POLYPUBLIE
Polytechnique Montréal

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL
UNIVERSITÉ D'INGÉNIERIE

Titre: Préparation de films à base de chitosane par voie fondue
Title:

Auteur: Marie Matet
Author:

Date: 2014

Type: Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis

Référence: Matet, M. (2014). Préparation de films à base de chitosane par voie fondue [Thèse de doctorat, École Polytechnique de Montréal]. PolyPublie. https://publications.polymtl.ca/1451/
Citation:

Document en libre accès dans PolyPublie
Open Access document in PolyPublie

URL de PolyPublie: https://publications.polymtl.ca/1451/
PolyPublie URL:

Directeurs de recherche: Marie-Claude Heuzey, & Abdellah Ajji
Advisors:

Programme: Génie chimique
Program:

Ce fichier a été téléchargé à partir de PolyPublie, le dépôt institutionnel de Polytechnique Montréal
This file has been downloaded from PolyPublie, the institutional repository of Polytechnique Montréal

https://publications.polymtl.ca

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

PRÉPARATION DE FILMS À BASE DE CHITOSANE PAR VOIE FONDUE

MARIE MATET

DÉPARTEMENT DE GÉNIE CHIMIQUE

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

THÈSE PRÉSENTÉE EN VUE DE L'OBTENTION

DU DIPLÔME DE PHILOSOPHIÆ DOCTOR

(GÉNIE CHIMIQUE)

JUILLET 2014

© Marie Matet, 2014.

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Cette thèse intitulée :

PRÉPARATION DE FILMS À BASE DE CHITOSANE PAR VOIE FONDUE

présentée par : MATET Marie

en vue de l'obtention du diplôme de : Philosophiæ doctor

a été dûment acceptée par le jury d'examen constitué de :

M. BERTRAND François, Ph.D., président

Mme HEUZEY Marie-Claude, Ph.D., membre et directrice de recherche

M. AJJI Abdellah, Ph.D., membre et codirecteur de recherche

M. DUBOIS Charles, Ph.D., membre

Mme LACROIX Monique, Ph.D., membre

DÉDICACE

À mamie Paulette

À mamie Simone

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier ma directrice de recherche, la professeure Marie-Claude Heuzey, et mon codirecteur, le professeur Abdellah Ajji, pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser ce projet. Je les remercie pour leur confiance, pour leurs conseils, pour l'autonomie qu'ils m'ont donné tout en maintenant un suivi constant de mes progrès. Je tiens à remercier particulièrement la Prof. Heuzey pour son soutien après des épreuves difficiles du doctorat et son optimisme quant à mes résultats qui m'aura permis de continuer et terminer ce doctorat avec l'esprit plus serein.

Je remercie également les membres du jury, la professeure Monique Lacroix et le professeur Charles Dubois, d'avoir accepté d'évaluer mon travail.

Merci au Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG) et au Network for Innovative Plastic Materials and Manufacturing Processes (NIPMMP) pour l'aide financière.

Je remercie la professeure France Daigle, du département de microbiologie, infectiologie et immunologie de l'Université de Montréal, et son équipe (Jean-Mathieu, Chantal, Christelle, Sébastien) pour l'accès à son laboratoire et les formations pour les tests antibactériens.

Je tiens à adresser toute ma reconnaissance à Mélina Hamdine, Guillaume Lessard et Claire Cerclé pour les formations, les suggestions, les réparations impromptues, les solutions alternatives mais aussi pour avoir été des partenaires lors des longues journées de tests. Aussi, je remercie Dr. Pierre Sarazin et Aymen Ghouila pour leur aide lors de la mise en place du procédé d'extrusion du chitosane plastifié. Merci aussi à Richard Silverwood pour le partage de ces connaissances et des équipements en cas de nécessité.

Mes remerciements s'adressent aussi à l'équipe du laboratoire de rhéologie, pour leurs suggestions, conseils ou idées lors des réunions de groupe ou à d'autres occasions : merci Pr. Carreau, merci à l'équipe chitosane (Mounia, Nury, Xiaoyan et Qingkai), merci aux plus sages (Amirhossein, Gilles, Giovanniantonio et Maryam). Merci aux autres qui rendent le travail toujours plus agréable (en particulier Béatrice, Fatemeh et Davood).

Je tiens à remercier chaleureusement mes collègues de bureau pour les moments plus détendus, merci François-Xavier, Michel, Shant, Nima et Andrea.

Mon expérience montréalaise n'aurait pas été la même sans les rencontres que j'ai pu faire ici, merci à tous mes colocataires successifs pour avoir respecter mon besoin de tranquillité mais aussi pour avoir été de bons amis (Giuseppe, Irène, Francesca, Mauro et Rami), merci à la gang d'italiens pour leur patience avec mon italien et pour avoir partagé leur culture avec moi (Francesca, Andrea, Eleonora, Giuseppe, Giovanniantonio, Franco, Mauro, Saro), merci aux amis d'être là (Baptiste, Rohan, Danai, André, Béatrice, Gilles).

Merci à mes fidèles amies Jenny, Anne et Émilie, j'espère que vous me pardonnerez les mariages, les naissances, les anniversaires et les coups durs manqués.

Je remercie grandement ma famille : mes parents, mes sœurs, mes beaux frères et mes neveux. Merci à mes parents et à mes sœurs d'avoir respecté mon choix de partir loin d'eux, de se montrer enthousiastes quant à mon travail et de me soutenir continuellement. Merci d'être venus jusqu'à moi, d'avoir partagé pendant quelques semaines mon premier hiver québécois.

Finalement, je remercie Davide pour son soutien inconditionnel, pour me supporter au quotidien et pour son écoute attentive. *Un piccolo traguardo è stato raggiunto, spero avremo tutta la vita per superare nuove belle sfide insieme.*

RESUME

Depuis plusieurs années, le besoin d'utiliser des polymères d'origine naturelle dans l'industrie des plastiques se fait de plus en plus pressant. Le chitosane, qui est un polysaccharide naturel, a en plus des propriétés antibactériennes qui peuvent être intéressantes dans de nombreux domaines comme l'industrie de l'emballage alimentaire. L'inconvénient dans l'utilisation du chitosane est qu'il ne présente pas de point de fusion avant sa dégradation, il n'est donc pas adapté aux méthodes traditionnelles de transformation des polymères. L'objectif de ce travail a été de développer une nouvelle technique pour préparer des films antibactériens à base de chitosane par voie fondue. La plastification du chitosane a été choisie en assumant que cette plastification, qui est déjà réalisée en solution, est possible à l'état fondu et qu'elle permettra d'obtenir une bonne répartition du chitosane à la surface d'un film polymérique.

La plastification du chitosane s'effectue à l'aide d'un traitement thermomécanique et en présence d'un solvant et d'un plastifiant. Trois plastifiants ont été sélectionnés dans la famille des polyols : le glycérol, le xylitol et le sorbitol par ordre croissant de poids moléculaire. Une solution d'acide acétique à 3 % en volume a été choisie comme solvant. Plusieurs rapports chitosane/polyol ont été utilisés dans la formulation du chitosane plastifié. Le chitosane a été plastifié dans un mélangeur interne à 80 °C, à une vitesse de 100 rpm pendant 15 min. Pour la première fois, la morphologie du chitosane plastifié a été observée au MEB. Elle consiste en une phase cristalline, composée de feuillets successifs, incorporée dans une phase amorphe. Des réactions entre l'acide acétique et le chitosane et entre les polyols et le chitosane ont été observées grâce à la FTIR. Il a été montré que plus le poids moléculaire du polyol était bas, moins la cristallinité du chitosane plastifié était élevée. Le chitosane plastifié avec le glycérol a démontré la phase amorphe la plus importante, ses différentes propriétés mesurées étant alors les plus faibles. En admettant que la mise en œuvre du chitosane plastifié avec le glycérol serait facilitée grâce à l'importance de sa phase amorphe, le glycérol a été préféré aux deux autres polyols dans le reste de l'étude. La quantité de polyol a aussi son impact sur les propriétés, plus celle-ci augmente plus la phase amorphe est importante donc plus les propriétés sont faibles mais sa mise en œuvre aisée.

Pour comprendre l'effet de chaque composant, différents pourcentages volumiques d'acide acétique en solution, plusieurs ratios chitosane/solution d'acide acétique et plusieurs ratios chitosane/glycérol ont été utilisés pour plastifier le chitosane. Le chitosane plastifié a été mélangé

avec un polyéthylène métallocène (mPE) dans le mélangeur interne. La morphologie des ces mélanges a été observée au MEB et corrélée avec leurs propriétés rhéologiques grâce au modèle de Palierne. La présence de l'acide acétique engendre une déstructuration du chitosane par une détérioration des liaisons hydrogènes entre les plans du chitosane. Sous cette action, les plans se sont séparés et un gonflement du chitosane dans la matrice a été observé. La partie aqueuse permet le mouillage de la surface du chitosane. Le glycérol s'est glissé entre les plans écartés du chitosane, le gonflement s'est poursuivi jusqu'à la rupture de la structure et la réduction de la taille des domaines de chitosane. Lorsque la quantité de glycérol dans la formulation est augmentée, la dispersion du chitosane dans la matrice de polyéthylène est améliorée. Les mélanges chitosane plastifié/mPE ont montré de bonnes propriétés antibactériennes avec une réduction de 2 log (Colony Forming Unit/mL) de la population totale de bactéries *Escherichia coli* par rapport au mPE pur. Les propriétés mécaniques ont été améliorées par la compatibilisation avec l'éthylène-acétate de vinyle (EVA) qui s'est positionné à l'interface entre le mPE et le chitosane.

Afin d'améliorer la plastification du chitosane, un changement dans sa mise en forme a été réalisé. La plastification du chitosane et son mélange avec un polymère fondu a été réalisée en une seule passe dans une extrudeuse bivis. Le chitosane a été plastifié en amont de la bivis, le mPE étant quant à lui fondu dans une extrudeuse monovis connectée au milieu de la bivis. Le chitosane plastifié et le mPE fondu ont alors été mélangés en aval de l'extrudeuse bivis. Des films ont été par la suite extrudés à 2, 5 ou 10 % en poids de chitosane, avec ou sans l'EVA pour la compatibilisation. La plastification a grandement été améliorée par le changement de mise en forme. Les images des films réalisées au MEB, ont montré une réduction par 5 de la taille des domaines de chitosane par rapport aux mélanges produits avec le mélangeur interne. Cet aspect s'est répercuté sur l'aspect visuel qui a été fortement amélioré. La dégradation thermique des films a été accélérée par l'ajout du chitosane plastifié et les propriétés mécaniques ont été affectées négativement par l'ajout du chitosane. La compatibilisation avec l'EVA a malgré tout aidé à maintenir de bonnes propriétés mécaniques pour les plus faibles quantités de chitosane. De plus, l'ajout du chitosane plastifié n'a eu aucun impact sur les propriétés barrières à l'oxygène des films. Finalement, aucune activité antibactérienne n'a été mesurée en présence des films. La présence du chitosane à la surface du film n'a pas été observée et cela serait directement lié à

l'absence de ces propriétés antibactériennes. En raison de l'efficacité du mélange dans l'extrudeuse, l'encapsulation du chitosane par l'EVA devait être complète.

ABSTRACT

For many years, the plastics industry has considered the use of polymers of natural origin. Certain specific characteristics of these natural polymers have also been investigated to increase the added value of the final plastic product. Chitosan can be a good polymer candidate since it is a natural polysaccharide and it exhibits interesting properties such as antibacterial properties that can apply to several domains such as food packaging industry. The inability of chitosan to melt before its thermal degradation makes it unsuitable for traditional polymer processing methods. The objective of this work is to develop a new technique to prepare chitosan-based anti-bacterial films through a molten route. This approach was selected according to the hypothesis that the plasticization of chitosan – already performed by the solvent casting method – is possible in the molten state and would provide a good chitosan distribution at the surface of a polymeric film.

In this work chitosan plasticization is achieved by a thermo-mechanical treatment in the presence of an acidic liquid phase and a plasticizer. Three plasticizers were selected from the polyol family: glycerol, xylitol and sorbitol, presented from low to high molecular weight. A 3 % v/v solution of acetic acid was chosen as the solvent. Plasticized chitosan was prepared with various chitosan/polyol ratios and was processed in an internal mixer at 80 °C for 15 min using a rotation speed of 100 rpm. The samples were then hot-pressed to produce sheets of 1 mm thickness. SEM micrographs demonstrated a crystalline phase, composed of a layered structure, embedded in an amorphous phase. The interactions between chitosan and the acetic acid solution and between chitosan and polyols were investigated by FTIR analysis. It was observed that the crystallinity of the plasticized chitosan increased with polyol molecular weight. Plasticized chitosan using glycerol had the highest content of the amorphous phase and the lowest values of the investigated properties. Moreover, as the polyol content increased the crystallinity decreased. Due to the dominant amorphous phase content with glycerol, it was assumed that chitosan processing would be facilitated. As a result, glycerol was favored over the other two polyols for the continuation of the study.

In order to understand the role of each component in the plasticization mechanism, the following parameters have been examined: acetic acid content, chitosan/acetic acid solution ratio and chitosan/glycerol ratio. These various plasticized chitosans were melt-blended with a metallocene polyethylene (mPE) in an internal mixer. The blends morphology was examined by SEM and

was related to the rheological properties using the Palierne model. Acetic acid allowed chitosan destructuration by breaking down the hydrogen bonds between its structural sheets. The distance between two planes increased and swelling of chitosan embedded in the mPE matrix was observed. The acidic aqueous phase of the formulation was essential to thoroughly wet the chitosan powder. As glycerol penetrated between the spaced sheets, the swelling of chitosan domains continued until structural rupture occurred, which led to a reduction of chitosan domains size. SEM images confirmed that an increase in the glycerol content led to a better chitosan dispersion in the mPE matrix. Plasticized chitosan/mPE blends demonstrated good antibacterial properties with a reduction by an order of 2 log(Colony Forming Unit (CFU)/mL) in the number of bacteria *Escherichia coli* with respect to neat mPE. Ethylene-vinyl acetate (EVA) was also added in the blend to promote compatibilization between chitosan and mPE. It was found that EVA was located around chitosan domains, according to SEM imaging. This compatibilization step improved the mechanical properties of the blends.

In order to improve further chitosan plasticization, the processing technique was modified. Chitosan plasticization and its blend with a molten polymer was achieved in a single-pass extrusion process. Chitosan was plasticized in the first zone of a twin-screw extruder. mPE was melted in a single-screw extruder connected to the center of the main twin-screw extruder and was injected inside the latter into the second zone. Then, plasticized chitosan and mPE were blended together. Dilutions were performed in single screw extrusion to produce different film formulations with 2, 5 and 10 wt% of chitosan with and without EVA as the compatibilizer. It was shown that such modification of the processing technique greatly improved plasticization. SEM images demonstrated that the size of the chitosan domains were reduced by a factor of 5 with respect to the blends prepared by internal mixing. Therefore optical properties were also improved. However the thermal degradation of the films was accelerated in the presence of plasticized chitosan. Mechanical properties were also negatively affected, although compatibilisation with EVA allowed maintaining them to an acceptable level for the lowest chitosan contents. Oxygen permeability of the films remained constant after the addition of chitosan, while water vapor permeability increased. Finally, no antibacterial properties were revealed for the newly produced films. It is speculated that the absence of antibacterial characteristics is related to the fact that no chitosan was detected at the film surface, probably due to chitosan encapsulation by EVA as a result of the high efficiency of mixing.

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE III

REMERCIEMENTS IV

RESUME VI

ABSTRACT IX

TABLE DES MATIÈRES XI

LISTE DES TABLEAUX XVII

LISTE DES FIGURES XVIII

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS XXIII

INTRODUCTION 1

CHAPITRE 1 REVUE DE LITTÉRATURE 3

1.1 Le chitosane 3

1.1.1 Propriétés structurelles du chitosane 4

1.1.2 Solubilité du chitosane 5

1.1.3 Propriétés thermiques du chitosane 6

1.1.3.1 Analyse thermique 6

1.1.3.2 Dégradation thermique du chitosane 7

1.1.4 Propriétés antibactériennes du chitosane 8

1.1.4.1 Aspects microbiens 9

1.1.4.2 Influence du chitosane 9

1.1.4.3 État physique 10

1.1.4.4 Facteurs environnementaux 10

1.2 La plastification 11

1.2.1 Mécanismes mis en jeu lors de la plastification 11

1.2.2 Étapes de la plastification d'un polymère 13

1.2.3 Effets de la plastification sur le polymère 15

1.2.3.1 Effets de la plastification sur la structure du polymère 15

1.2.3.2 Effets de la plastification sur les propriétés du polymère 17

1.2.4 Paramètres influençant la plastification 17

1.2.4.1 Choix dans l'utilisation du plastifiant 17

1.2.4.2 Choix de la mise en œuvre 18

1.2.5 Exemple de la plastification de l'amidon 19

1.2.6 Incorporation du chitosane 21

1.2.6.1 Plastification du chitosane par voie liquide 21

1.2.6.2 Plastification du chitosane par voie fondue 25

1.2.6.3 Mélange de polymères avec du chitosane plastifié 30

1.2.6.4 Mélange de polymères avec du chitosane non modifié 31

1.3 Les mélanges de polymères 33

1.3.1 Relations thermodynamiques régissant les mélanges de polymères 33

1.3.2 Morphologies de mélanges 35

1.3.2.1 Développement de la morphologie 35

1.3.2.2 Paramètres influençant la morphologie 38

1.4 Récapitulatif de la revue de littérature 41

CHAPITRE 2 OBJECTIFS 43

CHAPITRE 3 ORGANISATION DE LA THÈSE 45

CHAPITRE 4 ARTICLE 1 : INNOVATIVE THERMOPLASTIC CHITOSAN OBTAINED BY THERMO-MECHANICAL MIXING WITH POLYOL PLASTICIZERS 47

4.1 Abstract 47

4.2 Introduction 48
4.3 Materials and methods 50
4.3.1 Materials 50
4.3.2 Sample preparation 51
4.3.3 Characterization techniques 52
4.3.3.1 Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) 52
4.3.3.2 X-ray diffraction (XRD) 52
4.3.3.3 Microscopy 52
4.3.3.4 Thermogravimetric analysis (TGA) 53
4.3.3.5 Rheological tests 53
4.3.3.6 Uniaxial tensile tests 53
4.4 Results and discussion 54
4.4.1 Microstructure 54
4.4.1.1 Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) 54
4.4.1.2 X-ray diffraction (XRD) 56
4.4.2 Microscopy observations 59
4.4.2.1 Transmission electron microscopy (TEM) 59
4.4.2.2 Scanning electron microscopy (SEM) 59
4.4.3 Thermogravimetric analysis (TGA) 61
4.4.4 Rheological tests 63
4.4.5 Uniaxial tensile tests 67
4.5 Conclusions 69
4.6 Acknowledgments 70
4.7 References 70

CHAPITRE 5 ARTICLE 2 : MORPHOLOGY AND ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF PLASTICIZED CHITOSAN/METALLOCENE POLYETHYLENE BLENDS 74

5.1 Abstract 74

5.2 Introduction 75

5.3 Materials and methods 77

5.3.1 Materials 77

5.3.2 Sample preparation 77

5.3.3 Characterization techniques 80

5.3.3.1 pH of acetic acid solutions 80

5.3.3.2 Scanning electron microscopy (SEM) 81

5.3.3.3 Rheological properties 81

5.3.3.4 Mechanical properties using uniaxial tensile tests 82

5.3.3.5 Antibacterial tests 82

5.4 Results and discussion 83

5.4.1 Influence of acetic acid total content on mPE/plasticized chitosan blends 83

5.4.2 Influence of chitosan powder/acetic acid solution ratio 86

5.4.3 Influence of chitosan powder/glycerol ratio 89

5.4.4 Effect of compatibilization 93

5.4.5 Tensile properties of selected blends 95

5.4.6 Antibacterial properties 96

5.5 Conclusions 97

5.6 Acknowledgements 98

5.7 References 98

CHAPITRE 6 ARTICLE 3 : PLASTICIZED CHITOSAN/POLYOLEFIN FILMS PRODUCED BY EXTRUSION 102

6.1 Abstract 102
6.2 Introduction 103
6.3 Materials and methods 105
6.3.1 Materials 105
6.3.2 Sample preparation 106
6.3.3 Characterization 107
6.3.3.1 Scanning Electron Microscopy (SEM) 107
6.3.3.2 Optical property characterization: haze 108
6.3.3.3 Thermal behavior 108
6.3.3.4 Mechanical properties using uniaxial tensile testing 109
6.3.3.5 Barrier properties 109
6.3.3.6 Porosity measurement 109
6.4 Results and discussion 110
6.4.1 Microstructure 110
6.4.2 Optical properties: haze 111
6.4.3 Thermal properties 113
6.4.4 Mechanical properties 115
6.4.5 Barrier properties 117
6.4.5.1 Oxygen permeability 117
6.4.5.2 Water vapor permeability (WVP) 118
6.5 Conclusions 119
6.6 Acknowledgments 120
6.7 References 120
CHAPITRE 7 DISCUSSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES 124

7.1 Choix d'un plastifiant 124

7.2 Plastification du chitosane 126

7.3 Effet du type de mélangeur 128

7.4 Propriétés antibactériennes 129

7.5 Perspectives 134

CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS 135

LISTE DES REFERENCES 139

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1-1 : Taux de critallinité en fonction du temps et du taux d'humidité de conservation des échantillons (Epure, et al., 2011).....26

Table 4-1: Main characteristics of the polyols used.....50

Table 4-2: Formulations and nomenclature of chitosan systems. 52

Table 4-3: Characteristic degradation temperatures of unplasticized chitosan and the different plasticized chitosans. 63

Table 5-1: Formulations of plasticized chitosans.....78

Table 6-1: Formulations of the films prepared.....107

Table 6-2: Thermal properties measured by DSC and TGA for the neat polymers and the different films prepared.....113

LISTE DES FIGURES

Figure 1-1 : Structure chimique de la chitine (Kurita, 1998) 3

Figure 1-2 : Formule chimique du chitosane (Kurita, 1998).....4

Figure 1-3 : Empilement des chaînes du chitosane hydraté (a) selon l'axe a, (b) selon l'axe c. Les cercles gris indiquent un atome d'hydrogène (K. Okuyama, et al., 2000).....5

Figure 1-4 : Analyses DSC d'un chitosane pur ; (a) premier balayage ; (b) deuxième balayage (Neto et al., 2005).....7

Figure 1-5 : TGA du chitosane pour différentes vitesses de chauffe, ainsi que la dérivée du signal de 200 à 400°C (de Britto & Campana-Filho, 2007) 8

Figure 1-6 : Sources du volume libre utilisées pour la plastification : (a) mouvements des groupes terminaux, (b) mouvements des chaînes latérales, (c) mouvements de type « manivelle » de la chaîne principale, (d) mouvements d'un plastifiant externe (Sears & Darby, 1982).....13

Figure 1-7 : Plastification d'un polymère, illustration de la plastification comparée avec l'antiplastification (Sears & Darby, 1982).....16

Figure 1-8 : Schéma des différentes étapes de déstructuration de l'amidon lors du procédé d'extrusion.....20

Figure 1-9 : Courbes de traction de films de chitosane préparés avec différents plastifiants dans différentes quantités (5 ou 20 %) ; a. Chitosane seul, b. et f. propylène glycol, c. et g. polyethylène glycol, d. et i. glycérol, e. et h. ethylène glycol (Suyatma, et al., 2005).....22

Figure 1-10 : Températures typiques en fonction du type de plastifiant et de sa quantité ; a. température de transition vitreuse, b. température de dégradation (Suyatma, et al., 2005) ...23

Figure 1-11 : Représentation de tanδ en fonction de la température et de la composition chitosane/glycérol, résultat obtenu par DMTA à 1 Hz et avec une vitesse de chauffe de 1,5 K/min (Quijada-Garrido, et al., 2006).....24

Figure 1-12 : Spectres XRD, comparaison du chitosane seul avec le chitosane plastifié et non-plastifié (Epure, et al., 2011) 26

Figure 1-13 : Élongation et résistance à la rupture de films de chitosane plastifiés ou non en fonction du temps et de l'humidité de stockage (Epure, et al., 2011) 27

Figure 1-14 : Proposition de réaction antre le chitosan et l'acide lactique (A) et son effet sur la structure cristalline du chitosane (Meng, et al., 2014) 29

Figure 1-15 : Images SEM (x 500) de la section transversale des mélanges stabilisés PCL/chitosane (80/20), a) préparé par mélange direct, b) préparé avec pré-gonflement (Martino, et al., 2011).....31

Figure 1-16 : Diagramme de phases pour un mélange de polymères. LCST représente la température critique inférieure de solubilité et UCST la température critique supérieure de solubilité (Robeson, 2007) 35

Figure 1-17: Évolution du nombre capillaire critique en fonction du rapport de viscosités et du type de champ d'écoulement, adaptée depuis Grace (Grace, 1982) 37

Figure 1-18: Représentation de l'évolution de la morphologie d'un mélange immiscible de deux polymères en fonction de la proportion de l'un par rapport à l'autre (Harrats, 2009). 38

Figure 1-19 : Influence de la composition d'un mélange PP/PC sur la taille des gouttes (Favis & Chalifoux, 1988).....39

Figure 1-20 : Diamètre moyen en volume et en nombre en fonction du rapport de viscosités, a) pour $\eta r > 1$, b) pour $\eta r < 1$ (Favis & Chalifoux, 1987) 40

Figure 1-21 : Évolution de la morphologie d'un mélange en fonction du temps de mélange (dans le cas d'un mélange dans un mélangeur interne) ou en fonction de la position le long de la vis (dans le cas d'un mélange dans une extrudeuse) (Lee & Han, 1999, 2000).....41

Figure 4-1: FTIR spectra. (a) comparison of chitosan powder and sample ChiA. The N−H peak at 1578 cm^{-1} is shown by the arrows, (b) effect of polyol type and content: (G) glycerol, (X) xylitol and (S) sorbitol.....55

Figure 4-2: X-ray diffraction patterns. (a) Comparison of chitosan powder and ChiA, (b) effect of glycerol content, (c) effect of different polyols (constant polyol concentration).....58

Figure 4-3: TEM images of a chitosan powder particle.....59

Figure 4-4: SEM micrographs of four different samples: (a) ChiA, (b) ChiAG50, (c) ChiAX50 and (d) ChiAS50.....60

Figure 4-5: TG (top) and DTG (bottom) curves of chitosan powder, chitosan plasticized with the three different polyols and the unplasticized sample ChiA.....62

Figure 4-6: Dynamic rheological properties of different samples. (a) ChiA, (b) ChiAG50, (c) ChiAX50 and (d) ChiAS50. Tests were performed at 25 °C under a strain of 0.001.....66

Figure 4-7: Rheological properties for different samples tested on day 0 (a) and day 21 (b) after compression molding. Tests were performed at 25 °C under a strain of 0.001. 67

Figure 4-8: Tensile strength (a and c) and tensile strain at break (b and d) for plasticized chitosan with different polyols and polyol contents.....68

Figure 5-1 : Plasticized chitosan (3 % v/v acetic acid solution, chitosan/acetic acid solution ratio of 25/75 wt/wt, and chitosan/glycerol ratio of 67/33 wt/wt) after the first compounding step 79

Figure 5-2: mPE/plasticized chitosan disk (25 mm diameter, 1.5 mm thickness) after compounding step and press-molding.....80

Figure 5-3: SEM images of samples prepared with different acetic acid percentages, a 0 % v/v (×300), b 0 % v/v (×3000), c 1 % v/v, d 3 % v/v, e 5 % v/v, and f histogram of plasticized chitosan domains surface area, including for the unplasticized sample in black (chitosan powder + mPE).....85

Figure 5-4: Complex viscosity of neat mPE and four different mPE/ plasticized chitosan blends prepared with different acetic acid contents (120 °C, strain of 0.01).....86

Figure 5-5: SEM images of samples prepared with 4 different chitosan/acetic acid solution ratios: a 40/60 (wt/wt), b 25/75 (wt/wt), c 20/80 (wt/wt), and d 17/83 (wt/wt), and e histogram of plasticized chitosan domains surface area.....88

Figure 5-6: Complex viscosity of four different mPE/chitosan blends, prepared with different chitosan/acetic acid solution ratios (120 °C, strain of 0.01).....89

Figure 5-7: SEM images of samples prepared with 6 different chitosan/glycerol ratios, a 100/0 (wt/wt), b 91/9 (wt/wt), c 80/20 (wt/wt), d 67/33 (wt/wt), e 50/50 (wt/wt), and f 33/67 (wt/wt), and g histogram of plasticized chitosan domains surface area 91

Figure 5-8: Complex viscosity of four different blends prepared with different chitosan/glycerol ratios (120 °C, strain of 0.01) 92

Figure 5-9: SEM images of mPE/EVA/PlaChi blend, a before EVA extraction, b after EVA extraction 94

Figure 5-10: Ratio of the complex viscosity of the thermoplastic resin/plasticized chitosan blend and of the neat polymer (ratio matrix/PlaChi = 50/50 wt/wt) 94

Figure 5-11: Tensile properties of selected blends, ratio matrix/PlaChi is constant at 50/50 (wt/wt) 95

Figure 5-12: Inhibitory effects of different mPE-based films toward *E. coli* inoculated for 4 h at 25 °C and pH 5.5, a influence of chitosan/glycerol ratio, b influence of compatibilization with EVA (CFU colony-forming unit).....96

Figure 6-1: Schematic representation of the one-step extrusion process. 106

Figure 6-2: SEM micrographs of different films. a) 2 wt% chitosan, b) 5 wt% chitosan and c) 10 wt% chitosan. 111

Figure 6-3: Plasticized chitosan-based films for different chitosan content. 112

Figure 6-4: Haze value for the different films prepared.....112

Figure 6-5: TGA curves of plasticized chitosan/mPE and EVA films.....115

Figure 6-6: Mechanical properties of neat mPE and various plasticized chitosan/mPE/EVA based films a) Typical stress-strain curves, b) Tensile properties.....116

Figure 6-7: Oxygen permeability of different films at ambient temperature and pressure.....118

Figure 6-8: Water vapor permeability of different films at 100 %RH, 37.8 °C and ambient pressure.....119

Figure 7-1 : Diminution de la Tg visible sur les spectres DMA (Meng, et al., 2014).....125

Figure 7-2: Effet inhibiteur des différents films à base de chitosane plastifié par extrusion bivis sur des bactéries *E. coli* inoculés pendant 4 h à 25 °C et à un pH = 5,8 (CFU : colony-forming unit) 130

Figure 7-3 : Spectres FTIR des différents films préparés dans le mélageur interne (Chapitre 5) et par extrusion (Chapitre 6).....132

Figure 7-4 : Prédiction des morphologies possibles d'un mélange ternaire composé de deux phases majeures (B et C) et d'une phase mineure (A) par le calcul du coefficient d'étalage (Virgilio, et al., 2009).....133

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

Abréviations

ATR Réflexion totale atténuée *« Attenuated total reflectance »*

DDA Degré de déacétylation

d_n Diamètre moyen en nombre

DMTA Analyse thermomécanique dynamique

DMA Spectromètrie mécanique dynamique *« Dynamic mechanical analysis »*

DSC Calorimétrie différentielle à balayage *« Differential scanning calorimetry »*

DTG Courbe thermogravimétrique dérivée *« Derivative thermogravimetric analysis »*

d_v Diamètre moyen en volume

EVA Éthylène-acétate de vinyle

FEG Canon à émission de champ *« Field emission gun »*

FTIR Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier *« Fourier transform infra-red spectroscopy »*

HDPE Polyéthylène haute densité

LDPE Polyéthylène basse densité

mPE Polyéthylène métallocène

PBS Poly(butylène succinate)

PBSA Poly(butylène adipate succinate)

PBTA Poly(butylène adipate téréphtalate)

PC Polycarbonate

PCL Poly(ε-caprolactone)

PLA Polylactide

PP Polypropylène

PVC	Polychlorure de vinyle
SEM	Microscopie électronique à balayage *« Scanning electron microscopy »*
TEM	Microscopie électronique en transmission *« Transmission electron microscopy »*
T_g	Température de transition vitreuse *« Glass temperature »*
TG	Courbe thermogravimétrique *« Thermogravimetric analysis »*
TGA	Thermogravimétrie *« Thermal gravimetric analysis »*
XRD	Diffraction de rayons X *« X-ray diffraction »*

INTRODUCTION

Depuis de nombreuses années, l'intérêt de l'industrie du plastique se tourne vers les matériaux d'origine naturelle. Ce travail s'est focalisé sur le chitosane qui provient de la déacétylation de la chitine contenue dans les carapaces des arthropodes (crabes, crevettes ou homards par exemple). Le chitosane est en fait le dérivé le plus important de la chitine qui est le polysaccharide le plus abondant sur Terre après la cellulose (Marguerite Rinaudo, 2006). De par son origine naturelle, sa biocompatibilité, sa biodégradabilité ou encore ses propriétés antibactériennes, le chitosane est utilisé dans de nombreux domaines comme l'industrie alimentaire, le biomédical, la cosmétique, le traitement de l'eau ou l'agriculture (Ravi Kumar, 2000). Dans le domaine particulier de l'industrie alimentaire, le chitosane est surtout utilisé pour ses propriétés antibactériennes et antifongiques car il permet d'empêcher ou de ralentir le développement des bactéries ou moisissures à la surface des aliments.

Traditionnellement, la mise en forme en solution du chitosane est privilégiée car celui-ci ne présente pas de point de fusion avant sa dégradation thermique. Cette méthode est relativement simple : le chitosane est dissout dans une solution acide (habituellement une solution aqueuse d'acide acétique), la solution de chitosane est coulée dans un moule, après évaporation complète du solvant un film mince de chitosane est obtenu. Par contre, cette méthode a quelques désavantages comme la faible production, la mauvaise qualité de surface des films et leur fragilité (Balau et al., 2004; Dutta, Tripathi, Mehrotra, & Dutta, 2009).

Dans le cas de l'industrie alimentaire, il est compliqué de transposer cette méthode pour la fabrication d'emballage plastique à l'échelle industrielle. La méthode de fabrication des films par voie fondue reste préférée. Pour le moment la seule façon d'utiliser le chitosane par voie fondue dans la production de film est de l'utiliser sans aucune modification, en poudre ou en flocon et mélangé avec un thermoplastique traditionnellement utilisé dans le domaine tel que le polyéthylène. Le chitosane va alors agir comme une charge, le film aura des propriétés mécaniques affaiblies et un aspect visuel de faible qualité, à cause de la mauvaise dispersion des particules de chitosane dans la matrice de polyéthylène et de l'immiscibilité et de l'incompatibilité des deux composants (Martínez-Camacho et al., 2013).

La plastification du chitosane semble alors une bonne alternative pour mettre en forme le chitosane comme un thermoplastique traditionnel. La plastification est une technique utilisée

pour améliorer la mise en œuvre des biopolymères en diminuant le nombre de liaisons entre les chaînes du polymère, ce qui entraîne l'abaissement de la température de transition vitreuse (Imre & Pukánszky, 2013). Cette modification permettrait de mettre en forme le chitosane à l'état fondu et d'élargir son spectre d'applications. Récemment, une première étude a d'ailleurs traité de ce sujet (Epure, Griffon, Pollet, & Avérous, 2011). Le chitosane est plastifié par un traitement thermomécanique en présence d'un solvant (ici une solution d'acide acétique) et d'un plastifiant (ici le glycérol).

Cette technique de plastification a occupé la recherche pendant plusieurs années pour l'amidon avant d'aboutir à des formulations de plus en plus utilisées dans le domaine industriel. La plastification du chitosane n'en est par contre qu'à son balbutiement et différents aspects comme le type de plastifiant ou le type de mise en œuvre restent encore à étudier.

Dans ce travail, une revue de littérature complète (Chapitre 1) présente le chitosane, la plastification ainsi que les mélanges de polymères. Les objectifs (Chapitre 2) et l'organisation de la thèse (Chapitre 3) sont par la suite décrits. La première partie de cette étude (Chapitre 4) s'est intéressée au développement de la plastification du chitosane et est présentée sous forme d'un article scientifique (en anglais). Elle traite des effets du type et de la quantité de plastifiant utilisé sur la cristallinité et les propriétés morphologiques, mécaniques, thermiques ou rhéologiques du chitosane plastifié. Par la suite, un second article (Chapitre 5) détaille les effets de chaque composant utile à la plastification (la solution d'acide acétique et le glycérol) et de leur quantité dans la formulation sur différentes propriétés d'un mélange de chitosane plastifié et de polyéthylène. La compatibilisation par l'ajout d'un autre thermoplastique (éthylène-acétate de vinyle) est aussi étudiée. Puis, un troisième et dernier article (Chapitre 6) traite de l'impact de la mise en forme par extrusion bivis sur les propriétés morphologiques, optiques, mécaniques, thermiques et barrières d'un film à base de chitosane plastifié et de polyéthylène. Finalement, une discussion générale (Chapitre 7) fait le point sur les différentes avancées réalisées lors de ce projet de recherche mais aussi met le doigt sur des aspects qu'il est nécessaire d'améliorer. La conclusion est présentée dans le dernier chapitre.

CHAPITRE 1 REVUE DE LITTÉRATURE

1.1 Le chitosane

Le chitosane est un polymère semi-cristallin du type polysaccharide obtenu par la déacétylation de la chitine. La chitine est elle-même le deuxième polysaccharide le plus répandu dans le monde après la cellulose. Elle est l'un des constituants de l'exosquelette des arthropodes, de la cuticule des insectes ou encore de la paroi cellulaire des champignons et levures (Marguerite Rinaudo, 2006). La chitine a été pour la première fois mise en évidence par Henri Braconnot en 1811 dans les champignons sous le nom de *fungine* (Braconnot, 1811) et par Auguste Odier en 1821 dans la carapace des insectes qui lui a donné son nom d'après le grec *chiton* (χιτών) signifiant enveloppe (Odier, 1821). Elle est extraite des exosquelettes des crustacés en deux étapes : en premier lieu un traitement acide pour dissoudre le carbonate de calcium auquel elle est associée, ensuite l'extraction alcaline pour solubiliser les protéines (Ravi Kumar, 2000). La chitine aura alors comme formule chimique poly(β-(1→4)-N-acetyl-D-glucosamine) illustrée dans la Figure 1-1.

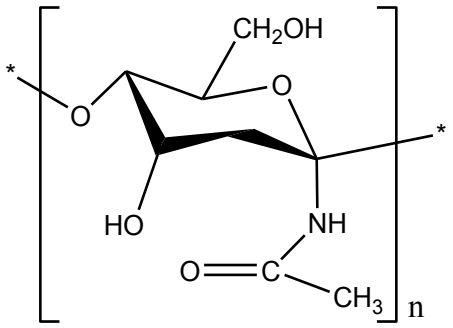


Figure 1-1 : Structure chimique de la chitine (Kurita, 1998)

La déacétylation de la chitine par l'hydroxyde de sodium va donc permettre d'obtenir le chitosane de formule chimique poly(β-(1→4)-2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose présenté dans la Figure 1-2. Le degré de déacétylation (DDA) va alors définir la proportion de groupements amines devant les groupements acétyles qui constituent les chaînes du chitosane. On pourra utiliser le terme de chitosane lorsque le DDA aura dépassé 50 %, en-dessous on parle toujours de chitine (Pillai, Paul, & Sharma, 2009). Le chitosane est donc presque toujours un copolymère à moins que le DDA ne soit de 100 %. Le DDA peut être ajusté par un contrôle du temps, de la température ou de la concentration lors de la déacétylation de la chitine. La densité mesurée du

chitosane complètement déacétylé est de 1,47 g/cm^3. De plus, il a été vérifié que le chitosane ne possède pas de molécule d'eau liée à sa chaîne (Cartier, Domard, & Chanzy, 1990).

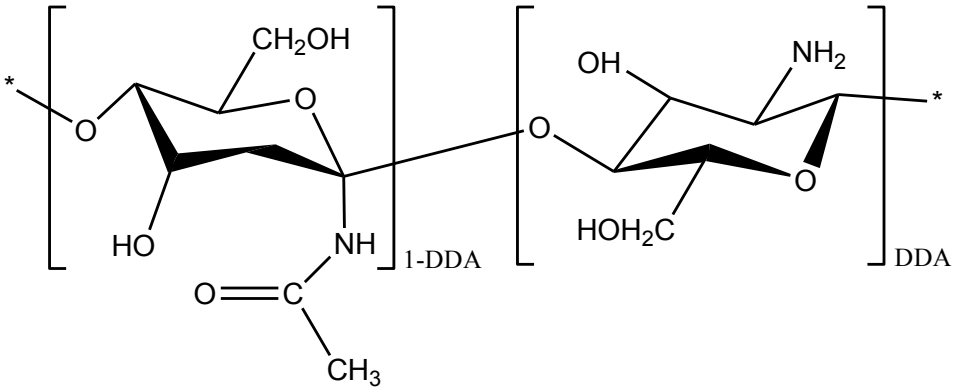
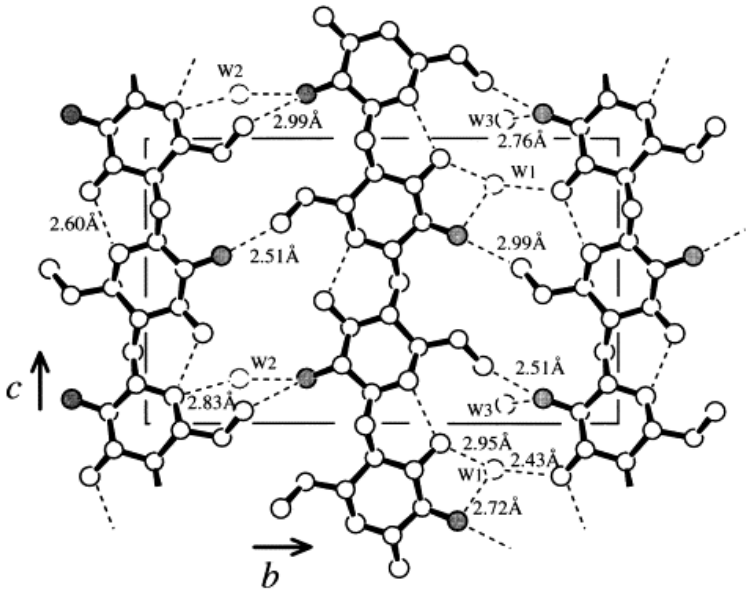


Figure 1-2 : Formule chimique du chitosane (Kurita, 1998)

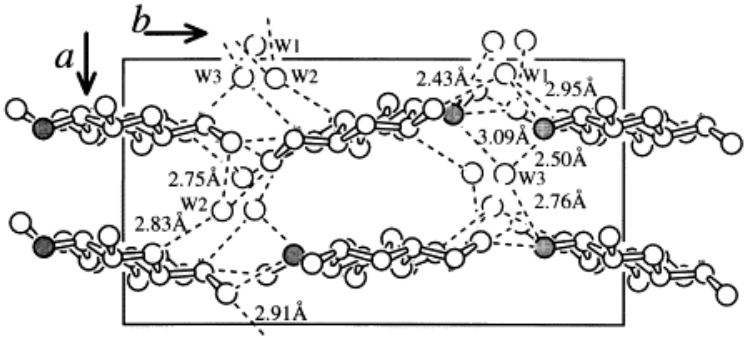
Le chitosane est donc un polymère naturel, biodégradable, biocompatible et également bactéricide, c'est-à-dire qu'il a la capacité de tuer des bactéries. Comme la chitine, le chitosane a des applications possibles dans de nombreux domaines comme le biomédical et le pharmaceutique, les cosmétiques, l'industrie alimentaire, l'environnement, l'agriculture, la papeterie, le textile… (Crini et al., 2009; Shahidi, Arachchi, & Jeon, 1999).

1.1.1 Propriétés structurelles du chitosane

Le chitosane est donc un polymère semi-cristallin à l'état solide. La diffraction de rayons X du chitosane hydraté a montré trois réflexions principales du chitosane pour 2θ égal à 11,40°, 19,80° et 22,52° qui correspondent respectivement aux plans 020, 100 et 110 (Farooqahamed S. Kittur, Vishu Kumar, & Tharanathan, 2003). Grâce à la diffraction d'électrons, il a été déterminé que le motif élémentaire du chitosane hydraté est orthorhombique avec pour taille a = 0,895 nm, b = 1,697 nm et c = 1,034 nm. Le motif élémentaire est composé de deux chaînes de chitosane antiparallèles liées par des liaisons hydrogènes intermoléculaires, formant une structure en bande. Le paramètre c correspond à la distance entre deux chaînes antiparallèles. L'empilement de ces bandes forme la structure en 3 dimensions comme représentée dans la Figure 1-3 (K. Okuyama et al., 2000). Les dimensions des cristaux de chitosane vont dépendre de l'origine du chitosane et de sa forme hydraté ou non. En effet, lors de la déshydratation, un réarrangement va s'organiser selon les axes a, b, et c afin de remplir l'espace laissé par les molécules d'eau (Kenji Okuyama et al., 1997).



(a)



(b)

Figure 1-3 : Empilement des chaînes du chitosane hydraté (a) selon l'axe a, (b) selon l'axe c. Les cercles gris indiquent un atome d'hydrogène (K. Okuyama, et al., 2000)

1.1.2 Solubilité du chitosane

Le chitosane peut se solubiliser dans des solutions acides (pH < 6,0), mais est insoluble dans l'eau, les solvants organiques et les bases aqueuses. En effet, le chitosane est une base forte et possède des groupes d'amines primaires avec un pKa égal à 6,3. À cause de la présence des groupes amines, la charge et les propriétés du chitosane vont varier avec le pH (Cho, Jang, Park, & Ko, 2000).

