sol

matière organique et les grands cycles qui en dépendent directement comme celui du carbone et de l'azote [6].

- **Action des bactéries** : les microorganismes, et plus spécialement les bactéries, sont responsables d'un certain nombre de réactions biochimiques essentielles à la surface du globe et en particulier de la plupart des réactions d'oxydo-réduction qui leur apportent d'ailleurs souvent l'énergie qui leur est nécessaire. La première de ces réactions correspond à l'oxydation des composés carbonés qui conduit à la minéralisation de la matière organique et en phase finale à la formation de CO₂. Les caractéristiques physiques (température, eau, oxygène) déterminent la variabilité du fonctionnement biologique au cours de l'année et au sein des profils des horizons [6].

III.7 CONTAMINATION DU SOL :

La contamination des sols peut être diffuse à large échelle, ou intense et localisée. La contamination diffuse est peut être la plus grave car elle est difficilement gérable : les concentrations des polluants sont relativement faibles, quoique significatives ; ils peuvent se concentrer le long des chaînes alimentaires et créer des problèmes graves en fin de chaîne. En revanche, les volumes de sol concernés sont beaucoup trop importants, et les teneurs trop faibles pour qu'un traitement soit envisageable.

Une contamination intense et localisée résulte souvent d'activités industrielles et du déversement incontrôlé de déchets industriels dangereux, elle peut aussi résulter d'un événement accidentel ou d'un acte de guerre. La concentration des contaminants y est élevée, tandis qu'elle concerne en général un petit nombre d'espèces chimiques, ce qui permet d'envisager des processus de traitement spécifiques [28].

III.8 QUELQUES PROCÉDES DE TRAITEMENTS DES SOLS :

Les sols pollués peuvent être confinés dans des décharges prévues à cet effet, ce qui ne représente pas un processus de décontamination et de remédiation, mais plutôt la mise à l'écart temporaire d'un problème, le coût d'une décharge est élevé, alors qu'elle nécessite une surveillance à long terme et une gestion du risque environnemental. On peut envisager une remédiation des sols par des moyens physiques, chimiques ou biologiques. L'incinération et l'extraction chimique sont très coûteuses et conduisent souvent à la déstructuration du sol. Au contraire, la *bioremediation* permet en général de récupérer les

Chapitre III: Le sol

sols traités, au moins pour certaines applications. Globalement, ses couts sont en principe moins élevés.

Pour les deux types de contaminants : les métaux lourds et les composés organiques, ils impliquent des processus biologiques complètement différents en vue d'assurer leur élimination ou leur inactivation [28].

CHAPITRE IV

MÉTHODES DE CARACTÉRISATION UTILISÉS

Chapitre IV: Méthodes de caractérisations utilisées

IV.1 INTRODUCTION :

Les techniques infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) et chromatographie en phase gazeuse (CPG) ont été utilisées pour détecter la présence des substances étudiées (HTE, HTEA et polymère) dans le sol à la fin de l'essai de respirométrie ; les résultats des analyses nous indiqueront si la minéralisation du substrat est complète ou non.

IV.2 SPECTROSCOPIE INFRAROUGE A TRANSFORMEE DE FOURIER (FTIR) :

Les radiations infrarouges se situent dans la partie du spectre électromagnétique comprise entre la région visible et celle des micro-ondes. La région limitée entre 4000 et 400 cm^{-1} est la plus utile du point de vue pratique .Il s'agit de l'infrarouge moyen correspondant à des énergies de transition entre les niveaux vibrationnels. On distingue les vibrations de valence ou d'élongation (stretching), des vibrations de déformation (bending).

L'analyse infrarouge permet [38] :

- l'identification des composés organiques ;
- l'analyse fonctionnelle (groupements fonctionnels) et l'analyse quantitative (loi de Beer-Lambert) ;
- l'identification des groupements chimiques trouvés dans un polymère ou ceux induit par la dégradation ;
- La détection des changements structuraux et conformations (taux de cristallinité, ramifications) ;
- la compatibilité mutuelle de différents polymères en cas de couplage ;
- la transformation chimique et la dégradation des polymères ;
- l'étude des propriétés de surface (orientation des molécules).

La méthode IRTF possède plusieurs avantages :

- comme on n'utilise pas de monochromateur, la gamme complète de radiations passe à travers l'échantillon simultanément, d'où un gain de temps appréciable.
- les instruments IRTF possèdent un très grand pouvoir de résolution ($\leq 0,001 \text{ cm}^{-1}$).
- Les données subissent une conversion analogique-digital, les résultats sont faciles à traiter .

Un schéma d'un spectrophotomètre IRTF est représenté par la figure IV.1 .

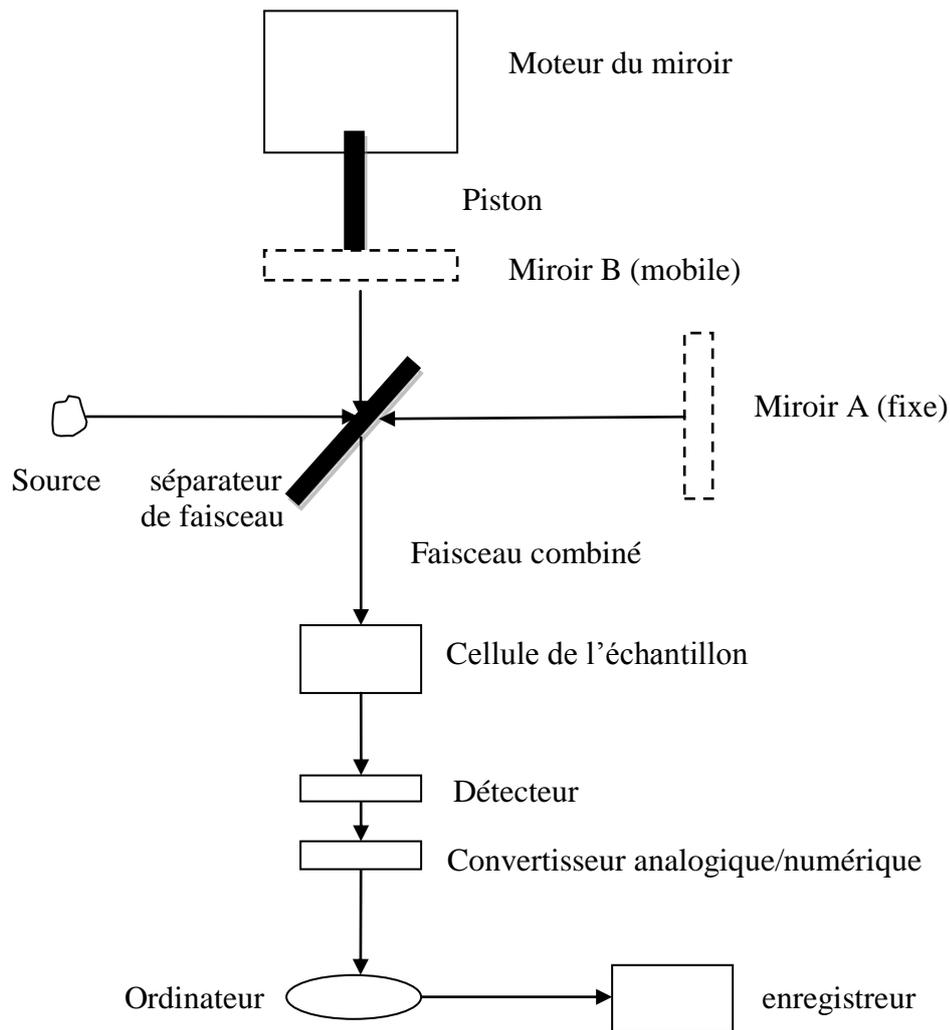


Figure IV.1 : Schéma d'un spectrophotomètre

L'absorption de la radiation infrarouge suit la loi de Beer-Lambert qui donne la variation de l'intensité lumineuse en fonction de la distance parcourue dans un milieu transparent, donc on définit l'absorbance par la loi ci-dessous comme suit :

$$A = \log(I_0 / I_t) = \varepsilon \cdot I \cdot C \quad (\text{IV.1})$$

I_0 : intensité du rayonnement incident.

I_t : intensité du rayonnement transmis.

ε : coefficient d'extinction molaire (l/cm.mol).

I : épaisseur de l'échantillon traversée par le faisceau (cm).

Chapitre IV: Méthodes de caractérisations utilisées

C : concentration de l'espèce absorbante (mol/l).

IV.3 CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE (CPG) :

La CPG s'applique à des échantillons gazeux ou susceptibles d'être vaporisés sans décomposition dans l'injecteur.

La phase mobile est alors un gaz (hélium, azote, argon ou hydrogène), appelé **gaz vecteur**, qui balaie en permanence la **colonne**. Cette dernière, placée dans un **four** thermostaté, est un tube de faible section enroulé sur lui-même et contenant la phase stationnaire. Un grand choix de **détecteurs** permet l'analyse sélective et parfois l'identification de mélanges très complexes. Si la phase stationnaire est un liquide non ou peu volatil, possédant des propriétés de solvant vis-à-vis des composés à séparer, on parle de chromatographie gaz-liquide ou **chromatographie de partage**. Si la phase stationnaire est un solide absorbant (silice, alumine, zéolites ou autres polymères adsorbants), c'est de la chromatographie gaz-solide ou **chromatographie d'adsorption** [38].

La figure IV.2 montre les différents composants d'un appareil de CPG :

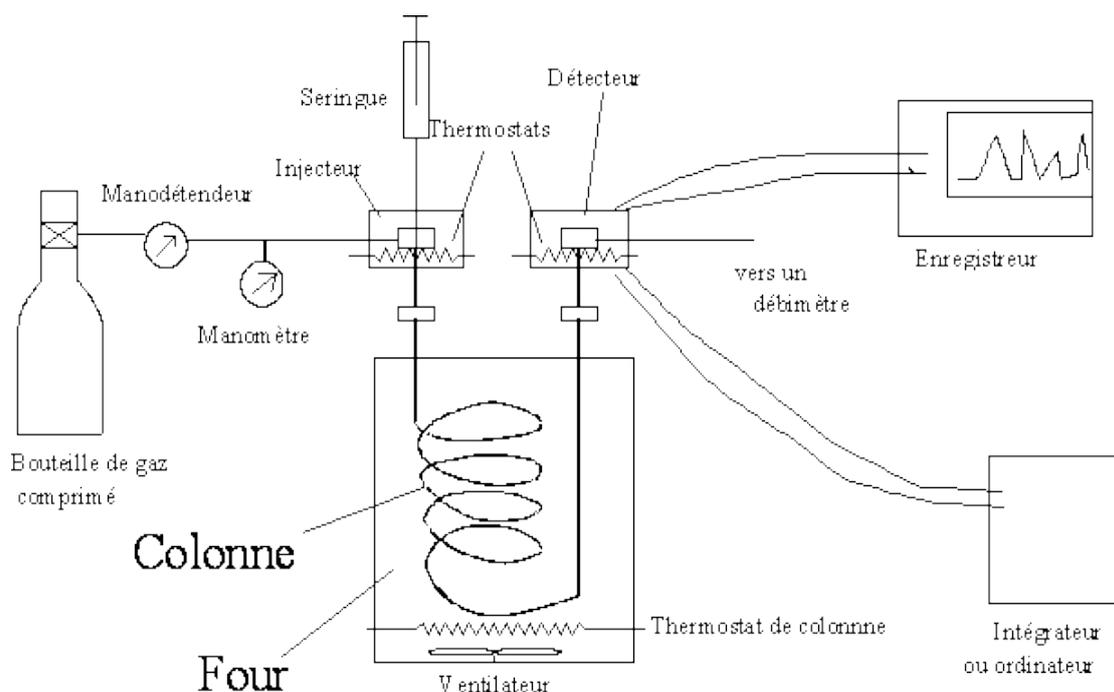


Figure IV.2 Schéma d'un appareil de CPG

Chapitre IV: Méthodes de caractérisations utilisées

L'échantillon (un liquide volatil) est d'abord introduit en tête de la colonne par l'intermédiaire d'une micro-seringue qui va traverser une pastille en caoutchouc, appelée *septum*, pour se retrouver dans une petite chambre en amont de la colonne appelée *injecteur*. L'injecteur est traversé par le *gaz porteur* et porté à une température appropriée à la volatilité de l'échantillon. Les quantités injectées peuvent varier de 0,2 à 5,0 μl .