Lorsque le pH est faible, les amines subissent une protonation et deviennent chargées positivement, le chitosane devient alors un polyélectrolyte cationique hydrosoluble. Il est d'ailleurs le seul polycation d'origine naturelle. D'un autre coté, lorsque le pH est élevé, le chitosane est insoluble. Cette transition entre l'état soluble ou insoluble du chitosane a lieu pour

des pH compris entre 6 et 6,5 autour de la valeur du pKa. Le pKa étant fortement dépendant du degré de déacétylation, la solubilité du chitosane est aussi dépendante du DDA et de la méthode de déacétylation utilisée (Yi et al., 2005). En effet, lorsque le DDA est faible, le chitosane est peu soluble car les groupes amines sont peu nombreux. Il est alors préférable d'utiliser un chitosane au DDA supérieur à 70 % pour avoir une solubilité minimale de celui-ci. La solubilité est aussi dépendante de la nature de l'acide utilisé, de la force ionique et de la distribution des groupes acétyle sur la chaîne macromoléculaire (Crini, et al., 2009).

Lorsque le degré de protonation – qui est fonction de la concentration initiale de l'acide utilisé – augmente, la solubilisation du chitosane progresse et celle-ci est complète pour un degré de protonation supérieur à 0,5 (M. Rinaudo, Pavlov, & Desbrières, 1999a, 1999b).

Le solvant le plus couramment utilisé pour la dissolution du chitosane est l'acide acétique en solution aqueuse. Les équations d'équilibre sont les suivantes lorsque le chitosane est dispersé dans une solution d'acide acétique :

$$CH_3COOH + H_2O \longleftrightarrow CH_3COO^- + H_3O^+ \quad (1)$$

$$Chit\text{-}NH_2 + H_3O^+ \longleftrightarrow Chit\text{-}NH_3^+ + H_2O \quad (2)$$

1.1.3 Propriétés thermiques du chitosane

1.1.3.1 Analyse thermique

Les transitions thermiques typiques, telles que les températures de fusion, de dégradation ou de transition vitreuse, du chitosane peuvent être étudiées grâce à la calorimétrie différentielle à balayage (DSC), la thermogravimétrie (TGA) et à l'analyseur mécanique dynamique (DMA).

Il a été montré par DSC que le chitosane ne présentait pas de température de fusion, sa dégradation a lieu avant. La Figure 1-4 présente la trace obtenue pour le chitosane en DSC. Lors du premier balayage (Figure 1-4a), effectué de -100 à 200 °C pour éviter la dégradation du chitosane et pour annuler l'historique thermique, on observe le pic d'évaporation de l'eau résiduelle entre 75 et 125 °C. Lors du second balayage (Figure 1-4b), effectué de -100 à 400 °C, on observe directement la dégradation du chitosane à partir de 250 °C. Les courbes DSC ne montrent pas de cristallinité, ni de changement de phase.

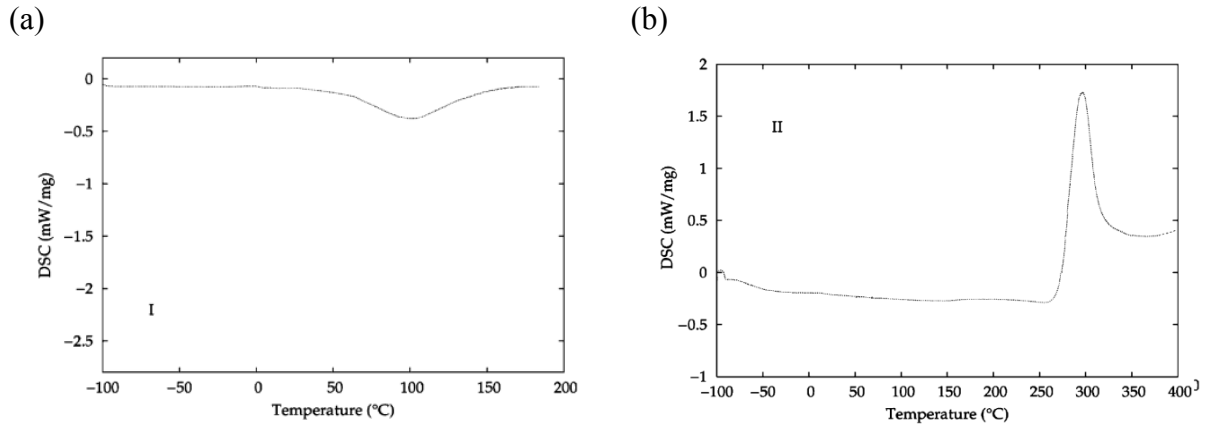


Figure 1-4 : Analyses DSC d'un chitosane pur ; (a) premier balayage ; (b) deuxième balayage (Neto et al., 2005)

L'étude de la température de transition vitreuse (T_g) est plus controversée. En effet, on trouve dans la littérature plusieurs valeurs de T_g et aussi la démonstration qu'elle n'est pas mesurable - ou qu'elle n'existe pas - pour le chitosane. Mucha et Pawlak (Mucha & Pawlak, 2005) ont montré que la T_g du chitosane était située entre 156 et 168 °C, en fonction du DDA du chitosane, Sakurai et al. (Sakurai, Maegawa, & Takahashi, 2000) l'ont estimée à 203 °C, Quijada-Garrido et al. (Quijada-Garrido, Laterza, Mazón-Arechederra, & Barrales-Rienda, 2006) l'ont quant à eux mesurée à 85 °C, tandis que Dong et al. (Dong et al., 2004) l'ont évaluée entre 140 et 150 °C. Souvent la DSC et la DMA ont été toutes les deux utilisées pour déterminer la T_g, il apparaît que cela reste compliqué de déterminer la bonne valeur pour le chitosane. Finalement, on constate que les auteurs attribuent la T_g aux différents pics de relaxation (α, β ou γ) observés en DMA et ces estimations ont déjà été contredites par Neto et al. (Neto, et al., 2005).

1.1.3.2 Dégradation thermique du chitosane

La Figure 1-5 présente la thermogravimétrie du chitosane obtenue par analyse thermogravimétrique (TGA). On observe que la dégradation thermique du chitosane débute aux alentours de 200 °C, le maximum de la dérivée du signal est situé entre 290 °C et 330 °C suivant la vitesse de chauffe utilisée lors de l'analyse.

L'analyse thermogravimétrique du chitosane présente trois étapes remarquablement différentes. La première a lieu entre la température ambiante et 140 °C, une perte de masse de l'échantillon testé de 6 % traduit l'évaporation de l'eau faiblement liée au polymère. La deuxième étape de

dégradation a lieu entre 200 et 400 °C, elle correspond à la finalisation de la déshydratation, à la déacétylation et à la dépolymérisation du chitosane. Enfin, la troisième étape reflète la décomposition résiduelle pour des températures supérieures à 400 °C. Grâce à la dérivée du signal, on remarque que lorsque la vitesse de chauffe augmente, la dégradation du chitosane est retardée de quelques degrés (de Britto & Campana-Filho, 2007).

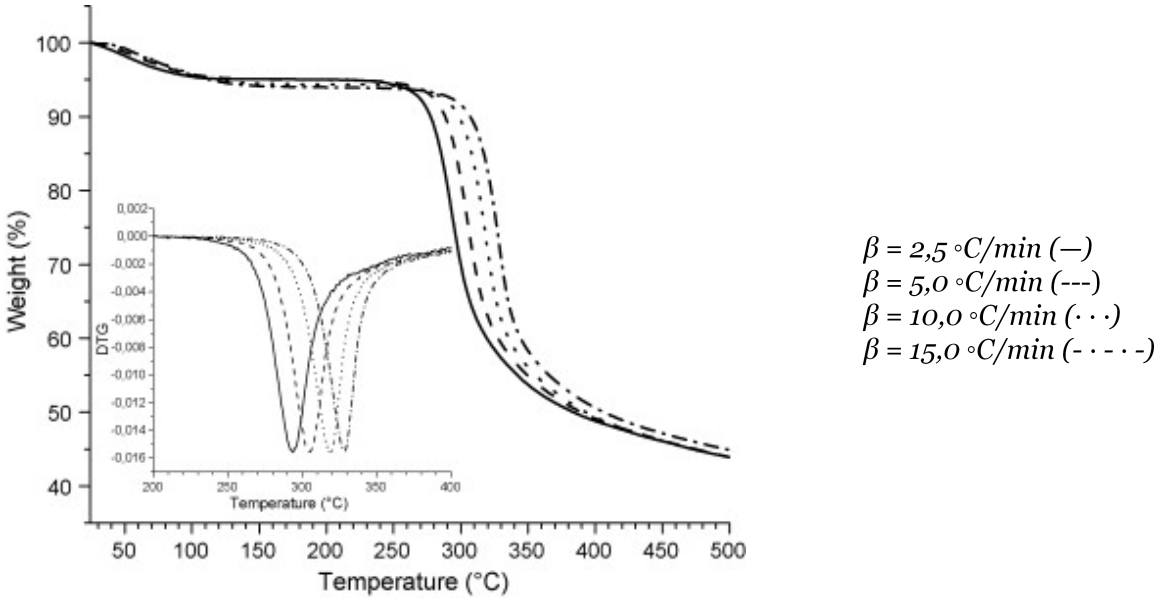


Figure 1-5 : TGA du chitosane pour différentes vitesses de chauffe, ainsi que la dérivée du signal de 200 à 400°C (de Britto & Campana-Filho, 2007)

1.1.4 Propriétés antibactériennes du chitosane

Le chitosane est un matériau intéressant pour le domaine de l'emballage alimentaire de par ses propriétés antibactériennes ainsi que sa biodégradabilité et sa non-toxicité. Il a été démontré que le chitosane à un effet antibactérien sur plusieurs bactéries, champignons ou levures (Allan & Hadwiger, 1979; Hirano & Nagao, 1989).

Plusieurs facteurs peuvent influencer l'activité antibactérienne du chitosane : l'aspect microbien (type de bactéries, l'âge des cellules), le chitosane lui-même (densité de charges positives, le poids moléculaire, le degré de déacétylation, la concentration, le caractère hydrophile ou hydrophobe ou la capacité de former des complexes), l'état physique (film, fibre, sphère ou hydrogel) et les facteurs environnementaux (le pH, la température, le temps ou la présence de cations métalliques) (Kong, Chen, Xing, & Park, 2010).

1.1.4.1 Aspects microbiens

L'effet du chitosane n'est pas le même sur les champignons, sur les bactéries Gram-positif ou sur les bactéries Gram-négatif. Ces deux types de bactérie sont distincts de par leur structure cellulaire.

La couche externe des bactéries Gram-positif contient une épaisse paroi cellulaire ou une structure peptidoglycane (PGN). La couche interne est une membrane cytoplasmique poreuse (CM) qui consiste en une bicouche lipidique. La membrane externe des bactéries Gram-négatif est une bicouche lipidique et la couche interne est une membrane cytoplasmique. Elles sont séparées par une fine couche peptidoglycane (Robinson, 2000).

Pour les bactéries, leur mode d'élimination est un procédé complexe qui dépend des caractéristiques de la paroi cellulaire, c'est pour cela que l'effet du chitosane n'est pas le même sur les bactéries Gram-positif ou sur les bactéries Gram-négatif. Plusieurs études ont été effectuées à ce sujet sans pour autant apporter d'informations précises. En effet, des études ont conclu que l'effet du chitosane est plus important sur les Gram-négatif que sur les Gram-positif (Chung et al., 2004; No, Young Park, Ho Lee, & Meyers, 2002), quand d'autres ont conclu l'inverse (Zhong et al., 2008) ou encore qu'il n'y avait pas de différence entre les deux (Wang, Du, & Liu, 2004).

1.1.4.2 Influence du chitosane

Plus le degré de déacétylation (DDA) du chitosane est élevé plus la densité des charges positives est importante, cela est dû au degré de protonation. Or, une densité de charges positives élevée procure une forte activité antibactérienne au chitosane (Kong, Chen, Liu, et al., 2008). Une étude a montré qu'un chitosane au DDA élevé, ayant donc une densité de charges positives haute, était particulièrement efficace pour l'inhibition des bactéries *Staphylococcus aureus*, cela suggère que l'activité antibactérienne augmente avec le DDA du chitosane (Takahashi, Imai, Suzuki, & Sawai, 2008).

Le poids moléculaire du chitosane semble aussi avoir une influence sur son effet antibactérien. Mais les résultats des différentes études sont plutôt contradictoires, certaines ont montré que l'augmentation du poids moléculaire diminuait l'effet antibactérien du chitosane, d'autres ont montré l'inverse (Tikhonov et al., 2006; Tokura, Ueno, Miyazaki, & Nishi, 1997).

Le chitosane étant un agent chélateur puissant, les complexes qu'il forme avec des ions métalliques chargés positivement permet d'améliorer l'activité antibactérienne (Wang et al., 2005). Un complexe formé avec des ions Ag^{+} permet d'augmenter jusqu'à 20 fois la capacité antibactérienne du chitosane (Chen, Wu, & Zeng, 2005) et jusqu'à 16 fois pour un complexe formé avec des ions Zn^{2+} (Wang, et al., 2004). Cette augmentation de l'activité antibactérienne va aussi dépendre de la capacité du chitosane à former des complexes avec les ions métalliques (Rabea et al., 2003).

1.1.4.3 État physique

L'activité antibactérienne du chitosane est le résultat d'une série de réactions entre les molécules de chitosane et la paroi cellulaire des bactéries. La forme physique du chitosane va donc avoir un impact sur cette série de réactions.

À l'état liquide, l'activité antibactérienne du chitosane va être influencée par sa solubilité qui elle-même dépend du poids moléculaire, du DDA et du pH. Lorsque la solubilité du chitosane est optimisée, son activité antibactérienne sera meilleure (Xie, Liu, & Chen, 2007).

À l'état solide, le chitosane n'a pas la même surface de contact avec les bactéries. Elle sera située à la surface des fibres, films, membranes, microsphères, hydrogels ou encore des nanoparticules. Il a été montré que plus la taille des particules est faible – donc plus la surface de contact est grande – plus l'activité antibactérienne est importante (Takahashi, et al., 2008).

Les nanoparticules ont une densité de charges positives plus faible que les autres formes de chitosane, l'activité antibactérienne sera donc plus faible si on s'intéresse à cet aspect (Sadeghi et al., 2008). Par contre, les nanoparticules ont une surface de contact plus grande et une meilleure affinité avec les parois cellulaires, cet aspect-là aura pour effet d'augmenter l'activité antibactérienne (Qi et al., 2004).

1.1.4.4 Facteurs environnementaux

Comme dit précédemment, le premier facteur environnemental sur l'activité antibactérienne est le pH. En effet, plus le pH est faible, plus le chitosane est efficace pour l'inhibition des bactéries (Kong, Chen, Xue, et al., 2008).

Le temps est aussi un paramètre à prendre en compte. Une équipe de recherche a montré que après 15 jours de stockage d'une solution de chitosane, l'activité antibactérienne est plus faible que le jour de mise en solution du chitosane (No et al., 2006).

Enfin, la température a aussi une influence. Le chitosane est plus actif contre les bactéries à 37 °C qu'à 4 °C. À basse température, la structure cellulaire en surface est modifiée, le nombre de sites de fixation en surface est réduit (Tsai & Su, 1999).

1.2 La plastification

La plastification est une technique généralement utilisée pour améliorer la processabilité, la flexibilité, l'élongation à la rupture ou la durabilité des polymères. Le chitosane étant intrinsèquement rigide, il est important de considérer cet aspect pour plusieurs applications.

1.2.1 Mécanismes mis en jeu lors de la plastification

Il existe deux types de plastifiant définis comme étant internes ou externes (Immergut Edmund & Mark Herman, 1965; Mekonnen, Mussone, Khalil, & Bressler, 2013).

Les plastifiants dits **internes** font partie de la molécule du polymère plastifié, c'est-à-dire qu'ils sont co-polymérisés dans la structure du polymère, par greffage ou réaction avec le polymère originel. Il est plus difficile pour les chaînes du polymère de s'ajuster et de se compacter étroitement entre elles. Les polymères deviennent plus souples, par un abaissement de leur température de transition vitreuse et une réduction de leur module de Young.

Les plastifiants dits **externes** sont plutôt des molécules faiblement volatiles qui sont ajoutées pour interagir avec le polymère à plastifier et entraîner son gonflement sans réaction chimique. Cela va mettre en jeu les forces moléculaires internes entre les molécules du plastifiant et entre le plastifiant et le polymère, comme les forces de Van der Waals (effets d'induction ou de dispersion), les interactions dipôle-dipôle ou les liaisons hydrogènes.

Il y a trois théories différentes expliquant les mécanismes de plastification : la théorie de la lubrification, la théorie des gels et la théorie du volume libre (Mekonnen, et al., 2013; Sears & Darby, 1982).

Dans la **théorie de la lubrification**, le plastifiant agit comme un lubrifiant afin de réduire la friction et de favoriser la mobilité des chaînes. Pour cela, le plastifiant va s'insérer entre deux

chaînes de polymère et va réduire les forces de liaisons interchaînes. Lorsque le polymère se déforme, les macromolécules se meuvent les unes sur les autres, et le plastifiant va lubrifier ces surfaces de glissement. Pour simplifier, il est présumé qu'il n'y a pas de liaison entre les macromolécules au-delà des irrégularités de surface. Il est aussi supposé que les liaisons entre les molécules du plastifiant lui-même et/ou entre les molécules du plastifiant et du polymère soient faibles comme la faible énergie interfaciale qu'il y a entre un solide et un lubrifiant liquide.

La **théorie des gels** considère qu'une structure tridimensionnelle est à l'origine de la rigidité d'un polymère. La rupture de liaisons à différents intervalles dans les chaînes du polymère conduit à l'obtention d'un gel. C'est le plastifiant qui va briser certains ponts interchaînes et masquer le centre des forces attractives (liaisons hydrogènes, Van der Vaals ou forces ioniques), qui avaient jusque là maintenu les chaînes du polymère ensembles, en solvatant les chaînes en ces points. Cela va réduire la rigidité de la structure gel et donc la flexibilité du polymère.

Parallèlement, des molécules du plastifiant non liées au polymère vont aider à gonfler ce dernier et faciliter le mouvement de ses molécules, augmentant la flexibilité.

Pour des polymères semi-cristallins, le plastifiant va d'abord affecter la phase amorphe et les régions cristallines imparfaites. Si son pouvoir de solubilisation est assez important, il peut aussi causer la dissolution de certains cristaux, mais si une structure gel demeure, il ne pourra pas dissoudre définitivement tous les cristaux.

Enfin, dans la **théorie du volume libre,** on définit le volume libre comme étant la différence entre le volume d'un cristal (d'un liquide, d'un solide ou d'un gaz) à la température du zéro absolu (0 K) et le volume d'un cristal à la température d'utilisation. Le volume libre ou trous d'un polymère vont permettre les mouvements limités des éléments de la structure maillée. Plus le volume libre sera important, plus les mouvements des chaînes seront faciles. La plastification consiste donc à :

- augmenter le volume libre en agissant sur ses différentes sources, comme illustré dans la Figure 1-6,

- augmenter le nombre de groupes terminaux (diminution du poids moléculaire), Figure 1-6a,

- par réaction avec le plastifiant (plastification interne) : augmentation du nombre ou de la longueur des chaînes latérales, Figure 1-6b,

- augmenter les mouvements des chaînes principales par l'introduction de segments de faible empêchement stérique et de faible attraction intermoléculaire (plastification interne), Figure 1-6c,

- insérer un composé compatible avec le polymère à plastifier ayant un plus faible poids moléculaire (plastification externe), Figure 1-6d,

- passage de la matière à l'état plastique en augmentant la température.

La théorie du volume libre explique pourquoi la température de transition vitreuse d'un polymère diminue lors de l'addition d'un plastifiant.

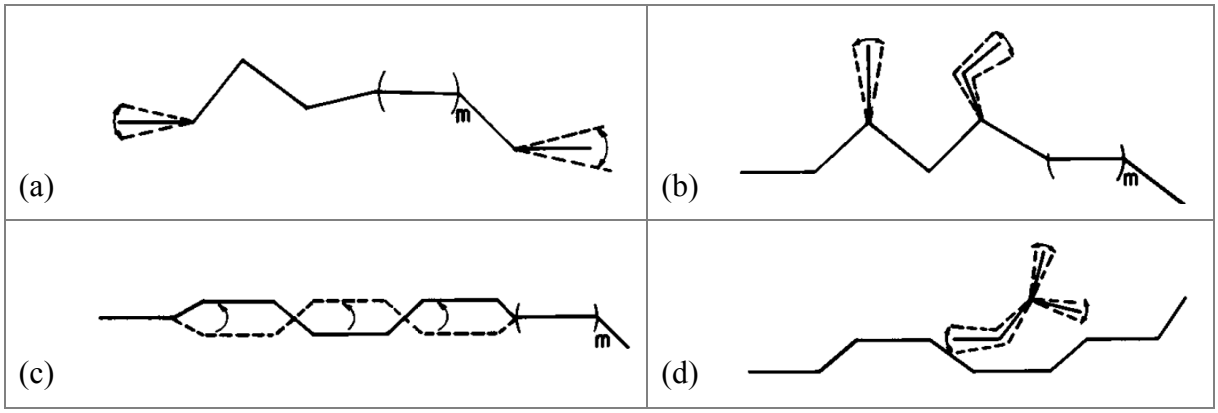


Figure 1-6 : Sources du volume libre utilisées pour la plastification : (a) mouvements des groupes terminaux, (b) mouvements des chaînes latérales, (c) mouvements de type « manivelle » de la chaîne principale, (d) mouvements d'un plastifiant externe (Sears & Darby, 1982)

1.2.2 Étapes de la plastification d'un polymère

La plastification est une technique qui a été développée et fortement utilisée pour la plastification du polychlorure de vinyle (PVC). Les étapes de la plastification ont donc surtout été étudiées sur la plastification du PVC, mais elles peuvent être aussi vraies pour la plupart des polymères semi-cristallins. La plastification va se dérouler en 6 principales étapes (celle des polymères amorphes se fera, elle, en moins d'étapes) (Sears & Darby, 1982) :

- **Le mouillage et l'adsorption** : cette étape est rapide, presque instantanée. Le plastifiant va se frayer un chemin à travers les parties poreuses du polymère et y adhérer. Il est à ce

stade assimilé de manière irréversible. Si la quantité de plastifiant est faible, il peut être complètement adsorbé et la mixture sera sous forme d'une poudre fluide.

- **La solvatation et/ou la pénétration de la surface** : c'est une période d'induction. Le plastifiant va continuer à pénétrer à travers les particules du polymère assez lentement, jusqu'à ce que la surface se rompe sous l'effet des modifications mises en jeu. De manière générale, il est admis que c'est l'initiation de la solvatation et du gonflement des molécules à la surface du polymère.

- **L'adsorption, la diffusion et le gonflement initial** : c'est une étape qui prend du temps et qui peut être accélérée par l'augmentation de la température. Pendant l'adsorption, le volume total du plastifiant et du polymère diminue tandis que les particules de la résine gonflent légèrement et lentement à l'extérieur et sensiblement à l'intérieur, créant des tensions internes importantes.

- **La dissociation et le déblocage des groupes polaires, dissolution dans la région amorphe** : cette étape commence en même temps que la précédente mais elle est plus lente et est donc observée après la fin de l'étape d'adsorption. Au fur et à mesure que le plastifiant pénètre dans la résine et altère partiellement sa structure, on mesure alors un changement dans les propriétés diélectriques de la résine. Ce changement apparait comme étant la dissociation des groupes polaires, qui sont alors capables de rentrer en mouvement et de s'orienter dans un champ électrique alternatif comme s'ils étaient à l'état liquide. À ce stade, le mélange est sec, friable et sous forme de poudre sans cohésion.

- **La rupture de la structure, la diffusion et la dissolution d'une partie des régions cristallines** : si le polymère était complètement amorphe, la résine est déjà plastifiée avant cette étape. Un ordre supramoléculaire existe dans une résine gélifiée et encore plus dans un polymère semi-cristallin ou cristallin. Cet ordre doit être détruit pour obtenir un mélange complet du polymère et du plastifiant. Cette étape va donc dépendre de la compatibilité et des paramètres de solubilité. Quand assez d'énergie est apportée au système par un chauffage, la structure du polymère est brisée et le plastifiant peut pénétrer le polymère.

- **Le rétablissement de la structure** : quand la plastification a lieu par chauffage jusqu'à ce que la résine soit fluide, en refroidissant, une structure durcie devrait se former. Ce phénomène est en fait une réorganisation des macromolécules, une association des segments parallèles du polymère ou une cristallisation qui va entrainer une augmentation de la viscosité.

Pour résumer, la plastification va se dérouler comme suit : le plastifiant mouille la surface de la résine et remplit les pores disponibles ; le plastifiant va solvater la surface, en contournant certaines impuretés, gonfler la surface suffisamment pour faciliter les forces superficielles et permettre la pénétration des particules par le gonflement de la région amorphe et la formation de contraintes internes ; le plastifiant aide à la dissociation en des zones amorphes des groupes fonctionnels comme les groupes polaires et les groupes avec des liaisons hydrogènes ; la structure supramoléculaire est détruite par le plastifiant sous l'action de la chaleur et finalement les forces impliquées sont rétablies en ordre supramoléculaire, en une structure gel ou une structure cristalline du produit.

1.2.3 Effets de la plastification sur le polymère

1.2.3.1 Effets de la plastification sur la structure du polymère

La Figure 1-7 présente la plastification, ou l'antiplastification, d'un polymère de base. Ce polymère présente des petites zones ordonnées, les cristallites, au milieu de molécules ne présentant aucun ordre particulier, la zone amorphe. Les cristallites vont donner la rigidité au polymère tandis que la partie amorphe sa flexibilité (Sears & Darby, 1982).

Lorsqu'un plastifiant est ajouté au système polymère-plastifiant deux phénomènes peuvent se produire : la plastification et l'antiplastification.

L'**antiplastification** peut avoir lieu lorsqu'une trop faible quantité de plastifiant est incorporée. Cela va conduire à une augmentation du volume libre, ce qui va donner l'opportunité aux molécules du polymère de se mouvoir plus facilement. Beaucoup de résines vont avoir tendance à devenir plus ordonnées et plus compactes en augmentant la taille des cristallites déjà existantes ou en augmentant leur nombre, à cause de l'expansion de la partie la plus fluide de la zone amorphe. Certaines molécules du plastifiant peuvent aussi être immobilisées par la création de liaisons avec la résine. Cela va réduire la liberté de mouvement des petites parties de la molécule

(chaînes latérales, segments terminaux). Le polymère devient alors plus rigide : augmentation de la résistance à la traction et du module de Young et diminution de l'élongation à la rupture et de la résistance à l'impact.

La **plastification** va être achevée, plus ou moins complètement, lorsque la quantité de plastifiant incorporée sera plus importante.

Lors d'une **plastification modérée**, il peut y avoir augmentation de la cristallinité comme dans l'antiplastification, mais la partie amorphe gonfle tellement que le polymère devient plus souple. La résine plastifiée est plus flexible, a une élongation à la rupture et une résistance à l'impact plus importantes, mais sa résistance à la traction et son module de Young seront plus faibles que le polymère de base.

Un polymère **fortement plastifié** verra ses cristallites quasi totalement disparues, jusqu'à l'obtention d'un gel très souple.

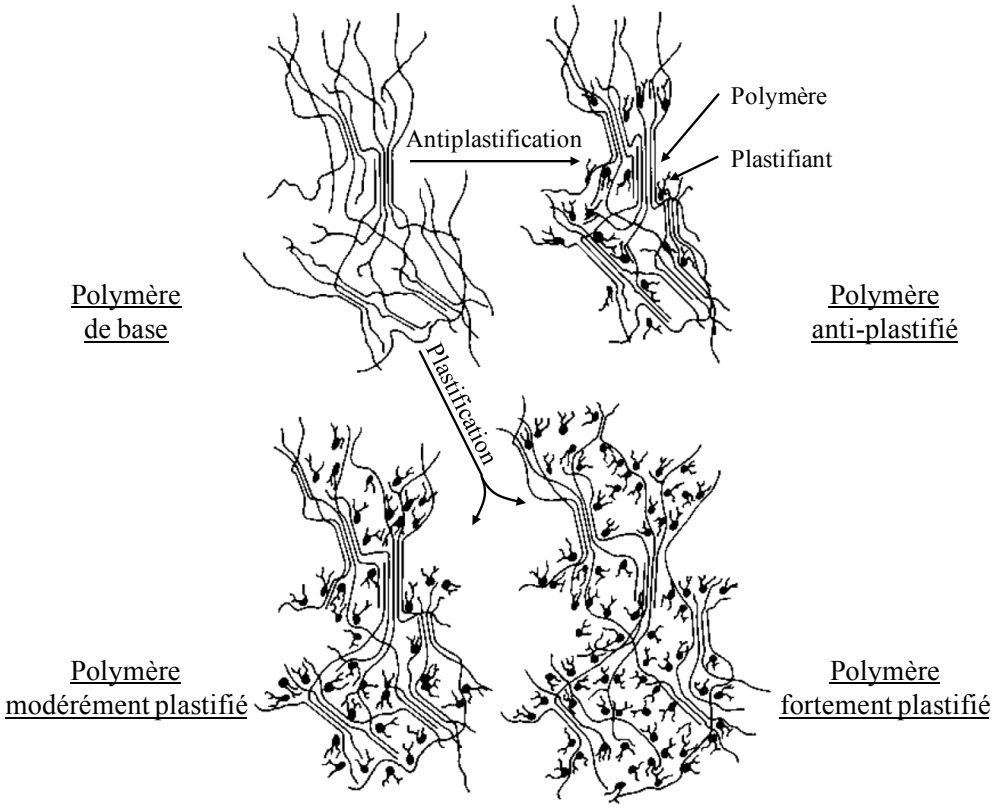


Figure 1-7 : Plastification d'un polymère, illustration de la plastification comparée avec l'antiplastification (Sears & Darby, 1982)

1.2.3.2 Effets de la plastification sur les propriétés du polymère

Les propriétés d'un polymère vont être modifiées après la plastification.

L'amélioration de la flexibilité d'une résine par les plastifiants est une des propriétés qui est recherchée depuis longtemps. Les plastifiants sont aussi utilisés pour réduire la fragilité, diminuer la dureté, diminuer le taux de cristallinité, la température de transition vitreuse et la température de fusion. Ces changements vont directement impacter la mise en forme des polymères et la rendre plus facile. L'ajout de plastifiant à une formulation va aussi permettre de diminuer le coût d'un produit plastique (Mekonnen, et al., 2013).

De récentes avancées dans le domaine des polymères biosourcés (amidon, acide polylactique, polyhydroxyalcanoates, acétate de cellulose) ont été faites. Le développement de ces polymères, pour des applications multiples, est facilité par la plastification qui permet d'améliorer leurs performances souvent faibles : faible élongation à la rupture, dégradation à faible température, faible résistance au choc, fragilité, mise en forme difficile, sensibilité à l'humidité, viscosité élevée, température de transition vitreuse supérieure à la température de décomposition (pour l'amidon) et parfois un prix élevé (Mekonnen, et al., 2013).

1.2.4 Paramètres influençant la plastification

La plastification des polymères est utilisée à deux fins différentes : aider la mise en forme du polymère et/ou modifier le produit final. Afin d'atteindre le ou les objectif(s) fixé(s) il est possible de faire varier certains paramètres comme le plastifiant et/ou la mise en œuvre.

1.2.4.1 Choix dans l'utilisation du plastifiant

Il est important de choisir un plastifiant ayant une excellente compatibilité avec le polymère, une action plastifiante efficace et une bonne stabilité (d'un point de vue thermique, oxydante, aux UV…). D'autres propriétés peuvent aussi être intéressantes lors d'une sélection : la biodégradabilité, plastifiant non volatile et non toxique et ayant une faible migration dans le temps. L'eau peut-être un bon plastifiant pour les polysaccharides mais les températures de mise en œuvre utilisées dans la plastification peuvent être supérieures à 100 °C (Mekonnen, et al., 2013).

Comme expliqué précédemment, lors de la plastification le plastifiant diffuse dans la structure du polymère. Pendant cette étape, les parties amorphes du polymère vont acquérir un certain degré de liberté et une activité moléculaire ; les liaisons sont rompues. Cette étape peut être plus ou moins réussie en fonction du plastifiant choisi. En effet, la capacité d'un plastifiant à former des liaisons hydrogènes avec le polymère est très importante et est liée à sa structure, son poids moléculaire, sa viscosité ou sa vitesse de diffusion. En effet, Taghizadeh et Favis ont montré que la température de plastification, ou l'énergie à apporter, augmentait (ici pour l'amidon) lorsque le poids moléculaire du plastifiant augmentait (le glycérol, le sorbitol et le diglycérol ont été étudiés). Ils ont aussi montré que le phénomène est aussi vrai lorsque la viscosité du plastifiant augmente par un ajout de plastifiant, ou inversement lorsque la viscosité diminue par un ajout d'eau (Taghizadeh & Favis, 2013). Les propriétés de l'amidon thermoplastique vont aussi varier avec le choix du plastifiant et sa quantité dans la formulation (Mekonnen, et al., 2013).

En fonction de sa structure, chaque polymère va avoir des plastifiants adaptés. Pour le PLA, des plastifiants à bas poids moléculaires sont couramment utilisés, comme le glycérol, l'acide lactique oligomérique, les citrates, ou la triacétine ; la présence de groupes amides dans la chaîne du plastifiant qui peuvent interagir avec le PLA est aussi recherchée. Pour l'amidon, les plastifiants les plus utilisés sont de manière générale des polyols comme le glycérol, le sorbitol, le xylitol, le maltitol, l'éthylène glycol, le propylène glycol, etc. Pour la cellulose qui est aussi un polysaccharide et le biopolymère le plus abondant sur Terre, les plastifiants qui sont communément utilisés sont : le diéthyle phthalate, le diméthyle phthalate, le triphényle phosphate, l'adipate d'éthylhexyle, la triacétine, le glycérol triacétate, le triéthylène, etc. (Mekonnen, et al., 2013).

Un panel important de plastifiants existe, le choix de l'un d'eux est primordial pour obtenir une plastification suffisante pour faciliter la mise en œuvre ou les propriétés du polymère à plastifier.

1.2.4.2 Choix de la mise en œuvre

Pour achever la plastification d'un polymère, un traitement thermique est appliqué au mélange polymère/solvant/plastifiant. Un traitement mécanique peut y être ajouté pour faciliter cette plastification.

Par exemple, la plastification de l'amidon est possible en présence d'eau et d'un plastifiant sans contrainte de cisaillement mais à la température minimale de gélatinisation du système (> 60 °C).

Au dessus de cette température, les liaisons hydrogènes sont rompues et les molécules d'eau se lient aux groupes hydroxyles de l'amidon, entraînant un gonflement plus important et la dissolution des cristaux. Dans ces conditions, i.e. sans contrainte de cisaillement et à haute température, l'eau doit être présente en excès (> 63 %). Si la quantité d'eau n'est pas suffisante, les forces de gonflement seront moins importantes et la gélatinisation ne pourra avoir lieu que partiellement ou à plus haute température. Plus la température augmente, plus la mobilité des chaînes de l'amidon sera facilitée et plus l'amidon tendra à un comportement viscoélastique proche des thermoplastiques (Liu et al., 2009).

Par contre, lorsque des contraintes de cisaillement sont présentes, comme dans un mélangeur interne ou mieux, dans une extrudeuse, la gélatinisation de l'amidon est facilitée et peut être réalisée avec un apport plus faible d'eau (20-30 %). En effet, le cisaillement va aider le transfert des molécules d'eau vers l'intérieur des molécules d'amidon. Le cisaillement va aider à la fragmentation des molécules, cela va faciliter la rupture des liaisons hydrogènes et augmenter le nombre de groupes hydroxyles libres ; ce cisaillement est responsable d'une dégradation plus rapide de l'amidon (Liu, et al., 2009).

Il est donc important de contrôler la température, la vitesse de rotation des rotors ou des vis, le temps de séjour et la quantité de la partie aqueuse pour obtenir une plastification optimale d'un polymère.

1.2.5 Exemple de la plastification de l'amidon

L'étude de l'exemple de la plastification de l'amidon peut s'avérer utile pour ce projet, car sa structure chimique est très proche de celle du chitosane, ce sont, en effet, des polysaccharides tous les deux ; de plus la plastification de l'amidon a été beaucoup plus étudiée depuis les années 80. Dans l'optique de son utilisation dans le domaine de l'emballage (origine naturelle, biodégradable) des recherches pour sa plastification ont déjà été menées de manière plus approfondie que pour la plastification du chitosane.

Le but de la plastification de l'amidon est de rendre sa structure, qui est semi-cristalline, amorphe. La déstructuration de cette structure cristalline se fait par la rupture d'une partie des liaisons d'hydrogène intermoléculaires à haute température et en présence d'un excès d'eau ou

d'un autre plastifiant capable de former des liaisons hydrogènes avec les groupes hydroxyles de l'amidon.

La plastification peut se faire en une ou deux étapes (Avérous, 2004):

- Procédé en une étape : l'extrudeuse est alimentée en amidon natif, l'eau et le glycérol (polyol choisi ici) sont introduits le long du fourreau. L'eau en excès est souvent éliminée avant la sortie de l'extrudeuse par évaporation. L'amidon est totalement déstructuré et fondu dans la zone de plastification de la vis.
- Procédé en deux étapes : la première étape est la préparation du mélange sec d'amidon et de glycérol dans un mélangeur à haute vitesse. Le mélange est placé dans un four ventilé pour permettre au glycérol de pénétrer dans les granules et de les gonfler. Après le refroidissement du mélange, l'eau est ajoutée, le mélange est alors à nouveau mixé. Il est finalement introduit dans l'extrudeuse.

Cette étape de décristallisation de l'amidon se nomme gélatinisation. La rupture des liaisons peut se faire avec l'apport d'énergie thermomécanique dans un procédé continu comme l'extrusion (Avérous & Halley, 2009). Le procédé de gélatinisation a été décrit schématiquement par Avérous (Avérous, 2004) et est présentée en Figure 1-8.

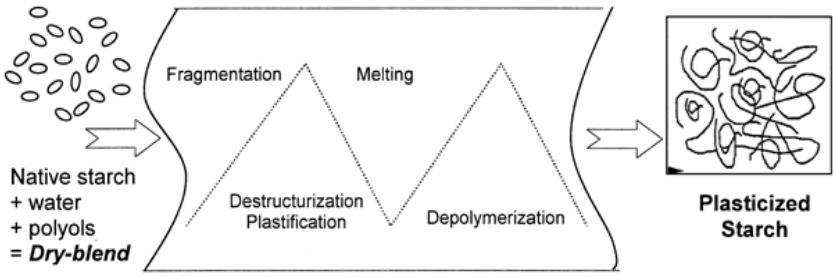


Figure 1-8 : Schéma des différentes étapes de déstructuration de l'amidon lors du procédé d'extrusion

Le degré de désorganisation de la structure cristalline de l'amidon va dépendre du type et de la quantité du plastifiant utilisé et des conditions de mise en forme (température et traitement thermomécanique) (Avérous, 2004).

1.2.6 Incorporation du chitosane

Le chitosane peut-être plastifié par voie liquide ou plus récemment par voie fondue (Epure, et al., 2011). Cette plastification du chitosane peut faciliter son mélange avec d'autres polymères en comparaison avec un mélange composé de chitosane non transformé et d'un autre polymère.

1.2.6.1 Plastification du chitosane par voie liquide

Contrairement à la plastification de l'amidon, la plastification du chitosane a été assez peu étudiée et est une technique plus récente. Elle a surtout été développée au début des années 2000 en solution avec évaporation du solvant sans cisaillement.

Plusieurs procédures ont été mises au point (Quijada-Garrido, et al., 2006; Srinivasa, Ramesh, & Tharanathan, 2007; Suyatma, Tighzert, Copinet, & Coma, 2005), mais de manière générale une faible quantité de chitosane (2 à 5 % en poids) est dissoute dans une solution d'acide acétique pendant plusieurs heures, sous agitation et à température ambiante. Une fois que le chitosane est complètement dissout, la solution peut être filtrée. Le plastifiant choisi est ensuite ajouté à la solution de chitosane dans les proportions souhaitées, les mélanges sont ensuite versés dans des moules, les films sont alors séchés sous différentes conditions de temps, température et pression.

Les films de chitosane sont fragiles et cassants et la plastification du chitosane apparait comme une bonne solution pour rendre les films plus flexibles. Suyatma (Suyatma, et al., 2005) a montré que l'effet de l'ajout d'un plastifiant aux films de chitosane préparés par solution était visible sur les propriétés mécaniques et les propriétés thermiques de ceux-ci. La résistance à la rupture a tendance à diminuer et l'élongation à la rupture à augmenter avec l'ajout d'un plastifiant comme montré dans la Figure 1-9.

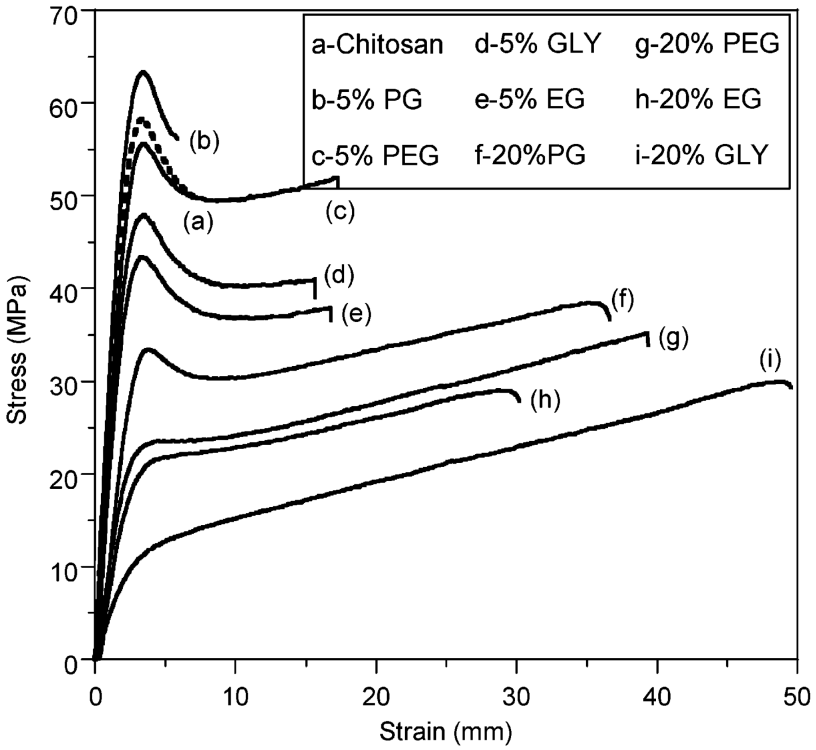


Figure 1-9 : Courbes de traction de films de chitosane préparés avec différents plastifiants dans différentes quantités (5 ou 20 %) ; a. Chitosane seul, b. et f. propylène glycol, c. et g. polyethylène glycol, d. et i. glycérol, e. et h. ethylène glycol (Suyatma, et al., 2005)

Srinivasa (Srinivasa, et al., 2007) a aussi montré que l'ajout de polyol au film de chitosane augmentait l'allongement à la rupture et diminuait la résistance à la rupture mais que l'ajout d'un acide gras diminuait à la fois l'allongement et la résistance à la rupture.

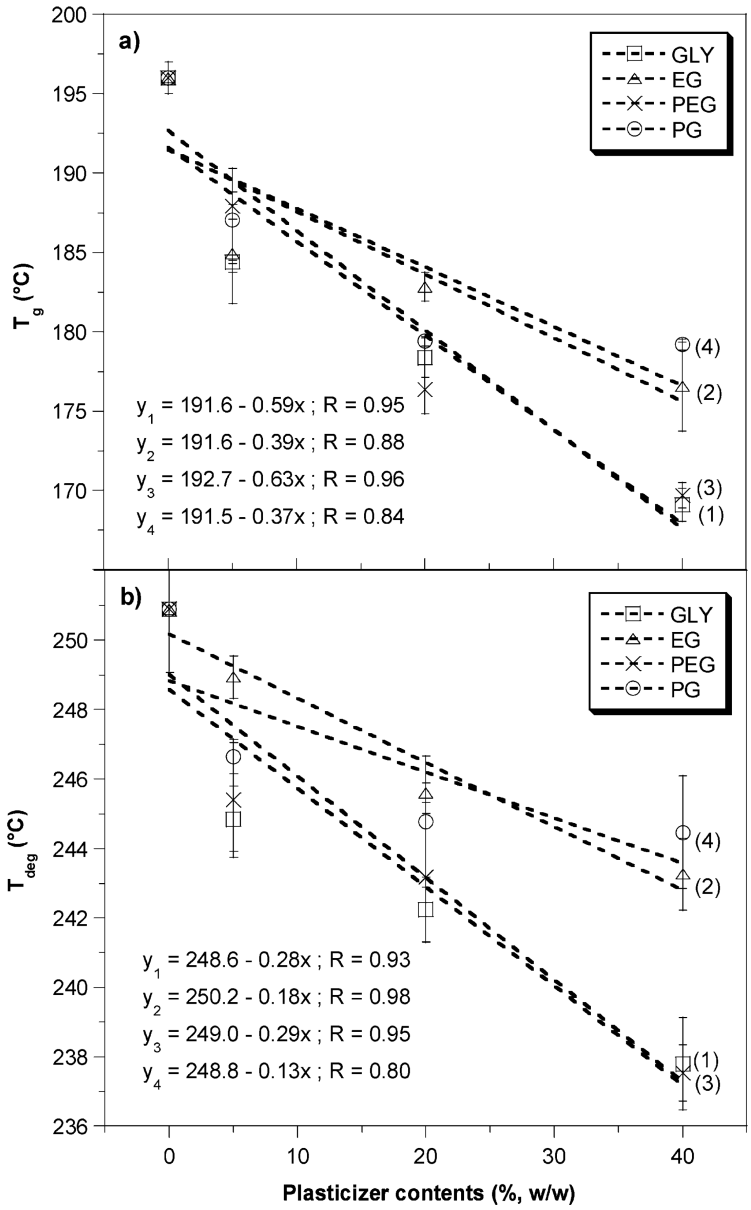


Figure 1-10 : Températures typiques en fonction du type de plastifiant et de sa quantité ; a. température de transition vitreuse, b. température de dégradation (Suyatma, et al., 2005)

Sur la Figure 1-10a, on peut voir que la température de transition vitreuse apparente diminue avec l'ajout d'un plastifiant et lorsque la quantité de plastifiant augmente cette diminution s'accentue, cet effet est en accord avec la théorie des gels présentée précédemment. La plastification entraîne aussi une diminution de la stabilité thermique comme présenté dans la Figure 1-10b où l'on voit que la température de dégradation des films diminue avec l'ajout d'un plastifiant et avec sa quantité.

Grâce à l'analyse thermomécanique dynamique (DMTA), il a aussi été observé que les deux relaxations principales du chitosane (α et β) pouvaient être plus ou moins importantes en fonction de la quantité de glycérol présente dans les films de chitosane (Quijada-Garrido, et al., 2006). Comme présenté dans la Figure 1-11, l'intensité des deux relaxations augmente avec la quantité de glycérol, cela indique une transition d'un comportement solide vers un comportement de type liquide. Il est aussi visible que la relaxation α, attribuée à la température de transition vitreuse du chitosane, se décale vers de plus faibles températures lorsque la proportion de glycérol augmente dans les films, confirmant l'effet plastifiant du glycérol. La relaxation β, qui est attribuée à la température de transition vitreuse du glycérol associé aux groupes latéraux du chitosane par une liaison hydrogène, voit son intensité augmenter clairement avec la quantité de glycérol. La valeur de la température de cette transition diminue lorsque la quantité de glycérol augmente, suggérant une augmentation du nombre de liaisons hydrogènes entre le chitosane et le glycérol et entre les molécules de glycérol elles-mêmes, entraînant la formation d'un regroupement de molécules de glycérol autour du chitosane.

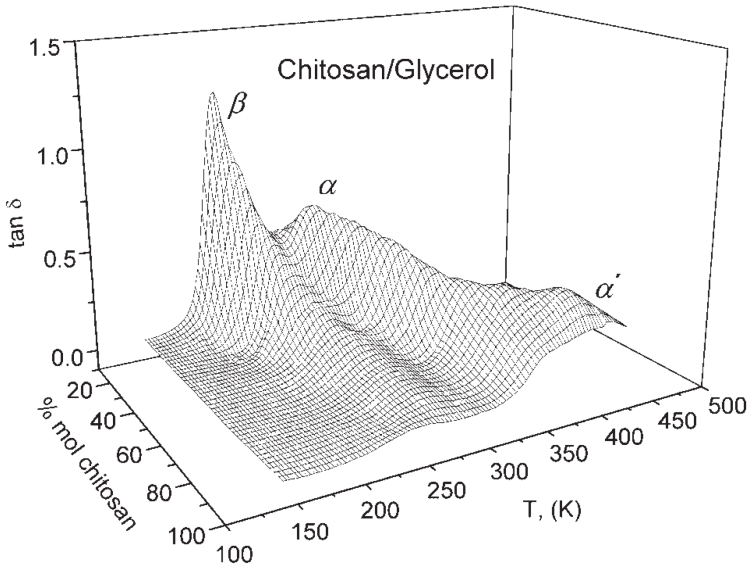


Figure 1-11 : Représentation de tanδ en fonction de la température et de la composition chitosane/glycérol, résultat obtenu par DMTA à 1 Hz et avec une vitesse de chauffe de 1,5 K/min (Quijada-Garrido, et al., 2006)

Il a aussi été montré que la perméabilité à la vapeur d'eau n'était pas influencée par l'ajout d'un polyol ou d'un acide gras (Srinivasa, et al., 2007).

Tous les plastifiants n'ont pas le même effet sur les propriétés mécaniques ou thermiques des films de chitosane plastifié en solution. De manière générale, ces propriétés sont les meilleures lorsque la plastification a été faite avec les polyols (Srinivasa, et al., 2007). De plus, Suyatma (Suyatma, et al., 2005) a conclu que le glycérol et le polyéthylène glycol étaient des plastifiants plus efficaces que l'éthylène glycol et que le propylène glycol grâce à leur plus faible volatilité. Un effet d'antiplastification a même été observé pour le propylène glycol en faible quantité.

1.2.6.2 Plastification du chitosane par voie fondue

Assez peu de travaux traitent de la plastification du chitosane par voie fondue, les premiers articles recensés datent des années 2010.

Une première tentative de plastification par voie fondue a été réalisée par Epure (Epure, et al., 2011). Une méthode de pétrissage mécanique du chitosane en présence de glycérol a été mise au point. Le chitosane est d'abord mélangé manuellement au glycérol (75 % en poids de chitosane pour 25 % en poids de glycérol), puis à une solution à 2 % en volume d'acide acétique ; pour atteindre 20 % en poids de chitosane en concentration finale. Cette pâte est alors introduite dans un mélangeur interne, le malaxage a lieu pendant 15 min à 80 °C et avec une vitesse du rotor de 100 rpm. La mixture est ensuite pressée à 250 bars à 110 °C pendant 15 min, puis une deuxième fois (après refroidissement) pendant 10 min. Des films de chitosane plastifié de 1 mm sont alors obtenus.

Grâce à cette technique de préparation du chitosane plastifié, la cristallinité du chitosane diminue fortement après la plastification comme présenté dans la Figure 1-12. L'échantillon non-plastifié, i.e. préparé de la même manière que l'échantillon plastifié mais sans la présence de glycérol, présente aussi une cristallinité plus faible que le chitosane en poudre. Cela indiquerait que seuls la solution d'acide acétique et le traitement thermomécanique ont influencé la structure du chitosane. Par contre comme on peut le voir dans le Tableau 1-1, le glycérol semble avoir un effet sur le mouvement des chaînes du chitosane et les liaisons hydrogène avec celui-ci, puisque après 35 jours de stockage, la cristallinité de l'échantillon non-plastifié a plus augmenté que celle de l'échantillon plastifié.

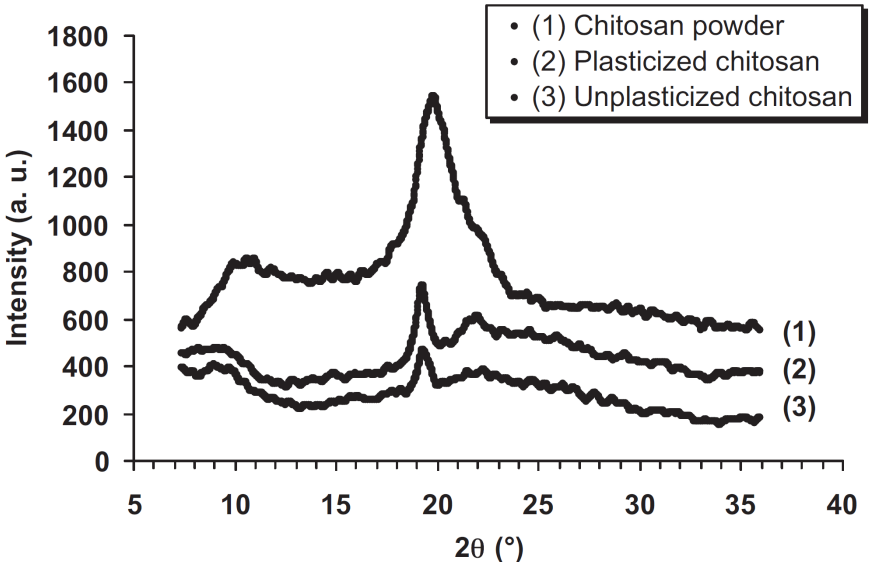


Figure 1-12 : Spectres XRD, comparaison du chitosane seul avec le chitosane plastifié et non-plastifié (Epure, et al., 2011)

Tableau 1-1 : Taux de critallinité en fonction du temps et du taux d'humidité de conservation des échantillons (Epure, et al., 2011)

Échantillon	RH (%)	X_c (%)	
		t_0	t_{35}
Chitosane non-plastifié	33	7	18
	57	7	13
	75	7	15
Chitosane plastifié	33	12	15
	57	12	16
	75	12	9

Dans la Figure 1-13, il est montré que les propriétés mécaniques des films plastifiés ou non dépendent du temps de stockage, du pourcentage d'humidité de l'atmosphère de stockage et de la présence ou non de glycérol. L'eau agissant comme un plastifiant volatile, la mobilité des chaînes augmente avec la quantité d'eau. L'allongement à la rupture diminue avec le temps, c'est-à-dire lorsque l'évaporation de l'eau est plus importante. Plus le pourcentage d'humidité augmente moins cet effet est visible. Pour 57 %HR, l'allongement à la rupture est nettement supérieur pour le chitosane plastifié que pour le non plastifié, c'est pour ce taux d'humidité que la plastification est optimale.

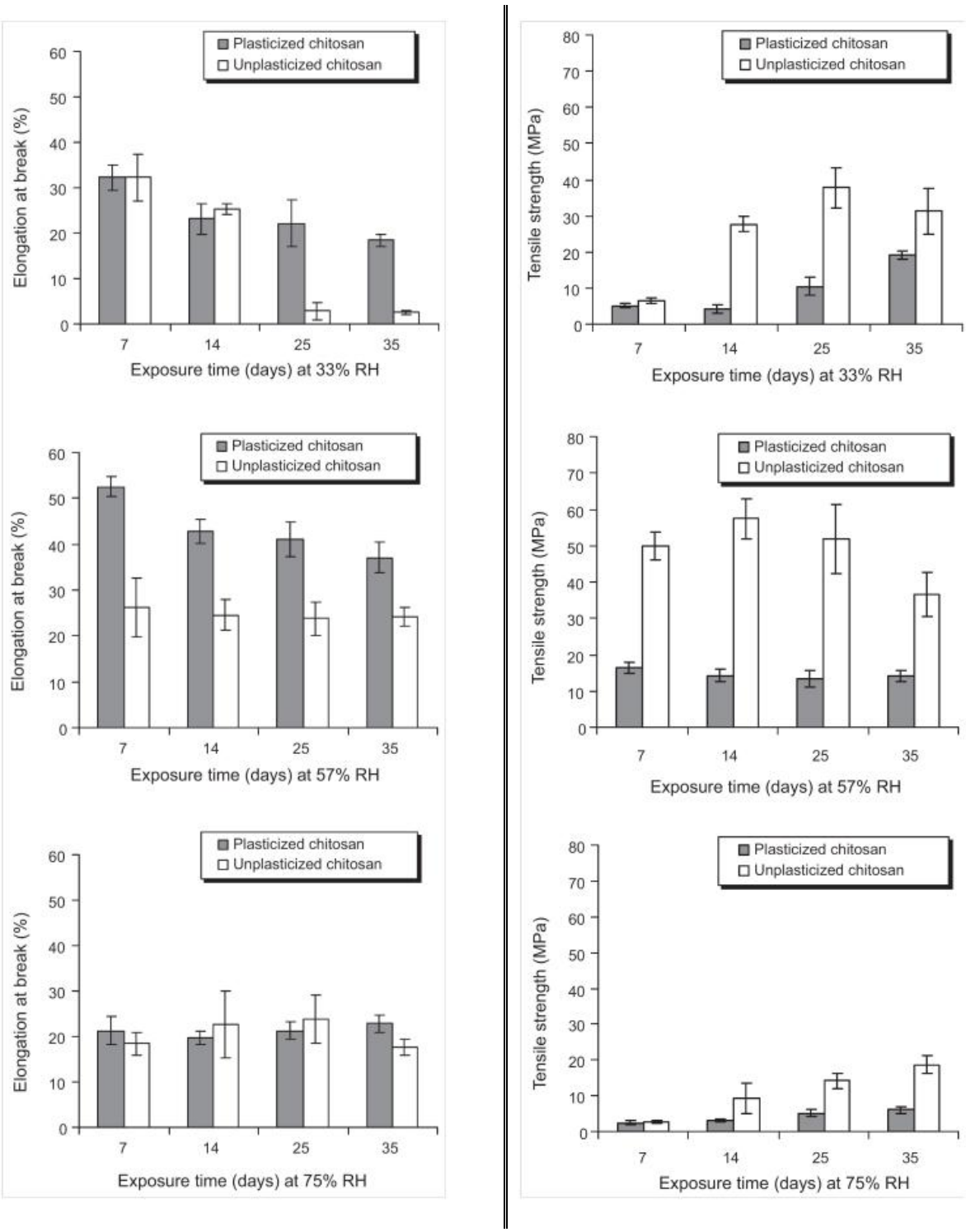


Figure 1-13 : Élongation et résistance à la rupture de films de chitosane plastifiés ou non en fonction du temps et de l'humidité de stockage (Epure, et al., 2011)

La résistance à la traction augmente avec le temps de stockage. La résistance à la traction du chitosane plastifié est de manière générale inférieure à celle du chitosane non plastifié et elle est

relativement constante avec le temps. La résistance à la traction du chitosane plastifié obtenue pour le pourcentage d'humidité de stockage de 57 %HR est la plus élevée. Cela confirme que ce pourcentage d'humidité est celui qui fournit les meilleures propriétés mécaniques au chitosane plastifié.

L'absorption de l'eau a aussi été mesurée en fonction du temps et du pourcentage d'humidité de stockage, il apparait que le chitosane plastifié absorbe plus d'eau que le chitosane non plastifié pour les plus forts taux d'humidité relative (57 et 75 %HR). Pour 33 %HR, l'absorption d'eau est équivalente. Cela peut s'expliquer par le fort caractère hydrophile du glycérol.

Plus récemment, la plastification du chitosane a été réalisée toujours par un traitement thermo-mécanique mais en présence d'acide lactique, de glycérol et parfois d'eau (Meng, Heuzey, & Carreau, 2014). Différentes quantités de ces composants ont été utilisées pour étudier leurs effets sur la plastification du chitosane. Dans cette publication, les différentes structures hiérarchiques du chitosane ont particulièrement été étudiées.

Dans ce travail, il a été constaté que la cristallinité du chitosane diminue lorsque la quantité de plastifiant (que ce soit l'acide lactique, le glycérol ou l'eau) augmentait. Grâce aux spectres obtenus par diffraction de rayons X, il a été montré que l'acide lactique avait tendance à séparer minimalement les feuillets successifs qui forment le chitosane, permettant ainsi au glycérol de pénétrer entre les feuillets et de les écarter. En effet, d'après les analyses FTIR et en accord avec les analyses XRD, l'acide lactique réagit avec les groupes amines du chitosane, cela peut détériorer les liaisons hydrogènes intermoléculaires et conduire à la séparation des chaînes de chitosane sous l'action du traitement thermo-mécanique imposé comme montré dans la Figure 1-14.

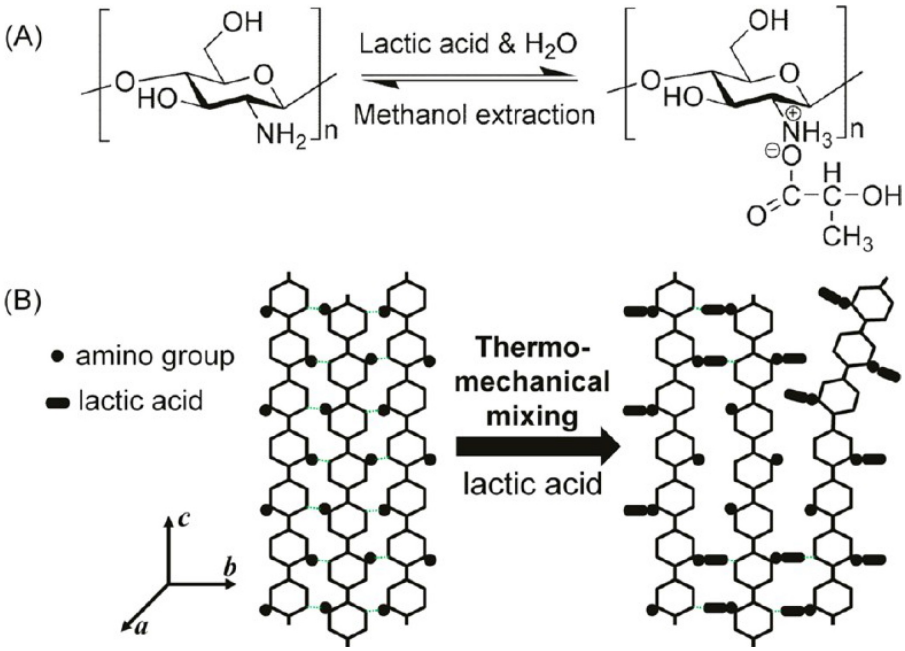


Figure 1-14 : Proposition de réaction antre le chitosan et l'acide lactique (A) et son effet sur la structure cristalline du chitosane (Meng, et al., 2014)

Les analyses microstructurales, effectuées au microscope optique et au microscope électronique à balayage, ont amené l'auteur à décrire une structure hiérarchisée du chitosane comme celle de la chitine. Le chitosane plastifié serait donc composé d'une phase amorphe importante, renforcée par des nanofibriles, d'amas de nanofibriles et de microfibres. Le chitosane plastifié pourrait aussi être entièrement constitué de la phase amorphe pour la plus grande quantité de plastifiant étudiée par Meng et al (Meng, et al., 2014).

Des spectres DMTA ont aussi été réalisés pour les différents chitosanes plastifiés. Il est montré que le module de conservation (E') initial (à -120 °C) diminue lorsque la quantité de plastifiants augmente, ce qui est directement lié à la cristallinité mesurée par XRD. La diminution de E' a été attribuée à la relaxation des groupes latéraux des chitosanes plastifiés et des segments de molécules présentes dans la phase amorphe. Le glycérol serait d'abord responsable de la rupture des cristaux les plus grands du chitosane, puis des plus petits.

Ici, la température de transition vitreuse (T_g) du chitosane pur n'a pu être mesurée. Les différentes T_g mesurées pour les différents échantillons de chitosane plastifié ont été attribuées à la relaxation α et ont des valeurs comprises entre 52 °C et 21 °C. Ce sont des valeurs inférieures aux différentes T_g reportées dans la littérature (Dong, et al., 2004; Mucha & Pawlak, 2005; Neto,

et al., 2005; Quijada-Garrido, et al., 2006; Sakurai, et al., 2000), Meng et al. ont alors conclu que l'acide lactique avait un effet plastifiant sur le chitosane et que le glycérol augmente le comportement liquide du chitosane plastifié.

1.2.6.3 Mélange de polymères avec du chitosane plastifié

Martino (Martino, Pollet, & Avérous, 2011) a développé un mélange par voie fondue, à base de chitosane plastifié, préparé selon la méthode présentée en amont, avec un autre polymère, le poly(ε-caprolactone) (PCL). Le but de cette recherche est de produire des membranes poreuses à base de chitosane. L'effet de la présence de glycérol et l'effet d'un pré-gonflement avant la plastification du chitosane sont étudiés.

Il est montré que le pré-gonflement avec la solution d'acide acétique a un fort impact sur l'absorption de l'eau des mélanges PCL/chitosane. En effet, il y a beaucoup plus d'eau dans les mélanges avec pré-gonflement que dans ceux qui n'ont pas eu ce traitement, cette eau disparaît après 20 jours de stockage à 57 % d'humidité relative permettant de créer des porosités.

Sur les images SEM, présentées dans la Figure 1-15, il est aussi visible que le pré-gonflement permet une meilleure déstructuration du chitosane qui se traduit par une meilleure dispersion de celui-ci dans le PCL. Sur la Figure 1-15a, la flèche blanche du haut indique un agglomérat de chitosane que l'on n'observe pas dans la Figure 1-15b, la flèche blanche du bas montre une cavité qui est certainement due à la mauvaise compatibilité entre le PCL et le chitosane. On observe aussi une structure poreuse pour le mélange PCL/chitosane préparé avec un pré-gonflement préalable au mélange par voie fondue.

Il apparaît que le pré-gonflement permet aussi de diminuer la cristallinité des mélanges en comparaison avec les mélanges préparés par un mélange par voie fondue direct. Ce pré-gonflement va aussi entraîner une diminution du module de Young et de la résistance à la traction maximale mais aussi l'augmentation de l'allongement à la rupture. L'addition du glycérol aura les mêmes effets sur les propriétés mécaniques.

La dégradation thermique des mélanges a aussi été vérifiée et comparée avec le PCL seul. La présence de chitosane accélère un peu la dégradation thermique, le traitement par pré-gonflement du chitosane accélère aussi assez peu la dégradation thermique.

Finalement, la plastification du chitosane par voie fondue et son mélange avec un polymère thermoplastique est une technique simple pour obtenir des matériaux avec un bon compromis dans les propriétés mécaniques et thermiques. Le pré-gonflement améliore la plastification du chitosane et la qualité du mélange avec le PCL, les propriétés observées sont, de manière générale, meilleures avec ce traitement.

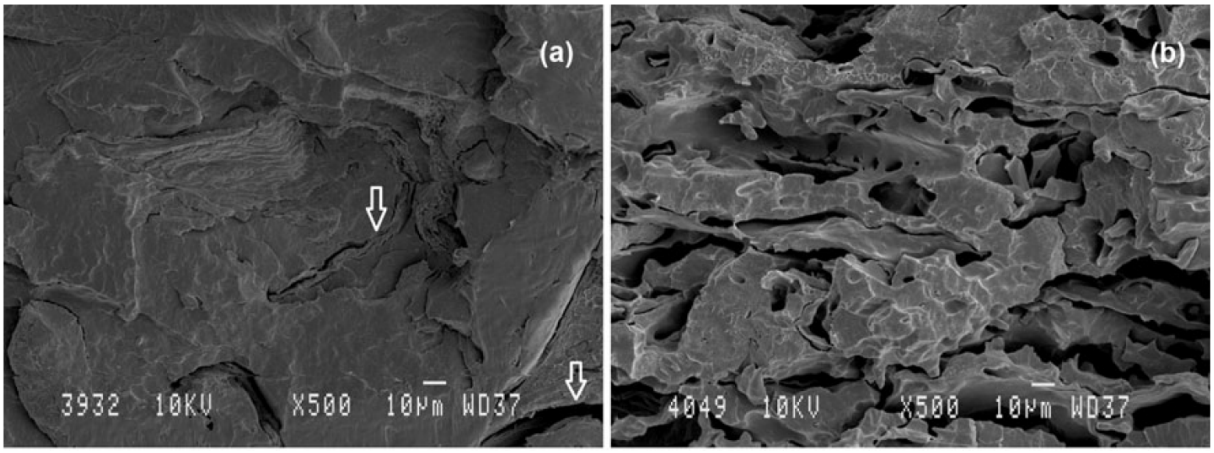


Figure 1-15 : Images SEM (x 500) de la section transversale des mélanges stabilisés PCL/chitosane (80/20), a) préparé par mélange direct, b) préparé avec pré-gonflement (Martino, et al., 2011)

Comme mentionné plus haut, la plastification du chitosane par voie fondue est une technique très récente et n'a pour le moment pas beaucoup été étudiée. L'article publié par Martino (Martino, et al., 2011) est en fait le seul qui utilise cette technique pour effectuer un mélange avec un autre polymère thermoplastique. Toutefois des mélanges de chitosane et de thermoplastique ont déjà été produits par voie fondue mais sans aucune modification du chitosane, c'est-à-dire avec du chitosane en poudre ou flocons (forme sèche). Ces systèmes sont décrits dans la section qui suit.

1.2.6.4 Mélange de polymères avec du chitosane non modifié

Des travaux portant sur des mélanges entre un polymère thermoplastique et du chitosane sous forme sèche ont été conduits soit en utilisant un mélangeur interne (Mir et al., 2011; Zhang, He, Liu, & Qia, 2009) soit par extrusion (Bonilla et al., 2013; Correlo et al., 2005; Martínez-Camacho, et al., 2013).

De manière générale, la qualité visuelle de ces mélanges n'est pas satisfaisante. Les auteurs rapportent des tailles de particules allant de 100 à 300 µm dans une matrice de poly-ε-

caprolactone (PCL), de poly(butylène succinate) (PBS), d'acide polylactide (PLA), de poly(butylène adipate téréphtalate) (PBTA) ou de poly(butylène adipate succinate) (PBSA) (Correlo, et al., 2005). Des films à base de PLA présentent une surface rugueuse et des particules d'une taille de 180 μm après un broyage préliminaire à l'extrusion. Les particules de chitosane ont aussi tendance à s'agglomérer et il apparait que l'ajout d'un élément de mélange sur la vis peut améliorer cet aspect (Bonilla, et al., 2013). Des tailles de particules entre 0,02 et 2000 μm ont aussi été mesurées dans une matrice de polyéthylène haute densité (Mir, et al., 2011).

Un autre point faible des mélanges chitosane en poudre et thermoplastique est que le chitosane ne fondant pas et les deux matériaux étant immiscibles, les propriétés mécaniques de ces mélanges composites sont mauvaises. Le module de Young peut augmenter après l'ajout de chitosane, mais la résistance et l'allongement à la rupture vont drastiquement diminuer quelle que soit la matrice polymérique étudiée (Bonilla, et al., 2013; Correlo, et al., 2005; Martínez-Camacho, et al., 2013; Mir, et al., 2011; Zhang, et al., 2009). Des essais de compatibilisation ont été faits pour améliorer ces propriétés avec plus ou moins de réussite. Par exemple, des granules de HDPE ont été recouvertes de peroxyde de dicumyle et de di-n-butyltin dilaurate, puis lors du mélange avec le chitosane, le triéthoxysilane de vinyle a été rajouté. La résistance à la rupture a alors augmenté avec le chitosane, par contre l'allongement à la rupture n'a pas été amélioré par la compatibilisation (Mir, et al., 2011). Dans une autre étude, un copolymère d'éthylène/acide acrylique a été ajouté au mélange de polyéthylène basse densité (LDPE) et de chitosane. Dans ce cas, l'allongement à la rupture s'est vue augmenté, par contre la résistance à la rupture est restée assez stable lors de l'ajout de chitosane (Martínez-Camacho, et al., 2013).

L'ajout de chitosane à une matrice polymérique est justifié par la volonté de produire des films ayant des propriétés antibactériennes. Il a été montré que 0,1 % en masse de chitosane dans du LDPE avait des propriétés antibactériennes correctes et que l'inhibition des bactéries (*E. coli* et *B. subtilis*) augmentait lorsque la quantité de chitosane augmentait dans le mélange (jusqu'à 2 % en masse) (Zhang, et al., 2009).

1.3 Les mélanges de polymères

1.3.1 Relations thermodynamiques régissant les mélanges de polymères

On définit les mélanges de polymères comme étant miscibles ou immiscibles (Bates, 1991; Robeson, 2007). On dit qu'un mélange est miscible lorsque le matériau est composé d'une seule phase, avec la présence ou non d'une structure à l'échelle du nanomètre. On dit qu'un mélange est immiscible lorsque le matériau est séparé en deux phases chacune constituée de chacun des composants initiaux. On peut aussi trouver des mélanges avec une miscibilité partielle, c'est-à-dire qu'il y a une séparation des deux phases mais que chaque polymère est présent dans la phase de l'autre. La miscibilité ou l'immiscibilité de deux polymères sont déterminées par des relations thermodynamiques telle que l'enthalpie libre :

$$\Delta G_m = \Delta H_m - T\Delta S_m \qquad \text{Équation 1-1,}$$

où ΔG_m est donc l'enthalpie libre du mélange, ΔH_m est l'enthalpie du mélange, liée aux interactions entre les polymères, T est la température et ΔS_m est l'entropie du mélange, liée aux conformations et au désordre.

La première condition, qui n'est pas suffisante, pour qu'un mélange de deux polymères soit miscible est que ΔG_m soit négative, ce qui est rarement le cas.

De manière générale, l'enthalpie du mélange ΔH_m est positive à moins qu'il existe des forces attractives entre les deux polymères comme par exemple des liaisons hydrogènes, la dispersion d'un polymère dans l'autre sera alors stable. L'entropie du mélange ΔS_m, qui est directement liée au désordre, va être elle fonction de la longueur des chaînes. Plus les chaînes seront courtes plus le nombre d'arrangements que les molécules peuvent prendre est grand et donc ΔS_m élevé. Et, plus les chaînes seront longues, le cas pour la plupart des polymères, plus le nombre d'arrangements que les molécules peuvent prendre est faible et donc ΔS_m petit. Il sera alors difficile d'obtenir ΔG_m inférieure à zéro.

La théorie de Flory-Huggins permet de calculer l'énergie libre du mélange de deux polymères, A et B, et de prédire le domaine pour lequel ceux-ci seront miscibles ou non. La théorie est simplifiée grâce à quelques hypothèses :

- la conformation des chaînes des deux polymères dans le mélange sera la même que pour chaque polymère pur

- il n'y a pas de variation de volume ($\Delta V = 0$)

- on ne considère que l'entropie de translation des chaînes.

L'entropie d'un mélange de deux polymères s'écrit alors :

$$\Delta S = -k\,(n_A Ln\varphi_A + n_B Ln\varphi_B) \qquad \text{Équation 1-2,}$$

avec k la constante de Boltzmann, n_A et n_B le nombre de molécules de A et de B et $\varphi_i = \frac{n_i N_i}{n_A N_A + n_B N_B}$ avec N_A et N_B le degré de polymérisation de A et de B et $\varphi_A + \varphi_B = 1$.

En considérant que seuls les motifs voisins interagissent, l'enthalpie est alors exprimée comme suit :

$$\Delta H = kT\chi\varphi_A\varphi_B \qquad \text{Équation 1-3,}$$

avec T la température en Kelvin et χ le paramètre d'interaction de Flory.

L'enthalpie libre du mélange ($\Delta G_m = \Delta H_m - T\Delta S_m$) s'écrit donc :

$$\Delta G_m = kT\left(\frac{\varphi_A}{N_A} Ln\varphi_A + \frac{\varphi_B}{N_B} Ln\varphi_B + \chi\varphi_A\varphi_B\right) \qquad \text{Équation 1-4.}$$

Les deux premiers termes du membre de droite représentent l'entropie, ces termes sont directement dépendants du poids moléculaire des polymères, ils sont négatifs de par le logarithme népérien et très faibles de par le degré de polymérisation. Il est donc nécessaire que le paramètre d'interaction de Flory soit très faible ou même négatif pour que l'enthalpie libre du mélange soit elle-même négative et que le mélange soit donc miscible.

Il est possible de déterminer la température et la composition d'un mélange pour qu'il soit miscible en traçant un diagramme de phases comme illustré en Figure 1-16. La courbe spinodale est obtenue lorsque $\left(\frac{\partial^2 \Delta G_m}{\partial \varphi_i^2}\right)_{T,P} = 0$ et délimite le domaine d'instabilité et de métastabilité. La courbe binodale indique la limite de l'équilibre thermodynamique entre une seule phase et deux phases séparées. Pour un système à deux polymères, cette limite est définie par le moment où le potentiel chimique de chacun des composants A et B est identique dans les deux phases 1 et 2,

c'est-à-dire pour : $\Delta\mu_A^1 = \Delta\mu_A^2$ et $\Delta\mu_B^1 = \Delta\mu_B^2$. Le point critique, où la courbe binodale rejoint la courbe spinodale, est déterminé par : $\left(\frac{\partial^3 \Delta G_m}{\partial \varphi_i^3}\right)_{T,P} = 0$.

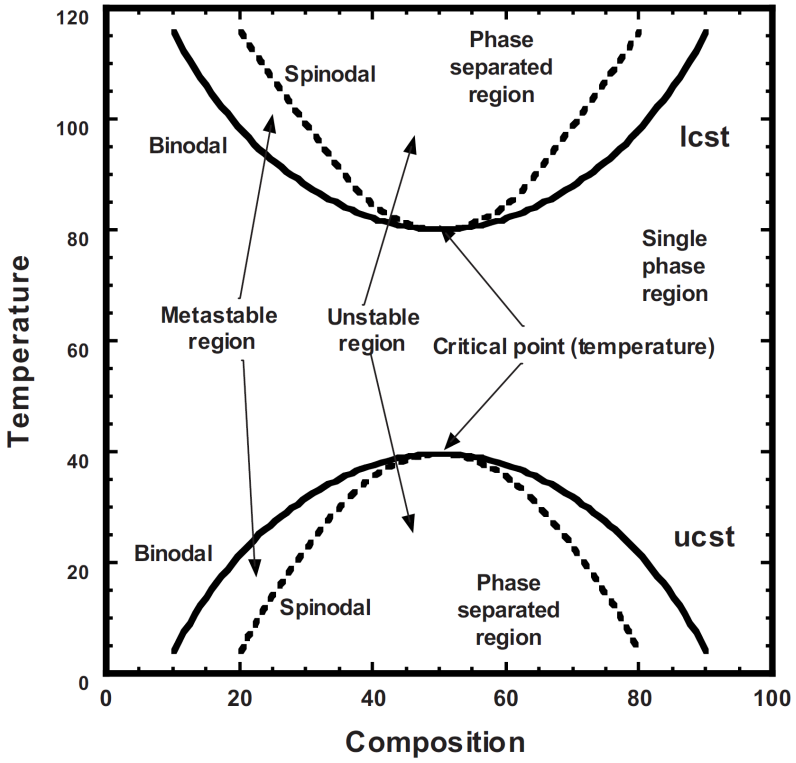


Figure 1-16 : Diagramme de phases pour un mélange de polymères. LCST représente la température critique inférieure de solubilité et UCST la température critique supérieure de solubilité (Robeson, 2007)

1.3.2 Morphologies de mélanges

Un mélange de deux polymères sera, dans la majorité des cas, immiscible. La caractérisation de la morphologie d'un mélange de polymères est un paramètre clé pour comprendre les relations entre la structure et les propriétés du matériau. La morphologie peut être observée par différentes techniques optiques : microscope optique, microscope électronique à transmission, microscope électronique à balayage ou microscope à force atomique, entre autres.

1.3.2.1 Développement de la morphologie

Dans le cas d'un mélange immiscible de deux polymères, on observe un système multiphasé dont les propriétés étudiées vont dépendre de l'arrangement des phases. Le développement de la

morphologie est l'évolution de la morphologie du mélange depuis les granules ou les particules fines à des gouttes de taille du submicrométrique ou micrométrique qui sont présentes dans le mélange final. La morphologie est directement liée à l'affinité entre les polymères (tension interfaciale), à leurs propriétés rhéologiques et à l'écoulement qui est imposé aux polymères lors de leur mélange. La déformabilité de la phase minoritaire va impliquer l'obtention de formes diverses et variées des particules (sphère, ellipsoïde, fibre ou cylindre) et de différentes tailles (submicron à la centaine de microns).

Les premières théories sur le développement de la morphologie d'un mélange ont été développées par Taylor (Taylor, 1932, 1934). Le mécanisme régissant le développement de la morphologie d'un mélange de polymères immiscibles débuterait par la *rupture des gouttes* suivi de la *coalescence*. La phase dispersée sous une contrainte de cisaillement va se rompre tant que les forces de cisaillement peuvent surpasser les forces interfaciales.

En considérant la rupture d'une particule sphérique de liquide newtonien immergée dans un liquide sous un champ de cisaillement, Taylor a montré que les dimensions de cette particule dépendaient du rapport de viscosités des deux fluides, du nombre capillaire, Ca, et du champ de cisaillement. Le rapport de viscosités est $\eta_r = \eta_d/\eta_m$ où η_d est la viscosité de la particule et η_m est la viscosité de la matrice. Le nombre capillaire est défini comme suit :

$$Ca = \frac{\dot{\gamma}\eta_m}{\sigma/R} \qquad \text{Équation 1-5,}$$

où $\dot{\gamma}$ est la vitesse de cisaillement, η_m est la viscosité de la matrice, σ est la tension interfaciale et R est le rayon de la particule. L'opposition entre la contrainte visqueuse $\dot{\gamma}\eta_m$ et la contrainte interfaciale σ/R vont pousser la particule à retourner à sa forme sphérique d'équilibre. Un nombre capillaire critique, Ca_{crit}, existe alors pour lequel le diamètre de la particule est stable régime de cisaillement simple :

$$Ca_{crit} = \frac{1}{2}\frac{16(\eta_r+1)}{19\eta_r+16} \qquad \text{Équation 1-6.}$$

Ca_{crit} correspond au nombre capillaire minimum pour lequel la particule va commencer à se diviser en plus petites gouttes.

Grace a publié sur l'effet du rapport de viscosités sur la rupture ou la déformation des gouttes en cisaillement simple ou en élongation comme représenté dans la Figure 1-17 (Grace, 1982). Il a

montré qu'en cisaillement élongationnel, le rapport de viscosité n'est pas limitant quant à l'habilité du champ de cisaillement à rompre les gouttes.

Dans le cas d'un cisaillement simple, lorsque :

- $\eta_r \ll 0{,}1$: les particules prennent une forme sigmoïdale et leurs extrémités se séparent d'elles en petits fragments

- $0{,}1 < \eta_r < 1$: les particules se séparent en deux particules principales et en quelques particules satellitaires

- $1 < \eta_r < 3{,}8$: les particules se déforment en fibres et se rompent en petites particules

- $\eta_r > 3{,}8$: les particules se déforment mais leur rupture n'est plus possible même soumises à un cisaillement fort.

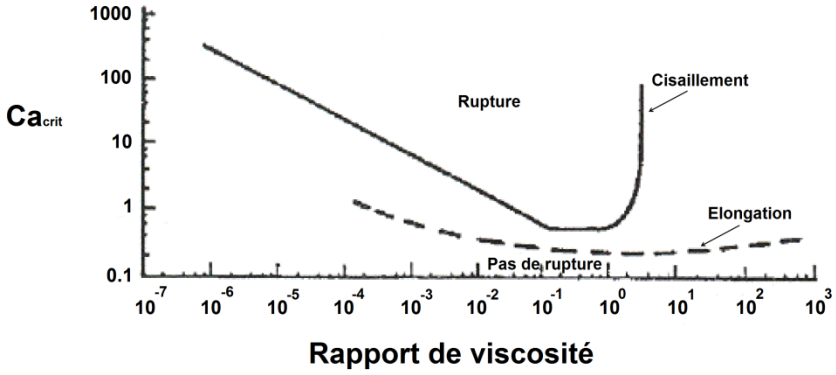


Figure 1-17: Évolution du nombre capillaire critique en fonction du rapport de viscosités et du type de champ d'écoulement, adaptée depuis Grace (Grace, 1982)

La *coalescence* est un facteur qui va influencer la morphologie de la phase dispersée (Elmendorp, 1991). Elle se déroule en quatre étapes :

- premièrement, le rapprochement des gouttes. Plus la concentration de la phase dispersée est importante, plus les gouttes sont proches et plus la probabilité de collision entre-elles est grande.

- deuxièmement, la déformation des gouttes due aux collisions et le retrait de la matrice entre les gouttes.

- troisièmement, la rupture du reste de la matrice aux points les plus fins entrainant l'apparition de trous.

- quatrièmement, la coalescence des gouttes pour former à nouveau une goutte unique.

1.3.2.2 Paramètres influençant la morphologie

Après le développement initial de la morphologie du mélange, sa morphologie finale va dépendre principalement de la miscibilité des deux polymères en présence, de la proportion des deux phases, du rapport de viscosités et des conditions de mise en œuvre.

1.3.2.2.1 Proportion des deux phases du mélange

La morphologie en fonction de la proportion des deux phases est représentée dans la Figure 1-18. On obtient une phase continue d'un polymère lorsqu'il est en plus grande proportion dans le mélange, le polymère présent en plus faible proportion formera la phase dispersée, on parle de morphologie nodulaire. Lorsque la quantité de la phase dispersée va augmenter, le phénomène de coalescence est accentué et la taille des particules augmente jusqu'à atteindre un mélange ayant une morphologie co-continue plus ou moins aboutie (elle sera partielle s'il reste des nodules de la précédente phase dispersée) dans la laquelle les deux phases se sont jointes en une seule phase unique et continue (Harrats, 2009).

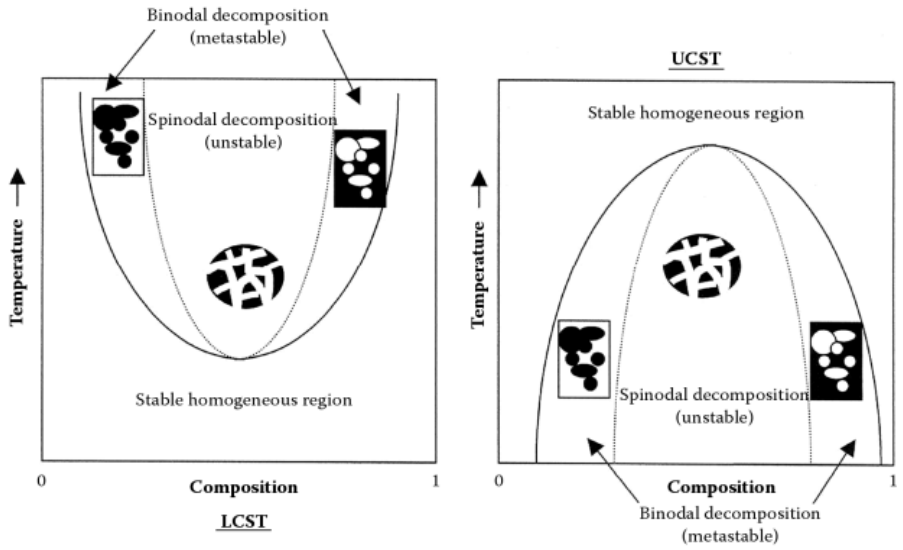


Figure 1-18: Représentation de l'évolution de la morphologie d'un mélange immiscible de deux polymères en fonction de la proportion de l'un par rapport à l'autre (Harrats, 2009).

En pratique, Favis et Chalifoux (Favis & Chalifoux, 1988) ont montré que lorsque la proportion de la phase dispersée augmente, les diamètres moyens en nombre d_n et en volume d_v augmentent aussi pour un mélange polypropylène/polycarbonate comme présenté dans la Figure 1-19. On

remarque que pour les plus faibles quantités de phase dispersée, d_n et d_v tendent à se rapprocher, indiquant une diminution dans la polydispersité de la phase mineure.

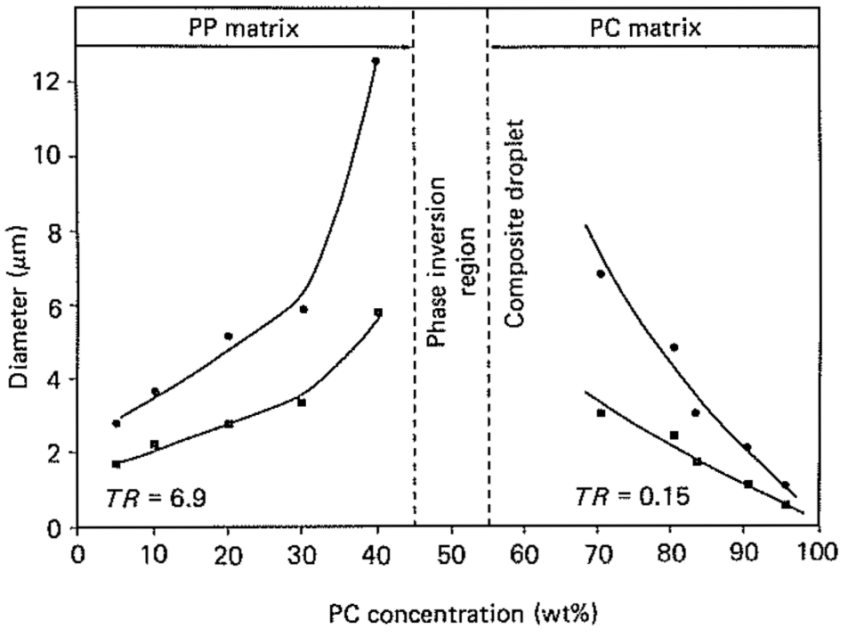


Figure 1-19 : Influence de la composition d'un mélange PP/PC sur la taille des gouttes (Favis & Chalifoux, 1988)

1.3.2.2.2 Rapport de viscosité

De nombreux travaux ont été effectués sur l'influence du rapport de viscosité. Wu a déterminé, pour un mélange polyamide/élastomère éthylène-propylène contenant 15 % de phase dispersée élastomère, que pour un rapport de viscosités égal à 1, la taille des particules est minimale (Wu, 1987). De nombreux travaux confirment que la taille des particules augmentent avec η_r lorsque celui-ci est supérieur à 1 (Everaert, Aerts, & Groeninckx, 1999; Favis & Chalifoux, 1987). D'autres travaux tendent à montrer que la taille minimale des particules serait pour η_r compris entre 0,1 et 0,3 (Favis & Chalifoux, 1987; Taylor, 1934).

Par exemple, Favis et Chalifoux ont étudié l'effet du rapport de viscosités pour un mélange polypropylène/polycarbonate et ont montré que lorsque η_r passe de 2 à 18, le diamètre moyen en volume quadruple et le diamètre moyen en nombre double. Ils ont aussi montré que la taille minimale des particules était atteinte pour η_r de 0,15 (Favis & Chalifoux, 1987).

a) b)

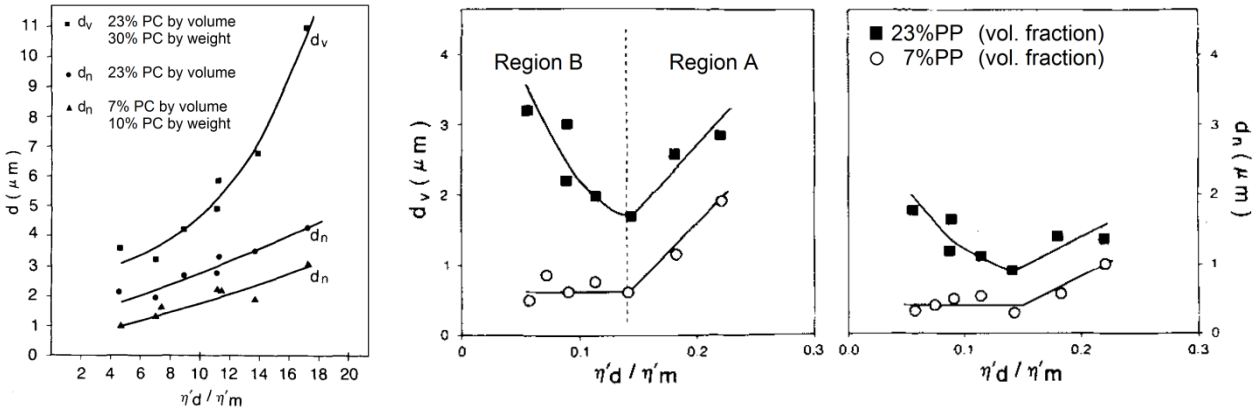


Figure 1-20 : Diamètre moyen en volume et en nombre en fonction du rapport de viscosités, a) pour $\eta_r > 1$, b) pour $\eta_r < 1$ (Favis & Chalifoux, 1987)

1.3.2.2.3 Conditions de mise en œuvre

Plusieurs paramètres de la mise en œuvre peuvent influencer la morphologie du mélange de deux polymères, comme le temps de mélange, le type de mélangeur et la géométrie des rotors ou des vis, le taux de remplissage, la vitesse des rotors ou la température. Ce sont des paramètres qui de manière générale vont influencer le cisaillement lors du mélange et donc le nombre capillaire.