Ensuite, une fois rendus volatils, les différents composés de l'échantillon vont être emportés par le *gaz porteur* (ou *gaz vecteur*) à travers la colonne et se détacher les uns des autres en fonction de leur affinité avec la *phase stationnaire*. La phase stationnaire peut être un liquide non (ou peu) volatil (chromatographie gaz-liquide) ou un solide adsorbant (chromatographie gaz-solide). Dans les deux cas, la phase stationnaire va provoquer un phénomène de ***réretention chromatographique*** avec les différents composés (appelés *solutés*). Plus le composé a une affinité à la phase stationnaire, plus il mettra de temps à sortir de la colonne. La grandeur expérimentale brute est appelée ***temps de rétention***. C'est le temps qui s'écoule entre l'injection de l'échantillon et l'apparition du signal maximum du soluté au détecteur. Pour favoriser le transport de tous les composés à travers la colonne (***élution***), il faut déterminer la bonne température du four. En général, la température doit être supérieure à la température d'ébullition des composés. On peut travailler en isotherme, c'est-à-dire avec une température fixe durant toute l'analyse ou avec un programme de température qui varie.

A la sortie de la colonne, les composés rencontrent un organe essentiel qui est appelé *détecteur*. Cet appareil évalue en continu la quantité de chacun des constituants séparés au sein du gaz porteur grâce à la mesure de différentes propriétés physique du mélange gazeux. Le détecteur envoie un signal électronique vers un enregistreur (sorte d'imprimante) qui dessinera les courbes de chaque pic en fonction de leur intensité (courbe de type Gaussienne). L'ensemble des pics est appelé *chromatogramme*. Actuellement et de plus en plus, les logiciels remplacent avantageusement les enregistreurs papiers pour l'interprétation des signaux envoyés par les détecteurs.

Le *gaz porteur* (ou *gaz vecteur*), est la phase mobile, dynamique de la chromatographie en phase gazeuse. C'est dans son flux que l'on injecte le mélange à analyser, et c'est lui qui le véhicule jusqu'au détecteur à travers toute la colonne.

CHAPITRE V

MÉTHODOLOGIE

EXPÉRIMENTALE

Chapitre V: Méthodologie expérimentale

V.1 PRODUITS UTILISES :

V.1.1 Substances d'essai :

Toutes les substances utilisées sont présentés dans le tableau V.1.

Tableau V.1 : Substances d'essai

Substances d'essai	Formule chimique	Source
L'huile de tournesol époxydée (HTE)	Voir (formule 1)	Préparé au laboratoire
L'huile de tournesol époxydée acrylée (HTEA)	Voir (formule 2)	Préparé au laboratoire
Polymère caoutchouc (HTE +Acide succinique)	/	Préparé au laboratoire
Le Sol	/	Décharge d'Oued- Smar.
Chloroforme (pour extraction)	CHCl ₃	BIOCHEM
Acide chlorhydrique	HCl	BIOCHEM
Hydroxyde de sodium (la soude)	NaOH	Sigma-Aldrich
Chlorure de baryum	BaCl ₂	/
Hydroxyde de Baryum	Ba(OH) ₂	/
Phénol phtaleine (indicateur coloré)	/	/

❖ L'huile de tournesol époxydée :

L'époxydation de l'huile de tournesol a été effectuée à 50°C , en utilisant l'acide peracétique préparé in situ en faisant réagir le peroxyde d'hydrogène (30%v/v) avec un excès d'acide acétique glacial en présence de la résine échangeuse d'ion Amberlit IR120. Le taux d'oxygène oxyrane (O.O) est de 6,2%.

❖ **Le polymère (HTE/AS):**

Il a été trouvé que les triglycérides réagissent très bien avec les diacides pour donner naissance à des caoutchoucs biodégradables. Dans ce cas, on a fait réagir de l'HTE avec l'acide succinique. La réticulation du polymère a été faite dans une étuve.



Figure V.1 : Polymère d'essai.

V.1.2 Le sol utilisé :

L'étude expérimentale a été réalisée sur un échantillon de surface d'un sol de la décharge d'Oued Smar, daïra d'EL HARRACH de la wilaya d'Alger.

L'échantillon de sol a été prélevé d'un horizon de surface de 0 – 20 cm. Les caractéristiques seront données ultérieurement.

Le sol utilisé a été séché puis tamisé à 2mm, pour assurer une bonne aération des bactéries et pour éviter tout colmatage des particules de sol.

V.2 METHODES D'ANALYSE :

Les analyses de caractérisation de l'échantillon du sol étudié ont porté sur la granulométrie, le pH, la matière organique, l'azote et le phosphore totaux, ces analyses ont été faites au niveau du laboratoire de pédologie à l'Institut National Agronomique (INA) à El Harrach suivant des méthodes normalisées.

Un dénombrement des germes présents dans le sol qui a été fait au niveau de notre laboratoire.

V.2.1 Analyses physico-chimiques du sol :

✓ Détermination du pH réel du sol : Mesure électrométrique dans une suspension sol/eau où ce rapport est égal à 1/ 2,5.

La mesure du PH d'une suspension de sol dans l'eau (noté pH H₂O) rend compte de la concentration en ions H₃O⁺ à l'état dissocié dans le liquide surnageant. Ces ions sont en équilibre avec ceux présents à l'état non dissocié, retenus sur le complexe argilo-humique. Le PH est d'autant plus bas que le complexe adsorbant (ou argilo-humique) est plus riche en ions H₃O⁺ échangeables.

✓ Granulométrie : Méthode internationale à la pipette de Robinson.

La présente méthode a pour but de déterminer le pourcentage des différentes fractions de particules minérales. Le principe de la méthode est basé sur la mise en suspension de particules minérales, des prélèvements seront faits à l'aide de la pipette de Robinson, dans des flacons à sédimentation à des profondeurs et à des moments déterminés.

✓ Mesure de la capacité de rétention en eau : Cette mesure a été effectuée au moyen de l'appareil de Richards (1954).

En soumettant un sol placé sur une plaque de céramique à des pressions variant entre 0,1 et 1 bars, on cherche à reproduire au laboratoire les conditions de drainage existant dans les sols en place. On mesure ensuite l'humidité résiduelle. La capacité de rétention correspond au maximum d'eau que le sol peut retenir dans des conditions où son drainage se trouve assuré librement.

✓ Mesure de l'humidité à la capacité de rétention:

L'échantillon du sol a été humidifié pendant 24 heures par ascension capillaire puis placé sur un support soumis à une pression atmosphérique pour le drainage. Par la suite, l'humidité pondérale est mesurée après séchage à 105°C pendant 48 heures.

✓ Détermination du phosphore assimilable : Le dosage du phosphore est déterminé selon la **méthode d'Olsen**.

L'extraction d'acide phosphorique, dans cette méthode, est faite avec une solution 0,5N de bichromate de sodium ajusté à pH 8,5. Le dosage est basé sur la formation et la réduction d'un complexe de l'acide phosphorique et de l'acide molybdique.

Chapitre V: Méthodologie expérimentale

Dans un milieu contenant le complexe phospho-molybdique et en présence d'acide ascorbique provoque, par la chaleur, le développement d'une coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en orthophosphates.

La formation du complexe se fait selon la réaction suivante :

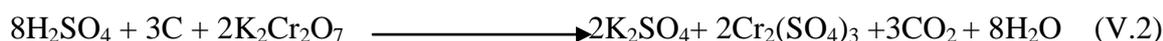


V.2.2 Analyses biologiques du sol :

- ✓ Dosage du carbone organique totale : La méthode utilisée est celle d'ANNE (1945).

Le carbone de la matière organique du sol est oxydé à chaud avec une solution de bichromate de potassium (K_2CrO_7) en milieu sulfurique (source de chaleur). La quantité de bichromate doit être en excès par rapport à la quantité nécessaire à l'oxydation du carbone organique du sol. L'excès de K_2CrO_7 qui n'a pas réagi est ensuite titré par une solution de sel de mohr en présence de diphénylamine dont la couleur passe successivement par le bleu foncé, brun noirâtre, violet puis vert .

La réaction s'écrit comme suit :



Matière organique :

La détermination de la teneur en MO du sol passe par le dosage du carbone organique du sol.

On admet que la MO contient en moyenne 58% de carbone organique $\implies 100/58=1,72$

Donc :

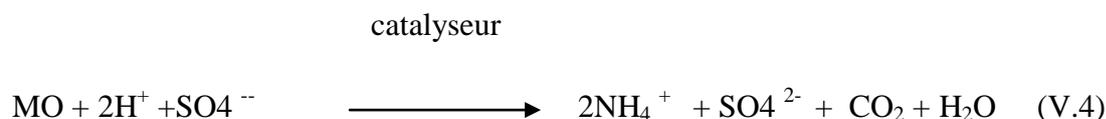
$$\boxed{\text{MO}\% = \text{CO}\% * 1,72} \quad (\text{V.3})$$

- ✓ Dosage de l'azote total : méthode KJELDHAL (1960).

La plus grande partie de l'azote dans les sols se trouve sous forme organique. Pour le dosage on emploie la méthode de KJELDAHL où on transforme l'azote des composés organiques en azote ammoniacal par l'acide sulfurique concentré (qui agit comme oxydant et détruit les matières organiques) à ébullition.

Chapitre V: Méthodologie expérimentale

Le carbone et l'hydrogène se dégagent à l'état de gaz carbonique et d'eau. L'azote transformé en ammoniac est fixé par l'acide sulfurique à l'état de sulfate d'ammonium selon la réaction :



On déplace ensuite l'ammoniac par addition de soude :



Ensuite l'ammoniac est distillé et recueilli dans une solution de H_2SO_4 (0,005N).

V.3 BIOMASSE MICROBIENNE:

V.3.1 Préparation des dilutions:

A partir d'une solution mère (1g du sol dans 10 ml d'eau physiologique.) dont on ignore la concentration en bactéries, on extrait 1ml de cette solution qu'on dilue dans 9 ml d'eau physiologique (dilution = 10^{-1}). On obtient alors une solution 10 fois diluée. On prélève de ces derniers 1 ml que l'on dilue encore une fois dans 9 ml d'eau physiologique. on répète cette opération autant de fois.

V.3.2 Ensemencement et incubation:

A partir des dilutions préparées, on ensemence 1ml de chaque solution dans un milieu gélosé, qui est un milieu ordinaire permettant le développement de n'importe quelle bactérie. Chaque bactérie (qui reste invisible à l'œil nu) se multiplie en développant ainsi une colonie (qui par contre elle est visible à l'œil nu), donc le nombre de colonies développées correspond au nombre de bactéries présent dans le ml de solution. Bien sur le milieu se trouve dans une boîte de petri, ensuite, les boîtes petris sont incubées dans l'étuve pendant 24 heures.

V.3.3 Dénombrement de la flore totale:

le dénombrement se fait pour les boîtes donnant entre 30 et 300 colonies ; si c'est au delà on dit que c'est indénombrable (ID)

le dénombrement des bactéries repose sur le principe selon lequel une colonie se forme par divisions d'un seul micro-organisme, on examine la membrane à la fin de l'incubation, à

Chapitre V: Méthodologie expérimentale

travers le couvercle, c'est-à-dire on compte les colonies en la marquant sur le fond de la boîte avec un marqueur, tel que représenté ci-dessous par la figure IV.2.

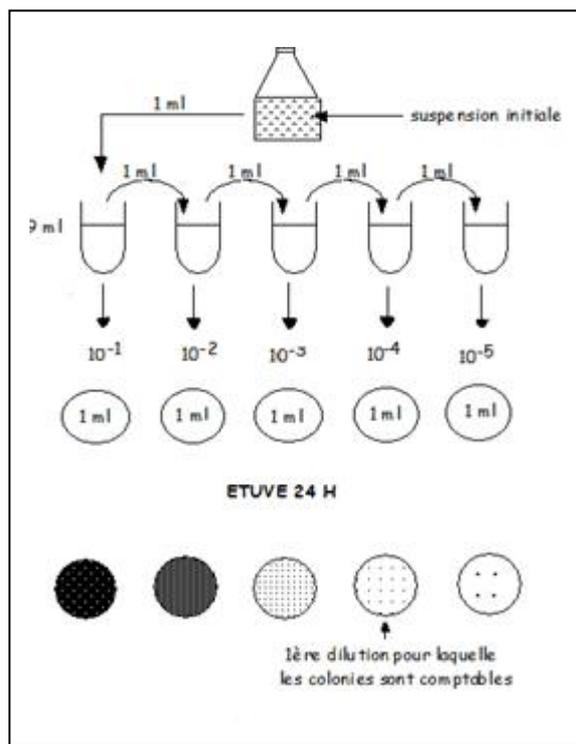


Figure V.2: Différentes étapes de détermination de la biomasse [8].