Dans le cas du type de mélangeur, dans le mélangeur interne l'écoulement est intermédiaire entre le cisaillement simple et élongationnel, d'après la Figure 1-17 le nombre capillaire critique va lui aussi être intermédiaire. Favis et Therrien (Favis & Therrien, 1991) ont observé que la morphologie d'un mélange de polymères à forte viscosité obtenue à l'extrudeuse est plus fine que celle obtenue au mélangeur interne. Comme présenté dans la Figure 1-21, Lee et Han (Lee & Han, 1999, 2000) ont aussi montré que la morphologie du mélange évolue de la même manière dans le temps, lorsque effectué dans un mélangeur interne, ou le long de la vis, lorsque effectué dans une extrudeuse.

Dans le cas de la géométrie des vis, il a été observé que la taille des particules de la phase dispersée augmente lors de son passage dans une partie ayant un contre filet car la probabilité de collision des particules augmente aussi (Potente et al., 2000).

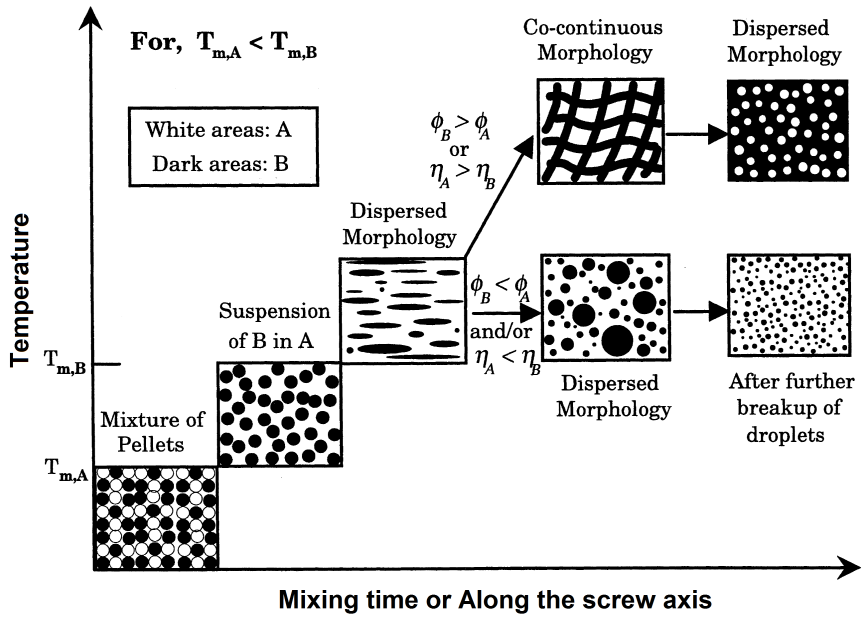


Figure 1-21 : Évolution de la morphologie d'un mélange en fonction du temps de mélange (dans le cas d'un mélange dans un mélangeur interne) ou en fonction de la position le long de la vis (dans le cas d'un mélange dans une extrudeuse) (Lee & Han, 1999, 2000)

1.4 Récapitulatif de la revue de littérature

Le chitosane est un polymère semi-cristallin du type polysaccharide qui présente de nombreuses propriétés intéressantes comme son origine naturelle, le fait qu'il soit biodégradable, biocompatible et surtout bactéricide. Le chitosane est utilisé dans de nombreux domaines et sous différentes formes. L'une des méthodes utilisées pour transformer le chitosane est de le solubiliser dans une solution acide. En effet, le chitosane peut se solubiliser dans une solution ayant un pH inférieur à 6 par protonation de ses amines. La solution en couche mince peut par la suite donner un film par évaporation du solvant. Il s'agit là de la manière traditionnelle de fabriquer des films de chitosane. Par contre la transformation du chitosane par voie fondue, qui permettrait une plus grande production de films, n'est pas utilisée car le chitosane ne présente pas de température de fusion avant sa température de dégradation.

La plastification est une technique utilisée pour améliorer la processabilité, la flexibilité, l'élongation à la rupture ou la durabilité des polymères. De manière générale, la plastification va désordonner la structure cristalline d'un polymère en le rendant plus amorphe. Pour cela, il est nécessaire de mettre le polymère en présence d'un plastifiant et d'apporter, ou non, à ce mélange

un traitement thermo-mécanique. La plastification a lieu en plusieurs étapes comme le mouillage du polymère par le plastifiant, le gonflement de la surface du polymère, la pénétration du plastifiant au cœur de celui-ci, sa structure va alors être détruite. Les propriétés du polymère vont alors être modifiées : diminution du taux de cristallinité, réduction de la fragilité, de la température de transition vitreuse et de la température de fusion. Ces changements vont rendre la mise en forme plus facile. La plastification sera optimale lorsque le plastifiant et sa quantité par rapport à celle du polymère sont bien choisis. Le procédé de plastification est aussi important, la température et le cisaillement ont un rôle essentiel.

La plastification du chitosane est récente et est traditionnellement effectuée en solution. Quelques recherches ont montré qu'elle est malgré tout possible par voie fondue en présence de glycérol et d'une solution acide. Les feuillets successifs et les chaînes du chitosane vont se séparer en présence de glycérol et de la solution acide et sous l'effet du traitement thermo-mécanique. Le chitosane plastifié aura une plus faible cristallinité et un allongement à la rupture plus grand. La plastification du chitosane peut donc faciliter son mélange avec d'autres polymères en comparaison avec un mélange contenant du chitosane non modifié.

L'intérêt de mélanger deux polymères est de pallier aux inconvénients de l'un par les avantages de l'autre et inversement. La qualité d'un mélange va dépendre de la miscibilité des deux composés qui est régit par des relations thermodynamiques. Dans le cas de l'immiscibilité, la morphologie finale va avoir de l'influence sur les propriétés du mélange. Cette morphologie va elle-même dépendre de la proportion des deux polymères, du rapport de viscosités entre les polymères et des conditions de mise en œuvre. L'incorporation du chitosane par voie fondue à un autre polymère demeure encore très marginale et plusieurs avancées dans ce domaine restent à faire.

CHAPITRE 2 OBJECTIFS

L'industrie du plastique explore en permanence des améliorations possibles afin de proposer des produits toujours plus performants et à plus grande valeur ajoutée. L'industrie de l'emballage alimentaire cherche à produire des emballages plus techniques, aux propriétés particulières. Le chitosane de part ses propriétés est un matériau intéressant car son utilisation permettrait d'obtenir des emballages antibactériens utilisés pour une conservation plus longue des denrées alimentaires ainsi protégées. Il est aussi d'origine naturelle ce qui permettrait d'augmenter le contenu bio-sourcés des emballages. Le défi dans l'utilisation du chitosane est que c'est un polysaccharide qui ne présente pas de point de fusion, il n'est donc pas adapté aux méthodes de fabrication traditionnelles de l'emballage plastique.

L'objectif principal de cette thèse est :

« Élaborer des films antibactériens à base de chitosane par extrusion par voie fondue ».

En opposition à la voie en solution habituellement utilisée pour le chitosane, la voie fondue est ici privilégiée car elle est nécessaire pour qu'une fabrication à l'échelle industrielle soit possible. La méthode choisie pour permettre la mise en forme du chitosane par voie fondue est la plastification de celui-ci par un polyol.

Ce type de mise en forme permettrait aussi de répartir de manière homogène le chitosane à la surface du film pour optimiser les interactions entre les produits emballés et le film et donc d'utiliser ses propriétés antibactériennes en vue de réduire la cinétique de croissance des bactéries.

Afin d'atteindre cet objectif principal, différents objectifs spécifiques sont proposés :

1) Étudier la plastification du chitosane par différents polyols et dans différentes conditions. Les propriétés du chitosane plastifié selon différentes formulations ou différentes conditions de mise en forme, sont à examiner afin d'optimiser celles-ci.

2) Vérifier et étudier les effets de chaque composant (solvant et plastifiant) en jeu dans la plastification du chitosane sur les propriétés du mélange. Lorsque le chitosane plastifié est mélangé à un thermoplastique, les propriétés doivent être contrôlées afin de garantir un produit utilisable dans l'industrie de l'emballage plastique.

3) Fabriquer un film antibactérien par extrusion par voie fondue. Il doit être vérifié que l'ajout de chitosane au thermoplastique apporte des propriétés antibactériennes évidentes et que les propriétés du film ainsi produit respectent le cahier des charges d'un emballage plastique traditionnel.

Chacun de ces objectifs spécifiques est abordé dans les articles présentés à la suite.

CHAPITRE 3 ORGANISATION DE LA THÈSE

Les trois chapitres suivants comprennent les résultats principaux de cette étude présentés sous forme d'articles scientifiques rédigés en anglais.

La première partie (Chapitre 4) contient l'article intitulé *« Innovative thermoplastic chitosan obtained by thermo-mechanical mixing with polyol plasticizers »* publié dans *Carbohydrate Polymers* le 5 juin 2013. Dans cet article le chitosane est plastifié dans un mélangeur interne à haute température en présence d'une solution acide et d'un polyol. La plastification a été faite avec trois polyols différents de part leur poids moléculaire et leur nombre de groupes hydroxyles. La quantité de polyol dans la formulation est aussi modifiée. L'évolution de la microstructure du chitosane après sa plastification a été étudiée par diffraction de rayons X et par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier. Les effets du choix et de la quantité de polyol sur les propriétés morphologiques, thermiques, rhéologiques ou mécaniques du chitosane plastifié ont été investigués.

Parmi les trois polyols proposés, le glycérol a été choisi pour la suite du projet, en partie d'après les résultats obtenus dans le premier article mais aussi parce qu'il est bien connu car traditionnellement utilisé comme plastifiant, pour l'amidon thermoplastique par exemple.

Le chapitre 5 reprend l'article intitulé *« Morphology and antibacterial properties of plasticized chitosan/metallocene polyethylene blends »* publié dans la revue *Journal of Materials Science* depuis le 1er mai 2014. Dans cet article, le chitosane est plastifié en présence de la solution acide et du glycérol dans un mélangeur interne. Il est par la suite mélangé avec un polyéthylène métallocène dans ce même mélangeur. L'influence de la quantité d'acide, de solution et de glycérol sur les propriétés du mélange thermoplastique et chitosane plastifié est étudiée. Les différences dans les propriétés rhéologiques sont confirmées et expliquées par la morphologie des mélanges. Une étude sur la compatibilisation entre le chitosane et le polyéthylène est aussi proposée. Enfin, les propriétés antibactériennes des films produits sont aussi présentées pour confirmer l'utilité d'utiliser du chitosane dans des applications comme les emballages alimentaires.

Puisque les mélanges de polymères thermoplastiques et de chitosane « plastifié » montrent une plastification incomplète, l'étude s'est dirigée ensuite vers une mise en forme mettant en jeu des taux de cisaillement plus importants comme dans l'extrusion bi-vis.

Donc finalement, le Chapitre 6 contient l'article intitulé *« Plasticized chitosan/polyolefin films produced by extrusion »* soumis à la revue *Carbohydrate Polymers* le 16 juin 2014 pour publication. Cet article présente le procédé d'extrusion du chitosane plastifié et des polyoléfines en une seule étape dans deux extrudeuses connectées. Ce dispositif permet la fusion des thermoplastiques dans une extrudeuse, la plastification du chitosane au début de l'autre extrudeuse, le mélange du chitosane plastifié avec les polymères fondus dans la seconde partie de cette même extrudeuse et finalement, l'extrusion du mélange. Plusieurs films avec des quantités différentes de chitosane ont ensuite été produits. La morphologie des mélanges a été observée. L'influence de la présence et de la quantité de chitosane dans les films sur les propriétés thermiques, mécaniques, optiques et barrières a été analysée.

CHAPITRE 4 ARTICLE 1 : INNOVATIVE THERMOPLASTIC CHITOSAN OBTAINED BY THERMO-MECHANICAL MIXING WITH POLYOL PLASTICIZERS

Marie Matet[a], Marie-Claude Heuzey[a], Eric Pollet[b], Abdellah Ajji[a], Luc Avérous[b]

[a] CREPEC, Department of Chemical Engineering, Polytechnique Montreal, P.O. Box 6079, Station Centre-Ville, Montreal, Quebec, Canada H3C 3A7

[b] BioTeam/ICPEES-ECPM, UMR, Université de Strasbourg, 25 rue Becquerel, 67087 Strasbourg Cedex 2, France

4.1 Abstract

Chitosan shows a degradation temperature lower than its melting point, which prevents its development in several applications. One way to overcome this issue is the plasticization of the carbohydrate. In this work plasticized chitosan was prepared by a thermo-mechanical kneading approach. The effects of different non-volatile polyol plasticizers (glycerol, xylitol and sorbitol) were investigated. The microstructure and morphology were determined using FTIR, XRD, TEM and SEM in order to understand the plasticization mechanism. Sorbitol, which is the highest molecular weight polyol used, resulted in plasticized chitosan with the highest thermal, mechanical and rheological properties. On the other hand, the sample plasticized with glycerol, the lowest molecular weight polyol, had the most important amorphous phase content and the lowest thermal, mechanical and rheological properties. Also, when the polyol content increased in the formulation, the plasticized chitosan was more amorphous and consequently its processability easier, while its properties decreased.

4.2 Introduction

Chitin is the most abundant polysaccharide on earth after cellulose. Chitin is a biopolymer present, for instance, in the cell wall of fungi or in the shell of arthropods such as crustaceans (e.g., crabs, shrimps or lobsters). Chitosan is the most important chitin derivative. Chitosan is obtained through the controlled deacetylation of chitin in the presence of NaOH (Domard & Rinaudo, 1983; Ravi Kumar, 2000; Marguerite Rinaudo, 2006; Roberts, 1992). It is mainly a linear polymer of β-(1-4)-linked d-glucosamine (deacetylated unit) and N-acetyl-d-glucosamine (acetylated unit). In the last few decades, chitosan has become a particularly interesting biomaterial because of its antimicrobial properties, biocompatibility and biodegradability. Chitosan can be used in many areas such as biomedical, cosmetology, waste water treatment, agriculture and food industry (Ravi Kumar, 2000; Marguerite Rinaudo, 2006). In biomedical and biopharmaceutical applications, chitosan can be used for the development of controlled release drug delivery systems and for its wound healing properties, and its efficiency against bacteria and viruses (Ilium, 1998). In the food industry, chitosan has been utilized in different shapes and for different applications. For example, it has been used for food coatings or edible films to improve food conservation (Dutta, et al., 2009; Farooqahmed S. Kittur, Kumar, & Tharanathan, 1998; Shahidi, et al., 1999). Chitosan-based films may prevent bacteria development on food surfaces because of its antibacterial and antifungal activities. Its efficiency has been shown to be a function of the degree of deacetylation (DDA) and molecular weight (No, et al., 2002; Takahashi, et al., 2008), the process used to fabricate the films (J. Li, Zivanovic, Davidson, & Kit, 2011; S. Zivanovic, Li, Davidson, & Kit, 2008), the shape (nanobeads, microspheres, fibers…) (Kong, Chen, Liu, et al., 2008; Qi, et al., 2004; Sadeghi, et al., 2008), the acid used for dissolution (Pillai, et al., 2009), and the presence of essential oils (S. Zivanovic, Chi, & Draughon, 2005) or metal ions (Chen, et al., 2005; Wang, et al., 2004).

Solvent casting is a conventional method to produce chitosanbased films. Chitosan, at low concentration, is dissolved in acidic conditions (generally in acetic acid solutions), and the mixture is then cast in a Petri dish at moderate temperature (from ambient to 50 ◦C) until complete solvent evaporation (Dutta, et al., 2009; Yi, et al., 2005). Chitosan films produced with the solvent casting method are fragile at small thicknesses; for larger thicknesses, the internal tension increases and a rough surface is obtained (Balau, et al., 2004).

Since it is difficult to scale-up the solvent casting method to obtain chitosan-based films, and because the properties of these films are not robust enough for a large range of applications, chitosan transformation using a conventional melt processing approach would be a highly desirable alternative. For instance, films could be industrially produced at large scale in a continuous process, such as extrusion. This technique is a priori not applicable because neat chitosan degrades before it melts. A new and interesting approach has been proposed recently, inspired by the works developed around the plasticization of starch (Avérous & Halley, 2009). This new technique involves the thermo-mechanical treatment of chitosan in the presence of non-volatile plasticizer (glycerol) (Epure, et al., 2011). A diluted acid solution (acetic acid), which acts as a de-structuring agent, is added to the system. The different components, chitosan, glycerol and acetic acid solutions were "paste"-blended in a batch mixer for 15 min at a set temperature of 80 °C with a rotor speed of 100 rpm. Glycerol-plasticized chitosan films were obtained after compression molding. The advantage of this approach is that the plasticized chitosan can further be melt-blended or coated as a thermoplastic in order to obtain a thermoplastic-like film with antibacterial and antifungal properties, which can be used for packaging or hygiene applications.

The first papers on plasticized starch, the so-called "thermoplastic starch," have been published at the end of the eighties (Avérous, 2004). With several hundreds of publications, this topic presents now a strong background. Several polyols with different chemical structures are typically used for starch plasticization. Sorbitol, xylitol and maltitol have higher molecular weight than glycerol. It was shown that when a polyol with higher molecular weight was used, the tensile strength and the modulus increased, the thermal stability was better and the phase transition temperature of the starch increased (H. Li & Huneault, 2011; Qiao, Tang, & Sun, 2011). Also when the polyol content in the multiphase systems increased, those properties were affected in the same way, except for tensile strength and modulus that decreased (H. Li & Huneault, 2011; Qiao, et al., 2011; Van Soest & Knooren, 1997).

Different plasticizers (glycerol, sorbitol, sucrose and polyethylene glycol) were also tested with chitosan processed by the solvent casting method (Arvanitoyannis et al., 1997; Quijada-Garrido, et al., 2006; Rotta et al., 2009; Srinivasa, et al., 2007). The tensile strength and modulus decreased when the polyol content increased, whereas elongation at break increased in the presence of a polyol. In addition, CO_2 and water vapour permeability decreased when glycerol

was added but increased with sorbitol addition (Arvanitoyannis, et al., 1997; Srinivasa, et al., 2007). However, as far as plasticized chitosan prepared by a thermo-mechanical process is concerned, only glycerol has been studied so far, as a non-volatile plasticizer.

The present study is based on the plasticization of chitosan by a thermo-mechanical treatment using various polyol contents, types and polyol mixtures. The aim of the study is to analyze the relationships between formulations, microstructure – morphology and properties (thermal, rheological and mechanical) of different plasticized chitosans. The aging of the samples is also monitored through the evolution of the rheological properties. The main goal is to open a wide range of new applications for chitosan, through the development of innovative materials by controlling the different steps of elaboration (formulation, process).

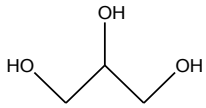
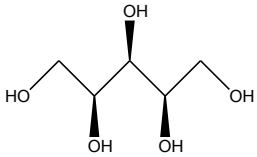
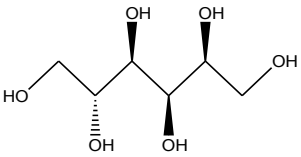
4.3 Materials and methods

4.3.1 Materials

Chitosan (ChitoClear®) was purchased from Primex (Iceland). Its degree of deacetylation (DDA) is 96 % and its weight-average molecular weight is in the range of 250–300 kDa. It contains a 0.1 % ash residue.

The polyols used in this work (glycerol, xylitol, and sorbitol) are presented in Table 4-1. The polyols and glacial acetic acid were purchased from Sigma-Aldrich and used as received.

Table 4-1: Main characteristics of the polyols used.

	Glycerol	Xylitol	Sorbitol
Chemical structure			
State (at ambient temperature)	Liquid	Powder	Powder
Melting point (°C)	20	94	95
Boiling point (°C)	182	216	296
Molar mass (g/mol)	92.1	152.2	182.2
Number of OH group/molecule	3	5	6

4.3.2 Sample preparation

An acetic acid solution at 3 %, v/v was first prepared with glacial acetic acid and deionised water. For the unplasticized formulation, the acetic acid solution was slowly added to the chitosan powder and manually mixed to obtain pastes with a good homogeneity. For the plasticized formulation, the chosen polyol was first added dropwise to the chitosan powder. Then, the acetic acid solution was slowly added and manually mixed. The chitosan/acetic acid aqueous solution ratio was kept constant for all the pastes at 25/75 (wt/wt). Subsequently, the pastes were "melt" blended in an internal mixer Haake Rheocord 900 (Germany) at a set temperature of 80 °C for 15 min with a constant speed of 100 rpm of the roller blades rotor. This type of mixer provides a combination of elongational flow, laminar shear and distributive mixing (Manas-Zloczomer & Tadmor, 2009). The thermal probe reported a temperature of 95 °C in the mixing chamber, hence of the order of the melting points of xylitol and sorbitol (Table 4-1).

Finally, the pastes obtained at the end of the mixing process were hot press-molded at 110 °C for 15 min under a pressure of 270 bar to obtain sheets and films. Cooling to room temperature was achieved in 5 min under the same pressure. The sheet thickness was 1 mm for the mechanical and rheological tests and for the scanning electron microscopy (SEM) observations. The films thickness was 80 μm for Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) and X-ray diffraction (XRD).

The different formulations are summarized in Table 4-2 with the corresponding nomenclatures. Different contents were set for the polyols (three for glycerol, two for xylitol and sorbitol): 10, 25 or 50 wt% of the chitosan content. The prepared films and sheets were kept in a desiccator at room temperature (24 °C). Addition of toluene in the desiccator atmosphere prevented fungus development.

Table 4-2: Formulations and nomenclature of chitosan systems.

Sample	Acetic Acid (3 % v/v) / Chitosan (wt% / wt%)	Chitosan/ Glycerol (wt% / wt%)	Chitosan/ Xylitol (wt% / wt%)	Chitosan/ Sorbitol (wt% / wt%)
ChiA	75 / 25			
ChiAG10	75 / 25	91 / 9		
ChiAG25	75 / 25	80 / 20		
ChiAG50	75 / 25	67 / 33		
ChiAX10	75 / 25		91 / 9	
ChiAX50	75 / 25		67 / 33	
ChiAS10	75 / 25			91 / 9
ChiAS50	75 / 25			67 / 33
ChiAG25X25	75 / 25	67 / 16.5	67 / 16.5	
ChiAG25S25	75 / 25	67 / 16.5		67 / 16.5
ChiAX25S25	75 / 25		67 / 16.5	67 / 16.5

4.3.3 Characterization techniques

4.3.3.1 Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)

A Perkin Elmer 65 FT-IR (USA) was used to record the infrared spectra. IR spectra were collected with a resolution of 4 cm^{-1} using an accumulation of 32 scans in a wavenumber range of 650–4000 cm^{-1}. The 80 μm thickness films were directly tested at room temperature in horizontal attenuated total reflectance (ATR) mode.

4.3.3.2 X-ray diffraction (XRD)

To investigate the crystallinity and structuration of the materials, X-ray diffraction spectra were obtained at room temperature with a powder diffractometer Philips X'PERT (Netherlands) equipped with a monochromatic Cu Kα (1.5418Å) X-ray source. The voltage used was 50 kV. The angle range was scanned from 5° to 35° with a step size 0.02° and a scanning time of 2 s by step.

4.3.3.3 Microscopy

4.3.3.3.1 Transmission electron microscopy (TEM).

TEM images of the chitosan powder were obtained using a JEOL JEM-2100F (Japan) microscope operating at a 200 kV accelerating voltage. A small quantity of the powder was dispersed in pure water with ultrasonication for 20 min. Subsequently, some particles were disposed on a TEM grid and the water evaporated.

4.3.3.3.2 Scanning electron microscopy (SEM).

A high resolution Hitachi S-4700 (Japan) microscope operated at 2 kV accelerating voltage was employed for field emission gun-SEM (FEG-SEM). The samples surfaces were cut using an ultramicrotome equipped with a diamond knife at −100 °C, and then coated with platinum vapor. The final observation area was approximately 200 μm × 200 μm.

4.3.3.4 Thermogravimetric analysis (TGA)

The thermal gravimetric analyzer used to determine the samples thermal degradation was a TA Instruments Q 500 (USA). The temperature scans were performed from room temperature to 800 °C, with a heating rate of 10 °C/min under a nitrogen atmosphere. Each sample tested was less than 4 mg.

4.3.3.5 Rheological tests

Rheological properties were measured at 25 °C with a rheometer operated in strain-controlled (MCR 501, Anton Paar, Germany). A parallel disk flow geometry with a rough surface (25 mm diameter) was used. Rheological properties were monitored right after compression molding, and after 7, 14 and 21 days to analyze the impact of storage time.

4.3.3.6 Uniaxial tensile tests

Tensile tests were performed on an Instron E3000 (USA). The samples were rectangular plates (25 mm × 50 mm × 1 mm) and the tests were carried out at ambient temperature with a constant deformation rate of 50 mm/min. Stress-strain properties (tensile strength and elongation at break) were determined from the average of five measurements. To take into account the post processing aging and to test stabilized materials, the samples had been stored 3 weeks prior to the tests, as recommended by a previous study (Epure et al., 2011).

4.4 Results and discussion

4.4.1 Microstructure

4.4.1.1 Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)

In order to understand the interactions of the acetic acid solution and the various polyols with chitosan, FTIR spectroscopy was performed on chitosan powder and on the different samples. According to the literature, the FTIR-ATR spectrum of neat chitosan shows several typical bands: the stretching vibration of O−H group at 3400 cm^{-1} and the stretching vibration of N−H at 3280 cm^{-1} form a wide absorption band with a minimum at 3360 cm^{-1}; the symmetric and anti-symmetric vibrations of CH_2 are located at 2918, 2865, 1415 and 1257 cm^{-1}; the stretching vibration of the carbonyl group (C=O) in amide I has an absorption band at 1653 cm^{-1}, the bending absorption band of N=H in amide II appears at 1578 cm^{-1} and the stretching of C−N in amide III has an absorption at 1376 cm^{-1}. Finally a small shoulder at 1541 cm^{-1} is attributed to the ammonium (NH_3^+) obtained by protonation of the amine group in acidic condition, and the stretching of C−O has a peak absorption at 1032 cm^{-1} (Brugnerotto et al., 2001; Lavorgna, Piscitelli, Mangiacapra, & Buonocore, 2010; Osman & Arof, 2003; Rivero, García, & Pinotti, 2010).

Figure 4-1 presents the FTIR-ATR spectra for chitosan powder, unplasticized chitosan (ChiA) and different plasticized chitosans. The FTIR-ATR spectra of chitosan powder and ChiA (chitosan and acetic acid) are compared in Figure 4-1a. ChiA shows the same FTIR spectrum shape than the chitosan powder, but with a higher intensity of the absorption bands. Because of the interaction between the $-COO^--$ in acetic acid and the NH_3^+ in chitosan that results in the O=C−NHR band, the small shoulder at 1541 cm^{-1} appears in the spectrum of ChiA, while the peak of the N−H band at 1578 cm^{-1} present for chitosan powder disappears in the spectrum of ChiA, and the carbonyl band shifts from 1653 to 1644 cm^{-1}.

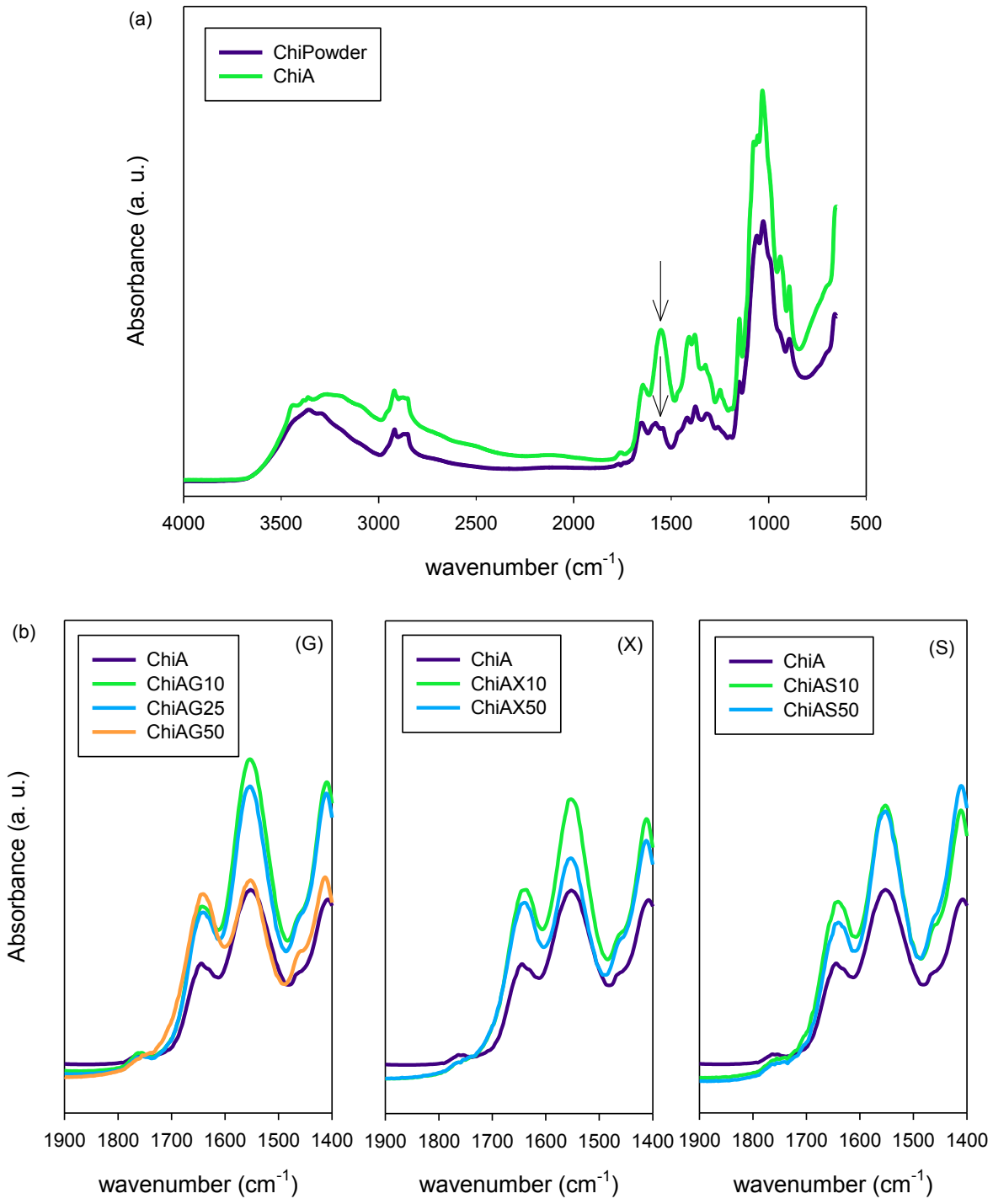


Figure 4-1: FTIR spectra. (a) comparison of chitosan powder and sample ChiA. The N−H peak at 1578 cm^{-1} is shown by the arrows, (b) effect of polyol type and content: (G) glycerol, (X) xylitol and (S) sorbitol.

Figure 4-1b presents the FTIR spectra of the plasticized chitosan samples between 1400 and 1900 cm^{-1}. When a polyol is added to chitosan with acetic acid, the C=O absorption band at 1653 cm^{-1} and the N−H absorption band at 1578 cm^{-1} are still present. Whatever the polyol, the N−H absorption band appears at the same wavenumber and the C=O absorption band in amide I shifts to a lower wavenumber (1644 cm^{-1} for ChiA and 1638 cm^{-1} for ChiAX50), when the polyol content increases. This shift to a lower wavenumber on the FTIR spectra indicates that the polyols interact with chitosan, and the hydrogen bonds formed in ChiA between acetic acid and the amide groups of chitosan (Figure 4-1a) are replaced by the interactions between the polyols and chitosan in the plasticized samples.

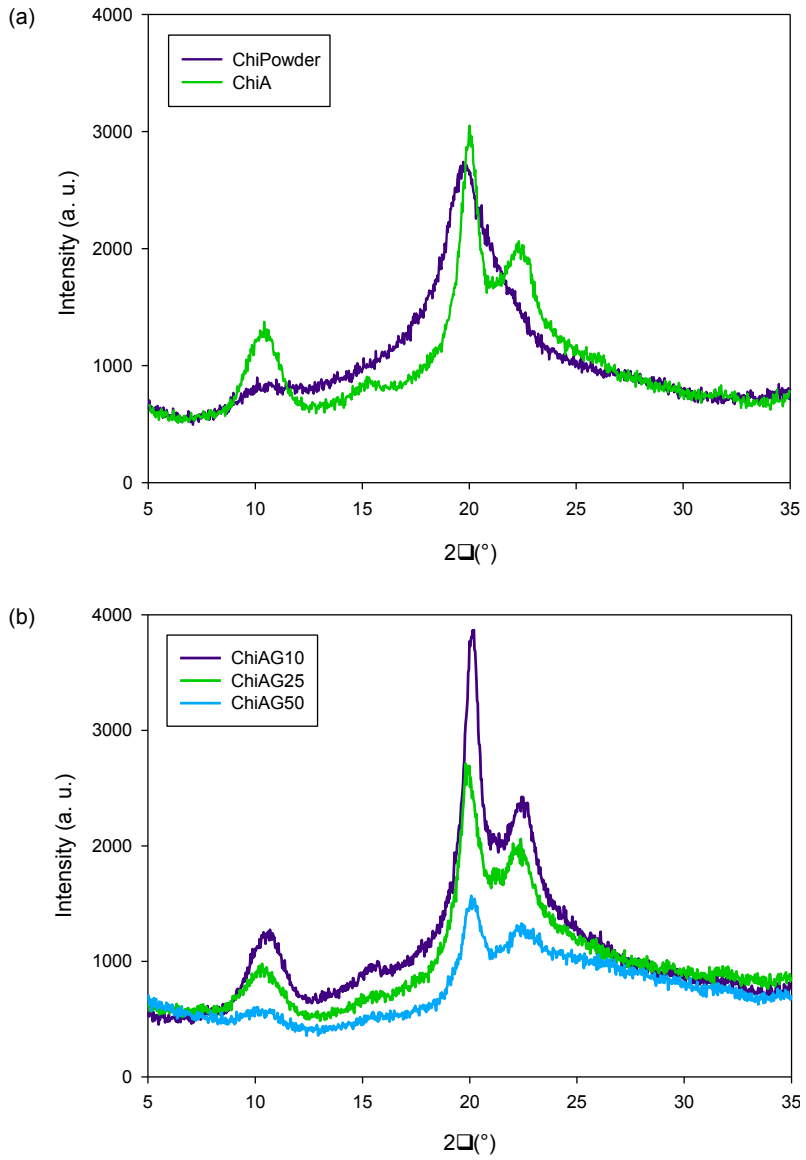
For each mixture added (results not shown), the same effects are observed, for each mixture added, the absorbance increase, and the C=O and N−H bands absorption shift to a lower wavenumber (respectively 1644 and 1554 cm^{-1} for ChiA, and 1638 and 1550 cm^{-1} for the samples with polyol mixture). In conclusion, all the polyols mixtures display interactions with chitosan, but FTIR is not a discriminatory technique to show differences between the different polyol mixture compositions.

4.4.1.2 X-ray diffraction (XRD)

Figure 4-2 presents the X-ray diffraction patterns of various chitosan samples. The X-ray diffraction patterns of chitosan powder and ChiA are compared in Figure 4-2a. Chitosan powder X-ray diffraction shows the presence of crystalline regions with two main peaks at 10.1° and 19.7° attributed to the (0 2 0) and (1 0 0) planes, respectively (Farooqahamed S. Kittur, et al., 2003). The sample without polyol, ChiA, exhibits three different peaks related to the crystalline structure at 10.4°, 20.0° and 22.3° attributed to the (0 2 0), (1 0 0) and (1 1 0) planes, respectively (Farooqahamed S. Kittur, et al., 2003). Those peaks are narrower than the ones obtained for neat chitosan, and that may be explained by the different forms used for the analysis, i.e. powder for neat chitosan and pressed sheet for ChiA. The (0 2 0) reflection around 10° represents the acetamido groups which have the opportunity to create bonds with hydrogen, so that water molecules can be easily integrated to form hydrated crystals (Epure, et al., 2011; Farooqahamed S. Kittur, et al., 2003).

The peaks around 20° and 22° are assigned to the crystal lattice of chitosan; it has been reported that chitosan crystallizes in an orthorhombic unit cell (Kenji Okuyama, et al., 1997). For ChiA,

the intensity of these peaks is higher than for neat chitosan powder, due to hydrogen bonding or different packing arrangement of the chains. The peaks are also detected at a higher reflection angle; according to Bragg's law, the spacing between the planes in a crystal lattice is inversely proportional to the angle of incidence. Hence the sample ChiA has a larger d-spacing that involves smaller unit cell dimensions.



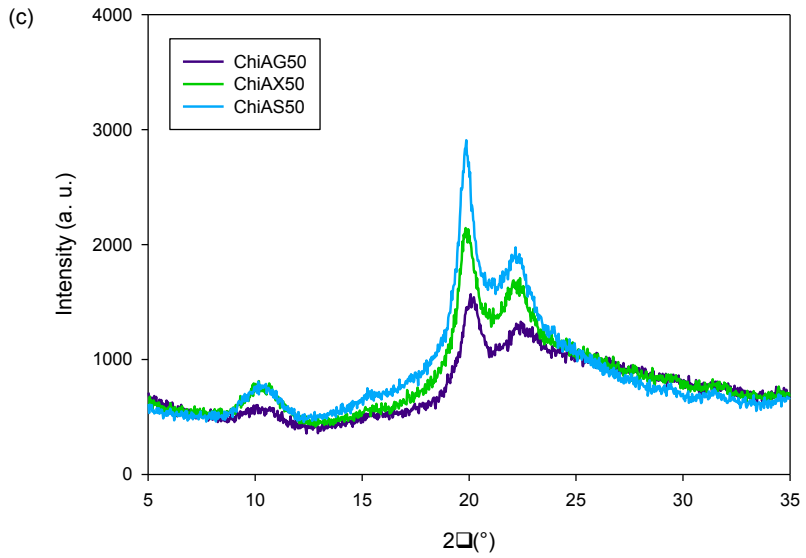


Figure 4-2: X-ray diffraction patterns. (a) Comparison of chitosan powder and ChiA, (b) effect of glycerol content, (c) effect of different polyols (constant polyol concentration).

The X-ray diffraction patterns on Figure 4-2b and c of the different plasticized samples were obtained with the same amount of chitosan to compare them in a quantitative way. Figure 4-2b shows the X-ray diffraction patterns of the glycerol-plasticized samples ChiAG10, ChiAG25 and ChiAG50 in order to demonstrate the effect of polyol content on the plasticized chitosan crystallinity. For the different contents of polyol in the sample, the three same peaks appear but, as the content of polyol increases in the sample, the peaks intensity decreases. Figure 4-2b illustrates this behavior for glycerol, but the same trend was observed with xylitol and sorbitol. Hence the crystallinity of plasticized chitosan decreases with increasing content of polyol in the formulation.

In Figure 4-2c, the effect of polyol type is examined. For a given plasticizer content, the crystallinity varies between the polyols. Sorbitol results in the highest crystallinity, while glycerol gives the lowest. Thus, it seems that glycerol shows the highest plasticizing efficiency. A possible explanation for this is that, since sorbitol and xylitol are solid at room temperature, they may recrystallize upon cooling and hence be less effective for chitosan plasticization than glycerol. This effect has also been observed for plasticized starch films (Talja, Helén, Roos, & Jouppila, 2007; Thirathumthavorn & Charoenrein, 2007). XRD spectra for xylitol and sorbitol were examined separately (results not shown) and compared with those of the plasticized chitosan formulations. The characteristic peaks of these neat polyols are not detected in the

plasticized formulations (Figure 4-2c), however most of these peaks overlap with those of chitosan, hence it is difficult to confirm or rule out the recrystallization of xylitol and sorbitol.

4.4.2 Microscopy observations

4.4.2.1 Transmission electron microscopy (TEM)

In order to understand the effect of the plasticization mechanism, it is useful to examine the structure of the chitosan powder before dissolution in the acetic acid solution and before the thermo-mechanical treatment. To this end, some particles of chitosan powder were dispersed in water using ultrasonication and observed in transmission electronic microscopy.

Figure 4-3 shows an isolated chitosan powder particle at two different magnifications. The higher magnification allows observing that a chitosan powder particle consists of a stack of sheets, i.e. somehow similar to a layered structure. This supports the ordered structure detected in XRD and described in the literature (Kenji Okuyama, et al., 1997).

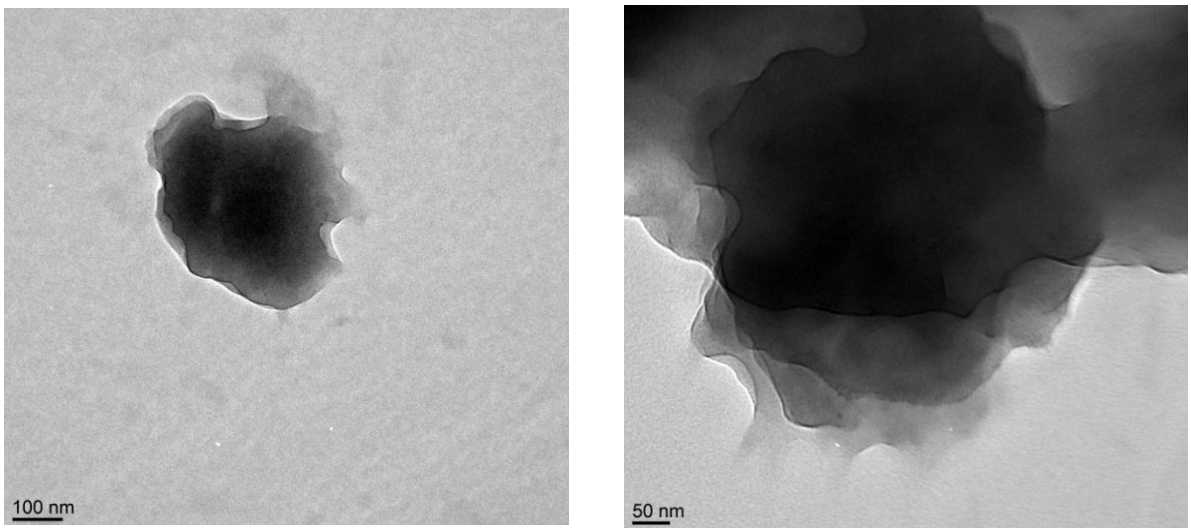


Figure 4-3: TEM images of a chitosan powder particle.

4.4.2.2 Scanning electron microscopy (SEM)

Formulated samples (ChiA, ChiAG50, ChiAS50 and ChiAX50) were examined using SEM. The corresponding micrographs are presented in Figure 4-4. For all the samples, a layered structure embedded in an amorphous “matrix” is observed. This microstructure is in agreement with the TEM images of the chitosan powder (Figure 4-3), however it is much coarser and apparently

observed from a different perspective. These micrographs are also in accordance with the XRD results, i.e. unplasticized and plasticized chitosan exhibit a certain degree of crystallinity. It seems that all the chitosan particles could not be entirely dissolved in the acetic acid solution, most probably because of the high chitosan to acetic acid solution ratio used (25/75 wt/wt), and despite the thermo-mechanical treatment applied to the chitosan particles. In the solvent casting method, the chitosan/acetic acid solution ratio commonly used is much lower, i.e., typically 4/96 wt/wt (Mucha, 1998). Conversely, the 25/75 ratio chosen in this study was aimed at obtaining an initial paste-like texture that could support the thermo-mechanical treatment in the batch mixer. Hence it is possible that not all the chitosan particles are completely dissolved, protonated and destructured in the plasticized formulations.

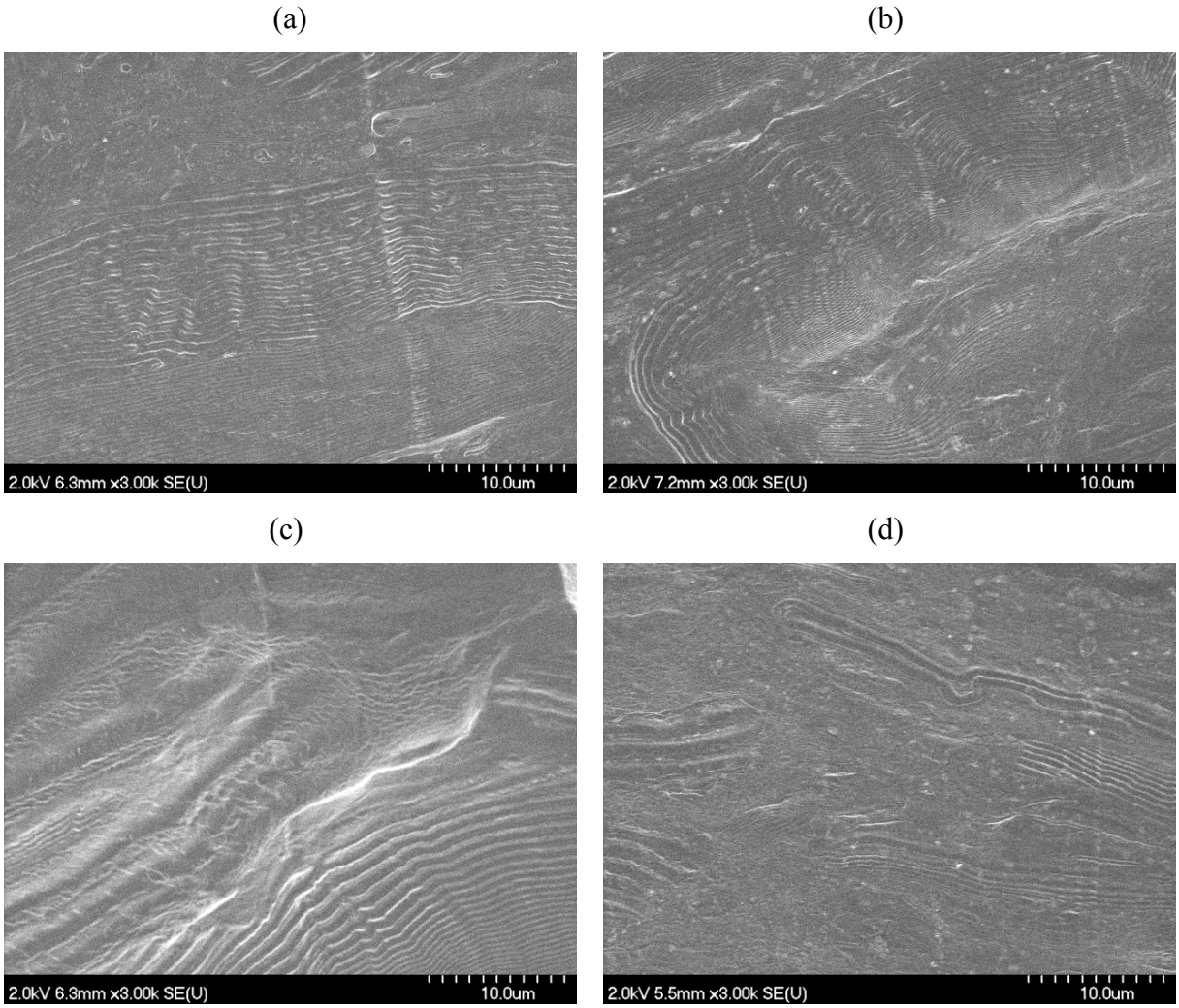


Figure 4-4: SEM micrographs of four different samples: (a) ChiA, (b) ChiAG50, (c) ChiAX50 and (d) ChiAS50.

As for the amorphous "matrix" that hosts the chitosan particles, some differences are noticed between the samples with and without polyol. In the overall surface area observed, the density of the layered structure decreases in the presence of the plasticizers, indicating nevertheless their "destructuring" effect. No obvious differences can be noticed between the three polyols.

4.4.3 Thermogravimetric analysis (TGA)

Thermogravimetric analysis was performed to assess the thermal stability of the various chitosan formulations. Figure 4-5 shows the thermal degradation, in nitrogen atmosphere, of chitosan powder and different samples with and without polyol. Figure 4-5a presents the relative weight loss (TG curves), while Figure 4-5b shows the weight loss first derivative (DTG curves), as functions of temperature. The characteristic temperatures are reported in Table 4-3. From the curves one can see that unplasticized and plasticized chitosan decompose in two stages, the first weight loss stage shows water evaporation while the second stage corresponds to the thermal degradation of the samples. The maximum temperatures in the DTG curves for the two stages are reported in Table 4-3 as T_{dmax1} and T_{dmax2}, with the corresponding weights.

The chitosan powder shows a progressive weight loss (less than 10 %) up to 120 °C due to water evaporation, while the thermal degradation starts around 310 °C. In agreement with previous work (Martino, et al., 2011), plasticized chitosan demonstrates a faster thermal degradation than unplasticized chitosan (ChiA). When the polyol content increases, the thermal degradation is also faster considering the lower Tdmax values for the first stage and the lower $T_{50\%}$ listed in Table 4-3. If we examine the $T_{50\%}$ values, chitosan plasticized with sorbitol is the formulation that results in the slowest thermal degradation, as may be expected from its characteristic temperatures (melting point and boiling point, Table 4-1). The T_{dmax} for the first stage shows the same trend (i.e. sorbitol is more stable), however the difference in the T_{dmax} values for the second stage is not significant. The weight loss for the 1st stage (water evaporation) is not significantly different for the various samples, as expected.

For the 2nd stage, a less important weight loss is observed for the chitosan powder in comparison with plasticized and unplasticized chitosan. In addition, for the 2nd stage the weight loss is almost the same for ChiA and chitosan plasticized with the lowest amount of polyol, regardless of the polyol type. However when the polyol content increases in plasticized chitosan, the weight loss recorded is larger for the 2nd stage, most probably due to polyol degradation.

Due to the respective compositions of the four samples, less residues remain at 800 °C for the plasticized samples as compared to ChiA. It is more likely that the polyol and remaining acetic acid solution are fully vaporized below 250 °C and only chitosan can leave residues.

Hence, thermal degradation is accelerated in the presence of polyols. However since sorbitol follows the same behavior as ChiA until 250 °C, it seems a better candidate in terms of thermal resistance in comparison with the others polyols.

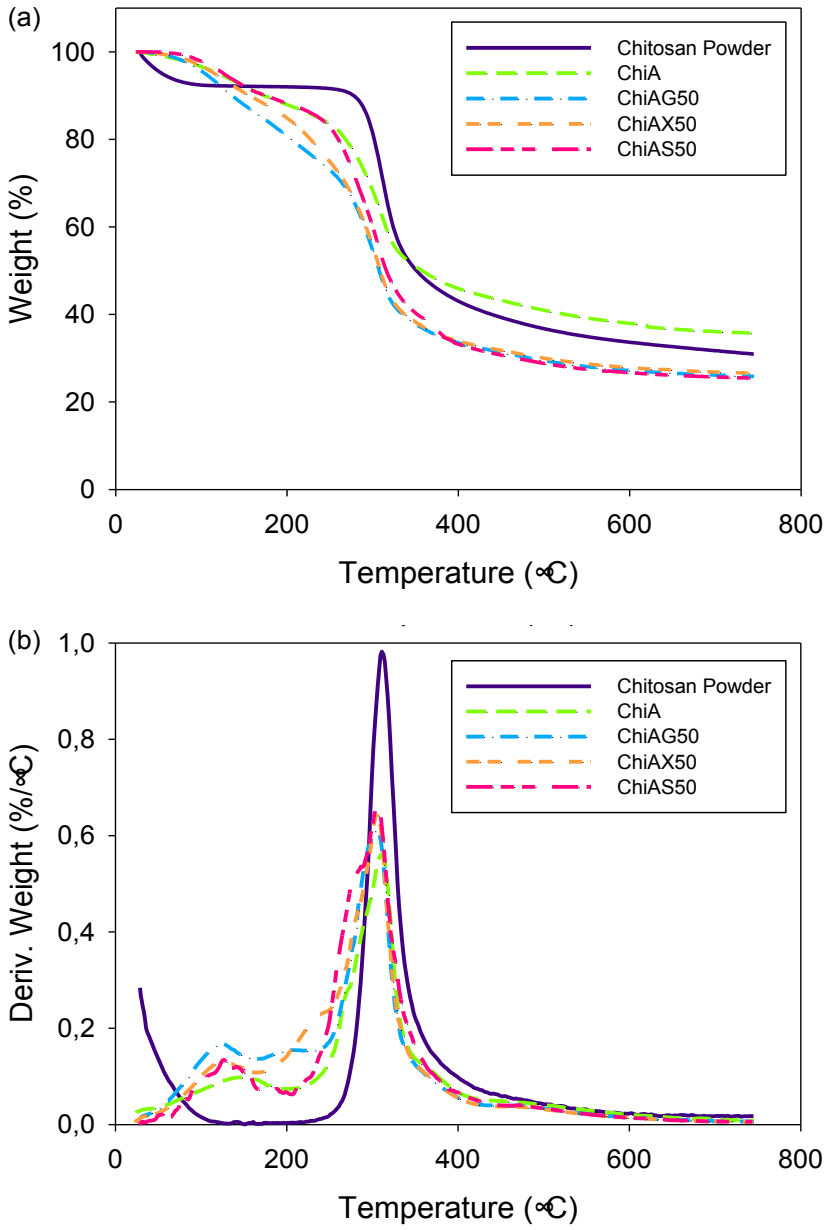


Figure 4-5: TG (top) and DTG (bottom) curves of chitosan powder, chitosan plasticized with the three different polyols and the unplasticized sample ChiA.

Table 4-3: Characteristic degradation temperatures of unplasticized chitosan and the different plasticized chitosans.

Sample	$T_{98\%}$ (°C)	$T_{50\%}$ (°C)	1st stage		2nd stage	
			T_{dmax1} (°C)	Weight (%)	T_{dmax2} (°C)	Weight (%)
Chitosan Powder	36	351	-	-	311	71
ChiA	79	355	138	93	312	62
ChiAG10	85	340	142	93	310	62
ChiAG25	72	315	123	92	307	55
ChiAG50	76	308	118	93	306	51
ChiAX10	97	346	142	94	310	63
ChiAX50	84	309	126	94	306	52
ChiAS10	100	346	144	94	311	62
ChiAS50	96	316	127	95	305	57
ChiAG25X25	81	308	140	91	306	51
ChiAG25S25	86	311	120	94	306	53
ChiAX25S25	100	315	131	95	306	56

4.4.4 Rheological tests

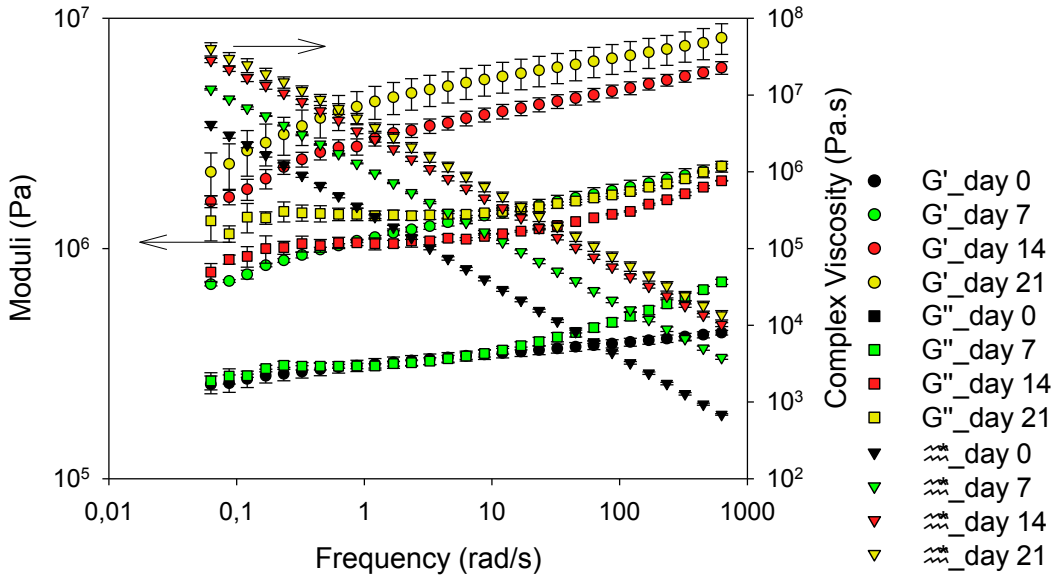
Monitoring of the rheological properties at room temperature as function of time may be indicative of the storage stability of these plasticized chitosan samples. Figure 4-6 shows the elastic modulus and the complex viscosity as functions of frequency at 25 °C for four different samples: ChiA, ChiAG50, ChiAX50 and ChiAS50. These results were obtained right after compression-molding (day 0) and for three different storage times: day 7, 14 and 21.

First, it can be observed that the complex viscosity is strongly shear-dependent, with a well-developed power-law behavior. There is no indication of a Newtonian plateau in any case. Second, the elastic modulus is higher than the loss modulus (shown here only for ChiA (Figure

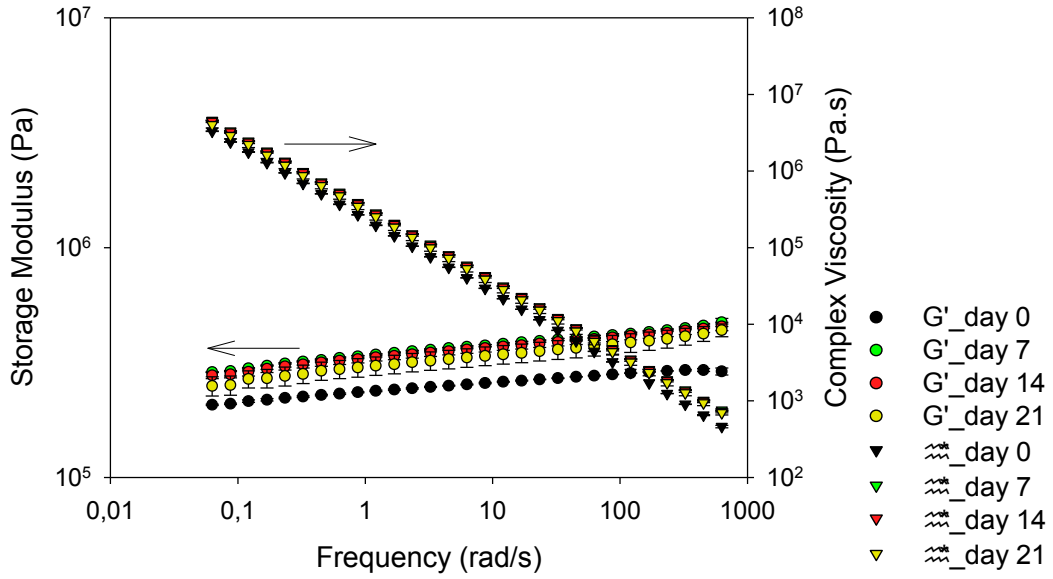
4-6a) for sake of clarity and conciseness), and both increase with shear rate. Hence the plasticized chitosan exhibits a solid-like behavior, similarly to plasticized starch (Della Valle et al., 1998).

Figure 4-6 shows that the rheological properties of the samples increase with storage time, most probably because of water (and acetic acid) evaporation. For example, at a frequency of 628 rad/s the ChiA complex viscosity on day 21 is multiplied by 15 with respect to day 0, for ChiAG50 by 1.5, and for ChiAX50 and ChiAS50 by 2. The increases are slightly lower at low frequencies. This storage stability variation is also similar to that observed for plasticized starch and has been investigated widely (Forssell et al., 1999; Van Soest, Hulleman, De Wit, & Vliegenthart, 1996).

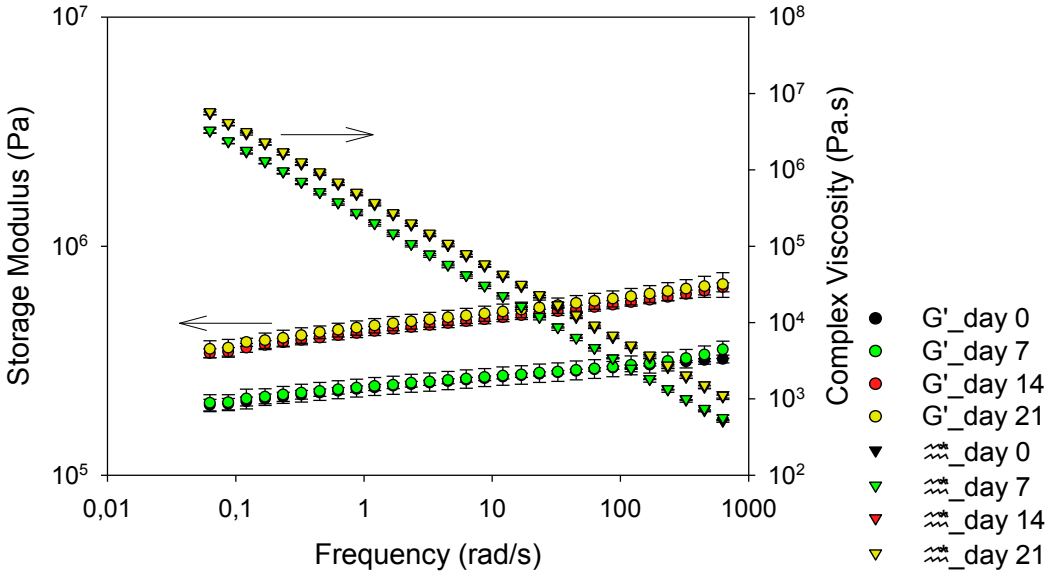
The rheological properties are seen to increase steadily with time for ChiA and ChiAG50 samples, however, the most significant increase occurs after day 7 for ChiAX50 and just after day 14 for ChiAS50. This can be due to the fact that sorbitol is the plasticizer with the highest concentration in OH groups and glycerol the lowest. These hydroxyl groups can participate in the formation of a hydrogen bond network, with the participation of water molecules. This network can be more or less dense with the lowest density being expected for glycerol. Hence, water evaporation is faster in the case of glycerol than for xylitol and sorbitol. This means that chitosan plasticized with sorbitol can retain the same rheological properties longer than chitosan plasticized with glycerol or xylitol.



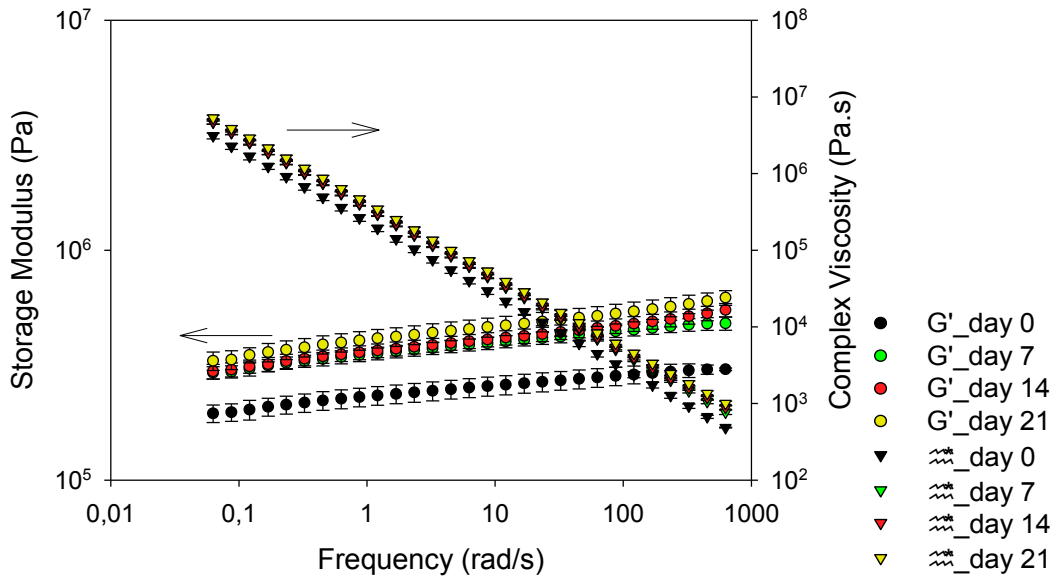
(a)


Storage Modulus (Pa)
Complex Viscosity (Pa.s)
Frequency (rad/s)
G'_day 0
G'_day 7
G'_day 14
G'_day 21
η*_day 0
η*_day 7
η*_day 14
η*_day 21

(b)


Storage Modulus (Pa)
Complex Viscosity (Pa.s)
Frequency (rad/s)
G'_day 0
G'_day 7
G'_day 14
G'_day 21
η*_day 0
η*_day 7
η*_day 14
η*_day 21

(c)



(d)

Figure 4-6: Dynamic rheological properties of different samples. (a) ChiA, (b) ChiAG50, (c) ChiAX50 and (d) ChiAS50. Tests were performed at 25 °C under a strain of 0.001.

Figure 4-7 compares the complex viscosity and the storage modulus as functions of frequency for samples with and without polyol, and for day 0 and 21, after compression molding.

On day 0, the complex viscosities are almost the same for the four samples. However, the storage modulus of ChiA is 40 % higher than that of the samples plasticized with a polyol. Hence the rheological properties presented in Figure 4-7a show that the polyol type has no influence right after compression molding.

At day 21 (Figure 4-7b), the differences are more noticeable between the sample without polyol and those with the different polyols used. ChiA exhibits a storage modulus 12 times higher than ChiAG50, 9 times higher than ChiAX50 and 8 times higher than ChiAS50.

The rheological properties also depend on the polyol choice: glycerol results in lower storage modulus while sorbitol in the highest. These results are in accordance with the XRD results: indeed, the samples with glycerol show the lowest crystallinity whereas those with sorbitol show the highest. This also confirms the better plasticizing efficiency of glycerol compared to the other polyols.

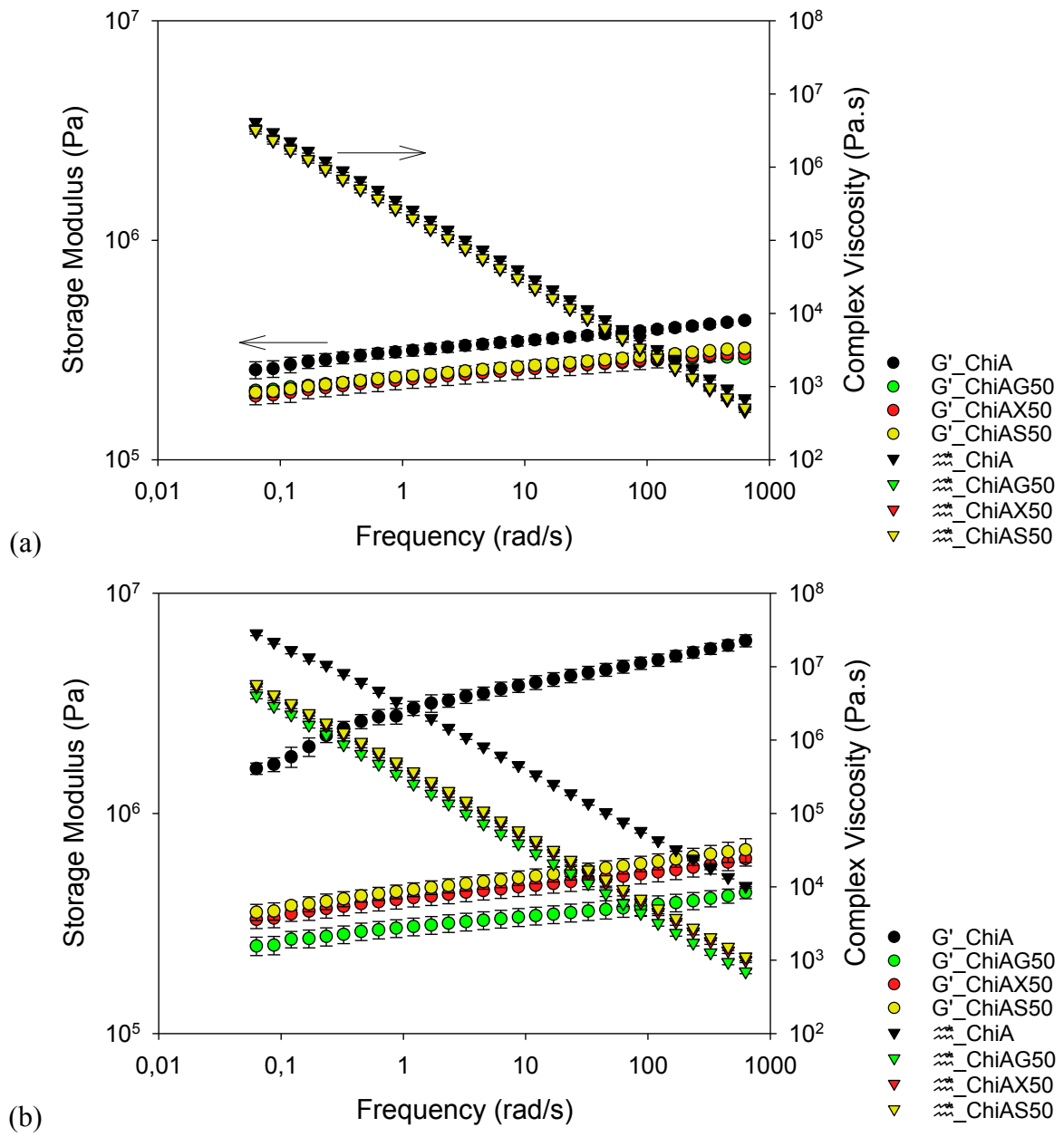


Figure 4-7: Rheological properties for different samples tested on day 0 (a) and day 21 (b) after compression molding. Tests were performed at 25 °C under a strain of 0.001.

4.4.5 Uniaxial tensile tests

The effects of polyol type, content and mixture on the mechanical properties of plasticized chitosan are shown in Figure 4-8.

The unplasticized chitosan (ChiA) has the highest tensile strength (Figure 4-8). Also, the higher the polyol content is, the larger is the decrease in tensile strength with respect to ChiA. For

sorbitol, a decrease of 13 % is observed when the chitosan and sorbitol ratio is 91/9 wt/wt, and of 67 % when the ratio is 67/33 wt/wt. Glycerol, alone (Figure 4-8a) or mixed with another polyol (Figure 4-8c), is the plasticizer that results in the lowest tensile strength, whatever the content. On the contrary, sorbitol gives the highest tensile strength at low and high content, either alone or in polyols mixture. Those results are in agreement with the rheological properties and the XRD results, and may again be explained by a possible recrystallization of sorbitol at room temperature.

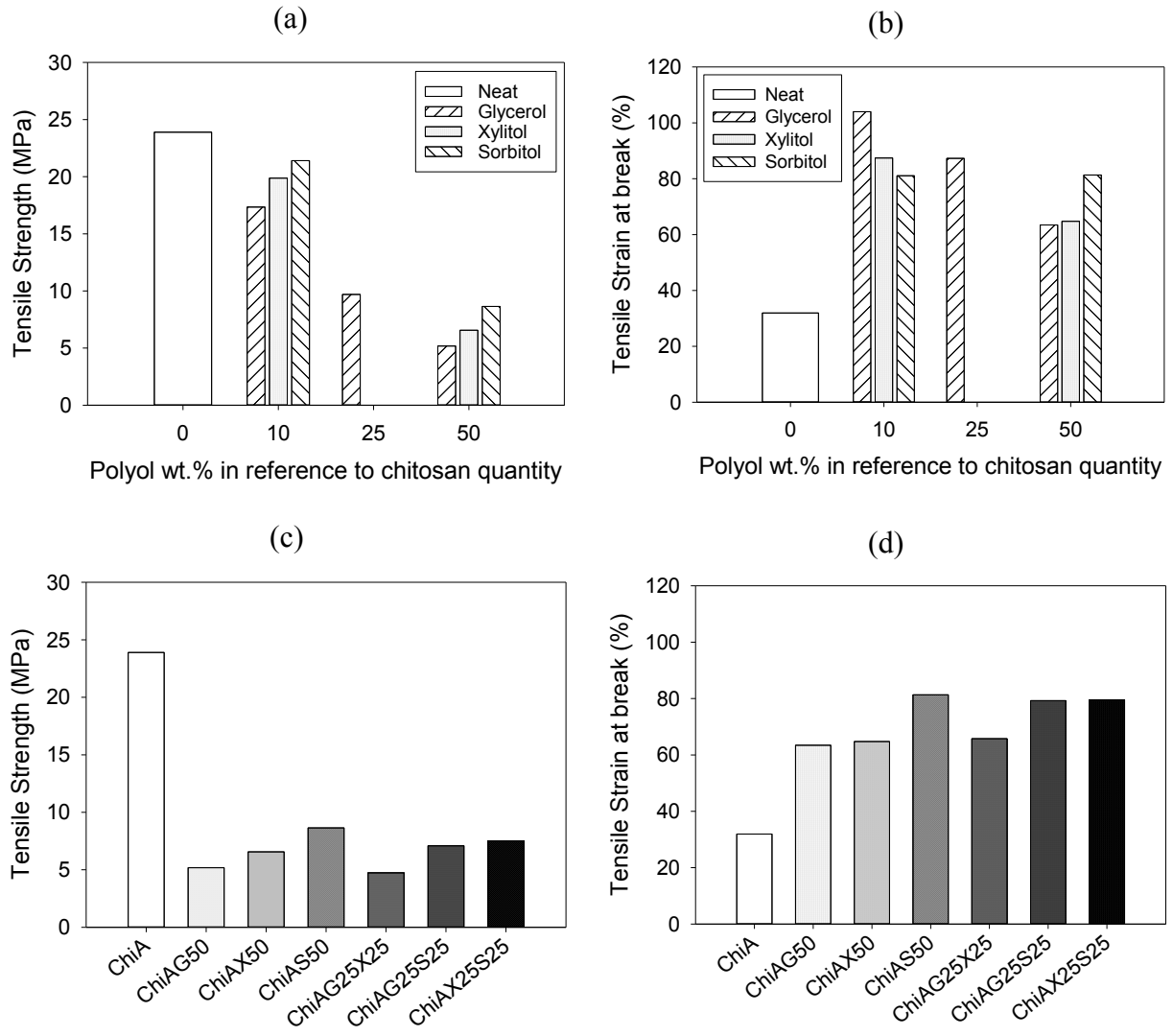


Figure 4-8: Tensile strength (a and c) and tensile strain at break (b and d) for plasticized chitosan with different polyols and polyol contents.

Tensile strain at break (Figure 4-8b) increases when the polyol content is 10%, as expected, but when it is too high (25 and 50 %) the tensile strain at break decreases again, except for sorbitol, whose quantity seems not to influence this property. For the higher content of polyol in plasticized chitosan, sorbitol results in the highest value of the strain at break, while glycerol and xylitol are very similar with low strain at break values. In the case of polyol mixtures, the total quantity of polyol is the same than in ChiAG50, ChiAX50 or ChiAS50, and the tensile strain at break is also higher than for ChiA. The glycerol/xylitol blend (ChiAG25X25) gives a lower value than the two mixtures that contain sorbitol (ChiAG25S25 and ChiAX25S25), as shown in Figure 4-8d. Hence polyols play an important role in chitosan plasticization, however excessive polyol content may cancel out this effect on the tensile strain at break. We speculate that for the highest content of polyol, a phase separation may occur and reduce the plasticization efficiency; however, this hypothesis would require further investigation.

4.5 Conclusions

Different innovative multiphase systems based on plasticized chitosan obtained by thermo-mechanical treatment in the presence of acetic acid solution and polyols were elaborated and fully studied in this work. The effects of three different polyols (glycerol, xylitol and sorbitol) on various properties of plasticized chitosan were examined and compared to those of unplasticized chitosan. FTIR spectra confirmed the interaction between chitosan and the acetic acid solution, and also showed additional interactions of chitosan with the three different polyols. The differences between the various samples were also visible in the XRD diffraction patterns. Crystallinity decreased when the polyol content increased, and was also dependent on the polyol type: crystallinity was the lowest with glycerol and the highest with sorbitol. Morphological observations were in accordance with the XRD conclusions. From SEM micrographs, a layered microstructure was observed embedded in a matrix phase. The polyol addition seemed to reduce the layered microstructure density. The crystallinity could be correlated to the rheological and mechanical properties: the sample with sorbitol exhibiting the highest properties and the sample with glycerol the lowest ones. The difference in results between glycerol and sorbitol may be explained by the possible sorbitol recrystallization at room temperature.

For the plasticized chitosan samples, tensile strength decreases when the polyol content increases while elongation at break increases with the polyol content. In addition, TGA results showed a

slower thermal degradation for sorbitol formulations and faster for glycerol ones. Thermal degradation was also faster for chitosan samples containing a polyol as compared to the chitosan sample with only acetic acid (ChiA).

These results show that this plasticization technique is an interesting alternative to the traditional solution casting method to prepare chitosan films on a larger scale. Depending on the application considered (biomedical, packaging, agriculture, etc.), the plasticized chitosan formulation may be tailored according to requirements in terms of rheological, mechanical and physicochemical properties. A specific multiphase system could be appropriate for packaging when e.g., associated by melt-blending or co-extrusion with another thermoplastic polymer. Another system may be suited to produce fibrous permeable membranes for metal capture from wastewater, in order to take advantage of the good complexing ability of chitosan with metals. Finally, these materials may also be promising for tissue engineering applications to elaborate 2D or 3D scaffolds, considering the antibacterial activity of chitosan.

4.6 Acknowledgments

The authors gratefully acknowledge Ms. Verónica Martino of the BioTeam/LIPHT-ECPM research group in Strasbourg for her help with the first stage of this work. We also thank the following research associates at Polytechnique Montréal: Ms. Weawkamol Leelapornpisit for the TEM and SEM images, and Ms. Melina Hamdine for her assistance with the rheological measurements. Finally, the authors acknowledge the NIPMMP (Network for Innovative Plastic Materials and Manufacturing Processes) for the financial support of this work.

4.7 References

Arvanitoyannis, I., Kolokuris, I., Nakayama, A., Yamamoto, N., & Aiba, S.-i. (1997). Physico-chemical studies of chitosan-poly(vinyl alcohol) blends plasticized with sorbitol and sucrose. *Carbohydrate Polymers, 34*(1-2), 9-19.

Avérous, L. (2004). Biodegradable Multiphase Systems Based on Plasticized Starch: A Review. *Polymer Reviews, 44*(3), 231 - 274.

Avérous, L., & Halley, P. J. (2009). Biocomposites based on plasticized starch. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining, 3*(3), 329-343.

Balau, L., Lisa, G., Popa, M., Tura, V., & Melnig, V. (2004). Physico-chemical properties of Chitosan films. *Central European Journal of Chemistry, 2*(4), 638-647.

Brugnerotto, J., Lizardi, J., Goycoolea, F. M., Argüelles-Monal, W., Desbrières, J., & Rinaudo, M. (2001). An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. *Polymer, 42*(8), 3569-3580.

Chen, S., Wu, G., & Zeng, H. (2005). Preparation of high antimicrobial activity thiourea chitosan–Ag+ complex. *Carbohydrate Polymers, 60*(1), 33-38.

Della Valle, G., Buleon, A., Carreau, P. J., Lavoie, P.-A., & Vergnes, B. (1998). Relationship between structure and viscoelastic behavior of plasticized starch. Journal of Rheology, 42(3), 507-525.

Domard, A., & Rinaudo, M. (1983). Preparation and characterization of fully deacetylated chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules, 5*(1), 49-52.

Dutta, P. K., Tripathi, S., Mehrotra, G. K., & Dutta, J. (2009). Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry, 114*(4), 1173-1182.

Epure, V., Griffon, M., Pollet, E., & Avérous, L. (2011). Structure and properties of glycerol-plasticized chitosan obtained by mechanical kneading. *Carbohydrate Polymers, 83*(2), 947-952.

Forssell, P. M., Hulleman, S. H. D., Myllärinen A, P. J., Moates, G. K., & Parker, R. (1999). Ageing of rubbery thermoplastic barley and oat starches. *Carbohydrate Polymers, 39*(1), 43-51.

Ilium, L. (1998). Chitosan and Its Use as a Pharmaceutical Excipient. *Pharmaceutical Research, 15*(9), 1326-1331.

Kittur, F. S., Kumar, K. R., & Tharanathan, R. N. (1998). Functional packaging properties of chitosan films. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A, 206*(1), 44-47.

Kittur, F. S., Vishu Kumar, A. B., & Tharanathan, R. N. (2003). Low molecular weight chitosans—preparation by depolymerization with Aspergillus niger pectinase, and characterization. *Carbohydrate Research, 338*(12), 1283-1290.

Kong, M., Chen, X. G., Liu, C. S., Liu, C. G., Meng, X. H., & Yu, L. J. (2008). Antibacterial mechanism of chitosan microspheres in a solid dispersing system against *E. coli*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 65*(2), 197-202.

Lavorgna, M., Piscitelli, F., Mangiacapra, P., & Buonocore, G. G. (2010). Study of the combined effect of both clay and glycerol plasticizer on the properties of chitosan films. *Carbohydrate Polymers, 82*(2), 291-298.

Li, H., & Huneault, M. A. (2011). Comparison of sorbitol and glycerol as plasticizers for thermoplastic starch in TPS/PLA blends. *Journal of Applied Polymer Science, 119*(4), 2439-2448.

Li, J., Zivanovic, S., Davidson, P. M., & Kit, K. (2011). Production and characterization of thick, thin and ultra-thin chitosan/PEO films. *Carbohydrate Polymers, 83*(2), 375-382.

Manas-Zloczomer, I., & Tadmor, Z. (2009). *Mixing and compounding of polymers: theory and practice* (2nd ed.): Carl Hanser Verlag GmbH & Co. KG.

Martino, V., Pollet, E., & Avérous, L. (2011). Novative Biomaterials Based on Chitosan and Poly(ε-Caprolactone): Elaboration of Porous Structures. *Journal of Polymers and the Environment, 19*(4), 819-826.

Mucha, M. (1998). Rheological properties of chitosan blends with poly(ethylene oxide) and poly(vinyl alcohol) in solution. *Reactive and Functional Polymers, 38*(1), 19-25.

No, H. K., Young Park, N., Ho Lee, S., & Meyers, S. P. (2002). Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *International Journal of Food Microbiology, 74*(1-2), 65-72.

Okuyama, K., Noguchi, K., Miyazawa, T., Yui, T., & Ogawa, K. (1997). Molecular and Crystal Structure of Hydrated Chitosan. *Macromolecules, 30*(19), 5849-5855.

Osman, Z., & Arof, A. K. (2003). FTIR studies of chitosan acetate based polymer electrolytes. *Electrochimica Acta, 48*(8), 993-999.

Pillai, C. K. S., Paul, W., & Sharma, C. P. (2009). Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in Polymer Science, 34*(7), 641-678.

Qi, L., Xu, Z., Jiang, X., Hu, C., & Zou, X. (2004). Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles. *Carbohydrate Research, 339*(16), 2693-2700.

Qiao, X., Tang, Z., & Sun, K. (2011). Plasticization of corn starch by polyol mixtures. *Carbohydrate Polymers, 83*(2), 659-664.

Quijada-Garrido, I., Laterza, B., Mazón-Arechederra, J. M., & Barrales-Rienda, J. M. (2006). Characteristic Features of Chitosan/Glycerol Blends Dynamics. *Macromolecular Chemistry and Physics, 207*(19), 1742-1751.

Ravi Kumar, M. N. V. (2000). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers, 46*(1), 1-27.

Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science, 31*(7), 603-632.

Rivero, S., García, M. A., & Pinotti, A. (2010). Crosslinking capacity of tannic acid in plasticized chitosan films. *Carbohydrate Polymers, 82*(2), 270-276.

Roberts, G. A. F. (1992). Preparation of Chitin and Chitosan. In T.M.P. Ltd (Ed.), *Chitin Chemistry* (pp. 54-84).

Rotta, J., Ozório, R. Á., Kehrwald, A. M., de Oliveira Barra, G. M., de Melo Castanho Amboni, R. D., & Barreto, P. L. M. (2009). Parameters of color, transparency, water solubility, wettability and surface free energy of chitosan/hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) films plasticized with sorbitol. *Materials Science and Engineering: C, 29*(2), 619-623.

Sadeghi, A. M. M., Dorkoosh, F. A., Avadi, M. R., Saadat, P., Rafiee-Tehrani, M., & Junginger, H. E. (2008). Preparation, characterization and antibacterial activities of chitosan, N-trimethyl chitosan (TMC) and N-diethylmethyl chitosan (DEMC) nanoparticles loaded with insulin using both the ionotropic gelation and polyelectrolyte complexation methods. *International Journal of Pharmaceutics, 355*(1-2), 299-306.

Shahidi, F., Arachchi, J. K. V., & Jeon, Y.-J. (1999). Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science & Technology, 10*(2), 37-51.

Srinivasa, P. C., Ramesh, M. N., & Tharanathan, R. N. (2007). Effect of plasticizers and fatty acids on mechanical and permeability characteristics of chitosan films. *Food Hydrocolloids, 21*(7), 1113-1122.

Takahashi, T., Imai, M., Suzuki, I., & Sawai, J. (2008). Growth inhibitory effect on bacteria of chitosan membranes regulated with deacetylation degree. *Biochemical Engineering Journal, 40*(3), 485-491.

Talja, R. A., Helén, H., Roos, Y. H., & Jouppila, K. (2007). Effect of various polyols and polyol contents on physical and mechanical properties of potato starch-based films. *Carbohydrate Polymers, 67*(3), 288-295.

Thirathumthavorn, D., & Charoenrein, S. (2007). Aging Effects on Sorbitol- and Non-Crystallizing Sorbitol-Plasticized Tapioca Starch Films. *Starch - Stärke, 59*(10), 493-497.

Tikhonov, V. E., Stepnova, E. A., Babak, V. G., Yamskov, I. A., Palma-Guerrero, J., Jansson, H.-B., et al. (2006). Bactericidal and antifungal activities of a low molecular weight chitosan and its N-/2(3)-(dodec-2-enyl)succinoyl/-derivatives. *Carbohydrate Polymers, 64*(1), 66-72.

Tokura, S., Ueno, K., Miyazaki, S., & Nishi, N. (1997). Molecular weight dependent antimicrobial activity by Chitosan. *Macromolecular Symposia, 120*(1), 1-9.

Tsai, G.-J., & Su, W.-H. (1999). Antibacterial Activity of Shrimp Chitosan against *Escherichia coli*. *Journal of Food Protection, 62*, 239-243.

Van Soest, J. J. G., Hulleman, S. H. D., De Wit, D., & Vliegenthart, J. F. G. (1996). Changes in the mechanical properties of thermoplastic potato starch in relation with changes in B-type crystallinity. *Carbohydrate Polymers, 29*(3), 225-232.

Van Soest, J. J. G., & Knooren, N. (1997). Influence of glycerol and water content on the structure and properties of extruded starch plastic sheets during aging. *Journal of Applied Polymer Science, 64*(7), 1411-1422.

Wang, X., Du, Y., & Liu, H. (2004). Preparation, characterization and antimicrobial activity of chitosan-Zn complex. *Carbohydrate Polymers, 56*(1), 21-26.

Yi, H., Wu, L.-Q., Bentley, W. E., Ghodssi, R., Rubloff, G. W., Culver, J. N., et al. (2005). Biofabrication with Chitosan. *Biomacromolecules, 6*(6), 2881-2894.

Zivanovic, S., Chi, S., & Draughon, A. F. (2005). Antimicrobial Activity of Chitosan Films Enriched with Essential Oils. *Journal of Food Science, 70*(1), M45-M51.

Zivanovic, S., Li, J. J., Davidson, P. M., & Kit, K. (2008). Physical, mechanical, and antibacterial properties of chitosan/PEO blend films. [Correction]. *Biomacromolecules, 9*(4), 1355-1355.

CHAPITRE 5 ARTICLE 2 : MORPHOLOGY AND ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF PLASTICIZED CHITOSAN/METALLOCENE POLYETHYLENE BLENDS

Marie Matet, Marie-Claude Heuzey, Abdellah Ajji

CREPEC, Department of Chemical Engineering, Polytechnique Montreal, P.O. Box 6079, Station Centre-Ville, Montreal, Quebec, Canada H3C 3A7

5.1 Abstract

In this work, plasticized chitosan-based materials were produced through a molten process. A thermomechanical treatment was used to achieve chitosan plasticization in the presence of water, acetic acid, and glycerol. Water and glycerol acted as plasticizers, while acetic acid was used as a solvent and plasticizer for chitosan. The influence of acetic acid total content, chitosan/acetic acid solution ratio, and chitosan/glycerol ratio were examined in this study. The various plasticized compounds were blended with a metallocene polyethylene (mPE) and the morphology, rheological, and antibacterial properties of this novel blend system were examined. It was found that an increase in acetic acid content allowed better chitosan dissolution, while a higher glycerol concentration resulted in improved dispersion of the plasticized chitosan phase in the mPE. Following thermo-mechanical treatment, blends presented good antibacterial properties with a reduction of the number of bacteria (non-pathogenic *Escherichia coli*) by 2 log(CFU/mL) for the chitosan-containing systems with respect to neat mPE. Mechanical properties of the mPE/plasticized chitosan blends were improved by compatibilization with ethylene vinyl acetate, while antibacterial properties were not affected.

5.2 Introduction

Chitosan is a polysaccharide generally extracted through the deacetylation of chitin, with the latter most often obtained from crustacean shells (Raabe, Sachs, & Romano, 2005; Marguerite Rinaudo, 2006). Because of its numerous interesting properties, chitosan is an attractive biomaterial that can be used in several domains: food applications (for its antibacterial and antimicrobial activity, biodegradability and biocompatibility), water engineering (in wastewater filtration due to metal capturing by chelation), drug-delivery systems (biodegradability, non-toxicity, bioabsorbability properties), cosmetics (fungistatic and fungicidal properties), and as an artificial skin (structural characteristics) (Ravi Kumar, 2000; Marguerite Rinaudo, 2006; Shahidi, et al., 1999). Different techniques can be used to produce chitosan material forms such as solvent casting (films) (Balau, et al., 2004), electrospinning (nanofibers) (Huang, Zhang, Kotaki, & Ramakrishna, 2003), spin-coating (ultrathin films) (Murray & Dutcher, 2006), and spray-drying (powder) (Nair, Reddy, Kumar, & Kumar, 2009).

Chitosan is generally more expensive than most synthetic polymers; however, it can be blended with a common thermoplastic in order to reduce costs while taking advantage of its unique properties. Chitosan in its dry form (powder or flakes) can be directly blended by extrusion or internal mixing with a molten thermoplastic such as polyethylene (PE) (Martínez-Camacho, et al., 2013; Mir, et al., 2011; Zhang, et al., 2009). The materials obtained present, however, a poor visual aspect and low mechanical properties due to poor chitosan dispersion in the PE matrix and to the immiscibility and incompatibility of the two components. To circumvent these drawbacks, chitosan can be blended in the solution state with other polymers (J. Li, Zivanovic, Davidson, & Kit, 2010; J. Li, et al., 2011; Svetlana Zivanovic, Li, Davidson, & Kit, 2007), but this technique is not suitable for industrial and large-scale fabrication and prevents the use of polymers difficult to solubilise, such as PE.