V.4 TEST DE RESPIROMETRIE :

V.4.1 Critères de validité

Pour la biodégradation en sol, il existe des critères de validité tels que [35] :

- ✚ Le dégagement de CO_2 par le sol blanc, c'est-à-dire du sol seul, qui doit être inférieur à 20% de la valeur moyenne de CO_2 dégagé par les autres échantillons.
- ✚ Le rapport C/N doit être compris entre 10/1 et 40/1.
- ✚ La température : il est important de se trouver dans les conditions habituelles propices au développement des microorganismes présents dans le sol. Pour cela, on se place à température constante comprise entre 25 et 28°C°. Dans notre cas la température est fixée à 28°C°.
- ✚ Concentration de substrat dans le sol : la quantité de substance à tester doit être suffisante pour que le dégagement de CO_2 ne soit pas masqué par celui du sol. En

pratique, au dessus de 0,5 mg de l'échantillon par gramme du sol, ce qui donne un rapport produit/sol=0,5/1000.

Ainsi, l'aération du milieu est nécessaire puisqu'on veut se trouver en milieu aérobie. Elle se fait grâce à un air dépourvu de CO₂.

V.4.2 Principe :

Le test de respirométrie repose sur une mesure de la production de CO₂, de la consommation d'oxygène ou de la croissance microbienne dans des milieux contrôlés. Le principe consiste à exposer le matériau à une source de micro-organismes ou inoculum.

La dégradation de l'échantillon à analyser est suivie par la mesure de la quantité de dioxyde de carbone (CO₂) produite par les micro-organismes pendant la durée de l'essai. Le CO₂ produit en continu est piégé dans une solution d'hydroxyde de sodium. Un dosage titrimétrique est effectué afin de déterminer la quantité de CO₂ produite [8].

V.4.3 Dispositif d'incubation :

- Dans des erlenmeyers de 250 ml, on introduit :
 - 50 ml de sol (préalablement tamisé à 2 mm et de rapport (C/N= 20/1))
 - 1 g de substrat (HTE , HTEA et le polymère) .
 - Une quantité d'eau qui est égale à 55% de la teneur en eau de notre sol.

- L'étude repose sur trois types d'échantillons :
 - HTE (huile de tournesol époxydée)
 - HTEA (huile de tournesol époxydée acrylée)
 - Polymère.

- Le nombre de répétitions pour chaque échantillon est fixé à trois ainsi qu'à trois répétitions pour le blanc.

- L'incubation des erlens se fait à une température de 28°C pendant toute la période d'essais après chaque aération.

V.4.4 Dispositif du déplacement de CO₂ :

Le dispositif (figure IV.3) est composé de :

- Une pompe à air d'un débit constant.

Chapitre V: Méthodologie expérimentale

- Une solution de Ba(OH)₂ (1N) , une solution de NaOH (1N) et de l'eau distillée (pour assurer l'humidification de l'atmosphère dans les erlenmeyers d'incubation), ces solutions sont contenues dans des erlens de 1L reliés respectivement à la pompe ,et suivis par un erlenmeyer vide pour éviter les remontées d'eau dans la rampe, la soude et l'hydroxyde de sodium ont pour but de capter le CO₂ de l'air pour que ce dernier soit pur lors de l'aération.
- Les erlens d'incubation sont reliés à la rampe d'un coté et aux flacons contenant de la soude (0,5N) d'un autre coté à l'aide des tuyaux, la soude sert à piéger le CO₂ libéré lors de la l'activité microbienne.

V.4.5 Dosage du CO₂ dégagé :

Le CO₂ dégagé qui résulte de l'activité microbienne est piégé par la solution de NaOH (0,5N) contenue dans les flacons. Avant de commencer le dosage, on rajoute dans ces flacons 3 gouttes de phénol phtaléine qui donne la couleur rose et le chlorure de baryum (BaCl₂) qui facilite la précipitation du CO₂.



Après chaque aération, on procède au dosage de l'excès de soude par l'acide chlorhydrique (HCl 1N). On continue le dosage jusqu'à la disparition de la couleur rose et la solution devient donc incolore.



Le volume de HCl noté va nous servir à calculer la masse de CO₂ dégagée :

$$\boxed{M_{\text{CO}_2} = 22 \times V_{\text{HCl}}} \quad (\text{Voir annexe C}) \quad (\text{V.8})$$

Avec : M_{CO₂} : masse de CO₂ dégagé par l'activité microbienne en mg ;

V_{HCl} : volume de HCl pour doser l'excès de soude.

V.4.6 Calcul du taux de biodégradation :

A partir des valeurs de mesures cumulées de la production de dioxyde de carbone, le pourcentage de biodégradation du matériau d'essai pour chaque intervalle de mesure est calculé à partir de l'équation suivante [36] :

Chapitre V: Méthodologie expérimentale

$$\% \text{ de biodégradation de substrat} = \frac{\text{CO}_2 \text{ sol+substrat} - \text{CO}_2 \text{ sol}}{\text{CO}_2 \text{ Th}} \times 100 \quad (\text{V.9})$$

Où :

CO₂ sol+substrat : est la quantité cumulé de CO₂ libérée par le mélange sol-substrat en mg par récipient ;

CO₂ sol : est la quantité moyenne de CO₂ libérée par le sol blanc en mg par récipient ;

Th CO₂ : est la teneur théorique de CO₂ susceptible d'être produit par le matériau d'essai (substrat) en mg par récipient.

V.4.7 Calcul de la teneur théorique en dioxyde de carbone :

La teneur théorique en dioxyde de carbone (Th CO₂), en gramme par récipient, susceptible d'être produite par le matériau d'essai est calculée par l'équation suivante [36] :

$$\text{CO}_2 \text{ th} = M_{\text{TOT}} \times C_{\text{TOT}} \times \frac{44}{12} \quad (\text{V.10})$$

Où:

M_{TOT} : est la masse de matières sèches totales du matériau d'essai introduit dans les récipients de compostage au début de l'essai en grammes ;

C_{TOT} : est la teneur relative en carbone organique total des matières sèches totales contenues dans le matériau d'essai, en grammes par gramme ;

44 et 12 : sont les masses moléculaires et atomique relatives du dioxyde de carbone et du carbone, respectivement.

V.5 EXTRACTION AU SOXHLET :

Afin d'extraire les substrats (THE, HTEA et le polymère) à partir des échantillons de sol, on a effectué l'extraction au Soxhlet a la fin du test de respirometrie. Pour cela, on prend un échantillon de sol de 20 g qu'on introduit dans une cartouche poreuse, cette dernière est introduite dans un soxhlet qui est placé entre un réfrigérant où circule de l'eau et un ballon en verre rempli aux $\frac{3}{4}$ de chloroforme qui sert de solvant. A l'aide d'un chauffe ballon, l'extraction des substances organiques se fait par dissolution dans le chloroforme qui lave le

Chapitre V: Méthodologie expérimentale

sol. La durée de l'extraction est de 6 heures. Ces solutions sont récupérées par évaporation surveillée et conservées jusqu'à l'analyse par chromatographie en phase gazeuse et spectroscopie infrarouge.

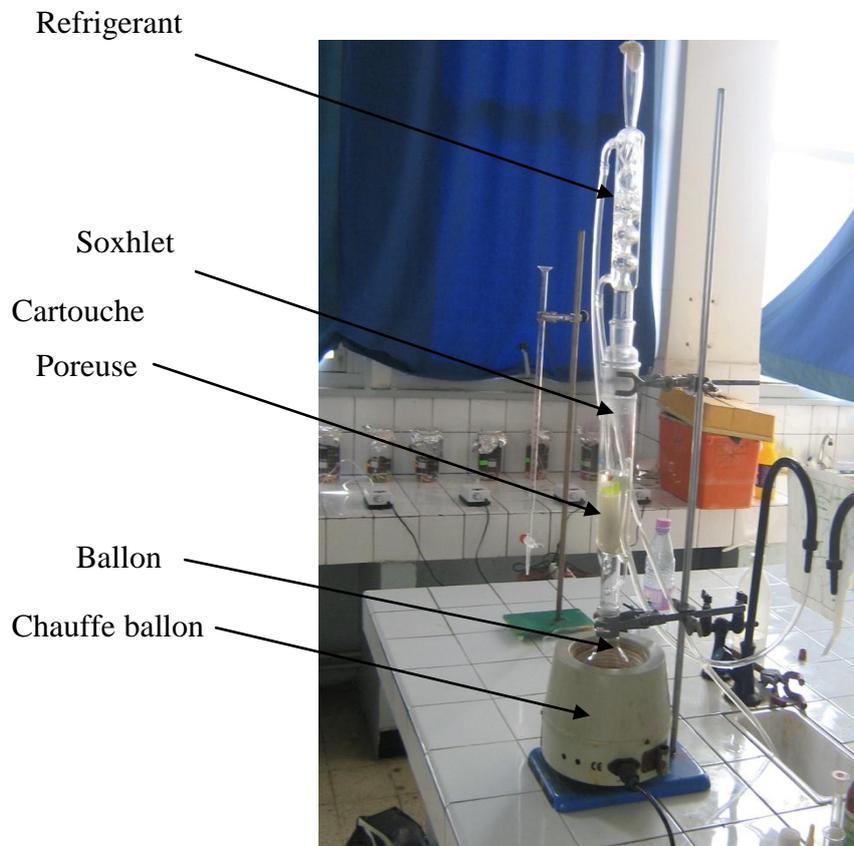


Figure V.3: Extracteur Soxhlet.



Figure V.4 : Dispositif de respirométrie

V.6 CARACTERISATION DES EXTRAITS PAR CPG :

Les extraits ont été caractérisés par CPG à l'aide d'un appareil GC 17A.

Avant de procéder à cette analyse, une méthylation a été faite sur les huiles ainsi que le polymère afin de transformer les triglycérides en acides gras libres pour avoir leurs profils correspondants.

Les conditions d'analyse sont :

- La température d'injection : 250°C
- La température du départ étant de 90°C pendant 3 minutes ensuite elle augmente progressivement à raison de 6°C par minutes pendant 14 minutes puis elle se stabilise à 250°C .
- Volume d'injection : 1µl.
- Type de colonne : capillaire.
- Détecteur :Fid
- Moded'injection : micro-seringue d'une contenance de 5µl.
- Temps d'analyse : 15 minutes.

V.7 CARACTERISATION DES EXTRAITS PAR FTIR :

Les extraits ont été caractérisés par spectroscopie IR à l'aide d'un spectrophotomètre FTIR de marque thermo-Nicolet model Nexus 670.

Cette analyse à été faite à l'aide des pastilles KBr préparés à partir d'un mélange de 0.2 g de KBr avec une goutte de chaque échantillon.

V.8 ANALYSE MICROSCOPIQUE :

Cette analyse a été faite à l'aide d'un microscope optique qui nous a permis d'effectuer différentes observations sur polymère enfouit dans le sol afin de suivre les modifications de la surface du matériau suite à l'attaque par les microorganismes du sol.

CHAPITRE VI

RÉSULTATS OBTENUS ET DISCUSSIONS

Chapitre VI : Résultats obtenus et discussion

VI.1 CARACTERISTIQUES DU SOL UTILISE:

Les résultats de l'analyse du sol sont donnés dans les tableaux (VI.1 et VI.2).

Tableau VI.1. Caractéristiques du sol utilisé

Caractéristiques	Teneur
pH eau	08,320
Capacité de rétention en eau (%)	29,260
Humidité (%)	03,690
Phosphore assimilable P ₂ O ₅ (ppm)	112,00
Carbone organique (%)	03,075
Matière organique (%)	05,289
Azote totale (%)	35.10 ⁻⁴
rapport carbone/azote (C/N)	20,00
Biomasse initiale (N ₀) (UFC/ ml)	38,5. 10 ⁴

Tableau VI.2 : Composition du sol utilisé.

Composant	Pourcentage (%)
Argile	12,63
Limon fin	10,99
Limon grossier	10,58
Sable fin	16,15
Sable grossier	37,02

VI.2 RESULTATS DE LA BIOMASSE MICROBIENNE :

Les résultats du dénombrement de la microflore totale sont représentés dans la figure VI.1.

- **Sol** : le nombre des bactéries du sol avant traitement est de 385*10³ CFU/g (avant traitement).
- **Sol + HTE** : le nombre de bactéries dans le sol enrichi en HTE est de 291*10³CFU/g (après traitement).

Chapitre VI : Résultats obtenus et discussion

- **Sol + HTEA** : la population bactérienne dans le sol enrichi en HTEA est de $220 \cdot 10^3$ CFU/g (après traitement).
- **Sol + polymère** : Pour le sol enrichi en polymère, le nombre de germes trouvé est de $295 \cdot 10^3$ CFU/ml (après traitement).

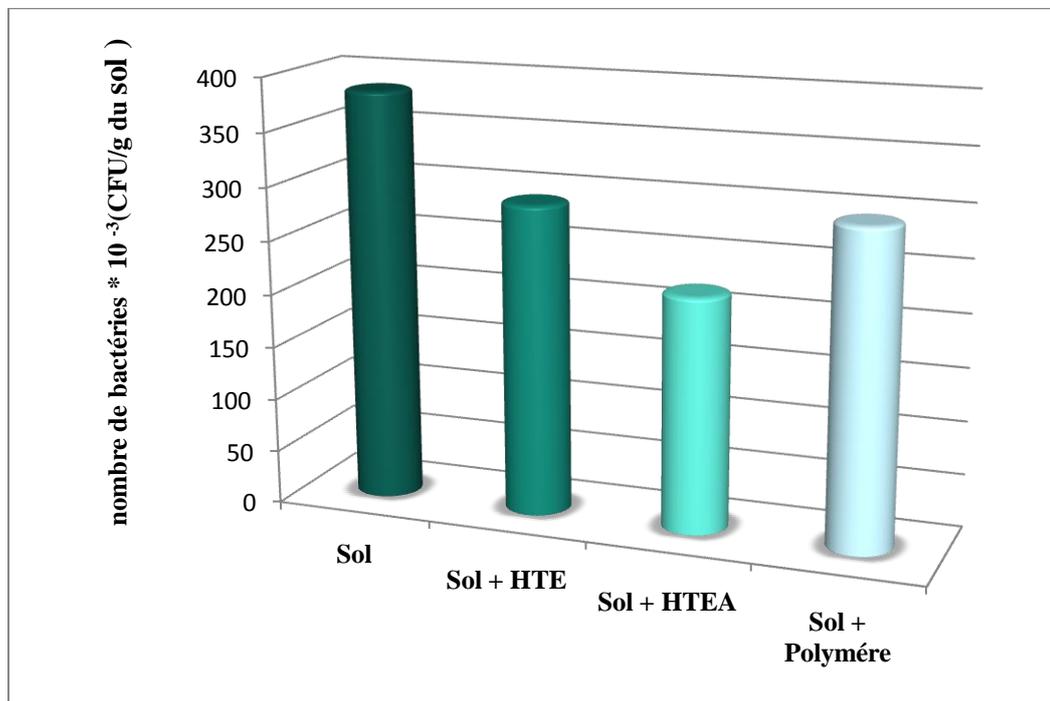


Figure VI.1. Biomasse bactérienne (CFU/g du sol)

Globalement, on remarque que le nombre de bactéries a diminué après le traitement pour les trois substrats, en le comparant avec celui du sol seul, ce qui signifie que le traitement a diminué le nombre de bactéries des sols enrichis en substrats. En outre, cette diminution peut s'expliquer par le fait que le sol utilisé contient différents types de microorganismes parmi lesquels ceux qui n'influencent pas les conditions des essais (aération, température, pH...) et donc cela entraîne leur disparition.

VI.3 TEST DE RESPIROMETRIE :

VI.3.1. Production quotidienne du CO₂:

Les résultats de la production du CO₂ quotidien sont représentés dans la figure VI.2.

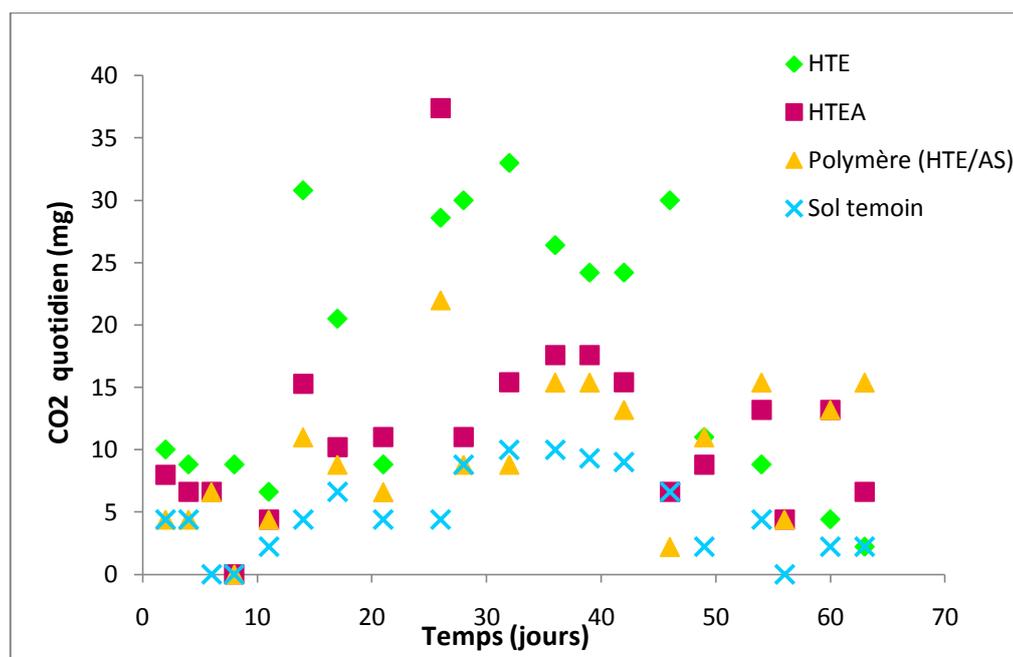


Figure VI.2. : Production quotidienne de CO₂.

Ces résultats montrent que l'activité resperométrique se déroule en trois phases :

Phase 1 : lors de cette phase, les microorganismes s'adaptent au milieu et aux substrats ce qui mène aux faibles dégagements de CO₂. Cette phase se passe entre « 0-11 jours » pour l'ensemble des substrats ainsi que pour le blanc.

Phase 2 : à partir du 11^{ème} jour, on enregistre une augmentation remarquable de la quantité de CO₂ dégagée qui atteint son maximum au bout du 26^{ème} jour pour l'HTEA et HTE/AS avec une quantité de CO₂ de 37,4 et 22 mg pour les deux produits respectivement, et au bout du 32^{ème} jour pour l'HTE et le blanc avec des quantités de 33 et 10 mg respectivement.

Phase 3 : Dans cette phase, la quantité de CO₂ décroît progressivement à cause de la décroissance de l'activité bactérienne qui est due de la diminution des composés facilement métabolisables.

Cependant, une petite reprise de la quantité de CO₂ est remarquable pour l'HTE « 43-51 jours », et l'HTEA « 46-57 jours » ainsi que pour le polymère « 46-60 jours », cette petite reprise correspond à la dégradation des produits néoformés (métabolites).

Chapitre VI : Résultats obtenus et discussion

Pour le polymère, la quantité de CO₂ journalière dégagée à la fin de l'essai respirométrique est importante par rapport à celle de l'HTE et celle du blanc aussi ce qui signifie que sa biodégradation continue.

VI.3.2. Production cumulée du CO₂:

Le dégagement cumulé de carbone, sous forme de CO₂ en fonction du temps, est représenté dans la figure VI.3.

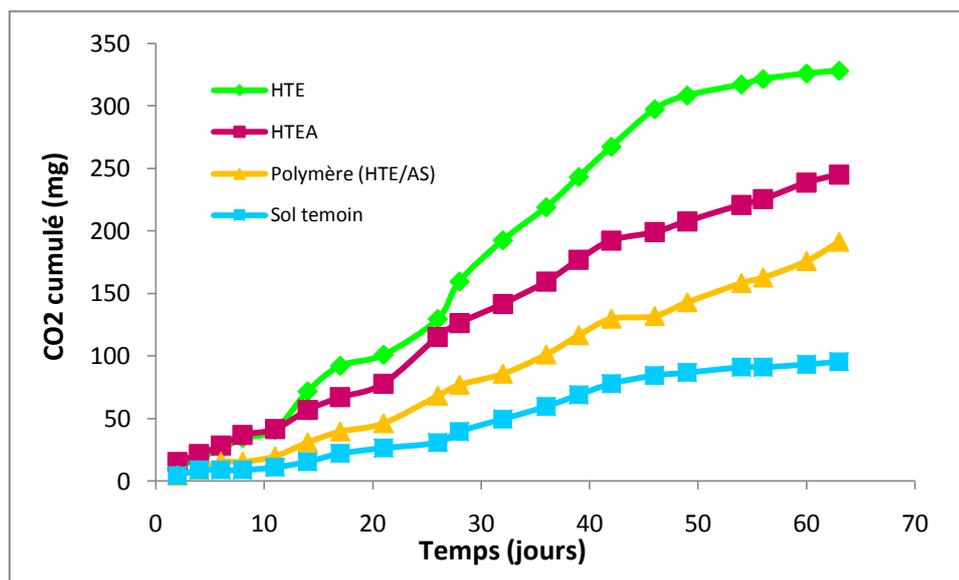


Figure VI.3. : Production cumulée de CO₂.

D'après la figure ci-dessus, le dégagement cumulé de carbone sous forme de CO₂ pour les échantillons du sol enrichis en HTE est le plus élevé, suivi par le substrat riche en HTEA, puis par le substrat riche en polymère solide et finalement, par le sol témoin qui possède les valeurs les plus faibles du CO₂ cumulé.

Ainsi on peut conclure que l'incorporation dans le sol de substrat organique (HTE ou HTEA et le polymère) ne réduit pas la respiration, au contraire elle la favorise, et donc l'activité biologique n'est pas inhibée en présence de ces substrats.

VI.3.3. Taux de biodégradation:

Le taux de biodégradation de l'ensemble des substrats en fonction du temps est représenté par la figure VI.4. L'étude de l'allure de ces courbes nous renseigne sur le rythme de l'activité biologique du sol sous l'influence de ce traitement.

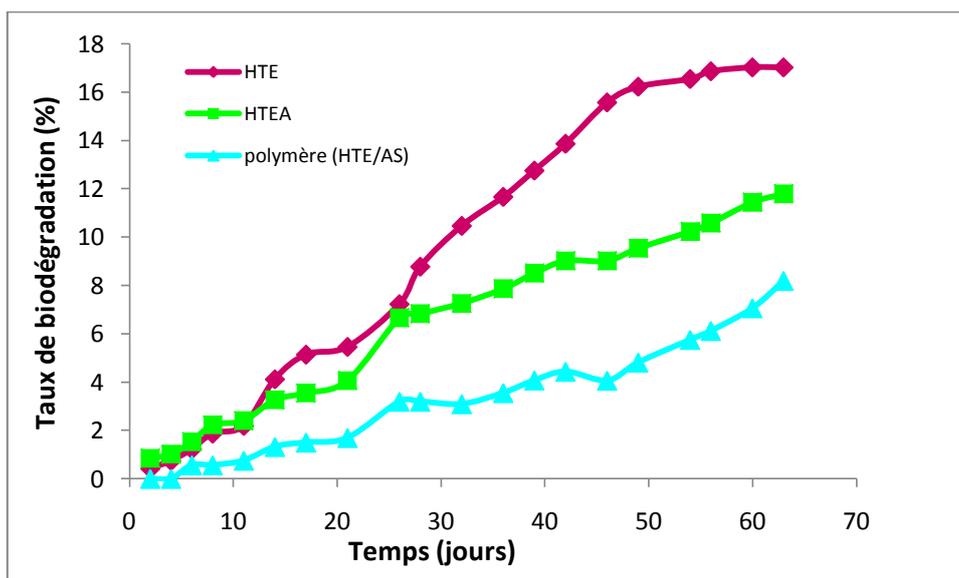


Figure VI.4. Evolution du taux de biodégradation en fonction du temps.