Since chitosan degradation temperature is lower than its melting point, production of chitosan-based films on an industrial scale may be possible only through thermo-mechanical kneading of a plasticized phase. This novel technique, inspired from starch plasticization developed in the 90s (Avérous & Halley, 2009), uses mechanical and thermal energy combined to the addition of a polyol (plasticizer) and an aqueous acetic acid solution (solvent) to achieve chitosan plasticization (Epure, et al., 2011; Matet et al., 2013). Plasticization is a technique used to

improve biopolymer processability by decreasing the number of intermolecular bonds between polymer chains, which results in lower glass transition temperature (Imre & Pukánszky, 2013). For chitosan, this modification means the possibility of processing in a ‘‘molten’’ mode and blending with thermoplastic polymers in order to achieve a larger spectrum of properties.

In a recent work (Matet, et al., 2013), the effect of polyol type and content on plasticized chitosan properties was investigated. Three non-volatile polyol plasticizers were used: glycerol, xylitol, and sorbitol. It was shown that polyol molecular weight affected several plasticized chitosan properties: crystallinity, thermal degradation, rheological, and mechanical properties. In general, properties were superior when polyol molecular weight increased: the highest crystallinity, thermal, mechanical, and rheological properties were attributed to the presence of sorbitol, which was the highest molecular weight polyol used in that study. By contrast, chitosan plasticized with glycerol, the lowest molecular weight polyol studied, presented the most important amorphous phase content, which may be advantageous in terms of processability. It was also shown that the polyol overall content had an impact on properties such as crystallinity, which decreased when the polyol content increased.

A first study showed the possibility to blend chitosan with a thermoplastic resin in the molten phase and the interest of pursuing such an approach (Martino, et al., 2011). In the cited work, poly(ε-caprolactone) was blended with plasticized chitosan prepared in the presence of glycerol and acetic acid aqueous solution, and unplasticized chitosan, prepared only with the acid solution. It was shown, by measuring water content at equilibrium, that glycerol increased chitosan chain mobility. Samples with glycerol had almost twice the water content in comparison to samples without glycerol, indicating better chitosan–glycerol–water interactions.

The present work examines how plasticized chitosan can be melt-blended with a thermoplastic polyolefin, which is the most widely used polymer in food packaging, in order to design a flexible material with antibacterial properties. The material chosen is metallocene polyethylene (mPE) because of its moderate melting point that matches the processing temperature window of plasticized chitosan (from 105 to 140 °C) and its use in the seal layer of many flexible packaging structures. Blending is achieved using an internal batch mixer. Glycerol is used as the main plasticizer in this study since it was shown to promote enhanced amorphicity in plasticized chitosan, and consequently better processability (Matet, et al., 2013). Plasticization is performed

using different formulations and processing conditions. Their effects on mPE/plasticized chitosan blend morphology and rheological properties are examined. In addition, the effect of ethylene vinyl acetate (EVA) as a compatibilizer is investigated. Finally, the mechanical and antibacterial properties are evaluated for various systems to examine the chitosan antibacterial efficiency and the mechanical performance of the blends.

5.3 Materials and methods

5.3.1 Materials

Chitosan in powder form (grade ChitoClear_) was purchased from Primex (Iceland). Its degree of deacetylation (DDA) is 96 %, its weight-average molecular weight is in the range of 250–300 kDa, and it contains 0.1 wt% ash residue (according to manufacturer's specifications).

Metallocene polyethylene (mPE) Affinity PL1880, with a melt flow index of 1 g/10 min at 190 °C (ASDM 1238), was purchased from Dow Chemicals. Its melting temperature is 99 °C, as determined by differential scanning calorimetry.

Ethylene vinyl acetate (EVA) Evatane 28-05, containing 28 wt% vinyl acetate, was obtained from Arkema. Its meting point is 72 °C, and it exhibits a melt flow index of 5–8 g/10 min at 190 °C (ASDM 1238).

Glacial acetic acid and glycerol were purchased from Sigma-Aldrich and used as received.

5.3.2 Sample preparation

In order to examine the effect of formulation on plasticized chitosan and mPE blends properties, different plasticized chitosan formulations were prepared around three sets of experiments: acetic acid total content, chitosan/acetic acid solution ratio, and chitosan/glycerol ratio. Table 5-1 summarizes the different formulations tested. Four different concentrations of acetic acid in aqueous solution (0, 1, 3, and 5 % v/v), four different chitosan/acetic acid solution ratios, and six different chitosan/glycerol ratios were used. Also, a sample named ''PlaChi'' (last row of Table 5-1) was compounded after the preliminary results analysis and is considered as an optimal plasticized chitosan formulation.

The first step toward blend preparation was the compounding of plasticized chitosan. Four different acetic acid solutions (Table 5-1) were prepared from glacial acetic acid and deionized water. In parallel, glycerol was added dropwise at various contents to the chitosan powder, as described in Table 5-1, and then hand mixed. Then, the acetic acid solution was slowly poured to the chitosan powder and manually mixed in order to obtain a homogeneous paste. A chitosan paste was also made from glycerol and water (i.e., without acetic acid) to assess the role of this component. Subsequently, all the pastes were thermo-mechanically kneaded in an internal mixer Haake Rheocord 900 (Germany) at a set temperature of 80 °C for 15 min, with a constant speed of 100 rpm of the roller blades rotor. At the end of this step, for most compositions, a homogeneous continuous yellow paste was obtained, as shown in Figure 5-1. A more friable paste resulted when the acetic acid concentration decreased. The yellowish shade comes from the intrinsic color of the chitosan powder.

Table 5-1: Formulations of plasticized chitosans

Chitosan (g)	Acetic acid solution (g)	Glycerol (g)	% v/v Acetic Acid solution	Chitosan/Acetic Acid solution (wt/wt)	Chitosan/Glycerol (wt/wt)
13.33	40	6.67	3	25/75	67/33
13.33	40	6.67	**0**	25/75	67/33
13.33	40	6.67	**1**	25/75	67/33
13.33	40	6.67	**5**	25/75	67/33
20	30	10	3	**40/60**	67/33
10.9	43.64	5.45	3	**20/80**	67/33
9.23	46.15	4.62	3	**17/83**	67/33
15	45	0	3	25/75	**100/0**
14.63	43.9	1.46	3	25/75	**91/9**
13.86	41.57	4.62	3	25/75	**80/20**
12	36	12	3	25/75	**50/50**
10	30	20	3	25/75	**33/67**
11.54[(a)]	46.15[(a)]	2.31[(a)]	3[(a)]	20/80[(a)]	83/17[(a)]

Figure 5-1 : Plasticized chitosan (3 % v/v acetic acid solution, chitosan/acetic acid solution ratio of 25/75 wt/wt, and chitosan/glycerol ratio of 67/33 wt/wt) after the first compounding step

In the second step, all the plasticized chitosan formulations from Table 5-1 are melt-blended with the mPE resin at a ratio of 50/50 (wt/wt). This ratio was chosen after running different preliminary experiments. A too high content of chitosan was not suitable in terms of cost and easiness of processing. Lower content was not sufficient to affect the blend properties. Note that after water and acetic acid evaporation, there was approximately 12 wt% of chitosan in most of the blends. The internal batch mixer was first filled with mPE pellets until complete melting (1 min), and then plasticized chitosan was added and melt-blended for 5 min. The rotor speed used was 100 rpm and the mixing temperature was 120 °C. A blend mPE/chitosan powder was also prepared for comparison purposes.

Finally, the different samples were compression-molded using a Carver hydraulic press of 12 tons (USA). Plasticized chitosans were compression-molded at 120 °C for 5 min under a 250 bar pressure, with one venting after 2 min, and then cooling to ambient temperature over 3 min under the same pressure. Plasticized chitosan sheets of 1 mm thickness were obtained after compression. The mPE and plasticized chitosan blends were also press-molded at 120 °C for 5 min under a pressure of 250 bar, and then cooled at ambient temperature for 3 min under the same pressure. Metallocene PE/plasticized chitosan dog bones type V were also obtained from compression molding. In addition, disks of 25 mm diameter and 1.5 mm thickness were prepared. Figure 5-2 shows that the molded disks were dark yellow and translucent. The coloring of the sample is most probably due to the Maillard reaction between carbonyl groups of the carbohydrate ends of chitosan and amino groups also present in chitosan, and accelerated by high temperature (Leceta et al., 2013).

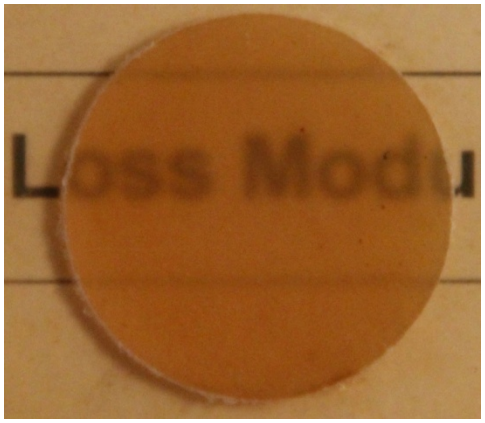


Figure 5-2: mPE/plasticized chitosan disk (25 mm diameter, 1.5 mm thickness) after compounding step and press-molding

Different processing conditions were also investigated: chitosan plasticization temperature from 60 to 100 °C, rotor speed from 50 to 200 rpm, and processing time from 10 to 20 min. The effect of processing conditions on the properties examined was negligible and will not be discussed further. It is possible that the range of thermomechanical processing conditions used here was not sufficient to disturb further the highly ordered and semi-persistent crystalline structure of chitosan that results from hydrogen bonding (Matet, et al., 2013).

In order to improve the compatibility between chitosan and mPE, a blend was also prepared with EVA as a compatibilizer. A specific plasticized chitosan formulation, called ‘‘PlaChi’’ in Table 5-1, was chosen for this experiment: 3 % v/v acetic acid in solution, 20/80 (wt/wt) chitosan/acetic acid solution ratio, and 83/17 (wt/wt) chitosan/glycerol ratio. This plasticized chitosan was melt-blended with mPE and EVA in the internal mixer at 120 °C and 100 rpm for 5 min. The plasticized chitosan content remained at 50 wt% as for previous samples, while the mPE quantity was set at 33 wt% and EVA at 17 wt%.

5.3.3 Characterization techniques

5.3.3.1 pH of acetic acid solutions

A pH-meter (Acumet Basic AB15) was used to measure the pH of the different solutions. Deionised water presents a pH of 7.73, while the 1, 3, and 5 % v/v acetic acid solutions showed a pH of 2.90, 2.60, and 2.45, respectively. Acetic acid concentration can have an effect on the

solubilisation of chitosan (M. Rinaudo, et al., 1999a), but in the present study, chitosan concentration was in such high proportion that this effect could be neglected.

5.3.3.2 Scanning electron microscopy (SEM)

To visualize the blend morphology, a JEOL JSM-840 (Japan) was used at 10 kV accelerating voltage. Cross-sections of samples were cut at -150 °C with a microtome equipped with a glass knife and coated with gold.

Semi-automatic image analysis was performed with the software SigmaScan Pro (USA) to quantify the dispersed plasticized chitosan domains surface area. The surface area of more than 200 domains was measured at different magnifications for each sample. Histograms of the distribution of plasticized chitosan domains surface area, by regular interval of 100 μm^2, were obtained. For greater clarity, domains with surface area higher than 500 μm^2 were not represented in the histogram because their number was minimal (< 2 %). Image analysis was also used to quantify the free-path spacing between domains dispersed in the matrix according to the method developed by Luo and Koo (Luo & Koo, 2007). More than 200 distances were measured, and the dispersion index $D_{0.1}$ was calculated from the following equation:

$$D_{0.1} = 1.1539\times10^{-2} + 7.5933\times10^{-2}(\mu/\sigma) + 6.6838\times10^{-4}(\mu/\sigma)^2 - 1.9169\times10^{-4}(\mu/\sigma)^3 + 3.9201\times10^{-6}(\mu/\sigma)^4$$

where l is the mean spacing between domains and r is the standard deviation.

To evaluate the morphology after compatibilization, SEM images were also taken on the mPE/EVA/PlaChi blend. These samples were etched, after microtoming, in xylene for 2 h at 50 °C to remove the EVA following Takidi's procedure (Takidis et al., 2003). At this etching temperature, the samples were not negatively affected and only EVA extraction was visible as black holes.

5.3.3.3 Rheological properties

A rheometer operated in a strain-controlled mode (MCR 501, Anton Paar, Germany) with a parallel disk flow geometry (25 mm diameter) was used at 120 °C under ambient atmosphere to characterize the rheological properties. Time sweeps, strain sweeps, and frequency sweeps were performed. Strain sweeps were done from 0.0001 to 1 (absolute strain) to determine the linear

viscoelastic domain of the different samples. Time sweeps were also carried out, for 15 min at a frequency of 6.28 rad/s and a strain of 0.01, to assess that there was no sample degradation during rheological measurements. All blends showed constant rheological properties for the whole test time. All the frequency sweeps were carried out at a strain of 0.01 in the frequency range from 628 to 0.0628 rad/s (less noise was obtained at low frequencies when the tests were performed from high to low frequencies). In the results section, only the frequency sweeps are presented in order to compare, for all the samples, moduli, and complex viscosity as functions of frequency.

The Palierne model (Palierne, 1990) was also used to have a better understanding of the rheological properties of the various plasticized chitosan formulations.

5.3.3.4 Mechanical properties using uniaxial tensile tests

Tensile tests were performed on an Instron 3365 (USA). The samples used were dog bones type V described in the standard procedure ASTM D638, and the tests were carried out at ambient temperature. A constant stretching rate of 1 mm/min from 0 to 20 % tensile strain was applied to determine the elastic modulus using an extensometer. At 20 % tensile strain, the extensometer was removed from the sample, and a constant stretching rate of 50 mm/min was used to continue the test and to record tensile strain and stress at break. Mechanical properties were determined from the average of five measurements.

5.3.3.5 Antibacterial tests

To determine the antibacterial properties of the blends, films of 15 × 15 mm^2 area and 100 μm in thickness were prepared by compression molding. To neutralize the last residues of acetic acid, they were immersed in a 1 M NaOH solution for 30 min and rinsed with deionized water, and then sterilized with acetone to eliminate any residual bacteria.

Non-pathogenic *Escherichia coli* DH5α was used for the antibacterial tests. The microorganisms were grown in a nutritional-rich medium (Lysogeny broth or LB) for 24 h at 37 °C under constant agitation in order to reach a 10^9 colony-forming unit (CFU)/mL bacteria. After 24 h, the bacteria culture was diluted in a phosphate buffered saline (PBS) solution in order to have approximately 10^6 CFU/mL bacteria. The pH of this solution was adjusted to 5.5 with a 0.1 M HCl solution in order to protonate the chitosan and activates its antibacterial activity (Kong, et al., 2010). The influence of this imposed acidity was previously controlled on bacteria survey and found to be

minimal. Subsequently, test films were immersed into culture tubes containing 5 mL of the PBS inoculated with *E. coli*. Three replicates were prepared for each sample. The culture tubes were incubated for 4 h under agitation at 25 °C. After that, 4 dilutions at 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, and 10^{-4} of the culture were prepared. Three droplets (10 μL) of each dilution were deposited on an LB agar plate, and then the plates were placed in an incubator at 37 °C overnight. Finally, colony-forming unit were counted by the naked eye.

5.4 Results and discussion

5.4.1 Influence of acetic acid total content on mPE/plasticized chitosan blends

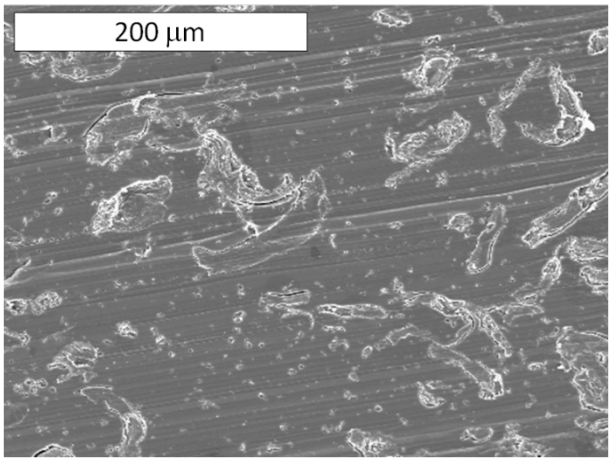
Figure 5-3 presents SEM images of the mPE/plasticized chitosan blends with different acetic acid contents, along with the histogram of the plasticized chitosan domains size area (Figure 5-3f). The first observation that can be made from the SEM images is that this system is highly immiscible. Plasticized chitosan domains are clearly seen embedded in the mPE matrix. The domains have an irregular shape, and under a higher magnification (Figure 5-3b), it is clearly visible that they present a layered structure, as was observed in previous studies (Matet, et al., 2013). This structure is similar to the multilaminated aspect of chitin observed before (Raabe, et al., 2005). This aspect comes from the stacking of successive planes of fibrils lying horizontal and parallel to each other, and can be assimilated to a crystalline structure (Giraud-Guille, 1998; Raabe, et al., 2005). The average distance between the two layers is measured to be between 0.8 and 2 μm. This is in the same size range as the planar woven formed by chitin-protein fibers presented in previous studies structure (Giraud-Guille, 1998; Raabe, et al., 2005). Some voids are also visible between plasticized chitosan domains and the mPE matrix, which may be due to a limited compatibility between them.

Chitosan powder blends with mPE (without acetic acid, water, or glycerol) have a large majority of domains with surface area between 0 and 100 μm^2, as shown in Figure 5-3f. Blends of chitosan formulated with only glycerol and water exhibit chitosan domains within the same range of surface area. Water and glycerol seem to be insufficient to dissolve and destructure the chitosan domains, which is the main role of acetic acid (Epure, et al., 2011). When acetic acid is added to the formulation, the number of smallest domains decreases, which at first seems counterintuitive. Also, the surface area (normalized with respect to the total mass of chitosan in

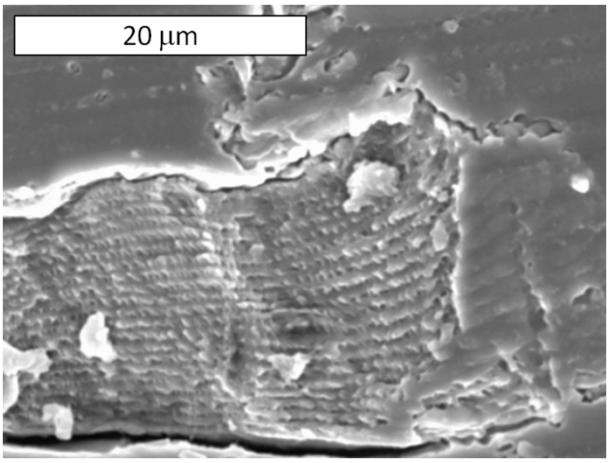
the blend) occupied by chitosan domains increases from 3.8 to 6.8 % (per gram of chitosan), when the acetic acid percentage increases from 0 to 1 wt%. However, these two observations indicate that plasticized chitosan domains are swollen in the presence of acetic acid. Plasticized chitosan domain swelling suggests an increase in the spacing between successive ordered planes of fibrils. It has been confirmed by XRD analysis that the ordered crystal lattice of chitosan can be disturbed by the creation of hydrogen bonds between carboxyl groups of acetic acid and amino groups of chitosan and a different packing arrangement of the chains (Matet, et al., 2013; Meng, et al., 2014). This confirms a possible destructuration of chitosan in the presence of acetic acid.

Normalized surface areas occupied by chitosan domains for 1, 3, and 5 wt% acetic acid in solution are, respectively, 6.8, 3.6, and 3.2 % (per gram of chitosan), and the size of chitosan domains is unchanged in comparison with the blend prepared with 1 wt% acetic acid in solution. This decrease in the surface area occupied by plasticized chitosan domains, despite the swelling described above, can be ascribed to the dissolution of chitosan domains and the increase of the chitosan amorphous phase, as already observed in previous studies (Martino, et al., 2011; Matet, et al., 2013).

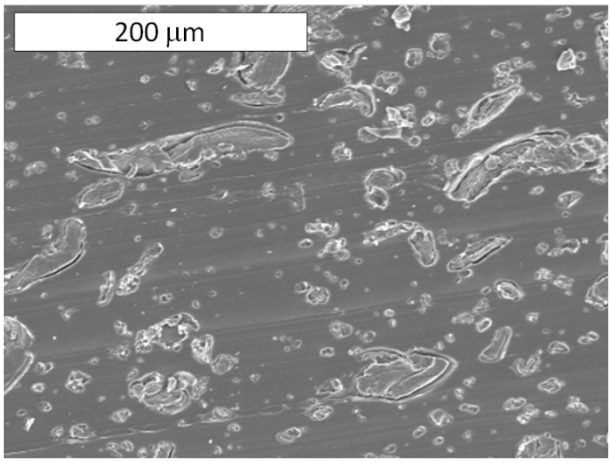
(a)



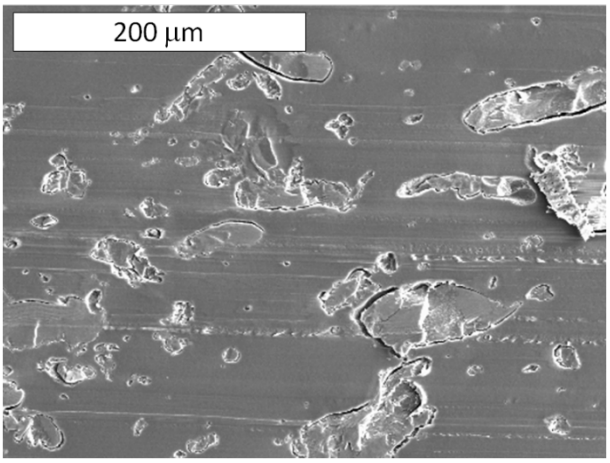
(b)



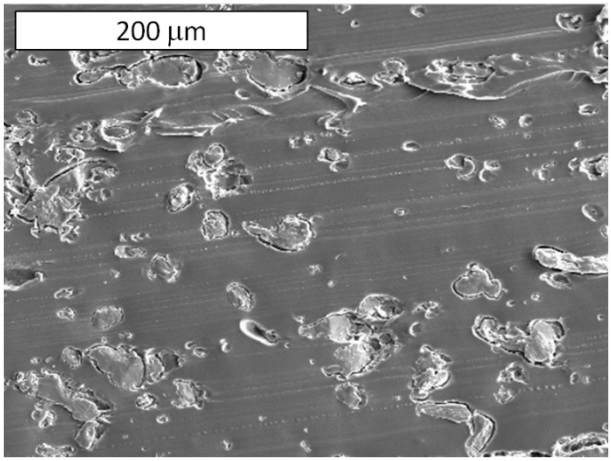
(c)



(d)



(e)



(f)

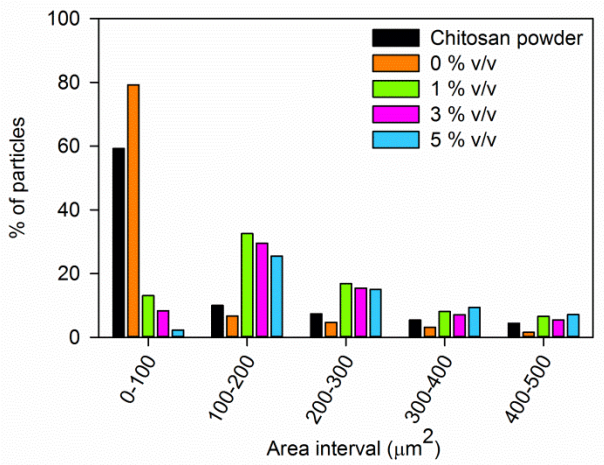


Figure 5-3: SEM images of samples prepared with different acetic acid percentages, a 0 % v/v (×300), b 0 % v/v (×3000), c 1 % v/v, d 3 % v/v, e 5 % v/v, and f histogram of plasticized chitosan domains surface area, including for the unplasticized sample in black (chitosan powder + mPE)

Complex viscosity data at 120 °C are presented in Figure 5-4 for the formulations with various acetic acid concentrations. All mPE/chitosan blends present a strong power-law behavior and exhibit larger complex viscosity than neat mPE. The blend prepared from chitosan formulated with only water, and glycerol presents the largest rheological properties. This can be explained by the presence of smaller domains (Figure 5-3f), but also by an expected larger hardness for these chitosan domains. The Palierne model (Palierne, 1990) predicts that when the size of the

dispersed phase (in this case the plasticized chitosan domains) decreases, the complex viscosity increases, and when the storage modulus of the dispersed phase is larger, the complex viscosity increases also. Storage modulus can be related to the hardness of domains since they evolve in the same direction (Aryaei, Jayatissa, & Jayasuriya, 2012). Chitosan destructuration by the acid medium results in a higher distance between the ordered planes of chitosan due to the introduction of salt-linked acid molecules (Farooqahamed S. Kittur, et al., 2003; Meng, et al., 2014), leading to larger domains with a lower hardness (Calleja & Flores, 2002). Overall, the presence of acetic acid leads to a lower complex viscosity of the blends. Finally, even though smaller normalized surface areas of domains were observed at higher acid content, the rheological properties are nearly unaffected by the content of acetic acid used, and hence no effect of a higher dissolution is visible.

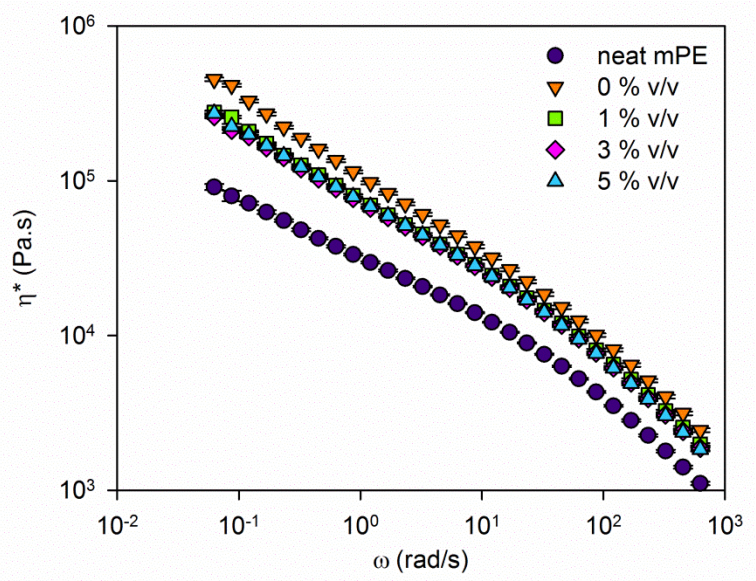


Figure 5-4: Complex viscosity of neat mPE and four different mPE/ plasticized chitosan blends prepared with different acetic acid contents (120 °C, strain of 0.01)

5.4.2 Influence of chitosan powder/acetic acid solution ratio

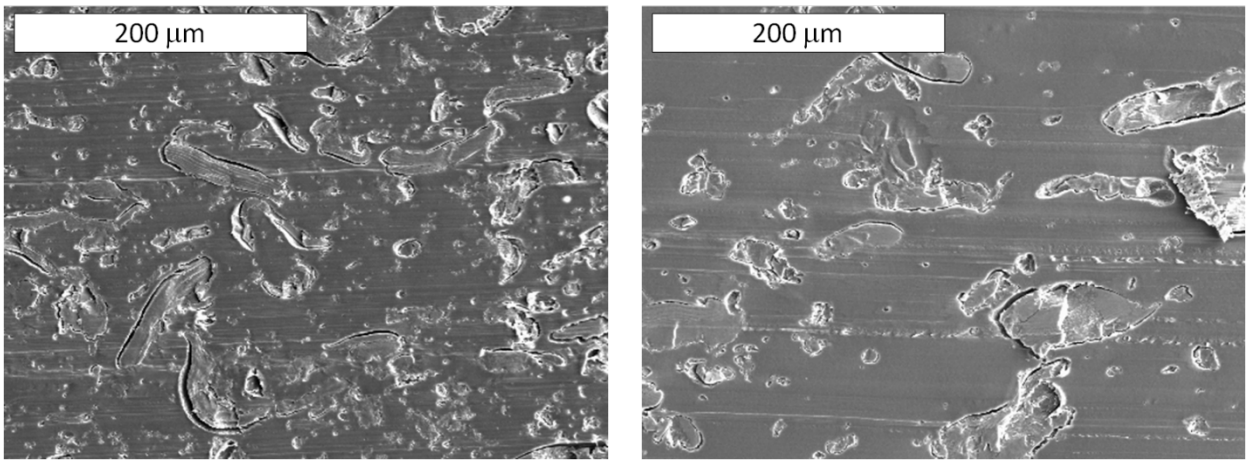
Figure 5-5 presents SEM images and the histogram of plasticized chitosan domains surface area of mPE/chitosan blends prepared with different ratios of chitosan powder/ acetic acid solution. On SEM images (Figure 5-5a–d), a similar morphology of blend is observed, i.e., chitosan domains embedded in an mPE matrix. However, this time when the acetic acid solution content

increases in the formulation, the number of domains visible decreases for the same observed surface area.

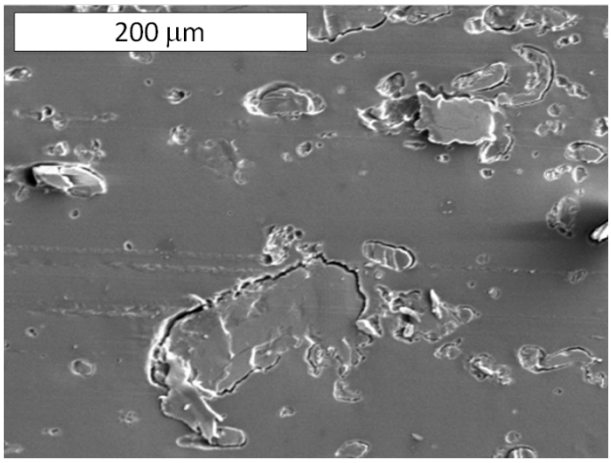
From SEM analysis (Figure 5-5e), the blend with the lowest quantity of acetic acid solution (40/60 wt/wt) presents a large content of small domains (surface area lower than 100 μm^2) and a low normalized surface area occupied by chitosan domains (2.7 % per gram of chitosan). This may indicate that the quantity of acetic acid solution used here, in comparison with the chitosan powder content, is not sufficient to wet (and consequently swell) all solid domains. In this case, glycerol cannot penetrate into the crystalline particles and proper chitosan plasticization cannot take place in these conditions.

When the content of acetic acid increases in the formulation, the quantity of chitosan powder that can be wetted and swollen is more important, and this consequence is visible on the SEM quantitative analysis: the normalized surface areas occupied by chitosan domains for ratios 25/75 and 20/80 (wt/wt) are, respectively, 3.6 and 4.3 % (per gram of chitosan), and a majority of the domains have a higher surface area than for those samples prepared using a 40/60 (wt/wt) ratio. Since domains need to be swollen for destructuration to take place during plasticization, it is preferable to have about four times more acetic acid solution than chitosan for better processability.

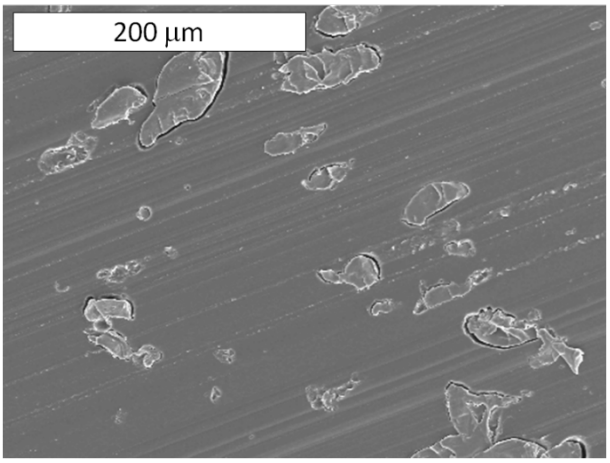
(a) (b)



(c)



(d)



(e)

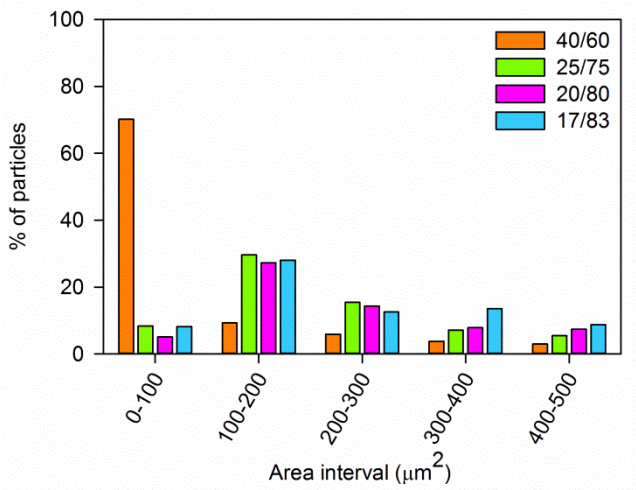


Figure 5-5: SEM images of samples prepared with 4 different chitosan/acetic acid solution ratios: a 40/60 (wt/wt), b 25/75 (wt/wt), c 20/80 (wt/wt), and d 17/83 (wt/wt), and e histogram of plasticized chitosan domains surface area

However, for a ratio of 17/83 (wt/wt), the plasticized chitosan domain surface area is unchanged, in comparison with the two previous ratios, but the normalized surface decreases to 2.7 % per gram of chitosan: that can be an indication that the level of amorphous chitosan phase begins to increase, which cannot be captured in the SEM images.

Figure 5-6 presents the complex viscosity at 120 °C of mPE/chitosan blends prepared with four different chitosan/acetic acid solution ratios, normalized with respect to the chitosan mass in the

blend. Sample 40/60 (wt/wt), which is the blend with the smallest chitosan domains according to the SEM analysis, exhibits the highest complex viscosity, in accordance with theory and as explained above, i.e., viscosity increases with domain size decrease, in addition to higher stiffness of non-swollen domains (Palierne, 1990). Blends with a higher chitosan/acetic acid solution ratio (25/75 wt/wt and up), and thus with larger swollen domains, have nearly the same complex viscosity. The effect of plasticized chitosan domain size is most pronounced at low frequencies, for example the complex viscosity is slightly lower for the 17/83 sample. However, at high frequencies, the complex viscosity is the same for all formulations, and hence hydrodynamics overcome the effect of plasticized chitosan domain size.

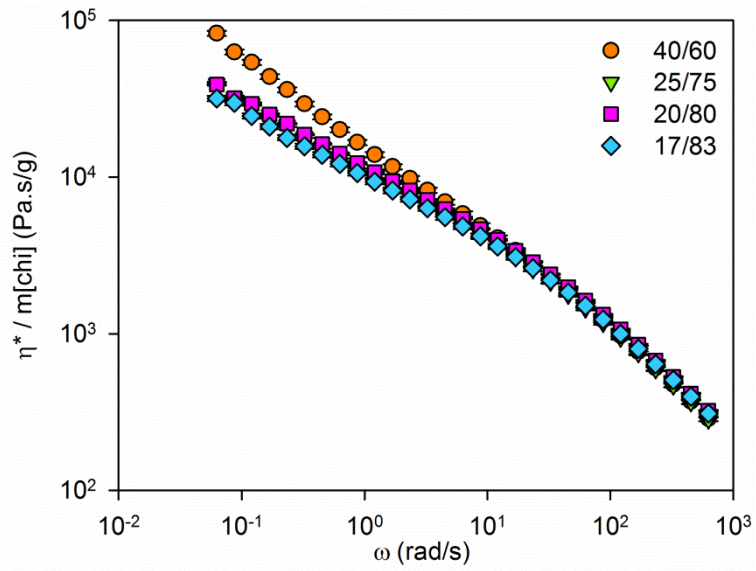


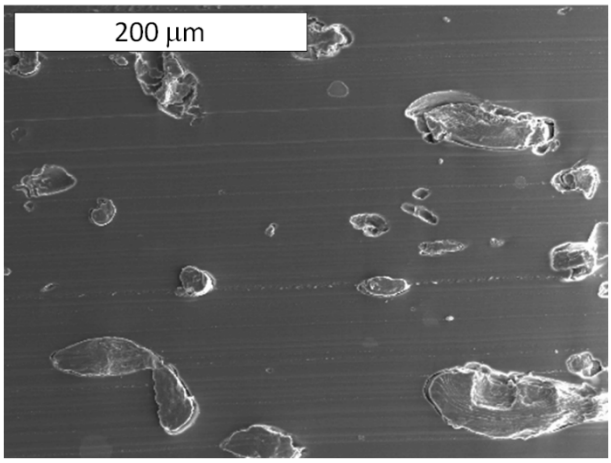
Figure 5-6: Complex viscosity of four different mPE/chitosan blends, prepared with different chitosan/acetic acid solution ratios (120 °C, strain of 0.01)

5.4.3 Influence of chitosan powder/glycerol ratio

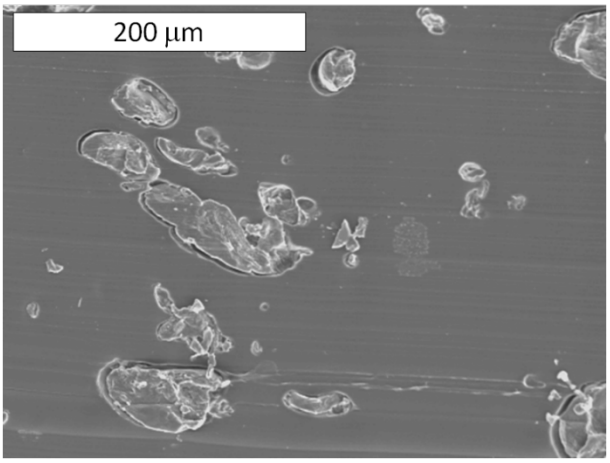
Figure 5-7 presents SEM images of different mPE/chitosan blends prepared with various chitosan/glycerol ratios, and the histogram of chitosan domains surface area embedded in the mPE matrix. When the glycerol content in the formulation increases, the number of small domains visible seems to increase in the matrix. The blend prepared without glycerol has domains with a surface fairly evenly distributed between 0 and 300 μm^2 (Figure 5-7g). For the three first chitosan/glycerol ratios, 91/9, 80/20, and 67/33 (wt/wt), the majority of domains have an unchanged surface area but the total surface occupied by domains (per gram of chitosan)

increases steadily: 2.2, 2.8, and 3.6 %, respectively. This may indicate that the largest domains (not represented in the histogram for more clarity and because their number is minimal) are broken in the presence of glycerol. Indeed, if the acetic acid solution had begun to destructure chitosan domains, then a larger molecule such as glycerol can infiltrate into the spaces between planes and result in breakup of the domains under the action of shear.

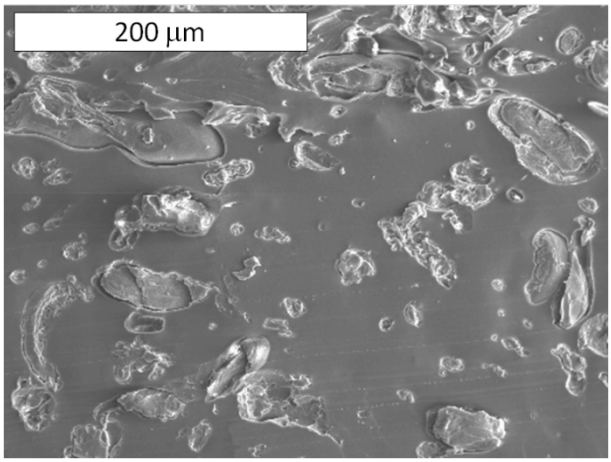
(a)



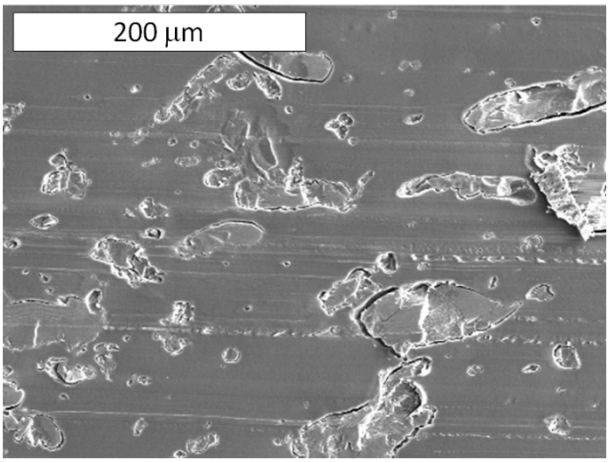
(b)



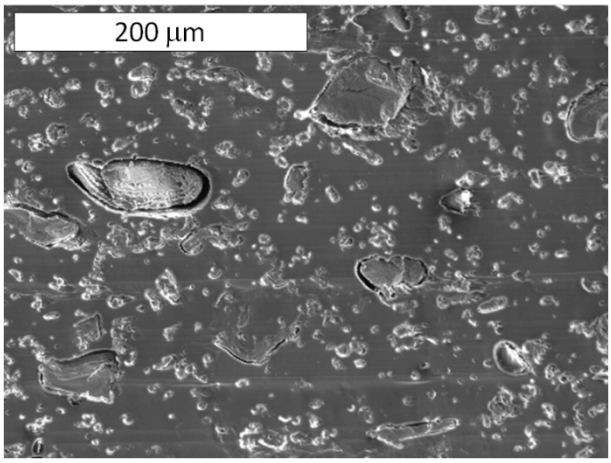
(c)



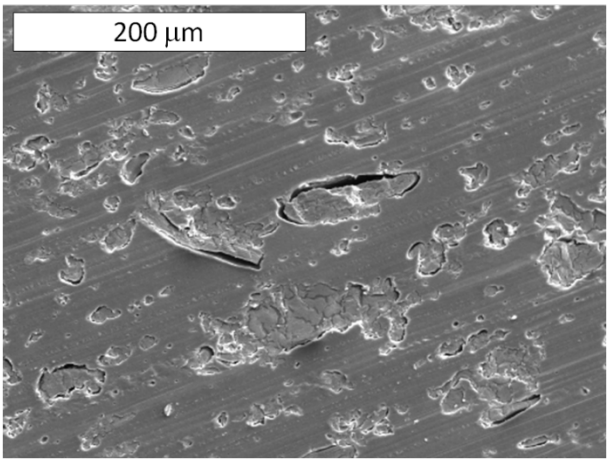
(d)



(e)



(f)



(g)

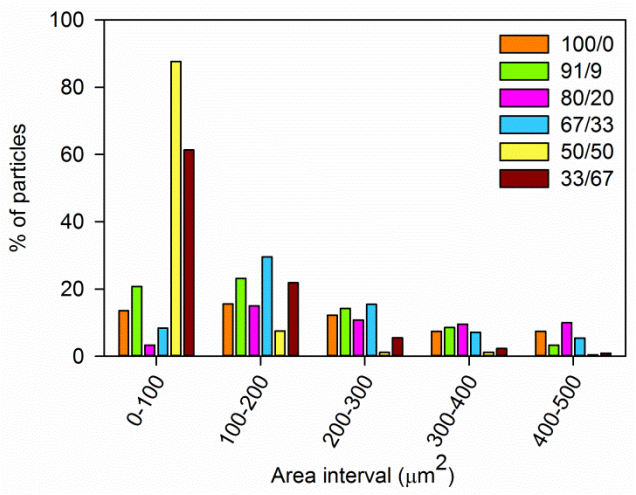


Figure 5-7: SEM images of samples prepared with 6 different chitosan/glycerol ratios, a 100/0 (wt/wt), b 91/9 (wt/wt), c 80/20 (wt/wt), d 67/33 (wt/wt), e 50/50 (wt/wt), and f 33/67 (wt/wt), and g histogram of plasticized chitosan domains surface area

For the two highest quantities of glycerol (samples 50/50 and 33/67), the proportion of domains with surface area between 0 and 100 μm^2 increases sharply, and the surface area occupied by chitosan domains increases also to 6.6 and 5.1 % (per gram of chitosan), respectively. This may also confirm the breakage of the largest chitosan domains in the presence of glycerol. The reason why the weighted surface area goes down at the highest ratio 33/67 (wt/wt) is not clear, but glycerol seemed to have been in excess in this sample and it may have impeded its action.

From the method presented by Luo and Koo (Luo & Koo, 2007), the dispersion index $D_{0.1}$ was calculated. Its value increases progressively from 9.3 to 10.3 % from the ratio chitosan/glycerol 100/0 to 50/50 (wt/wt). The last ratio chitosan/glycerol 33/67 (wt/wt) has a $D_{0.1}$ equals to 10.1 %. The small difference between ratio 50/50 and 33/67 (wt/wt) may not be meaningful. Overall, when the glycerol content increases in the formulation, the dispersion index also increases. This indicates a better dispersion of chitosan domains in the mPE matrix.

Figure 5-8 presents the complex viscosity at 120 °C of the mPE/chitosan blends prepared with different chitosan/glycerol ratios, normalized with respect to the chitosan mass in the blend. Glycerol has a strong effect on the dynamic rheological properties of the blend: complex viscosity clearly increases with glycerol content. According to the Palierne model (Palierne, 1990), complex viscosity decreases when elastic modulus, or hardness, decreases. Therefore, there may be a competition between domain swelling by glycerol and induced breakage. Apparently, breakage of the chitosan ordered structure is the main phenomenon, which would result in multiple small domains and increased viscosity. Better dispersion in the presence of glycerol may also contribute to this rise.