Ces courbes montrent que l'activité bactérienne passe par trois phases :

Phase 1 : phase de latence

Elle correspond à l'adaptation des microorganismes, elle commence au début de l'essai jusqu'à l'obtention d'un taux de 10% du taux maximale de biodégradation, et donc elle s'arrête au niveau du 8^{ème} jour environ pour l'HTE et l'HTEA mais elle continue jusqu'au 11^{ème} jour pour le polymère solide.

Phase 2 : phase de dégradation

Elle commence dès la fin de la première phase jusqu'à l'obtention d'un taux de biodégradation équivalent à 90 % du taux maximal, pour notre substrat. La biodégradation de l'HTE atteint un taux de 91,48 % du taux de biodégradation maximal au bout du 46^{ème} jour, et l'HTEA atteint le 56^{ème} jour un taux de 89,73 %. En ce qui concerne le polymère le taux de biodégradation est de 86,2 % du taux de biodégradation maximal après deux mois de traitement.

Phase 3 : Phase stationnaire

Elle s'écoule de la fin de la biodégradation jusqu'à la fin de l'essai. Graphiquement, on remarque que le taux de biodégradation devient constant à partir du 49^{ème} et 60^{ème} jours

Chapitre VI : Résultats obtenus et discussion

respectivement pour l'HTE et l'HTEA alors qu'il continue à augmenter pour le polymère qui continue sa dégradation au delà du 63^{ème} jour.

En comparant le taux de biodégradation de l'HTE à ceux trouvés précédemment dans le même laboratoire (10-12%) [3,6 ,13], il est plus amélioré. Cependant, il aurait pu atteindre 50-60% si on avait augmenté la biomasse microbienne. Et vu que les taux de biodégradation de l'HTEA et du polymère solide représentent 69,35% et 48,11% de la dégradation de l'HTE, donc l'augmentation de la biomasse microbienne aurait été un facteur satisfaisant pour une meilleure dégradation du polymère solide et de l'huile acrylée.

Puisque le but de ce travail est d'évaluer la biodégradabilité du polymère synthétisé à base d'huile végétale, on peut dire alors que notre polymère n'est pas complètement biodégradable en deux mois car un matériau est considéré comme biodégradable si 60 % du carbone contenu dans l'échantillon est transformé en CO₂.

V.4. ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE PAR CPG:

Les résultats d'analyse chromatographique des extraits des échantillons du sol à la fin du test de respirométrie sont donnés sur les chromatogrammes présentés dans les figures VI.5, VI.6 , et VI.7 qui représentent respectivement l'HTE, l'HTEA et le polymère solide (avant et après biodégradation) pour chaque échantillon.

Chapitre VI : Résultats obtenus et discussion

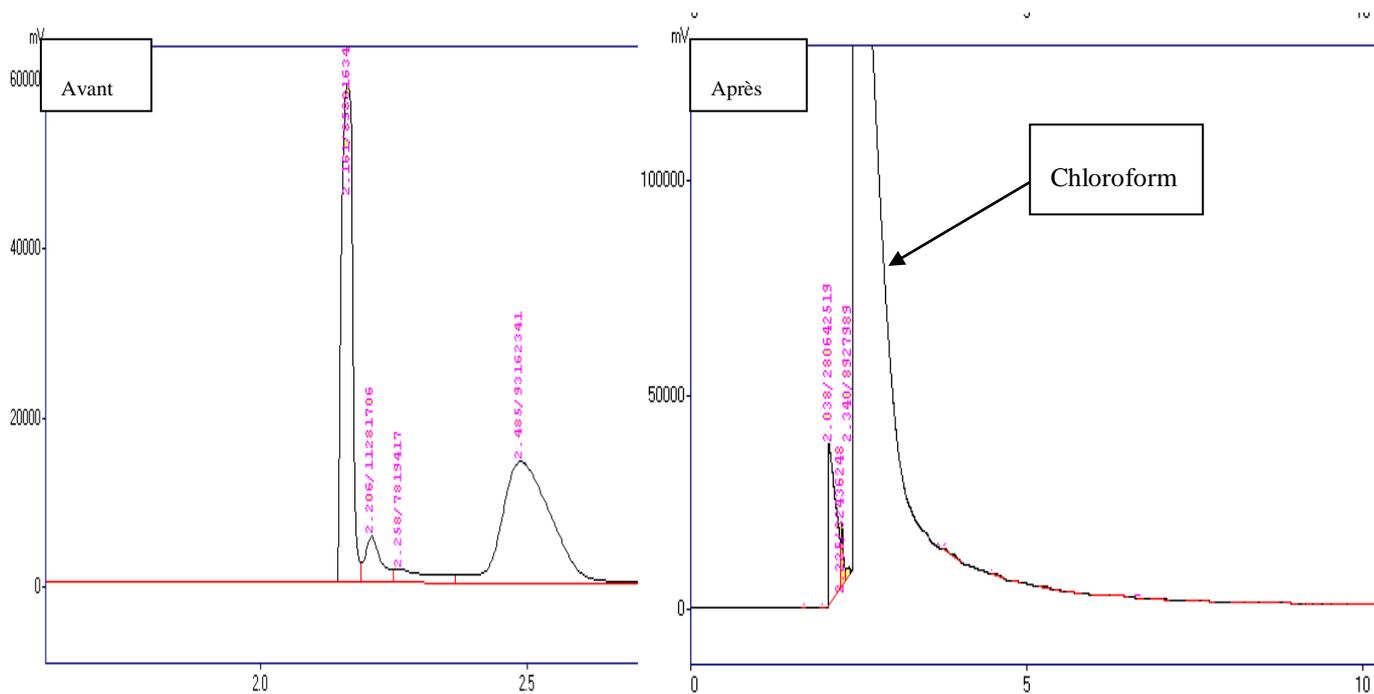


Figure VI.5 : Chromatogrammes de l'extrait l'HTE.

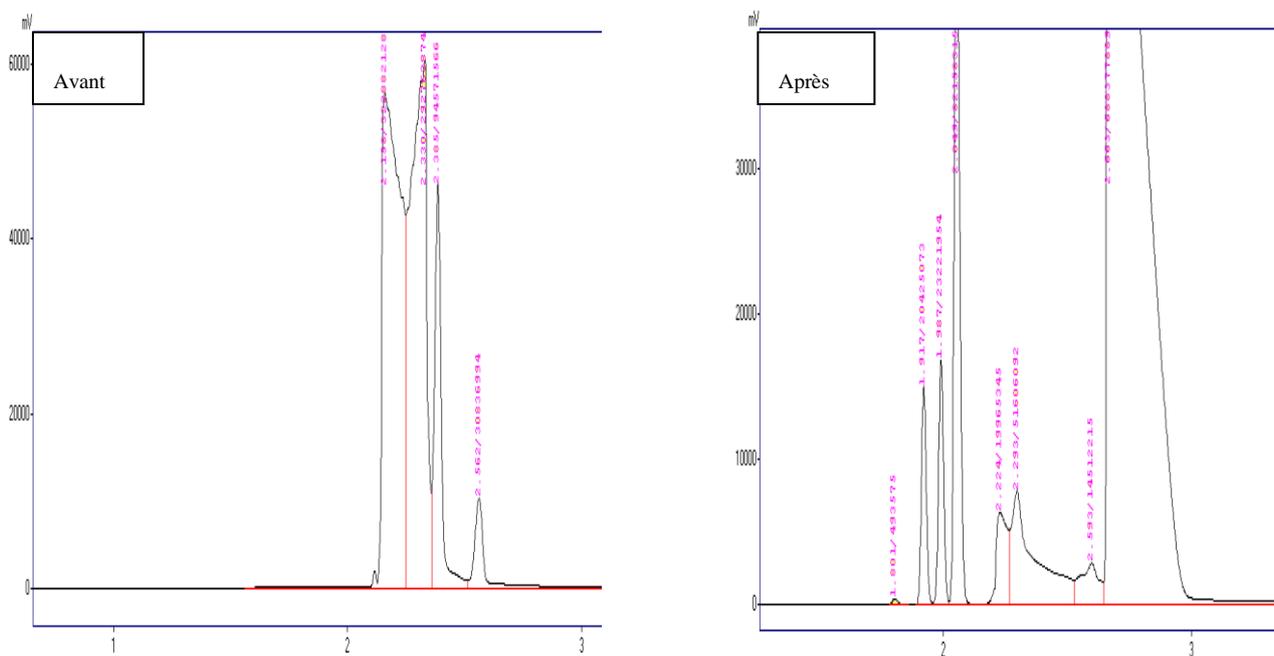


Figure VI.6 : Chromatogrammes de l'extrait de l' HTEA.

Chapitre VI : Résultats obtenus et discussion

- Pour tous les diagrammes obtenus après biodégradation, on remarque la présence du pic de chloroforme (**figure VI. 8**) car on a fait l'analyse sur des solutions d'extractions des trois échantillons qui contiennent le solvant (chloroforme) après avoir fait une méthylation.
- Pour les échantillons avant traitement, la méthylation a été réalisée sur les huiles pures alors qu'elle a été faite sur la solution d'extraction pour le polymère, c'est pour cela que le diagramme de ce dernier contient le pic représentant le chloroforme avant traitement.

Les spectres obtenus montrent que pour :

L'HTE : on remarque que cette huile contient à l'état initial trois pics distincts dont les temps de rétention se situent entre 2 et 2,5 minutes. Ces pics sont réduits en un seul après traitement, qui se situe avant le pic représentant le chloroforme, ce qui signifie que la structure de l'HTE a subi des modifications lors de sa biodégradation.

L'HTEA : le chromatogramme de cette huile montre l'existence de cinq pics intenses entre 2 et 3 minutes. Après traitement, l'intensité de ces pics diminue considérablement. Ainsi on remarque une apparition de trois nouveaux pics intenses ainsi qu'un tout petit nouveau pic qui sont dus aux produits néoformés lors de la dégradation.

Le Polymère : la différence entre la structure initiale du polymère et la structure finale après traitement est représentée par la surface des pics qui s'est réduite après traitement, ce qui confirme la modification de la structure du polymère lors de ce processus .

VI.5. ANALYSE PAR FTIR :

Les figures VI.9, VI.10 et VI.11 présentent les spectres infrarouges des échantillons (HTE, HTEA et le polymère) avant et après deux mois de biodégradation dans le sol.