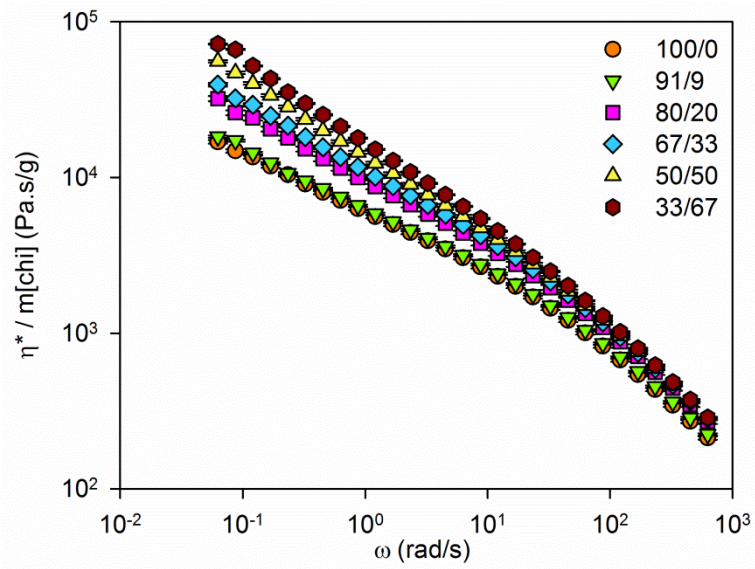


Figure 5-8: Complex viscosity of four different blends prepared with different chitosan/glycerol ratios (120 °C, strain of 0.01)

Even if the largest contents of glycerol resulted in the best dispersion, such quantities cannot be considered in practical applications because films prepared with the ratios 50/50 and 33/67

(wt/wt) presented an oily surface due to the migration of excess glycerol in the system. In addition, $D_{0.1}$ is 10.2 % for ratio 80/20, 10.3 % for ratio 50/50, and 10.1 % for ratio 13/87 (wt/wt). Hence, the dispersion index is nearly constant for those three ratios, so the glycerol quantity considered for the formulation should not be higher than 50 wt% of the total chitosan content, i.e., a ratio chitosan/glycerol of 67/33 (wt/wt).

5.4.4 Effect of compatibilization

Polyethylene is a non-polar thermoplastic, while chitosan presents a positive polarity. This difference in polarity can cause compatibility problems between the two polymers (Olabisi, Robeson, & Shaw, 1979). A third component added to the blend to achieve a non-reactive compatibilization may help improve the blend mechanical properties. Ethylene-co-vinyl acetate (EVA) is considered to be a suitable candidate because it is produced by copolymerization of ethylene and vinyl acetate, so this copolymer can interact with the polyethylene phase. Besides, due to its positive polarity, it can also interact with chitosan and glycerol. The presence of polar ester groups in its chemical structure may also help the introduction of a higher content of hydrophilic filler, such as chitosan, in polyethylene (Akhlaghi et al., 2012).

Figure 5-9 shows SEM images, before and after EVA extraction, of mPE/EVA/PlaChi blend. As expected, we see chitosan domains embedded in the mPE/EVA matrix. Before EVA extraction, voids around chitosan domains are not visible anymore, which was the case in the previous images of mPE-based blends without EVA (Figure 5-3, Figure 5-5 and Figure 5-7). After EVA extraction, several black holes are visible, indicating a uniform dispersion of EVA in the mPE matrix, with size domains quite small, about 2 μm. Moreover, voids between chitosan domains and the thermoplastic matrix reappear after EVA extraction, suggesting that EVA was indeed located around chitosan domains. This is most probably the consequence of a better compatibility and wettability between chitosan and EVA, in comparison to chitosan with mPE; even though the solubility parameter for EVA (17.0 $MPa^{1/2}$) (Brandrup et al., 2003) is not very different from that for mPE (16.2 $MPa^{1/2}$) (Brandrup, et al., 2003), it is still slightly closer to chitosan (25.3 $MPa^{1/2}$) (Ravindra, Krovvidi, & Khan, 1998).

Figure 5-10 presents the ratio of two complex viscosities: the complex viscosity of a given blend (thermoplastic matrix and plasticized chitosan) over the complex viscosity of the matrix present in the given blend. This ratio is represented for three different matrices: mPE, EVA, and

mPE/EVA. The ratio of complex viscosities for the EVA system is higher than for the mPE one, indicating that chitosan is better dispersed in EVA than in mPE, and also exhibits more interactions with the EVA matrix, which confirms the superior affinity of chitosan with EVA. The mPE/EVA system presents a ratio of complex viscosities between the two respective matrices.

(a) (b)

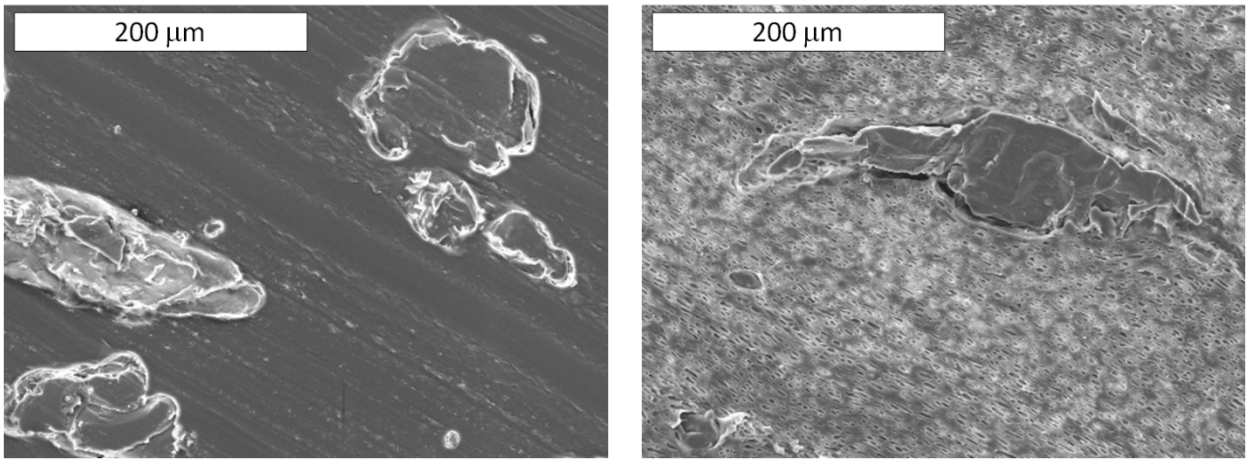


Figure 5-9: SEM images of mPE/EVA/PlaChi blend, a before EVA extraction, b after EVA extraction

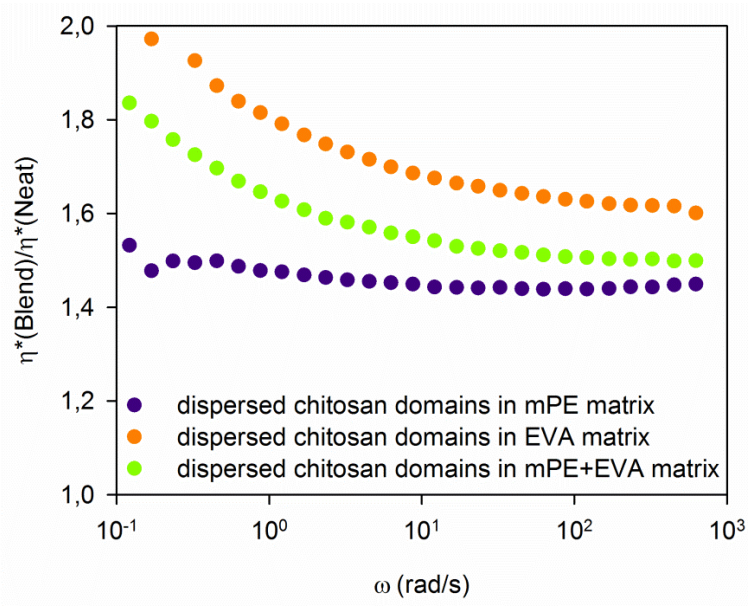


Figure 5-10: Ratio of the complex viscosity of the thermoplastic resin/plasticized chitosan blend and of the neat polymer (ratio matrix/PlaChi = 50/50 wt/wt)

5.4.5 Tensile properties of selected blends

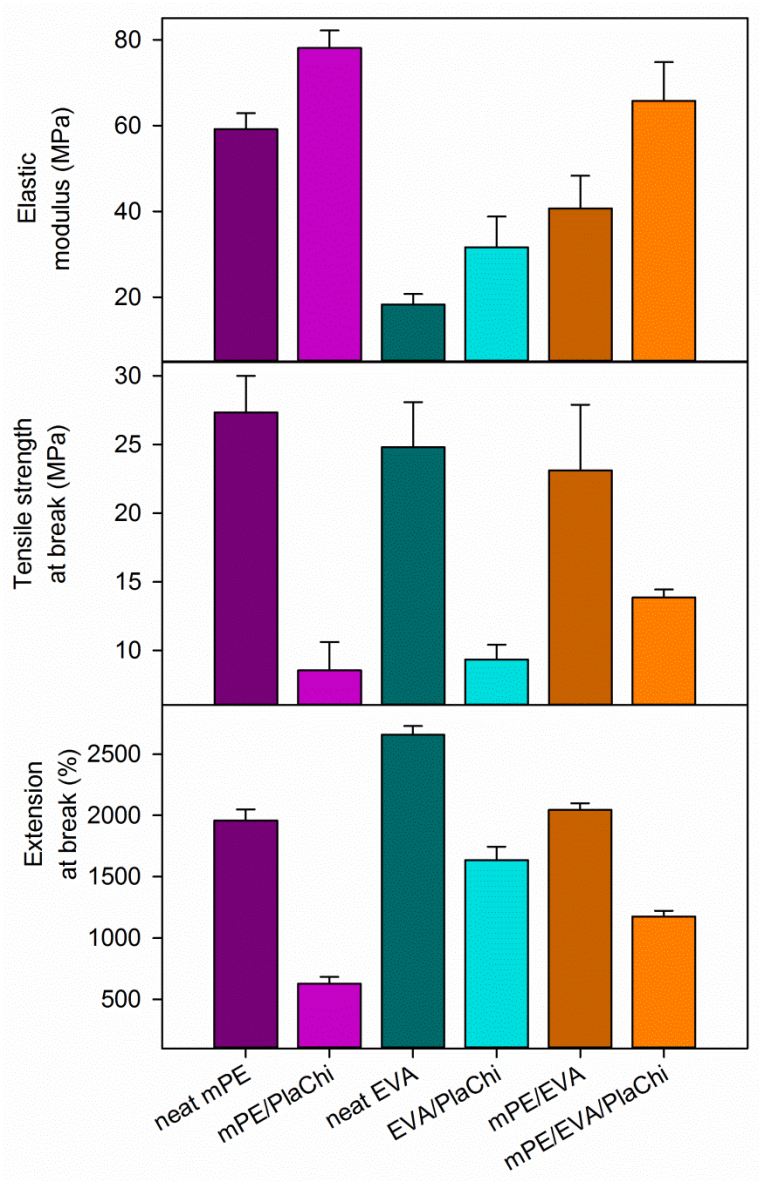


Figure 5-11: Tensile properties of selected blends, ratio matrix/PlaChi is constant at 50/50 (wt/wt)

Figure 5-11 shows the mechanical properties of selected neat polymers and blends. It appears that the addition of chitosan to mPE, EVA, or mPE/EVA blend increases the elastic modulus but decreases tensile stress and elongation at break. When chitosan is added to mPE, the elastic modulus increases by 32 %, but both tensile stress and elongation at break drop dramatically, by approximately 69 %. The beneficial effect of the EVA addition on mechanical properties of mPE/EVA/PlaChi blends is clearly evident. In comparison with the mechanical properties of the

mPE/PlaChi blend, EVA increases the tensile stress by 62 % and the elongation at break by 87 % but decreases the elastic modulus by 15 %. Nevertheless, in comparison with the mechanical properties of the neat mPE, EVA with plasticized chitosan increases the elastic modulus by 11 %. These improved tensile properties confirm the positive interactions between chitosan and EVA and the beneficial compatibilization role of the latter.

5.4.6 Antibacterial properties

Figure 5-12 reports the antibacterial properties of neat mPE in comparison with different systems. Part (a) of Figure 5-12 presents the effect of the chitosan/glycerol ratio on antibacterial properties for an acetic acid solution content of 3 % v/v and a chitosan/acetic acid solution ratio of 25/75 (wt/wt). The results for blends prepared with different percentages of acetic acid and different acetic acid solution/chitosan ratios are not shown because antibacterial properties have proven to be independent of these parameters and equivalent to the antibacterial properties of the blend with a chitosan/glycerol ratio of 67/33 (wt/wt), reported in Figure 5-12a.

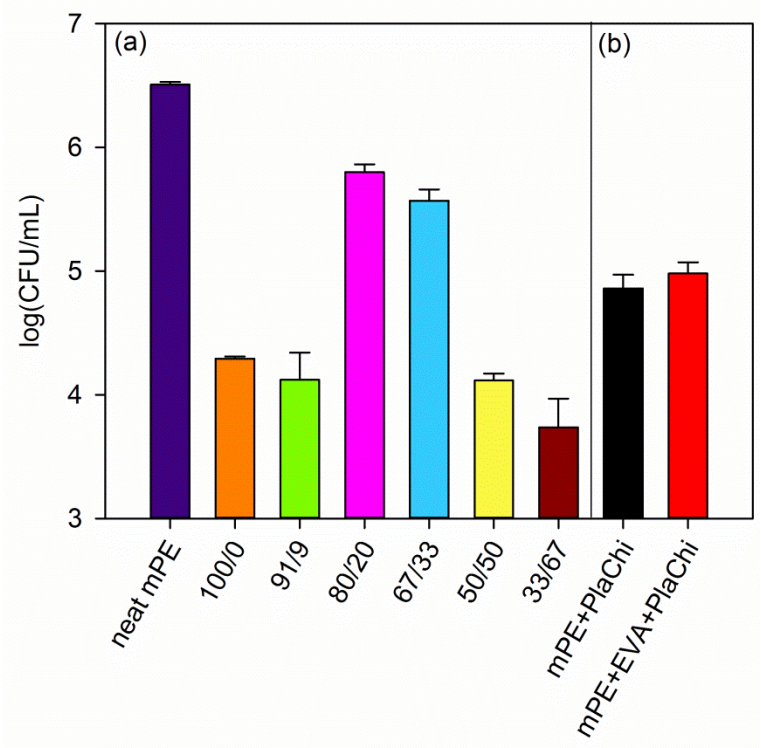


Figure 5-12: Inhibitory effects of different mPE-based films toward *E. coli* inoculated for 4 h at 25 °C and pH 5.5, a influence of chitosan/glycerol ratio, b influence of compatibilization with EVA (CFU colony-forming unit)

As shown, the survival of *E. coli* depends strongly on glycerol content. Indeed, glycerol is a polyol also named ‘‘sugar alcohol’’ and can be a nutrient (carbon source) for bacteria at low concentration or can cause bacteria inhibition at high concentration (bacteriostasis caused by low water activity following glycerol addition and increase of medium osmotic pressure) (Barr & Tice, 1957; Mille, Beney, & Gervais, 2002; Saegeman et al., 2008). For the ratios 100/0 and 91/9 (wt/wt), the chitosan-based systems could reduce the number of bacteria by approximately 2 log(CFU/mL) with respect to neat mPE, which is the decrease threshold for an acceptable antibacterial activity of any system.

However, when glycerol content increased in the formulation, the mPE/chitosan blends could reduce the number of bacteria by only 1 log(CFU/mL) with respect to neat mPE, an insufficient performance. Finally, for the ratios of 50/50 and 33/67 (wt/wt), in which glycerol is in excess, the number of colonies has decreased again by more than 2 log(CFU/mL), because the concentration of glycerol has become so high that it is lethal for the bacteria and acts as an inhibitor, as mentioned above.

Part (b) of Figure 5-12 examines the influence of compatibilization (addition of EVA) on antibacterial properties. It appears that the antibacterial properties of the blends are not severely affected after the EVA addition in the blend.

5.5 Conclusions

In this work, a thermo-mechanical treatment was used to plasticize chitosan before blending with mPE. Different plasticization formulations were tested, and the effects of acetic acid and glycerol on plasticized chitosan and mPE-based blend properties were examined. It was shown that chitosan plasticization was only partial in the presence of acetic acid solution and glycerol. The morphology of the blends was investigated by SEM, and rheological measurements were also performed on the different formulations.

An acetic acid solution was necessary to allow chitosan destructuration, but it appeared that the percentage of acetic acid in solution did not have a significant effect on morphological and rheological properties. However, it was also shown that a minimum ratio of acetic acid and chitosan should be considered to allow a good wetting of chitosan domains. Finally, the impact of glycerol on the morphology and the properties of the blend were examined: added in sufficient

quantity, it could cause breakup of chitosan domains, resulting in a finer morphology and better dispersion in the thermoplastic mPE matrix. The glycerol content also had a significant impact on the antibacterial properties.

The compatibilization between plasticized chitosan and mPE was improved by the addition of EVA. Chitosan domains presented a better dispersion in mPE/EVA blend than in neat mPE matrix. SEM images also showed that the EVA was located at the interface between chitosan domains and mPE. Consequently, mechanical properties of the mPE/plasticized chitosan blend were superior in the presence of EVA. In addition, the antibacterial activity was not affected by the presence of the compatibilizer.

At this stage, the chitosan plasticization method reported here provides a material with good antibacterial and mechanical properties and an appropriate visual aspect. Since it is obtained through a molten route, it may be easily scaled up and considered for industrial applications such as food packaging.

5.6 Acknowledgements

The authors thank the NIPMMP (Network for Innovative Plastic Materials and Manufacturing Processes) for the financial support of this work, and Ms. Mélina Hamdine for her assistance with the rheological measurements. The authors also gratefully acknowledge Prof. France Daigle and her research group at the Department of Microbiology and Immunology of the University of Montreal for the training and access to antibacterial measurements.

5.7 References

Akhlaghi, S., Sharif, A., Kalaee, M., Elahi, A., Pirzadeh, M., Mazinani, S., et al. (2012). Effect of stabilizer on the mechanical, morphological and thermal properties of compatibilized high density polyethylene/ethylene vinyl acetate copolymer/organoclay nanocomposites. *Materials & Design, 33*, 273-283.

Aryaei, A., Jayatissa, A. H., & Jayasuriya, A. C. (2012). Nano and micro mechanical properties of uncross-linked and cross-linked chitosan films. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, 5*(1), 82-89.

Avérous, L., & Halley, P. J. (2009). Biocomposites based on plasticized starch. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining, 3*(3), 329-343.

Balau, L., Lisa, G., Popa, M., Tura, V., & Melnig, V. (2004). Physico-chemical properties of Chitosan films. *Central European Journal of Chemistry, 2*(4), 638-647.

Barr, M., & Tice, L. F. (1957). A study of the inhibitory concentrations of glycerin-sorbitol and propylene glycol-sorbitol combinations on the growth of microorganisms. *Journal of the American Pharmaceutical Association, 46*(4), 217-218.

Brandrup, J., Immergut, E. H., Grulke, E. A., Abe, A., & Bloch, D. R. (2003). Polymer Handbook (4th Edition) J. Brandrup, E.H. Immergut & E.A. Grulke (Eds.), Retrieved from http://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpPHE00026/polymer-handbook-4th

Calleja, F. J. B., & Flores, A. (2002). Hardness *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*: John Wiley & Sons, Inc.

Epure, V., Griffon, M., Pollet, E., & Avérous, L. (2011). Structure and properties of glycerol-plasticized chitosan obtained by mechanical kneading. *Carbohydrate Polymers, 83*(2), 947-952.

Giraud-Guille, M.-M. (1998). Plywood structures in nature. *Current Opinion in Solid State and Materials Science, 3*(3), 221-227.

Huang, Z.-M., Zhang, Y. Z., Kotaki, M., & Ramakrishna, S. (2003). A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites Science and Technology, 63*(15), 2223-2253.

Imre, B., & Pukánszky, B. (2013). Compatibilization in bio-based and biodegradable polymer blends. *European Polymer Journal, 49*(6), 1215-1233.

Kittur, F. S., Vishu Kumar, A. B., & Tharanathan, R. N. (2003). Low molecular weight chitosans—preparation by depolymerization with Aspergillus niger pectinase, and characterization. *Carbohydrate Research, 338*(12), 1283-1290.

Kong, M., Chen, X. G., Xing, K., & Park, H. J. (2010). Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *International Journal of Food Microbiology, 144*(1), 51-63.

Leceta, I., Guerrero, P., Ibarburu, I., Dueñas, M. T., & de la Caba, K. (2013). Characterization and antimicrobial analysis of chitosan-based films. *Journal of Food Engineering, 116*(4), 889-899.

Li, J., Zivanovic, S., Davidson, P. M., & Kit, K. (2010). Characterization and comparison of chitosan/PVP and chitosan/PEO blend films. [Article]. *Carbohydrate Polymers, 79*(3), 786-791.

Li, J., Zivanovic, S., Davidson, P. M., & Kit, K. (2011). Production and characterization of thick, thin and ultra-thin chitosan/PEO films. *Carbohydrate Polymers, 83*(2), 375-382.

Luo, Z. P., & Koo, J. H. (2007). Quantifying the dispersion of mixture microstructures. *Journal of Microscopy, 225*(2), 118-125.

Martínez-Camacho, A. P., Cortez-Rocha, M. O., Graciano-Verdugo, A. Z., Rodríguez-Félix, F., Castillo-Ortega, M. M., Burgos-Hernández, A., et al. (2013). Extruded films of blended chitosan, low density polyethylene and ethylene acrylic acid. *Carbohydrate Polymers, 91*(2), 666-674.

Martino, V., Pollet, E., & Avérous, L. (2011). Novative Biomaterials Based on Chitosan and Poly(ε-Caprolactone): Elaboration of Porous Structures. *Journal of Polymers and the Environment, 19*(4), 819-826.

Matet, M., Heuzey, M.-C., Pollet, E., Ajji, A., & Avérous, L. (2013). Innovative thermoplastic chitosan obtained by thermo-mechanical mixing with polyol plasticizers. *Carbohydrate Polymers, 95*(1), 241-251.

Meng, Q., Heuzey, M.-C., & Carreau, P. J. (2014). Hierarchical Structure and Physicochemical Properties of Plasticized Chitosan. *Biomacromolecules*.

Mille, Y., Beney, L., & Gervais, P. (2002). Viability of *Escherichia coli* after combined osmotic and thermal treatment: a plasma membrane implication. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes, 1567*, 41-48.

Mir, S., Yasin, T., Halley, P. J., Siddiqi, H. M., & Nicholson, T. (2011). Thermal, rheological, mechanical and morphological behavior of HDPE/chitosan blend. *Carbohydrate Polymers, 83*(2), 414-421.

Murray, C. A., & Dutcher, J. R. (2006). Effect of Changes in Relative Humidity and Temperature on Ultrathin Chitosan Films. *Biomacromolecules, 7*(12), 3460-3465.

Nair, R., Reddy, B. H., Kumar, C. K. A., & Kumar, K. J. (2009). Application of Chitosan microspheres as drug carriers : A Review. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 1*(2), 1-12.

Olabisi, O., Robeson, L. M., & Shaw, M. T. (1979). *Polymer-Polymer Miscibility* (Academic Press ed.). New York.

Palierne, J. F. (1990). Linear rheology of viscoelastic emulsions with interfacial tension. *Rheologica Acta, 29*(3), 204-214.

Raabe, D., Sachs, C., & Romano, P. (2005). The crustacean exoskeleton as an example of a structurally and mechanically graded biological nanocomposite material. *Acta Materialia, 53*(15), 4281-4292.

Ravi Kumar, M. N. V. (2000). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers, 46*(1), 1-27.

Ravindra, R., Krovvidi, K. R., & Khan, A. A. (1998). Solubility parameter of chitin and chitosan. *Carbohydrate Polymers, 36*(2-3), 121-127.

Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science, 31*(7), 603-632.

Rinaudo, M., Pavlov, G., & Desbrières, J. (1999a). Influence of acetic acid concentration on the solubilization of chitosan. *Polymer, 40*(25), 7029-7032.

Saegeman, V. S. M., Ectors, N. L., Lismont, D., Verduyckt, B., & Verhaegen, J. (2008). Short- and long-term bacterial inhibiting effect of high concentrations of glycerol used in the preservation of skin allografts. *Burns, 34*(2), 205-211.

Shahidi, F., Arachchi, J. K. V., & Jeon, Y.-J. (1999). Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science & Technology, 10*(2), 37-51.

Takidis, G., Bikiaris, D. N., Papageorgiou, G. Z., Achilias, D. S., & Sideridou, I. (2003). Compatibility of low-density polyethylene/poly(ethylene-co-vinyl acetate) binary blends prepared by melt mixing. *Journal of Applied Polymer Science, 90*(3), 841-852.

Zhang, H. Z., He, Z. C., Liu, G. H., & Qia, Y. Z. (2009). Properties of Different Chitosan/Low-Density Polyethylene Antibacterial Plastics. [Article]. *Journal of Applied Polymer Science, 113*(3), 2018-2021.

Zivanovic, S., Li, J., Davidson, P. M., & Kit, K. (2007). Physical, Mechanical, and Antibacterial Properties of Chitosan/PEO Blend Films. *Biomacromolecules, 8*(5), 1505-1510.

CHAPITRE 6 ARTICLE 3 : PLASTICIZED CHITOSAN/POLYOLEFIN FILMS PRODUCED BY EXTRUSION

Marie Matet, Marie-Claude Heuzey, Abdellah Ajji

Chemical Engineering, Research center for high performance polymer and composite systems – CREPEC, Polytechnique Montréal. Montréal, Canada

6.1 Abstract

Plasticized chitosan-based films were produced through a single-pass extrusion process. Using a twin-screw extruder, chitosan plasticization was achieved in the presence of an acetic acid solution and glycerol, and directly mixed with metallocene polyethylene, mPE, and ethylene vinyl acetate, EVA, to produce a masterbatch. Different dilutions of the masterbatch (2, 5 and 10 wt% of plasticized chitosan) were achieved in single screw film extrusion. Very small plasticized chitosan domains (number average diameter < 5 μm) were visible in the polymeric matrix. Resulting films presented a brown color and increasing haze with chitosan plasticized content. Films with low chitosan fraction were found to exhibit interesting mechanical properties, with satisfactory elastic modulus and extension at break as a result of a good compatibility between mPE and chitosan in the presence of EVA. Finally the incorporation of plasticized chitosan affected mPE water vapor permeability while oxygen permeability remained constant.

6.2 Introduction

Environmental concerns have led plastic research towards the development of new materials based on natural polymers in order to decrease synthetic polymers consumption and impact on the environment. Bio-based materials such as starch, cellulose, protein-based plastics and chitosan have been studied for several years because of their good properties such as biocompatibility and biodegradability (Mekonnen, et al., 2013). Development of bio-based plastics is also an ideal way to use waste from agriculture or industries such as agro-processing and fisheries. Since these bio-based materials frequently suffer from mechanical weaknesses, blending with another thermoplastic may be a way to increase the bio-content in polymers while producing plastics with good functional properties and economically viable.

Chitosan is the most important derivative of chitin and is obtained through its deacetylation. Chitin is a biopolymer found, for instance, in the cell wall of fungi or in the shell of arthropods such as crustaceans (e.g., crabs, shrimps or lobsters), and is the most abundant polysaccharide on earth after cellulose (Domard & Rinaudo, 1983; Roberts, 1992). Because of its natural origin, non-toxicity, biocompatibility, biodegradability and antibacterial activity, chitosan has become a particularly interesting and attractive biomaterial in the last decades (Ravi Kumar, 2000; Marguerite Rinaudo, 2006). Chitosan can be used in several areas such as food industry (food coatings or edible films to improve food conservation using its antifungal, antibacterial and antimicrobial activity), waste water treatment (filtration due to metal capture by chelation), cosmetics and biomedical applications such as drug delivery systems owing to its wound healing properties, or artificial skin due to its efficiency against bacteria and viruses and structural characteristics (Farooqahmed S. Kittur, et al., 1998; Ravi Kumar, 2000; Marguerite Rinaudo, 2006).

Chitosan films are generally produced by solvent casting, i.e. by dilution of chitosan raw powder or flakes in an acidic aqueous solution, casting in thin layers followed by solvent evaporation (Balau, et al., 2004; Dutta, et al., 2009). Films prepared using this technique present high brittleness because of the frictional force between polymer chains, a limited surface area and low production yield (Leceta, Guerrero, Ibarburu, et al., 2013; Srinivasa, et al., 2007).

To overcome these drawbacks, chitosan films should ideally be prepared through a molten route via film extrusion (Correlo, et al., 2005; Martínez-Camacho, et al., 2013) or internal mixing

followed by compression molding (Mir, et al., 2011; Zhang, et al., 2009) like in the case of traditional thermoplastic polymers. However similarly to cellulose, chitosan exhibits a degradation temperature below its melting point, therefore chitosan-based materials prepared in typical polymer processing equipment incorporate solid chitosan particles in the form of powder or flakes. Those composite materials present a poor visual aspect (presence of large elliptical chitosan particles with dimensions of 40-300 μm in length and 15-30 μm in thickness (Martínez-Camacho, et al., 2013)) and low mechanical properties (Martínez-Camacho, et al., 2013; Mir, et al., 2011; Zhang, et al., 2009) due to incompatibility between chitosan which is hydrophilic and the hydrophobic polymer matrix.

Chitosan plasticization allows obtaining a deformable phase. Indeed, plasticization results in a lower glass transition temperature (Meng, et al., 2014) by decreasing the number of intermolecular bonds between polymer chains (Sears & Darby, 1982), and can improve film flexibility and facilitate chitosan processing (Srinivasa, et al., 2007; Suyatma, et al., 2005). In addition, plasticization in the "molten" state can be achieved through thermo-mechanical kneading, and production of chitosan-based films using this technique may approach industrial fabrication conditions. Such a plasticization technique has been developed since the nineties to facilitate the processing of bio-based plastics such as thermoplastic starch (TPS) (Avérous, 2004), cellulose acetate (Quintana, Persenaire, Bonnaud, & Dubois, 2012), protein-based plastics (Hernandez-Izquierdo & Krochta, 2008), polyhydroxyalkanoates (PHAs) (Holmes, 1985) or poly(lactic acid) (PLA) (Garlotta, 2001). More recently, this technique that uses mechanical and thermal energy, has been adapted to chitosan in the presence of polyols and an acetic acid aqueous solution to achieve plasticization (Epure, et al., 2011; Matet, et al., 2013).

In our previous work, chitosan plasticization was performed through thermo-mechanical treatment in an internal mixer in the presence of water, acetic acid and glycerol, and the plasticized material was melt-blended with metallocene polyethylene (mPE) and ethylene vinyl acetate (EVA) (Matet, Heuzey, & Ajji, 2014). Our observations have however revealed that the resulting chitosan plasticization was only partial and that an ordered microstructure remained. In the present work, the thermo-mechanical treatment is improved by achieving for the first time an extrusion process in order to produce a chitosan-based film with a higher degree of chitosan plasticization. Indeed, the processing method can affect the outcome of plasticization since higher shear stresses were shown to allow a reduction of processing temperature and the water content

required to achieve starch plasticization, as reported by Liu et al. (Liu, et al., 2009). A one-step extrusion process was developed for starch plasticization by Favis et al. ten years ago (Favis, Rodriguez, & Ramsay, 2003, 2005). This approach, applied to chitosan, may allow chitosan plasticization and its blend with a thermoplastic polymer in a single step. It should provide a better control of the thermal degradation of plasticized chitosan by reducing mixing time and hence contact time between the polymers at high temperature, and it should also improve the dispersion of the chitosan phase. In this work, chitosan is plasticized using a one-step extrusion process in the presence of glycerol and an acetic acid solution, and directly blended with metallocene polyethylene (mPE). This masterbatch is then diluted with mPE in presence of ethylene-vinyl acetate (EVA), for compatibilization purposes, in order to prepare films with different chitosan content. Detailed characterization of the chitosan-based materials is provided, including morphology, optical, thermal, mechanical, and oxygen and water vapor barrier properties.

6.3 Materials and methods

6.3.1 Materials

Chitosan in powder form (grade ChitoClear®) was purchased from Primex (Iceland). Its degree of deacetylation (DDA) is 96 %, its weight-average molecular weight is in the range 250-300 kDA and it contains 0.1 wt% ash residue (according to the manufacturer's specifications). Glacial acetic acid and glycerol, used for chitosan plasticization, were purchased from Sigma-Aldrich and used as received.

Metallocene polyethylene (mPE) Affinity PL1880, with a melt flow index of 1 g/10 min at 190 °C (ASTM 1238), was purchased from Dow Chemicals (USA). The melting temperature is 99 °C, as determined by differential scanning calorimetry.

Ethylene vinyl acetate (EVA) Evatane 28-05, containing 28 wt% vinyl acetate, was obtained from Arkema (France). Its meting point is 72 °C and it presents a melt flow index of 5 g/10min at 190 °C (ASTM 1238).

6.3.2 Sample preparation

The new procedure to prepare plasticized chitosan/polyolefin blend was based on the process developed by Favis et al. (Favis, et al., 2003, 2005). The one-step extrusion process consisted in the use of a single-screw extruder (SSE) connected to a co-rotating twin-screw extruder (TSE), as presented in Figure 6-1. The SSE has a L/D = 26 with L = 495 mm (Brabender, Germany), while the TSE has a L/D = 28 with L = 960 mm (Leistritz, Germany). The SSE was used for the melting of the thermoplastic polymer (mPE) and its introduction in the TSE. The TSE was divided in two functional parts: the first one was dedicated to chitosan plasticization and the second one to blending of plasticized chitosan and mPE.

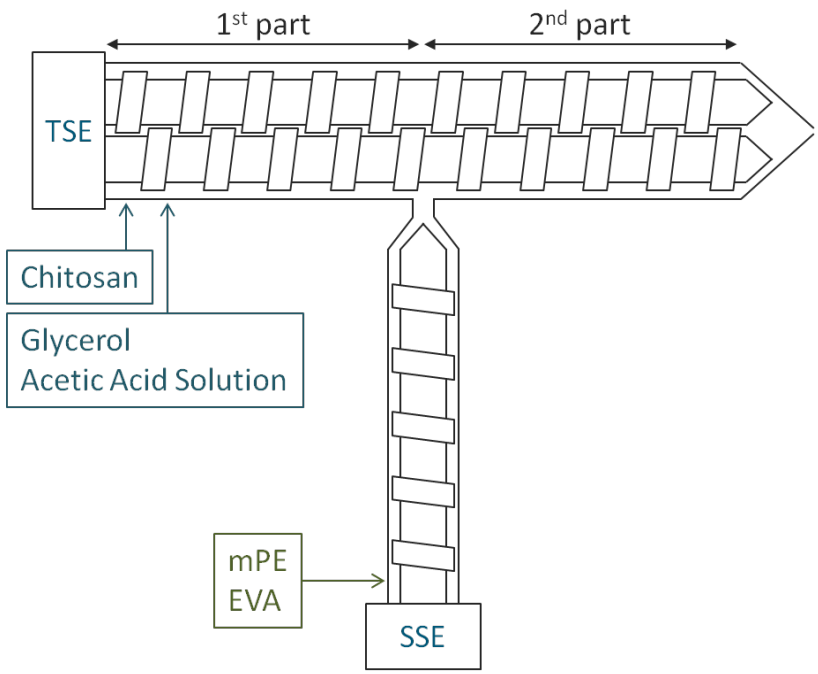


Figure 6-1: Schematic representation of the one-step extrusion process.

Plasticized chitosan was prepared with 20 wt% chitosan, 60 wt% of a 3 % v/v acetic acid solution and 20 wt% glycerol. A masterbatch containing 14 wt% of dry chitosan and 86 wt% of mPE was prepared, considering only the dry polymer part. Chitosan was fed in the first zone of the first part of the TSE. In the second zone, the acetic acid solution and glycerol were fed at the same time. Consequently, chitosan plasticization occurred in the first part of the TSE, at 105 °C and 150 rpm. In the SSE, mPE was molten at 155 °C and 110 rpm. The molten thermoplastic was introduced directly at the beginning of the second part of the TSE. Then, plasticized chitosan and

mPE were processed together in the second part of the TSE at 130 °C and 150 rpm. At the triple channel die exit, the extrudate was cooled in water and pelletized. At this point, to prevent the presence of residual water or acid acetic, pellets were dried at 60 °C for 2 days under vacuum.

Different dilutions of the pellets previously prepared in masterbatch were achieved by film extrusion, using a single-screw extruder (Killion, USA) at 145 °C and 8.4 rpm. EVA was also added for compatibilization purposes with a constant EVA/chitosan ratio of 1.5. The produced films were cooled by calendaring rolls at 29 °C. Films without EVA were also prepared for comparison. For the same reason, a film with only mPE and EVA was also prepared with the higher ratio mPE/EVA used (i.e. in the 10 wt% chitosan film, ratio of mPE/EVA was 5). The various formulations investigated are reported in Table 6-1.

Table 6-1: Formulations of the films prepared

Dry chitosan (wt%)	mPE (wt%)	EVA (wt%)
0	100	0
0	83	17
2	98	0
2	95	3
5	95	0
5	87.5	7.5
10	90	0
10	75	15

6.3.3 Characterization

6.3.3.1 Scanning Electron Microscopy (SEM)

To visualize the films morphology, a scanning electron microscope JEOL JSM-840 (Japan) was used at 10 kV accelerating voltage. Several films were press molded together at 120 °C in order to prepare a thicker section then cross-sections of these samples were cut at -150 °C using a microtome equipped with a glass knife and coated with gold.

Semi-automatic image analysis was performed with the software SigmaScan Pro (USA) to quantify the dispersed plasticized chitosan domains surface area. For each film, the surface area of more than 200 domains was measured for different samples and at different magnifications.

6.3.3.2 Optical property characterization: haze

UV-visible spectra of the films were obtained in accordance with the ASTM test method D1003. A Perkin Elmer Lambda 1050 spectrometer (USA) equipped with an integrating sphere was used. The total and diffuse transmittances were measured from 780 to 380 nm on several position of a film sample from each of two different batches of 25×25 mm^2 area. The haze was estimated as the ratio of diffuse to total transmittance.

6.3.3.3 Thermal behavior

6.3.3.3.1 Differential scanning calorimetry (DSC)

DSC measurements were performed using a TA Instruments Q1000 (USA). Characteristic temperatures (crystallisation and melting) were obtained from the second heating run at a rate of 10 °C/min from 25 °C to 150 °C, after a first run of heating up to 150 °C and cooling to 25 °C using the same rate, and under a nitrogen atmosphere. The weight of each sample was about 10 mg. Measurements were performed on processed films but also on neat polymers as received.

Crystallinity of the different samples (films and pellets as received) was calculated from the heat of fusion, determined by measuring the area of the melting peak and using this relationship: $X_c = \frac{\Delta H_f}{\Delta H_c} \times 100$, where X_c is the percentage of crystallinity, ΔH_f the fusion enthalpy of the sample and ΔHc the fusion enthalpy of a perfectly crystalline polymer (280 J/g for polyethylene and 68 J/g for EVA). DSC measurements on chitosan alone did not reveal any crystallisation, glass transition or melting temperature.

6.3.3.3.2 Thermogravimetric analysis (TGA)

A TA Instruments Q500 (USA) was used to determine the samples thermal degradation behavior. Temperature scans were performed from room temperature to 700 °C, using a heating rate of 10 °C/min under a nitrogen atmosphere. Each sample tested was less than 4 mg. Measurements were carried out on processed films but also on neat polymers as received.

6.3.3.4 Mechanical properties using uniaxial tensile testing

Tensile tests were performed on an Instron 3365 (USA). The tests were carried out at ambient temperature with films 2 cm wide and a gauge length of 5 cm. A constant stretching rate of 50 mm/min was applied. Mechanical properties were determined from the average of five measurements.

6.3.3.5 Barrier properties

Oxygen permeability was measured via a Mocon Ox-Tran Model 2/21 (USA) at ambient temperature and atmospheric pressure. The test cell used was a ST Module which can measure a transmission rate of 400 to 77000 cc/m^2.day. The film tested (100 cm^2) was positioned between the two chambers. On one side, the chamber was full of oxygen, and on the other side the chamber was full of nitrogen. The system uses a coulometric sensor (Coulox®) to detect oxygen transmission from one chamber to the other one.

The permeability to water vapor was measured via a Mocon Aquatran Model 1 (USA) designed for measuring low water vapor transmission, from 0.5×10^{-3} to 15×10^{-3} cc/m^2.day. Tests were performed at ambient temperature and atmospheric pressure. Films tested were 5 cm^2 in surface area.

For all permeability tests, four different samples of two different batches were analyzed.

6.3.3.6 Porosity measurement

The liquid intrusion method was used to measure porosity in mPE films. Some small section of films (15 x 15 mm^2 area) were first weighed and then immersed in a solution of pure ethanol overnight. Films were removed from the solution and their surface was softly wiped in order to remove ethanol in excess. Then, samples filled with ethanol were weighed. This measurement was performed for three specimens.

Porosity was calculated using the following equation:

$$Porosity\ (\%) = \mathcal{V}_{EtOH}/(\mathcal{V}_{EtOH}+\mathcal{V}_{mPE)} \times 100$$

where $\mathcal{V}_{mPE}=m_{dry}/\rho_{mPE}$ is the volume of the mPE film with m_{dry} the mass of the dry film *and* ρ_{mPE} the mPE density (0.902 mg/mm^3), and $\mathcal{V}_{EtOH}=(m_{wet}-m_{dry})/\rho_{EtOH}$ is the volume occupied

by ethanol in the pores of the film with m_{wet} the mass of the wet film and ρ_{EtOH} the ethanol density (0.789 mg/mm^3).

Another technique was used to correlate results by comparing apparent and theoretical density. To calculate the apparent density, the width and length of the samples were measured using a digital caliper and thickness using a digital thickness gauge. Then, porosity was evaluated using the following equation:

$$Porosity\ (\%) = (1 - \rho_{app}/\rho_{mPE}) \times 100$$

where ρ_{app} is sample mass divided by its volume.

6.4 Results and discussion

6.4.1 Microstructure

Figure 6-2 presents SEM images of the different mPE films prepared with 2, 5 or 10 wt% of dry chitosan (complete formulation described in Table 6-1) and compatibilized using EVA. Some small plasticized chitosan domains are visible in the polymeric matrix with no evidence of coalescence of chitosan domains, in agreement with previous studies (Martino, et al., 2011; Matet, et al., 2014).

The size of the visible domains was measured and no influence of the chitosan content was noticed. Chitosan plasticized domains were more spherical after twin-screw extrusion than the internal mixing process (Matet, et al., 2014). More than 55 % of the plasticized chitosan domains showed a diameter lower than 5 μm, and more than 35 % had a diameter between 5 and 10 μm. All chitosan domains measured were lower than 150 μm^2 in surface area. This value is smaller than the range previously observed for blends with similar formulation but prepared using an internal mixer (100 to 500 μm^2) (Matet, et al., 2014). This may be explained by the larger shear rate and the presence of a higher elongational flow component encountered in twin-screw extrusion, in comparison with internal batch mixing. Indeed, using a rough approximation, internal mixer and twin-screw extruder have been modeled as a Couette geometry and the calculated shear rate (Marić & Macosko, 2001) was 90 s^{-1} in the internal mixer at 100 rpm rotor speed (Matet, et al., 2014) and 270 s^{-1} in twin-screw extrusion at 150 rpm. Also, whatever the range of viscosity, it is has been shown that the breakage was easier in an elongational flow field

(Favis & Therrien, 1991). This increase in shear rate and elongational flow should improve plasticization (Liu, et al., 2009).

The size range of plasticized chitosan domains observed here is also smaller than chitosan particles in composite films prepared by twin-screw extrusion but without the plasticization step. In such cases, the morphology of the composite films showed that chitosan particles were about the same size than before processing. The size range of chitosan particles reported in this case was between 100 and 300 μm^2 (Bonilla, et al., 2013; Correlo, et al., 2005).

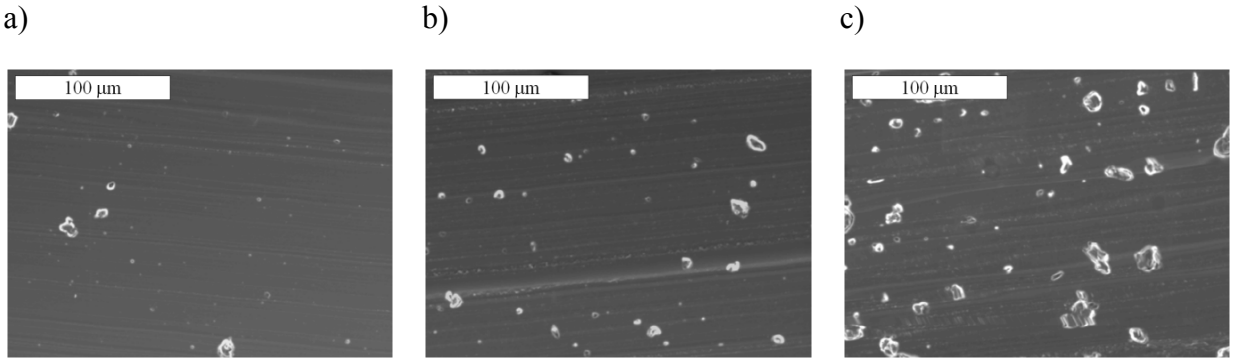


Figure 6-2: SEM micrographs of different films. a) 2 wt% chitosan, b) 5 wt% chitosan and c) 10 wt% chitosan.

6.4.2 Optical properties: haze

Even if the chitosan powder is originally yellowish, the films presented a brown color, more intense as the chitosan content increased as presented in Figure 6-3. That is probably due to the Maillard reaction that can occur when the carbonyl group reacts with the amino group (Namiki, 1988). This reaction is accelerated in the presence of water and high temperature. The Maillard reaction can result in a brownish color (Tanaka et al., 1993).

Figure 6-4 shows the haze value measured for the different films prepared. As expected, haze increased with the presence of chitosan. In comparison with the neat mPE, the addition of chitosan at 2, 5 and 10 wt% led to a multiplication by, respectively, 4.4, 15.5 and 22.1 of the haze value. On the other hand, the addition of EVA in the formulation of the films did not have a constant trend on haze. For 2 wt% chitosan, EVA led to an increase of 24 % of the haze, whereas, for 5 wt% chitosan, it caused only a slight increase of 5 %. Surprisingly, in the case of 10 wt% chitosan, the addition of EVA induced a decrease of 20 % in haze. Indeed, when the EVA

quantity increased in the films, their aspect was glossier and that could have influenced the haze value. This effect is not understood yet since no noticeable differences were observed in the size of the plasticized chitosan domains with and without EVA. However lower mPE cristallinity (next section) in the presence of EVA may contribute to better optical properties.