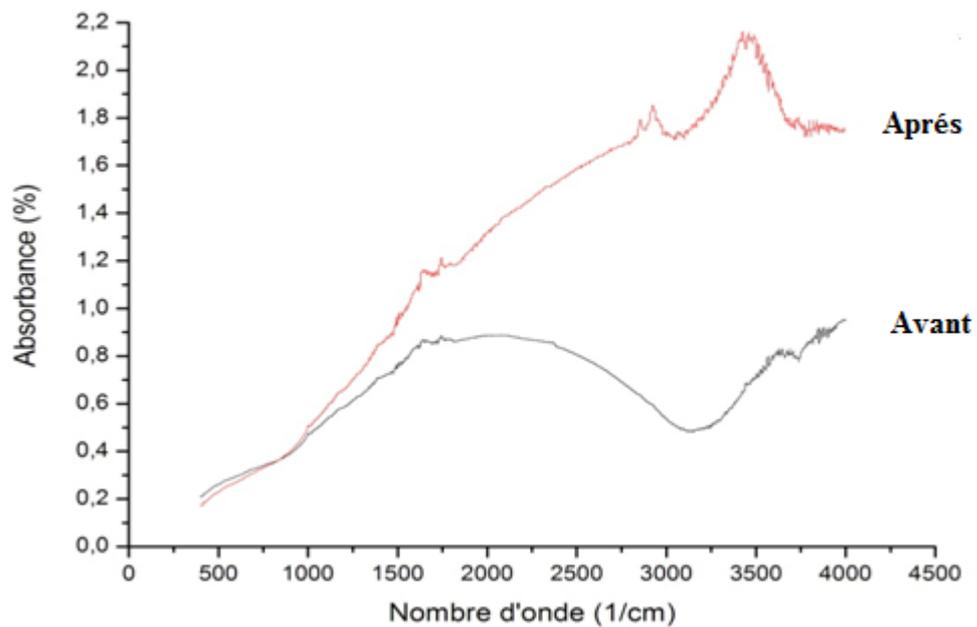


Figure VI. 9: Spectres IRTF de l'HTE avant et après biodégradation

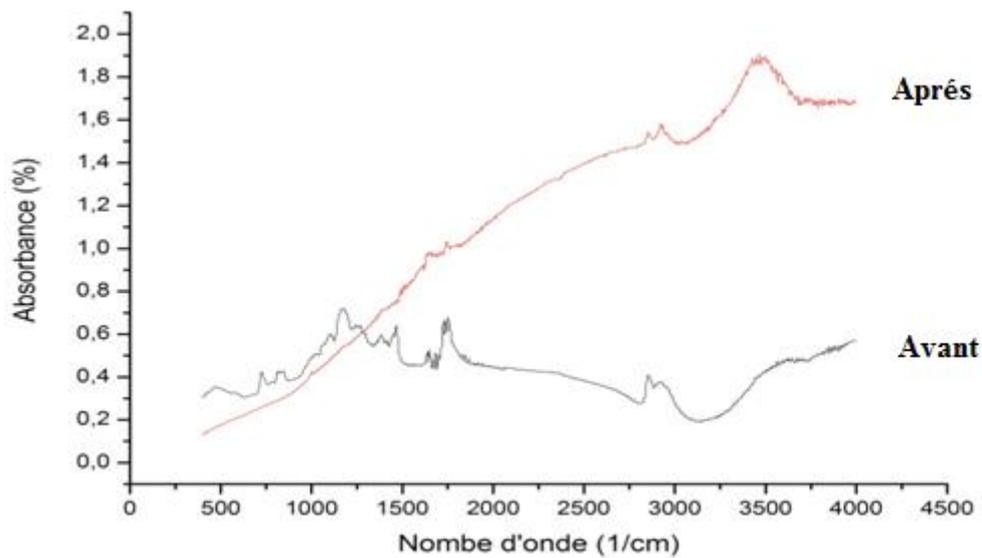


Figure VI. 10: Spectres IRTF de l'HTEA avant et après biodégradation

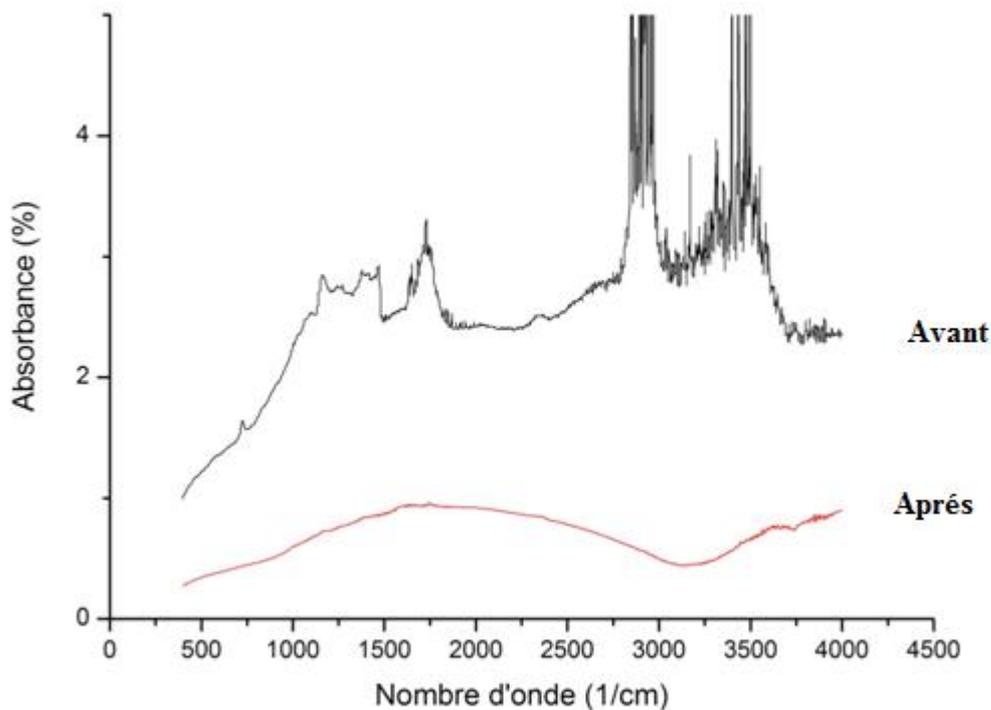


Figure VI. 11: Spectres IRTF du polymère avant et après biodégradation.

D'une façon générale, on voit que le nombre de pics ainsi que leur intensité a diminué après traitement pour les différents types de substrats.

La qualité des spectres obtenus ne nous permet pas d'accéder aux détails des groupements fonctionnels présents. Toutefois, l'allure générale des spectres après biodégradation laisse supposer que les structures initiales ont été profondément modifiées.

VI.6. OBSERVATION MICROSCOPIQUE:

Les photos obtenues à l'observation microscopique avant et après enfouissement du polymère dans le sol sont représentées dans les figures VI.12, VI.13 et VI.14.

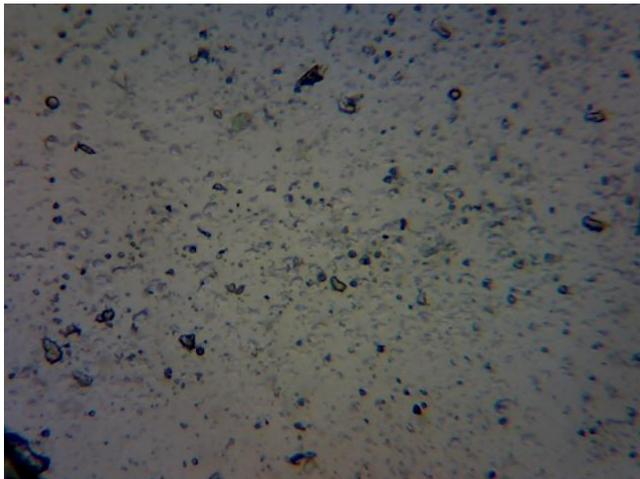


Figure VI.12 : Surface du polymère avant enfouissement dans le sol (x100).

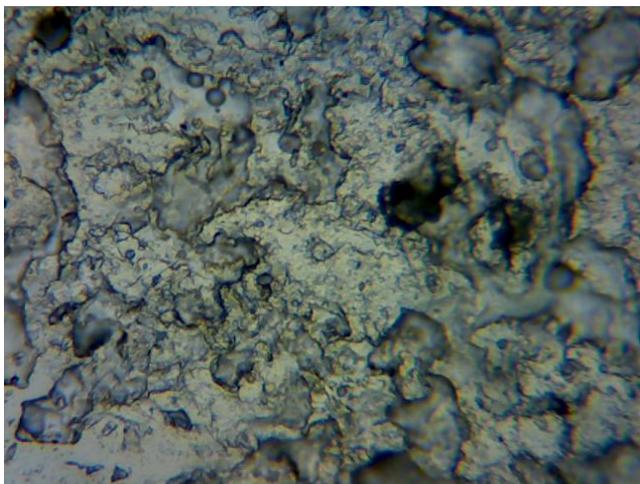


Figure VI.13 : Surface du polymère après 15 jours d'enfouissement dans le sol (x100).

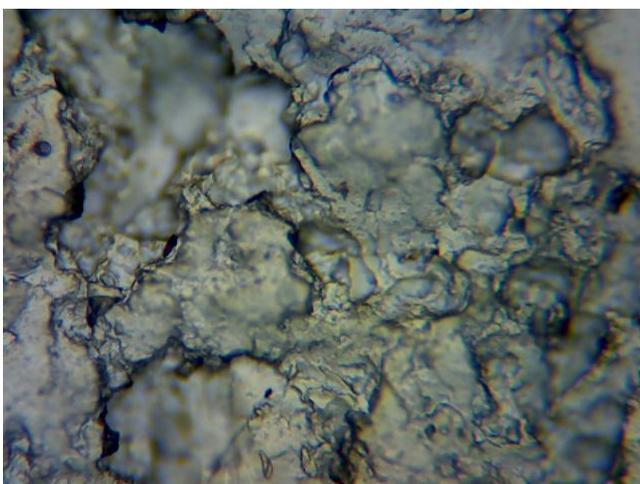


Figure VI.14 : Surface du polymère après 48 jours d'enfouissement dans le sol (x100).

Chapitre VI : Résultats obtenus et discussion

D'après ces figures, on peut constater que l'activité microbienne a provoqué des modifications notables au niveau de la surface du polymère.

Ces modifications sont plus importantes après 48 jours d'enfouissement dans le sol (figure VI.14). Ces résultats confirment que le polymère étudié est biodégradable.

CONCLUSION

GÉNÉRALE

CONCLUSION GÉNÉRALE

L'essai de respirométrie nous a permis de tirer les conclusions suivantes :

- Le nombre de germes dans l'essai de biodégradation du sol seul avant traitement est supérieur au nombre de germes présents dans les échantillons de sol enrichis en substrat après traitement. On a constaté aussi que le nombre de germes présents dans le sol enrichi en polymère est plus important que celui des autres échantillons de sol.
- Le maximum de la quantité de CO₂ journalière produite par les échantillons des sols ayant reçu les huiles (HTE et HTEA) et le polymère est plus importante que celle de l'échantillon témoin.
- Le dégagement cumulé du carbone sous forme de CO₂ pour les échantillons du sol enrichis en HTE est plus élevé que celui du sol enrichi en HTEA et en polymère.
- La présence d'un plus grand nombre de sites actifs dans l'HTEA que dans l'HTE n'a pas empêché cette dernière d'être la plus biodégradable, ce qui l'aisse supposer une plus grande adaptation des microorganismes à l'HTE et non pas à l'HTEA.
- L'analyse chromatographique et spectroscopie infrarouge des extraits des échantillons de sol à la fin de l'essai de respirométrie a confirmé que tous les composés organiques étudiés (HTE ,HTEA et le polymère) ont subi une biodégradation.
- On peut dire aussi que les microorganismes du sol utilisé ne sont pas adaptés aux types de substrats étudiés ce qui s'est traduit par des taux de biodégradation modérés au bout de deux mois d'essai.

Il serait intéressant en vue d'approfondir cette étude de considérer les aspects suivants:

- Augmenter la période de l'essai dans le cas du polymère étudié.

- Analyse des métabolites des substrats et identification des souches responsables de la biodégradation.

- Faire l'étude sur différents types du sol pour pouvoir évaluer l'influence quantitative des microorganismes du sol sur la biodégradation.

- Détermination quantitative des substrats migrés dans le sol par des techniques analytiques.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]: A.Longieras. « **Mise au point d'un milieu solide inerte pour l'étude de la biodégradation des polymères dans le compost** ».Thèse de doctorat en chimie des matériaux, Université de Reims Champagne Ardenne, 2005.
- [2] : Direction des Energies Renouvelables, des Réseaux et des Marchés Energétiques Hilaire BEWA. « **Matériaux polymères biodégradables et applications** ».Note de Synthèse II, (2006), p1.
- [3] : Y .Medkour. « **Etude de la biodégradation des huiles de tournesol et de soja époxydées** ». Mémoire d'ingénieur en génie de l'environnement, Ecole Nationale Polytechnique, Alger, 2008.
- [4] : K. Rabetafi, M. Paquot & P.Dubois. « **Les polymères issus du végétal : matériaux à propriétés spécifiques pour des applications ciblées en industrie plastique** ». Biotechnol. Agron. Soc. Environ, (2006), 10, 185 – 196.
- [5] : G. Castelen . « **Polymères biodégradables** », techniques de l'ingénieur, BIO 4150, pp 2- 15, paris (2010).
- [6] :Dj. Djedouani. « **Etude des impacts environnementaux de l'huile de tournesol époxydée** ». Thèse de magister en génie de l'environnement, Ecole Nationale Polytechnique, Alger, 2008.
- [7] : N.Kamel. « **Procédé de Dégradation Microbienne du Phénol : Comparaison de trois techniques** » .Mémoire d'ingénieur en génie de l'environnement, Ecole Nationale Polytechnique, Alger, 2005.
- [8]:M.A. Bahlaoui. « **Microbiologie & Bio-ingénierie** ». Cours Microbiologie &Environnement_DESA_MBI_Partie1, (2006) ,1-34.
- [9] : F. Jbilou, P.Degraeve & I.Sebti . « **Synthèse sur les différentes méthodes d'évaluation de la biodégradabilité des polymères à base de ressources renouvelables** », 2008,1-8.
- [10] : N.Abdi . « **Cours de OPU biologique de 4^{ème} année** ». Département de génie de l'environnement, Ecole Nationale Polytechnique.
- [11] : Chantel & L.Clergeand. « **Les huiles végétales** ». Paris ,France : Eds Amyris,(2011), 66p.
- [12] : Le Conseil Européen de l'Information sur l'Alimentation (EUFIC). « **Modification génétique: de l'huile végétale sur mesure** ».Food today, (1998).
- [13] : C. Chouiref . « **Etude de la biodégradabilité de l'huile de tournesol époxydée** ». Mémoire d'ingénieur en génie de l'environnement, Ecole Nationale Polytechnique, Alger , 2004.

- [14] : Directive 2003/30/CE de la commission. « **Qu'est-ce que l'huile végétale pure ?** ». Journal officiel des communautés européennes, 2003.
- [15] : A .Blayo. « **Les huiles végétales, les colophanes et les terpènes** » . L'actualité chimique, (2002), 27-30.
- [16] : P. Xavier, Xatart & PARÈS . « **Technologies des corps gras (huiles et graisses végétales)** », techniques de l'ingénieur, F6070, pp 17-18, Paris (2008).
- [17] : N.Combea & A. Rossignol-Castera. « **Vegetable oils and frying** », Edts Elsevier Masson, Paris (2010), 44-51.
- [18] : B. Grand. « **Les huiles végétales et la santé** ».Programme National Nutrition Santé, (2006), 1-2.
- [19] : G .Hersant & S. Kaliaguine. « **Époxydation catalytique des huiles végétales** ».OLÉOTEK Inc. Et Université Laval, Projet N° 210012, 2011.
- [20] : Hodakowski et al. « **Polymerisable epoxide-modified compositions** » .US. Patent 4, (1978), 119- 640 .
- [21]: I. Javni, W.Zhang & Z.S.Petrovic. « **Soy bean-Oil-based Polyisocyanurate rigid foams**». J.polym.& Env,(2002),10,1-8.
- [22]: F. Li. & R.C.Larock, « **New Soybean Oil-Styrene-Divinylbenzene thermosetting copolymers** ». Shape memory effect. J. App. Polym. Sci., vol.84, 1533-1543 (2002).
- [23]: Borden et al . « **Acrylated epoxidized soy bean oil urethane derivatives** ». US. Patent 4, 477 (1977).
- [24]: S.N.Khot et al. « **Development and application of triglycerides-based Polymers and composites** » . J. Appl. Poly. Sci., Vol. 82, 703-723 (2001).
- [25]: Fjistu. « **Environnemental Enginneering Center** », Tokyo, 2006.
- [26] : J.C.Laout . « **Formulation des peintures-mise en œuvre des polymères utilisés** », techniques de l'ingénieur, J2272, pp 3-4, Paris (2005)
- [27] : Ministère de l'écologie, de l'énergie, du Développement durable et de l'Aménagement du territoire. « **Les matières organiques du sol : rôles, risques et enjeux** », Commissariat général au développement durable, (2008), 13-14.

[28] : J.M.Gobat & M .Aragno. « **Le sol vivant** » .Lausanne, Suisse : Eds Presses polytechniques et universitaires romandes, (2003), 568 p.

[29] : M.Bonneau & B.Soudier. « **Pédologie** », édition Masson, Paris (1979).

[30] : « **Le sol** ». Association Terre & Humanisme. Tiré du site web

www.terre-humanisme.org.

[31]: Bonneau & Maurice. « **Constituants et propriétés du sol** ». Paris, France: Eds Masson, (1994),250p.

[32] : C. Legout . « **L'eau dans les sols** ». Tiré des cours de l'université de Joseph Fourier, Grenoble, France , 2006, 14 p

[33] : M. Robert. « **Le sol : interface dans l'environnement, ressource pour le développement** ». Paris, France : Eds Masson, (1996), 260p.

[34] : L.Caner & E.Tertre. « **Cours de la science du sol. Licence III, terre & Environnement** ».Tiré de l'université de Poitiers , (2008), p 36

[35] : Norme internationale ISO 1999b. « **Determination of the ultimate aerobic biodegradability in soil by measuring the oxygen demand in a respirométer of amount of carbon dioxide released** ».

[36] : Norme internationale ISO 14855-1999. « **Evaluation de la biodégradabilité aérobie ultime et de la désintégration des matériaux plastiques dans des conditions contrôlées de compostage : Méthode par analyse du dioxyde de carbone libéré**».

[37] : R. Irinislimane. « **Valorisation du Polyéthylène Basse Densité régénéré par couplage avec l'élastomère Éthylène-Propylène-Diène-Méthylène** ».Thèse de magister, Ecole Nationale Polytechnique (2004).

[38] :P. Richardin. « **La chromatographie en phase gazeuse** ». La chromatographie: Analyse et separation , Paris, 2001.

ANNEXES

ANNEXE A

Méthodes d'analyses :

1- Détermination du PH réel du sol :

Peser 20 gr de terre finement broyée, préalablement séchée. Placer cette terre dans un bécher et ajouter 50 ml d'eau distillée. Agiter durant 10 minutes puis laisser reposer 15 minutes. Et prendre le pH de la suspension.

2- Granulométrie :

Sur un échantillon de terre séché à l'air et tamisé à 2 mm, on détruit la matière organique qui joue un rôle de ciment entre les particules argileuses. La terre est ensuite agitée avec une solution alcaline qui provoque la dispersion et abandonnée au repos pour permettre la sédimentation des particules qui tombent avec des vitesses d'autant plus grandes qu'elles sont plus grosses. Cette analyse se fait suivant plusieurs étapes :

- On pèse 10g de terre et on les place dans un bécher auquel on rajoute 50 ml d'eau oxygénée, l'attaque à froid commence alors, on porte ensuite ce bécher sur une plaque chauffante et on le couvre avec un verre de montre. La réaction est terminée lorsque la mousse disparaît et qu'aucune bulle d'oxygène ne vient crever à la surface.
- On fait passer la terre dans les flacons à sédimentation au moyen d'un jet de pissette d'eau distillée, on rajoute 50 ml de la solution dispersante d'hexametaphosphate de sodium et 1ml d'ammoniaque pure puis on complète à 1L avec de l'eau distillée.
- On agite pendant deux heures à l'agitateur rotatif à allure modérée.
- On agite ensuite énergiquement par retournements en s'assurant que tout le dépôt qui a pu se former au fond de l'allonge est entièrement remis en suspension.
- Après 5min19sec à 16°C (d'après le tableau affiché au laboratoire de pédologie qui relie chaque température avec le temps correspondant), on prélève à 10 cm de profondeur une partie aliquote de la fraction **argile limon**; on remonte la pipette et on vide son contenu dans une capsule tarée, on évapore à sec, on sèche à l'étuve à 105°C et on pèse le résidu sec.
- On opère exactement de la même façon après repos de six heures (à 16°C), on adopte la profondeur correspondante d'après le tableau cité précédemment.
- Ensuite, on fait passer la suspension sur un tamis à 16 mailles de 50 μ en entraînant et lavant les sables sur le tamis par un courant d'eau ordinaire.

ANNEXE A

- On rassemble les sables d'un côté du tamis puis on les faire passer dans une capsule par un jet de pissette.
 - On lave les sables à l'eau par décantation pour éliminer les débris de racines restés sur le tamis et on les sèche à l'étuve à 105°C.
 - Après séchage, on sépare les sables fins des sables grossiers par tamisage à sec au tamis de 200 μ puis on pèse ces deux fractions.
 - Les limons grossiers s'obtiennent par différence après les calculs.

➤ Calculs:

$$\text{Argile (\%)} = \frac{(P_x - P_0) * 1000 * 100}{20 * 10} * \text{coefficient de correction};$$

$$\text{A+LF (\%)} = \frac{(P_x - P_0) * 1000 * 100}{20 * 10} * \text{coefficient de correction};$$

$$\text{A+LF+LG (\%)} = \frac{(P_x - P_0) * 1000 * 100}{20 * 10} * \text{coefficient de correction};$$

$$\text{SF (\%)} = \frac{P_x * 100}{10} * \text{coefficient de correction};$$

$$\text{SG (\%)} = \frac{P_x * 100}{10} * \text{coefficient de correction}$$

Avec:

$$\text{Coefficient de correction} = \frac{100}{100 - (\text{MO\%} + \text{H \%})}$$

P_x : poids de l'échantillon.

P_0 : poids de dispersant (hexametaphosphate de sodium)

3- Mesure de la capacité de rétention en eau :

- On place les anneaux remplis de terre (10g) sur la plaque poreuse et on laisse imbiber la terre 24 heures dans de l'eau déminéralisée par ascension capillaire (l'eau arrive à moitié hauteur de l'anneau).

ANNEXE A

- La mesure est faite deux fois.
- Disposer la plaque dans l'enceinte de la presse à plaque et ajuster le bouchon du tuyau d'écoulement.
- Mettre sous pression pendant 24 heures, en retenant la valeur du pF la plus élevée des deux conditions suivantes pour l'argile et l'argile + limon fin.

Pf	pression (millibars)	A%	(A+LF)%	Texture
2.0	100	<5	<5	- sols très sableux, non humifères.
2.3	200	<=5	5< A+LF <=15	- sols sableux.
2.5	320	5<A<=15	15<A+LF<=30	- sols sablo-argileux, sablo-lumineux.
2.7	500	15<A<=40	30<A+LF<=65	- sols à texture équilibré.
3.0	1000	A>40	A+LF>65	- sols argileux, argilo-limoneux.

Tableau A.1 : Variation du pF avec la texture de l'échantillon

Le pF de la capacité de rétention varie avec la texture de l'échantillon : de 2,0 pour les sols très sableux à 3,0 pour les sols très argileux.

Au bout de 24 heures, on détend la pression et on place les échantillons dans les boîtes tarées pour les mesures de l'humidité.

Calcul :

L'humidité à la capacité de rétention a pour expression, en pourcentage :

$$\text{HR}\% = \frac{a-b}{b-c} \cdot 100$$

Avec :

a : boîte à tare+terre humide.

b : boîte à tare+terre sèche.

c : boîte à tare.

ANNEXE A

4. Mesure de l'humidité à la capacité de rétention:

- Peser la boîte (avec son couvercle) et son contenu.
- Porter la boîte ouverte et son couvercle à l'étuve réglée à 105°C pendant 24 heures.
- Retirer la boîte de l'étuve, la boucher et la laisser refroidir dans un dessiccateur.
- Peser à nouveau la boîte et son contenu.

La perte de poids subit par le sol représente le poids d'eau évaporée pendant le séchage.

Calcul :

$$\text{Humidité(\%)} = \frac{\text{poids humide} - \text{poids sec}}{\text{poids sec}} \cdot 100$$

5. Détermination du phosphore assimilable :

Le dosage de phosphore assimilable se fait en trois parties :

1ère partie : L'extraction

- Peser 5g de terre fine, ajouter 100ml de NaHCO₃ (0.5N).
- Ajouter une pincée de charbon actif jusqu'à l'obtention d'une solution claire
- Agiter pendant 1h puis filtrer.

2ème partie : Complexation et réduction.

- Prélever 5ml du filtrat.
- Ajouter 3 ml du réactif chloro-sulfo-molybdique et laisser le CO₂ se dégager.
- Ajouter 15ml d'eau distillée.
- Ajouter 2 ml d'acide ascorbique, puis chauffer au bain marie à 80°C pendant 5mn, jusqu'au développement d'une couleur bleue. (nous on a chauffé entre nos mains)

3ème partie : dosage par calorimétrie

- Passer au calorimètre pour effectuer une lecture de la densité optique.
- Passer également à la gamme étalon pour le calcul du coefficient de lecture(C).

➤ Calcul :

Le phosphore assimilable dosé est exprimé sous la forme de P₂O₅ en ppm.

La formule de calcul est la suivante :

ANNEXE A

$$\text{P}_2\text{O}_5 \text{ (ppm)} = \text{X}/1000. \text{U}/\text{v}. \text{V}/\text{P}.1000$$

X : concentration obtenue en fonction du coefficient de lecture($X=Lx/C$)

U : volume colorimétrique (25ml)

v : volume de la prise d'essai (5ml)

V : volume de la solution d'extraction (100ml)

P : poids de la prise d'essai de terre (5g)

Dosage du carbone organique totale :

➤ Mode opératoire :

- on pèse 0.25 g de terre séchée à l'air libre qu'on la met dans un ballon de 250 ml puis on ajoute :
 - 10 ml de la solution de bichromate de potassium (0,2 N)
 - 15 ml de la solution d'acide sulfurique concentré.
- on couvre le ballon par un verre de montre et on le porte sur un chauffe ballon.
- Après la chute de la première goutte d'eau, on compte 5 minutes et on retire le ballon ;
- On laisse refroidir et on transpose son contenu dans une fiole jaugée de 100ml puis on complète avec de l'eau distillée ;
- On prélève 20 ml de cette solution et on les transpose dans un bécher en verre qu'on lui rajoute :
 - 150 ml d'eau distillée ;
 - 0,5 g de NaF.
 - 3 à 4 gouttes de solution de diphénylamine.
- En agitant, on titre l'excès de bichromate avec le sel de Mohr jusqu'à obtention d'une couleur bleu verte
- On refait le même mode opératoire avec un témoin (sans terre fine).

➤ Calcul :

La formule qui permet de calculer le taux de carbone organique totale dans le sol est la suivante :

$$\text{CO}\% = (\text{Y}-\text{X})*0,615*(100/\text{V})*(100/\text{P})/1000$$

Avec :

ANNEXE A

X : Volume de solution de sel de mohr utilisée pour doser l'échantillon de sol (ml)

Y : volume de solution de sel de mohr utilisé pour le dosage du témoin (ml)

V : volume de l'aliquote (20ml)

P : poids de la prise d'essai (0.25g)

CO : carbone organique (%)

6. Dosage de l'azote total :

Mode opératoire :

Ce dosage se fait en deux étapes :

a- Minéralisation :

- On introduit 0,5 g de terre dans un matras de KJELDAHL, on ajoute de l'eau distillée et on agite légèrement puis on le laisse reposer pendant 30 minutes.
- On rajoute :
 - o une pincée de l'indicateur colorée
 - o 20 ml d'acide sulfurique concentré.
- On porte à la rampe d'attaque ; on chauffe d'abord doucement jusqu'à ce que l'eau soit évaporée puis on augmente la chaleur et on laisse bouillir.
- On continue le chauffage une heure après la décoloration et on laisse refroidir.
- Après refroidissement, on verse le contenu des matras dans des fioles de 100 ml , on ajoute de l'eau distillée pour rassembler tous ce qui a au fond des matras.
- On complète dans les fioles avec de l'eau distillée à 100 ml.

b-Distillation et dosage :

- Dans un erlen on met 10 ml de l'acide borique à 2% et 3 gouttes d'indicateur coloré.
- On plonge le tube du réfrigérant de l'appareil de distillation dans la solution contenant dans l'eren.
- après avoir l'agiter, on prélève 20 ml de la solution de la terre (la solution mère) qu'on le met dans le matras de KJELDAHL.
- On ajoute à ce dernier 20 ml de la soude (1N) puis on commence à chauffer et distiller jusqu'à ce que 50 ml de distillat soit recueillis.
- On abaisse l'eren et on lave le tube avec de l'eau distillée.

ANNEXE A

- Le dosage des NH_3 se fait par titrage avec l'acide sulfurique (0.005N).
- On arrête le dosage quand la couleur bleu disparaît.
- L'essai à blanc à été fait avec la même quantité de réactifs.

➤ Calcul :

Si la normalité de l'acide sulfurique est (0.005N) donc 1 ml d'acide sulfurique correspond à 0.7 mg d'azote.

$$\boxed{N\% = 0,7 (X-Y) * V/v * 100/P}$$

X : nombre en ml d'acide sulfurique pour le dosage de l'échantillon.

Y : nombre en ml d'acide sulfurique utilisé pour le blanc.

N : normalité de l'acide sulfurique (0.005N).

P : poids de l'échantillon.

V : volume de la fiole jaugée (100 ml).

v : volume prélevé de la fiole (20 ml).

ANNEXE B

Tableaux B.1 : Valeurs de CO₂ quotidien et cumulé

Temps (jours)	CO2 quotidien (mg)				CO2 cumulé (mg)			
	HTE	HTEA	POL	Blanc	HTE	HTEA	POL	Blanc
2	10,0	08,0	04,4	04,4	010,0	015,0	004,4	004,4
4	08,8	06,6	04,4	04,4	018,8	021,6	008,8	008,8
6	06,6	06,6	06,6	00,0	025,4	028,2	015,4	008,8
8	08,8	08,8	00,0	00,0	034,2	037,0	015,4	008,8
11	06,6	04,4	04,4	02,2	040,8	041,4	019,8	011,0
14	30,8	15,3	11,0	04,4	071,6	056,7	030,8	015,4
17	20,5	10,2	08,8	06,6	092,1	066,9	039,6	022,0
21	08,8	11,0	06,6	04,4	100,9	077,9	046,2	026,4
26	28,6	37,4	22,0	04,4	129,5	115,3	068,2	030,8
28	30,0	11,0	08,8	08,8	159,5	126,3	077,0	039,6
32	33,0	15,4	08,8	10,0	192,5	141,7	085,8	049,6
36	26,4	17,6	15,4	10,0	218,9	159,3	101,2	059,6
39	24,2	17,6	15,4	09,3	243,1	176,9	116,6	068,9
42	24,2	15,4	13,2	09,0	267,3	192,3	129,8	077,9
46	30,0	06,6	02,2	06,6	297,3	198,9	132,0	084,5
49	11,0	08,8	11,0	02,2	308,3	207,7	143,0	086,7
54	08,8	13,2	15,4	04,4	317,1	220,9	158,4	091,1
56	04,4	04,4	04,4	00,0	321,5	225,3	162,8	091,1
60	04,4	13,2	13,2	02,2	325,9	238,5	176,0	093,3
63	02,2	06,6	15,4	02,2	328,1	245,1	191,4	095,5

ANNEXE B

Tableaux B.2 : Taux de biodégradations

Temps (jours)	Taux de biodégradation (%)		
	HTE	HTEA	POL
2	00,41	00,84	00,00
4	00,73	01,01	00,00
6	01,21	01,53	00,56
8	01,86	02,22	00,56
11	02,18	02,40	00,75
14	04,11	03,26	01,32
17	05,13	03,54	01,50
21	05,45	04,06	01,69
26	07,22	06,66	03,19
28	08,77	06,83	03,19
32	10,46	07,26	03,09
36	11,66	07,86	03,55
39	12,75	08,51	04,07
42	13,86	09,02	04,43
46	15,57	09,02	04,06
49	16,22	09,54	04,81
54	16,54	10,23	05,75
56	16,86	10,58	06,12
60	17,02	11,44	07,06
63	17,02	11,79	08,19

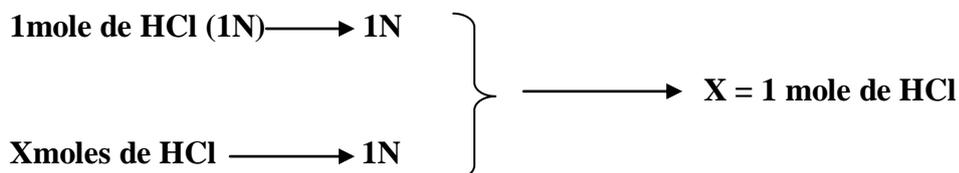
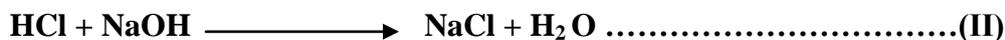
ANNEXE C

Calcul de CO₂ :

Réaction de capture de CO₂:



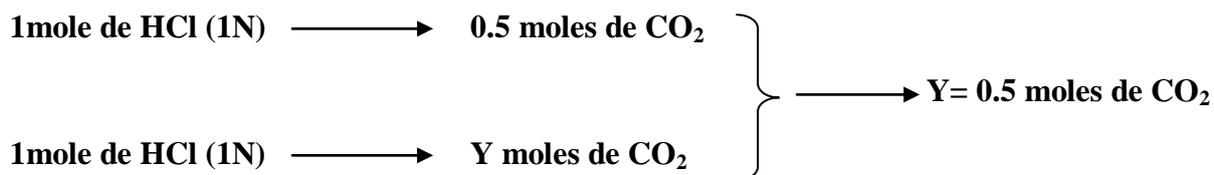
Réaction de dosage :



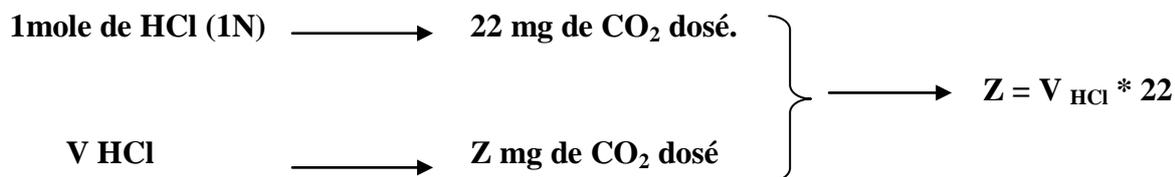
D'après les réactions (I) et (II) :



Donc :



$\text{M CO}_2 = 0.5 \text{ moles} * 44 = 22 \text{ g de CO}_2 \text{ dosé.}$



$\text{Z} = (\text{V}_{\text{HCl}} - \text{V}_{\text{blanc}}) * 22$

Résumé :

Le présent travail porte sur l'étude de la biodégradation d'un polymère synthétisé à base d'huile végétale et la comparer avec celle de l'huile de tournesol époxydè (HTE) et l'huile de tournesol époxydè acrylée (HTEA).

pour cela, il a été procédé à un test respirométrique basé sur la détermination de la quantité de CO₂ produite d'un part, ainsi qu'un suivi des modifications de la surface du polymère par observation microscopique d'un autre part.

les résultats obtenus ont montré que la biodégradation de l'HTE à été la plus importante par rapport aux autres substrats avec un taux de biodégradation de 17,02 % suivi de l'HTEA avec un taux de biodégradation de 11.79% et puis le polymère avec un taux de 8.19% au bout de 63 jours d'essai.

Mots clés : biodégradation, polymère, huile de tournesol époxydè, huile de tournesol époxydè acrylée, huiles végétales.

Abstract :

The present work aims to the study of the biodegradation processes of two lab scale bio based materials; "A polymer based on epoxidized sunflower oil and succinic acid, and an acrylated epoxidized sun flower oil (AESFO)" and comparison with that of epoxidized sunflower oil (ESFO).

These materials have been subjected to a respirometric test based on the determination of the amount of CO₂ produced. At the same time, a sample of the solid polymers has been hidden in the same soil and changes on its surface have been monitored by microscopic observation.

Results showed that the biodegradation of ESFO was the largest compared to other substrates with a biodegradation rate of 17.9 % followed by AESFO with a biodegradation rate of 11.79% and then the polymer with a rate of 8.19% after 63 days test.

Keywords: biodegradation, biobased polymer, epoxydized sunflower oil, acrylated epoxidized sunflower oil.

ملخص :

يتضمن هذا العمل دراسة التحلل البيولوجي لبوليمير مركب على أساس زيت نباتي و مقارنته مع زيت عباد الشمس المؤكسد جسريا ، و زيت عباد الشمس المؤكسد جسريا الأكريلي .

لهذا، قمنا بإختبار قياس التنفس الذي يقوم على أساس قياس كمية CO₂ المنتجة من جهة و كذلك رصد تغيرات سطح البوليمير عن طريق الملاحظة المجهرية من جهة أخرى .

أظهرت النتائج أن التحلل البيولوجي لزيت عباد الشمس المؤكسد جسريا كان أكبر مقارنة مع الركائز الأخرى بنسبة تحلل تقدر بـ 17.02 % تليها زيت عباد الشمس المؤكسد جسريا الأكريلي بنسبة 11.79 % ، ثم البوليمير بنسبة 8.19 % بعد إختبار 63 يوما .

كلمات البحث : التحلل البيولوجي ، البوليمير، زيت عباد الشمس المؤكسد جسريا ، زيت عباد الشمس المؤكسد جسريا الأكريلي، زيوت نباتية.