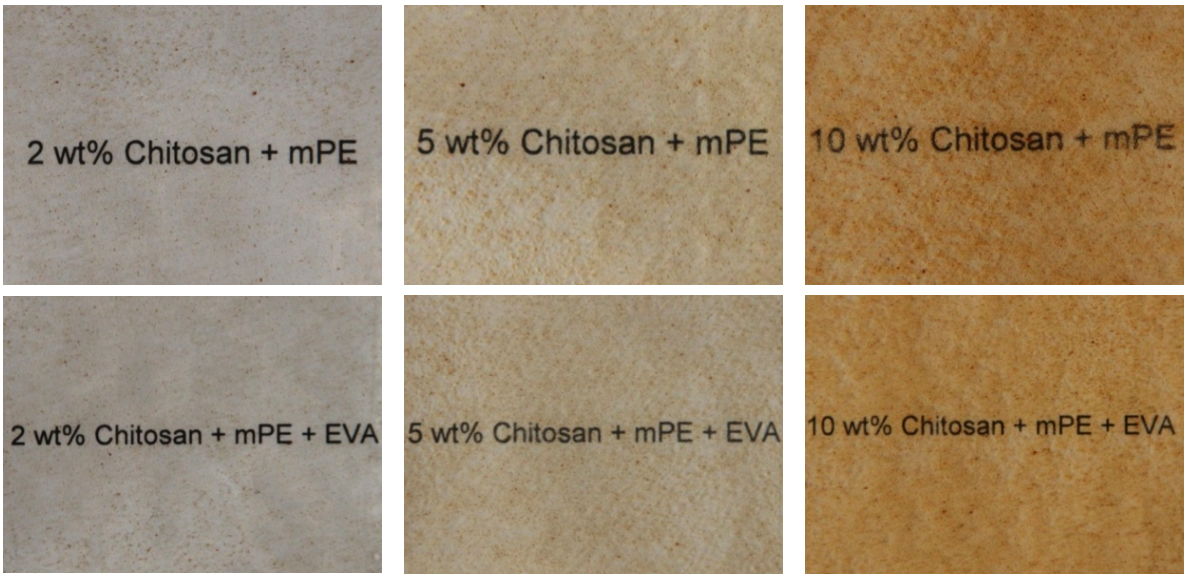


Figure 6-3: Plasticized chitosan-based films for different chitosan content.

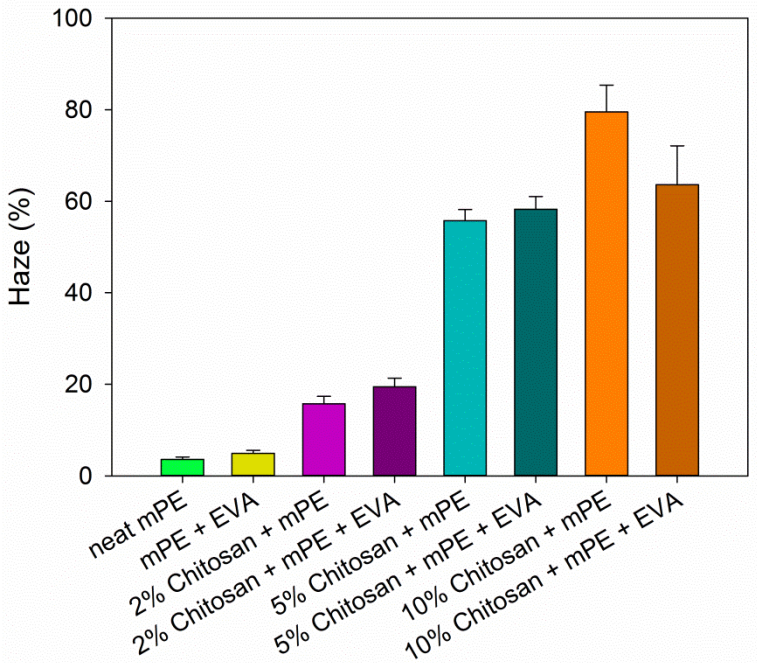


Figure 6-4: Haze value for the different films prepared.

6.4.3 Thermal properties

Characteristic temperatures (crystallisation and melting) and percentage of crystallinity obtained by DSC and TGA (degradation) are reported in Table 6-2. The first part of Table 6-2, shaded in grey, presents characteristic temperatures of the three polymers used as received. The second part of Table 6-2 presents characteristic temperatures of samples prepared after the one-step extrusion process and film extrusion. The first derivative of the thermogravimetric curves showed a degradation in one stage for all the samples, excepted for the neat EVA who exhibited a thermal degradation in two stages. The maximum temperatures in the first derivative curves for one or two stages are reported in Table 6-2 as T_{dmax}, with the corresponding remaining weights.

Table 6-2: Thermal properties measured by DSC and TGA for the neat polymers and the different films prepared

Sample	DSC			TGA			
						1st derivative	
	T_c (°C)	T_m (°C)	X_c (%)	$T_{98\%}$ (°C)	$T_{50\%}$ (°C)	T_{dmax} (°C)	Weight (%)
mPE (as-received)	88	100	21	441	493	497	39
EVA (as-received)	50	72	17	329	478	366 (1st) 488 (2nd)	88 (1st) 31 (2nd)
Chitosan (as-received)	-	-	-	36	361	311	71
mPE	86	101	20	416	472	477	36
mPE + EVA	86	99	18	369	475	478	30
2 wt% Chitosan + mPE	86	101	19	371	472	477	35
2 wt% Chitosan + mPE + EVA	86	100	18	305	469	475	35
5 wt% Chitosan + mPE	86	100	18	194	470	476	34
5 wt% Chitosan + mPE + EVA	86	100	16	191	468	474	34
10 wt% Chitosan + mPE	86	100	18	160	469	475	34
10 wt% Chitosan + mPE + EVA	86	100	15	155	466	473	36

Crystallisation and melting temperatures of the neat mPE film were respectively 86 and 100 °C, which is the same as the mPE as received. EVA presented lower characteristic temperatures: 50 and 72 °C, respectively, for crystallisation and melting temperatures.

As shown in Table 6-2, whatever the chitosan percentage present in the mPE/EVA films, characteristic temperatures remained constant.

It appears that mPE showed a higher crystallinity than EVA, while the mPE/EVA film exhibited an intermediate value of crystallinity. The crystallinity content did not decrease significantly after the addition of plasticized chitosan, but did in the combined presence of chitosan and EVA.

The $T_{98\%}$, $T_{50\%}$ and T_{dmax} values show that the mPE film degradation was faster after processing than the mPE pellets as-received, possibly due to the thermo-mechanical treatment, even though mPE is not recognized to be prone to this type of degradation. As-received EVA, a copolymer of ethylene and vinyl acetate, presented a thermal degradation in two steps indicated in Table 6-2 as 1st and 2nd for T_{dmax} and the corresponding weight.

Figure 6-5 presents TGA curves for the different films prepared with plasticized chitosan, mPE and EVA. The chitosan content present in the film was evaluated from the residue obtained at the end of the TGA experiment, attributed only to chitosan. True chitosan content was estimated to be 1.2, 4.1 and 8.7 wt%, respectively, for the films with a nominal content of 2, 5 and 10 wt% of chitosan.

In the presence of chitosan, thermal degradation tended to be initiated earlier (decreased $T_{98\%}$) as the chitosan content increased. This result was predictable since chitosan alone showed a faster thermal degradation than mPE. However, the $T_{50\%}$ value was nearly, stable independently of the chitosan content in comparison with the mPE alone. This may indicate that the thermal degradation of chitosan was not dominant in the remaining part of the curve and could be attributed strictly to mPE.

In the thermal degradation of the different films was also slightly faster in the presence of EVA, which by itself showed a faster degradation than mPE (Table 6-2).

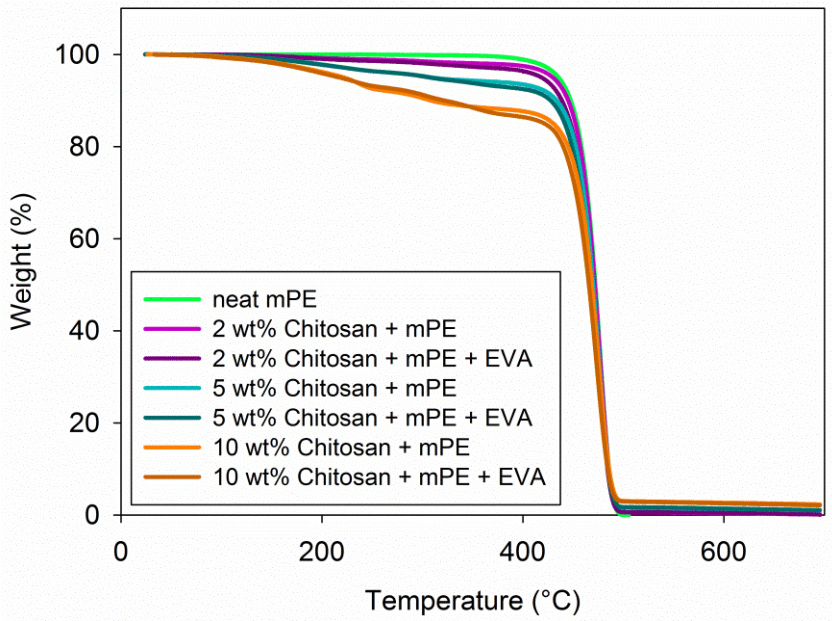


Figure 6-5: TGA curves of plasticized chitosan/mPE and EVA films

6.4.4 Mechanical properties

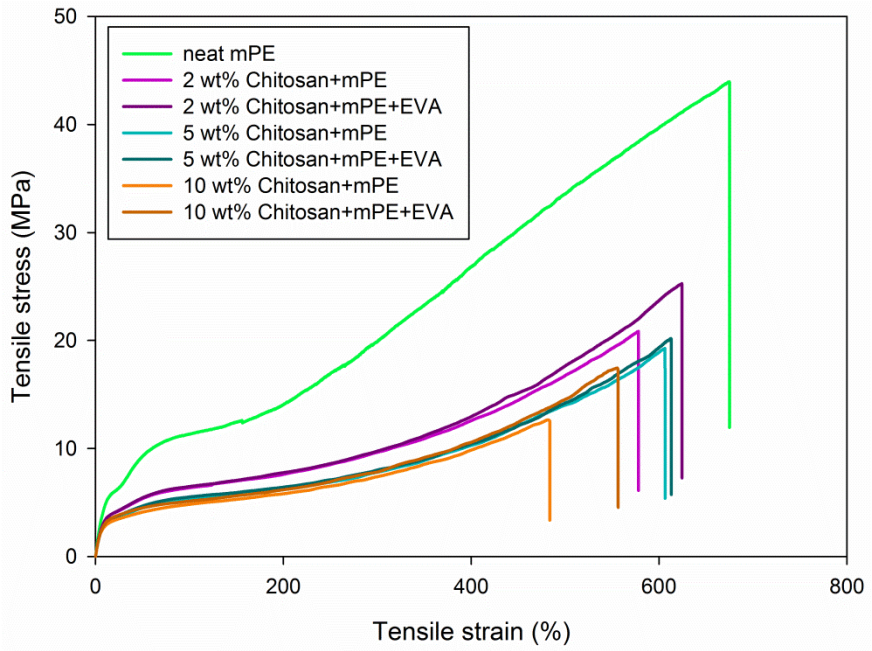
Figure 6-6 shows typical stress-strain tensile curves and the average mechanical properties of neat mPE, mPE/EVA, plasticized chitosan/mPE, and plasticized chitosan/mPE/EVA films containing different chitosan contents.

Neat mPE presented a ductile behavior with an important plastic deformation. This behavior was somehow influenced by the presence of plasticized chitosan and EVA.

The elastic modulus of neat mPE was negatively affected by the addition of plasticized chitosan, and continued to decrease with the EVA addition, except for the 10 wt% chitosan film. Indeed, EVA itself exhibits a poor elastic modulus in comparison with mPE (Matet, et al., 2014), in and had a negative influence on the behavior of the mPE/EVA film. On the other hand, the decrease of the elastic modulus in the presence of chitosan seems to indicate that chitosan did not act as a filler but as a second (or third) polymeric component in the film, which may confirm successful chitosan plasticization.

Tensile stress at yield decreased with plasticized chitosan, however, EVA had a good impact, showing that it played its role as a compatibilizer between mPE and plasticized chitosan.

a)



b)

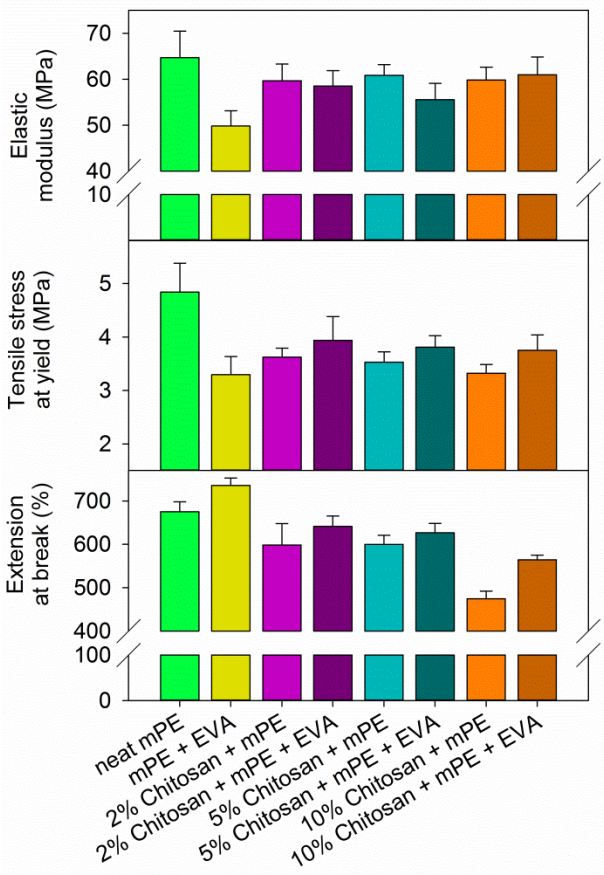


Figure 6-6: Mechanical properties of neat mPE and various plasticized chitosan/mPE/EVA based films a) Typical stress-strain curves, b) Tensile properties.

Extension at break of mPE was also influenced by plasticized chitosan. Addition of 2, 5 and 10 wt% of chitosan led to a decrease in extension at break of 11, 11 and 30 %, respectively. After compatibilization with EVA, the decrease in extension at break was less impacted by plasticized chitosan, the decrease was only 5, 7 and 16 % for 2, 5 and 10 wt% of chitosan, respectively.

6.4.5 Barrier properties

6.4.5.1 Oxygen permeability

Transport mechanisms for a gas through a polymeric film can be divided into three main stages: first, adsorption of the gas by the film at the interface with the ambient atmosphere; second, the gas diffusion inside and through the polymer film via a series of jumps from a free space to another, this step is the slowest; third, desorption and diffusion of the gas from the film interface to the ambient atmosphere (McKeen, 2012a). Depending on its own barrier properties and quality of the film, the addition of a second polymer or a filler can increase or decrease the barrier properties of a polymeric film. Also, crystallinity of the film will have an impact on the quality of barrier properties: generally permeability decreases when the percentage of crystallinity increases (Flaconneche, Martin, & Klopffer, 2001). Figure 6-7 presents the oxygen permeability measured for films of neat mPE, mPE and EVA, and the different films prepared with plasticized chitosan, mPE and EVA. The neat mPE film presented a high oxygen permeability (400 μL/[m.day.atm), the same order of magnitude than low density polyethylene (225 μL/[m.day.atm] for PE with a density of 0.915 g/cm^3) (McKeen, 2012b), which is reasonable considering that the density of mPE Affinity PL1880G is 0.902 g/cm^3. The permeability was nearly unchanged after the addition of plasticized chitosan and EVA. Those results were not expected. Indeed, addition of chitosan or EVA should lead to an increase in oxygen permeability. Chitosan films alone prepared by solvent casting exhibit low oxygen barrier properties (7 μL/[m.day.atm]) (Leceta, Guerrero, & de la Caba, 2013), even lower than mPE or EVA (450 μL/[m.day.atm]) (McKeen, 2012a). Also, the glycerol present in the plasticization formulation may have an effect on permeability: it was shown that oxygen permeability increased in the presence of glycerol (Kurek et al., 2012; Leceta, Guerrero, & de la Caba, 2013). In addition, EVA enhances the polarity of polyethylene, leading to a loss of interaction between the polymer and non-polar oxygen, causing higher oxygen permeability. Besides, EVA has large vinyl acetate side groups, and, when mixed with mPE, the

space between the polymer chains increases, resulting in more channels for oxygen transportation (Ali Dadfar, Alemzadeh, Reza Dadfar, & Vosoughi, 2011). In addition, a slight decrease in the percentage of crystallinity observed from DSC (Table 6-2) for the film with the highest content of plasticized chitosan and EVA and should have resulted in a higher permeability, contrary to what Figure 6-7 shows. Two different approaches, namely the comparison of true and theoretical density and liquid intrusion method, were used to verify the possible presence of pores in the films that could control the oxygen permeability and rule out the effect of formulation. However the presence of pores was not evidenced by any of the characterization technique. Overall it is possible that the high oxygen permeability of neat mPE could not be worsened by the presence of plasticized chitosan and EVA.

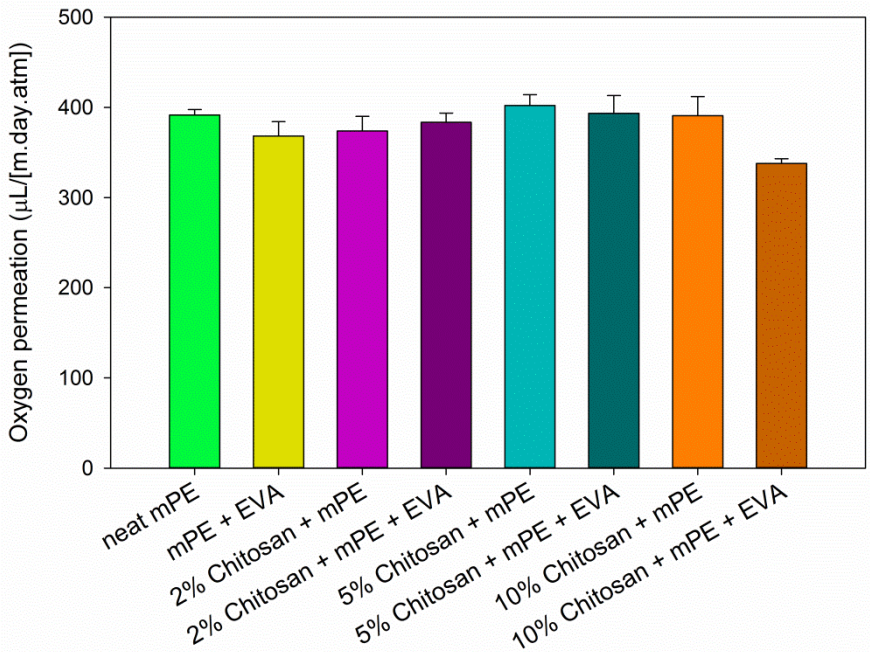


Figure 6-7: Oxygen permeability of different films at ambient temperature and pressure.

6.4.5.2 Water vapor permeability (WVP)

Water vapor permeability (WVP) values are presented in Figure 6-8 for films of neat mPE and the different films prepared with plasticized chitosan, mPE and EVA. The presence of chitosan clearly leads to an increase of the WVP value. That can be explain by the strong hydrophilic character of chitosan (Marguerite Rinaudo, 2006) by opposition to the hydrophobic character of mPE. The transport of water molecules through the film could have been facilitated after the addition of plasticized chitosan. Also, since EVA is a copolymer with vinyl acetate groups, it

would be more polar that mPE and would allow easier transport of water molecules through the film. Note that according to Table 1, the content of EVA varies according to the quantity of chitosan, except for sample mPE + EVA that contains nearly as much EVA than sample 10% chitosan + mPE + EVA. Therefore the combined effect of EVA and plasticized chitosan greatly increases the permeability of the films to water vapor.

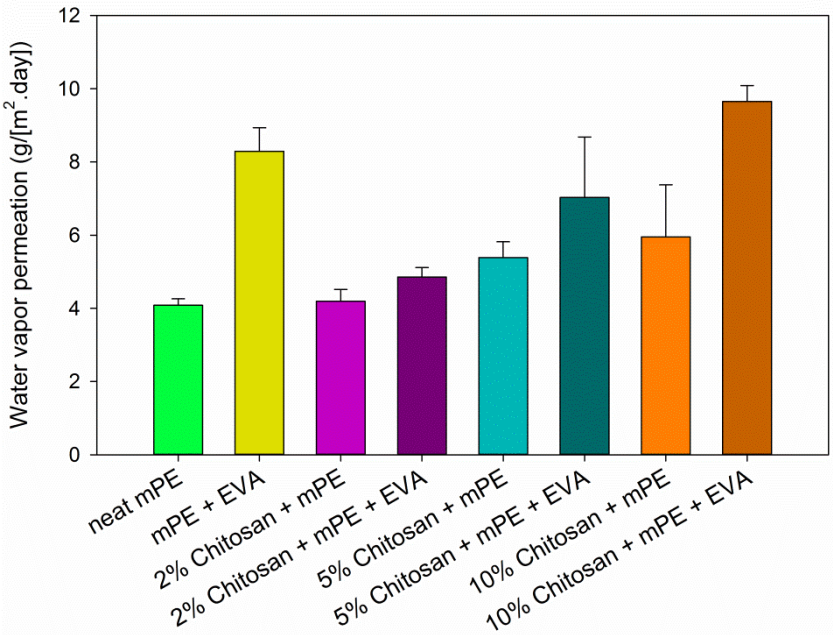


Figure 6-8: Water vapor permeability of different films at 100 %RH, 37.8 °C and ambient pressure.

6.5 Conclusions

In this work, polymeric films with 2, 5 and 10 wt% of plasticized chitosan were produced for the first time through an extrusion process. A twin screw extruder (TSE) allowed chitosan plasticization and its blending with molten mPE and EVA, fed in parallel by a single screw extrusion (SSE) connected to the TSE.

SEM images of the films showed plasticized chitosan domains more than 5 times smaller than the particles observed for films prepared by internal batch mixing in previous studies. Visual aspect and haze were affected by the addition of chitosan, the intensity of the brown color of the film and the haze increased with plasticized chitosan content. Characteristic temperatures of mPE (melting and crystallisation temperatures) remained constant independently of the chitosan quantity present in the film. Also, thermal degradation tended to be initiated earlier in the

presence of chitosan and when its content increased. Mechanical properties were also affected by the presence of chitosan. However, a small content of plasticized chitosan (2 wt% of dry chitosan) did not have a strong effect on the elastic modulus and extension at break. Finally, oxygen permeability was not affected by the addition of plasticized chitosan addition while water vapor permeability increased.

The extrusion process proposed here allows the preparation of plasticized chitosan-based materials on an industrial scale. The morphology of these films is finer than what was obtained in previous studies based on batch mixing, there is no detrimental effect on mechanical properties of mPE and the visual aspect of the films remains acceptable. Nevertheless more studies remain to be achieved in order to improve further the material properties, both in terms of material formulation and processing conditions.

6.6 Acknowledgments

The authors acknowledge the NIPMMP (Network for Innovative Plastic Materials and Manufacturing Processes) of NSERC (*Natural Sciences and Engineering Research Council* of Canada) for the financial support of this work. The authors would like to thank Dr Basil Favis, Dr. Pierre Sarazin and Aymen Ghouila of Cerestech Inc. for their help in the development of the one-step extrusion process. The authors also thank Guillaume Lessard at Polytechnique Montreal for his assistance in film extrusion.

6.7 References

Ali Dadfar, S. M., Alemzadeh, I., Reza Dadfar, S. M., & Vosoughi, M. (2011). Studies on the oxygen barrier and mechanical properties of low density polyethylene/organoclay nanocomposite films in the presence of ethylene vinyl acetate copolymer as a new type of compatibilizer. *Materials & Design, 32*(4), 1806-1813.

Avérous, L. (2004). Biodegradable Multiphase Systems Based on Plasticized Starch: A Review. *Polymer Reviews, 44*(3), 231 - 274.

Balau, L., Lisa, G., Popa, M., Tura, V., & Melnig, V. (2004). Physico-chemical properties of Chitosan films. *Central European Journal of Chemistry, 2*(4), 638-647.

Bonilla, J., Fortunati, E., Vargas, M., Chiralt, A., & Kenny, J. M. (2013). Effects of chitosan on the physicochemical and antimicrobial properties of PLA films. *Journal of Food Engineering, 119*(2), 236-243.

Correlo, V. M., Boesel, L. F., Bhattacharya, M., Mano, J. F., Neves, N. M., & Reis, R. L. (2005). Properties of melt processed chitosan and aliphatic polyester blends. [Article]. *Materials Science and Engineering a-Structural Materials Properties Microstructure and Processing, 403*(1-2), 57-68.

Domard, A., & Rinaudo, M. (1983). Preparation and characterization of fully deacetylated chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules, 5*(1), 49-52.

Dutta, P. K., Tripathi, S., Mehrotra, G. K., & Dutta, J. (2009). Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry, 114*(4), 1173-1182.

Epure, V., Griffon, M., Pollet, E., & Avérous, L. (2011). Structure and properties of glycerol-plasticized chitosan obtained by mechanical kneading. *Carbohydrate Polymers, 83*(2), 947-952.

Favis, B. D., Rodriguez, F., & Ramsay, B. A. (2003). US Patent No. 6,605,657 B1.

Favis, B. D., Rodriguez, F., & Ramsay, B. A. (2005). US Patent No. 6,844,380 B2.

Favis, B. D., & Therrien, D. (1991). Factors influencing structure formation and phase size in an immiscible polymer blend of polycarbonate and polypropylene prepared by twin-screw extrusion. *Polymer, 32*(8), 1474-1481.

Flaconneche, B., Martin, J., & Klopffer, M., H. (2001). Permeability, Diffusion and Solubility of Gases in Polyethylene, Polyamide 11 and Poly (Vinylidene Fluoride). *Oil & Gas Science and Technology - Rev. IFP, 56*(3), 261-278.

Garlotta, D. (2001). A Literature Review of Poly(Lactic Acid). *Journal of Polymers and the Environment, 9*(2), 63-84.

Hernandez-Izquierdo, V. M., & Krochta, J. M. (2008). Thermoplastic Processing of Proteins for Film Formation—A Review. *Journal of Food Science, 73*(2), R30-R39.

Holmes, P. A. (1985). Applications of PHB - a microbially produced biodegradable thermoplastic. *Physics in Technology, 16*(1), 32.

Kittur, F. S., Kumar, K. R., & Tharanathan, R. N. (1998). Functional packaging properties of chitosan films. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A, 206*(1), 44-47.

Kurek, M., Ščetar, M., Voilley, A., Galić, K., & Debeaufort, F. (2012). Barrier properties of chitosan coated polyethylene. *Journal of Membrane Science, 403–404*(0), 162-168.

Leceta, I., Guerrero, P., & de la Caba, K. (2013). Functional properties of chitosan-based films. *Carbohydrate Polymers, 93*(1), 339-346.

Leceta, I., Guerrero, P., Ibarburu, I., Dueñas, M. T., & de la Caba, K. (2013). Characterization and antimicrobial analysis of chitosan-based films. *Journal of Food Engineering, 116*(4), 889-899.

Liu, H., Xie, F., Yu, L., Chen, L., & Li, L. (2009). Thermal processing of starch-based polymers. *Progress in Polymer Science, 34*(12), 1348-1368.

Marić, M., & Macosko, C. W. (2001). Improving polymer blend dispersion in mini-mixers. *Polymer Engineering & Science, 41*(1), 118-130.

Martínez-Camacho, A. P., Cortez-Rocha, M. O., Graciano-Verdugo, A. Z., Rodríguez-Félix, F., Castillo-Ortega, M. M., Burgos-Hernández, A., et al. (2013). Extruded films of blended chitosan, low density polyethylene and ethylene acrylic acid. *Carbohydrate Polymers, 91*(2), 666-674.

Martino, V., Pollet, E., & Avérous, L. (2011). Novative Biomaterials Based on Chitosan and Poly(ε-Caprolactone): Elaboration of Porous Structures. *Journal of Polymers and the Environment, 19*(4), 819-826.

Matet, M., Heuzey, M.-C., & Ajji, A. (2014). Morphology and antibacterial properties of plasticized chitosan/metallocene polyethylene blends. *Journal of Materials Science, 49*(15), 5427-5440.

Matet, M., Heuzey, M.-C., Pollet, E., Ajji, A., & Avérous, L. (2013). Innovative thermoplastic chitosan obtained by thermo-mechanical mixing with polyol plasticizers. *Carbohydrate Polymers, 95*(1), 241-251.

McKeen, L. W. (2012a). Introduction to Permeation of Plastics and Elastomers *Permeability Properties of Plastics and Elastomers (3rd edition)*: Elsevier.

McKeen, L. W. (2012b). Polyolefns, Polyvinyls, and Acrylics *Permeability Properties of Plastics and Elastomers (3rd Edition)*: Elsevier.

Mekonnen, T., Mussone, P., Khalil, H., & Bressler, D. (2013). Progress in bio-based plastics and plasticizing modifications. [10.1039/C3TA12555F]. *Journal of Materials Chemistry A, 1*(43), 13379-13398.

Meng, Q., Heuzey, M.-C., & Carreau, P. J. (2014). Hierarchical Structure and Physicochemical Properties of Plasticized Chitosan. *Biomacromolecules*.

Mir, S., Yasin, T., Halley, P. J., Siddiqi, H. M., & Nicholson, T. (2011). Thermal, rheological, mechanical and morphological behavior of HDPE/chitosan blend. *Carbohydrate Polymers, 83*(2), 414-421.

Namiki, M. (1988). Chemistry of Maillard Reactions: Recent Studies on the Browning Reaction Mechanism and the Development of Antioxidants and Mutagens. In C.O. Chichester & B.S. Schweigert (Eds.), *Advances in Food Research* (Vol. Volume 32, pp. 115-184): Academic Press.

Quintana, R., Persenaire, O., Bonnaud, L., & Dubois, P. (2012). Recent advances in (reactive) melt processing of cellulose acetate and related biodegradable bio-compositions. [10.1039/C1PY00421B]. *Polymer Chemistry, 3*(3), 591-595.

Ravi Kumar, M. N. V. (2000). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers, 46*(1), 1-27.

Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science, 31*(7), 603-632.

Roberts, G. A. F. (1992). *Preparation of Chitin and Chitosan*.

Sears, J. K., & Darby, J. R. (1982). Mechanism of Plasticizers Action. In J.K.S.a.J.R. Darby (Ed.), *The Technology of Plasticizers* (pp. 35-77): John Wiley and Sons.

Srinivasa, P. C., Ramesh, M. N., & Tharanathan, R. N. (2007). Effect of plasticizers and fatty acids on mechanical and permeability characteristics of chitosan films. *Food Hydrocolloids, 21*(7), 1113-1122.

Suyatma, N. E., Tighzert, L., Copinet, A., & Coma, V. (2005). Effects of Hydrophilic Plasticizers on Mechanical, Thermal, and Surface Properties of Chitosan Films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53*(10), 3950-3957.

Tanaka, M., Huang, J. R., Chiu, W. K., Ishizaki, S., & Taguchi, T. (1993). Effect of the Maillard Reaction on Functional Properties of Chitosan. *Nippon Suisan Gakkaishi, 59*(11), 1915-1921.

Zhang, H. Z., He, Z. C., Liu, G. H., & Qia, Y. Z. (2009). Properties of Different Chitosan/Low-Density Polyethylene Antibacterial Plastics. *Journal of Applied Polymer Science, 113*(3), 2018-2021.

CHAPITRE 7 DISCUSSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

L'objectif de l'étude était de plastifier le chitosane par voie fondue afin de produire un emballage alimentaire ayant des propriétés antibactériennes. Deux aspects de cette transformation ont été étudiés : la formulation (présence d'un plastifiant et d'une solution acide) et la mise en œuvre (mélangeur interne ou extrusion). Finalement, une plastification partielle en présence de glycérol et d'une solution d'acide acétique a été accomplie par extrusion.

En vue de produire des emballages alimentaires techniques, le chitosane apparaît comme un additif intéressant de part ses propriétés comme son effet bactéricide. L'ajout du chitosane à un film polymère mince permettrait la conservation des aliments, de type viande, plus longtemps. Les emballages plastiques étant fabriqués par voie fondue, l'intégration du chitosane doit aussi se faire par ce biais. La plastification de celui-ci a alors été choisie afin de pallier à certains de ses inconvénients comme le fait qu'il ne présente pas de température de fusion avant sa température de dégradation. Cette plastification déjà élaborée en solution en présence d'une solution d'acide acétique et de glycérol (Quijada-Garrido, et al., 2006; Srinivasa, et al., 2007; Suyatma, et al., 2005) apparaît possible par voie fondue avec l'ajout d'un traitement thermo-mécanique dans la méthodologie.

7.1 Choix d'un plastifiant

En s'appuyant sur le travail d'Epure et al. (Epure, et al., 2011), la première partie de cette thèse (Chapitre 4)) s'est dirigée vers la plastification du chitosane seul dans un mélangeur interne. Afin d'améliorer la technique de plastification sur le chitosane, un groupe de polyols a été testé comprenant le glycérol, qui est traditionnellement utilisé, ainsi que le xylitol et le sorbitol, faisant aussi partie des sucre-alcools mais avec des poids moléculaires plus élevés que le glycérol. Ce type de plastifiant a aussi déjà été utilisé dans la plastification du chitosane en solution (Arvanitoyannis, et al., 1997; Quijada-Garrido, et al., 2006; Suyatma, et al., 2005).

Différentes proportions de plastifiant ont aussi été étudiées. Le premier résultat étonnant obtenu dans ce travail est l'aspect du chitosane plastifié sur les images SEM. En effet, des zones, interprétées comme étant un empilement de plans successifs du chitosane, sont visibles au sein d'une matrice apparemment amorphe. Cet aspect du chitosane n'avait pas été jusque-là publié. La présence de l'empilement de plans successifs semble indiquer que des parties cristallines, ou non-

plastifiées, du chitosane sont toujours existantes. Ce résultat a été confirmé par la diffraction de rayons X qui montre la présence de cristaux dans le matériau analysé. Le chitosane ne serait alors que modérément plastifié. Il a bien été confirmé grâce aux analyses FTIR que les polyols et la solution ont réagi avec le chitosane (liaison avec le groupe amide du chitosane). L'étude des propriétés thermiques des différents échantillons de chitosane plastifié n'est pas complète. En effet, seule la thermogravimétrie (TGA) a pu être utilisée. La calorimétrie différentielle à balayage (DSC) ne révèle pas de température de transition vitreuse (T_g) ni de température de fusion. Des difficultés de mise en place des échantillons pour effectuer des spectromètres mécaniques dynamiques (DMA) n'ont pas permis de réaliser ces analyses. En effet, les échantillons étaient trop mous le lendemain de leur mise en œuvre et tombés sous leur propre poids. Après évaporation de l'eau, la géométrie des échantillons étaient difficilement contrôlables pour pouvoir effectuer les tests de DMA. Par conséquent, aucun résultat n'a pu être amené sur la baisse de la T_g avec l'ajout des polyols au chitosane comme il a été fait dans un autre travail sur la plastification du chitosane et présenté sur la Figure 7-1 (Meng, et al., 2014) et qui est un indicatif de la qualité de la plastification.

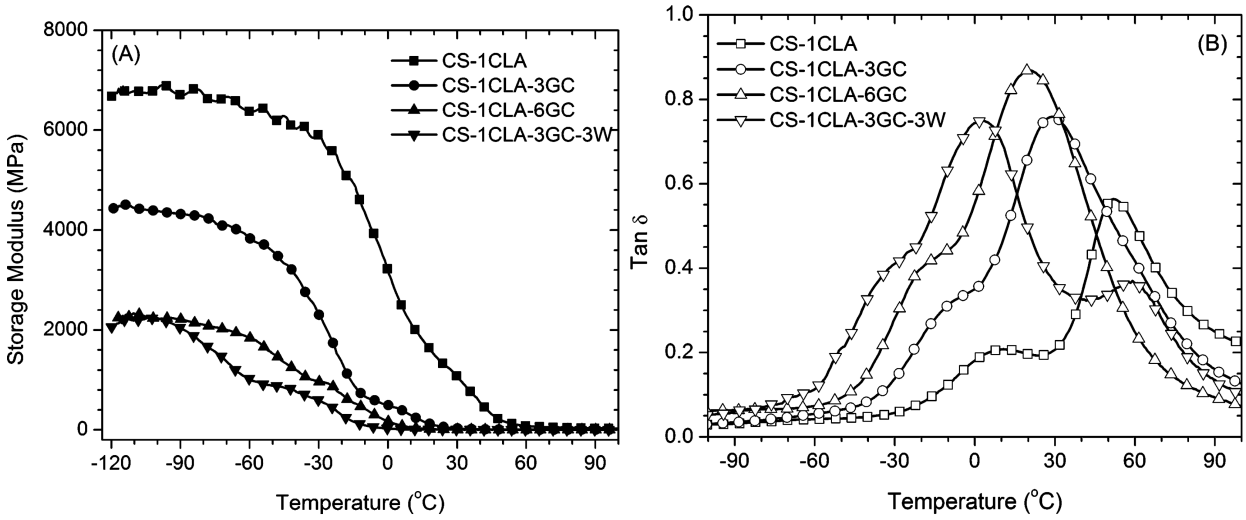


Figure 7-1 : Diminution de la Tg visible sur les spectres DMA (Meng, et al., 2014)

L'influence de la quantité et du choix du polyol sur les propriétés (thermiques, mécaniques et rhéologiques) du chitosane plastifié est étudiée dans cette partie. Le sorbitol est le polyol avec le plus haut poids moléculaire et le plus grand nombre de groupements OH. Il apporte les meilleures propriétés thermiques et mécaniques et a plus de possibilité de réagir avec le chitosane, par contre il a été vu qu'il pouvait recristalliser à température ambiante. Par contre, dans la suite de la

recherche nous avons préféré continuer le travail de plastification avec le glycérol, qui a le plus faible poids moléculaire. Le glycérol, qui ne recristallise pas à la température ambiante, est le polyol qui réduit le plus la cristallinité du chitosane. Il est de plus traditionnellement utilisé dans la plastification du chitosane en voie liquide ou de l'amidon en voie fondue ce qui, pour le travail futur, est rassurant pour appuyer les prochains résultats avec la littérature existante.

7.2 Plastification du chitosane

Pour comprendre les mécanismes mis en jeu lors de la plastification du chitosane, les effets de la solution d'acide acétique et du glycérol sur différentes propriétés d'un mélange chitosane/mPE ont été étudiés. En effet, le chitosane plastifié a été mélangé à un polyéthylène métallocène pour faciliter les analyses. La présence d'une matrice polymérique permet d'utiliser des échantillons plus stables et le polyéthylène plus précisément a été choisi car c'est le polymère généralement utilisé dans les emballages. Le polyéthylène utilisé ici a été polymérisé en présence d'un catalyseur métallocène. Nous avons choisi de continuer le travail avec ce polyéthylène métallocène (Affinity PL1880 produit par Dow Chemicals) car il présente une température de fusion faible (100 °C) et peut-être utilisé comme couche à sceller dans les films d'emballages plastiques multicouches ; il serait donc possible de le mélanger avec le chitosane plastifié sans dégrader ce dernier.

Comme détaillé dans la Section 1.2.1, il apparaît que l'acide acétique est un plastifiant dit **« interne »** car il y a réaction chimique avec le chitosane. En effet, il a été montré que l'acide acétique était utile dans le processus de plastification du chitosane car son groupe carboxyle réagit avec le groupe amide du chitosane comme montré par les résultats de la FTIR présentés dans le Chapitre 4. Le gonflement du chitosane a aussi été observé (Chapitre 5) en sa présence, suggérant une augmentation de la distance entre les plans du chitosane et une déstructuration de celui-ci. Ce résultat est en accord avec les analyses XRD présentées dans le Chapitre 4 et avec le travail publié par Meng et al. (Meng, et al., 2014). Meng propose une réaction entre l'acide lactique, qui est le solvant utilisé dans son étude, et le chitosane (Figure 1-14) qui entraîne la détérioration des liaisons hydrogènes entre les plans successifs du chitosane comme présenté dans la Figure 1-3. L'eau de la solution acide a aussi son importance pour la plastification du chitosane. En effet, dans le Chapitre 5, il a été montré qu'une quantité importante de solution est nécessaire afin de mouiller la surface spécifique totale de la poudre de chitosane. Il a été proposé

d'utiliser au moins 4 fois plus de solution acide (en poids) que de chitosane pour faciliter la transformation. Cette valeur va bien sûr dépendre du type de chitosane utilisé : sa densité, sa surface spécifique, sa pureté. Ceci est un des paramètres difficiles à maîtriser lorsque l'on utilise un polymère bio-sourcé. Cela va aussi dépendre du type de procédé utilisé comme démontré dans le Chapitre 6 et développé plus tard dans la discussion (Section 7.3).

De plus, le glycérol serait lui aussi un plastifiant dit **« interne »** et aiderait au gonflement et à la déstructuration du chitosane et aurait des interactions avec le chitosane comme montré dans le Chapitre 4. Effectivement, une fois que les plans successifs du chitosane ont été séparés par l'action de la solution d'acide acétique, le glycérol, qui est une plus grosse molécule, peut alors pénétrer au cœur de ses feuillets et augmenter la distance entre ceux-ci. Dépendamment de la quantité de glycérol utilisé, la molécule de chitosane peut être complètement déstructurée et la quantité de la phase amorphe semble alors augmenter. Il faut être attentif à ne pas mettre trop de glycérol dans la formulation car celui-ci va avoir tendance à migrer à la surface des films comme déjà observé dans le cas de l'amidon.

La théorie qui décrit le mieux les mécanismes de plastification entre le chitosane, la solution d'acide acétique et le glycérol est la **théorie des gels** présentée aussi dans la Section 1.2.1. Le chitosane a une structure tridimensionnelle composée d'une succession de feuillets unis par des liaisons hydrogènes. Comme il a été détaillé dans l'explication de l'action de la solution d'acide acétique et du glycérol, les liaisons hydrogènes vont être brisées par la solution acide conduisant à l'obtention d'un gel plus flexible que le polymère lui-même. Les chaînes vont alors s'espacer lors de la pénétration du glycérol entre elles. La flexibilité va de nouveau augmenter. À la fin de ce mécanisme de plastification, il est possible que certains cristaux soient toujours présents dans la structure.

Aussi, des analyses XRD ont été faites sur les différents mélanges chitosane plastifié/mPE. Malheureusement, les pics cristallins du mPE sont superposés à ceux du chitosane et leur intensité est très supérieure. Il n'a, alors, pas été possible de conclure sur la quantité de la phase amorphe face à la phase cristalline du chitosane plastifié en fonction des différentes formulations utilisées. Un mélange, probablement non miscible, des deux polymères (mPE et chitosane plastifié) n'a pas clairement été observé au microscope électronique à balayage. Seuls des

domaines – cristallins – de chitosane ont été distingués dans une matrice identifiée comme du mPE.

Finalement, on peut prétendre que le chitosane est modérément ou fortement plastifié, en présence de la solution d'acide acétique et du glycérol, et dépendamment du type de traitement thermomécanique exercé, comme il a été détaillé dans la Section 1.2.3.1 et dans la Figure 1-7.

7.3 Effet du type de mélangeur

Deux types de mélangeur ont été utilisés pour effectuer la plastification du chitosane : un mélangeur interne et une extrudeuse double-vis.

Dans Chapitre 5, l'étude de la préparation d'un mélange chitosane plastifié/mPE à l'aide du mélangeur interne est détaillée ; tandis que dans le Chapitre 6, ce même mélange a été effectué à l'aide d'une extrudeuse double vis. Comme détaillé dans la revue de littérature (Sections 1.2.4.2 et 1.3.2.2), le choix de la mise en œuvre peut avoir une influence à la fois sur la qualité de la plastification mais aussi sur la qualité du mélange entre les deux polymères.

Lors des essais sur le mélangeur interne (Chapitre 5), différents paramètres de mise en œuvre ont été utilisés pour la partie plastification du chitosane. Des températures comprises entre 60 et 100 °C, des vitesses de rotor entre 50 et 200 rpm et des temps de mélange entre 10 et 20 min ont été testés. Le même type d'analyses que celles présentées dans l'article a par la suite été réalisé sans trouver de différences dans les propriétés morphologiques, rhéologiques ou mécaniques des différents mélanges produits. Il semble que l'étendue des taux de cisaillement dans le mélangeur ne soit pas assez grande pour remarquer une différence dans la qualité des mélanges. L'extrusion double vis apparaissait donc comme une bonne alternative pour vérifier l'impact du procédé sur la qualité de la plastification.

Dans les essais qui ont été effectués, la morphologie des mélanges est l'analyse la plus explicite pour observer la qualité de la plastification. En effet, il a été observé une diminution par 5 de la taille des domaines de chitosane dans la matrice polymérique entre la mise en forme dans le mélangeur interne et dans l'extrusion bivis. Ces domaines ont aussi une forme plus régulière lorsque le mélange a été produit par extrusion. Cela nous indique que la plastification a été améliorée par l'utilisation de l'extrudeuse à la place du mélangeur interne. Certainement, les cisaillements simple et élongationnel plus importants, présents dans l'extrudeuse bivis, ont

permis une séparation plus facile et plus importante des feuillets successifs du chitosane. Il est possible que les domaines de chitosane toujours visibles soient le cœur de la structure cristalline qui n'a pas pu être atteinte par la solution d'acide ou le glycérol.

De plus, les propriétés mécaniques obtenues pour les mélanges de chitosane plastifié/mPE préparés avec le mélangeur interne ou avec l'extrusion sont très différentes. En effet, pour le mélange préparé avec le mélangeur, on constate que l'ajout du chitosane plastifié à la matrice de polyéthylène conduit à l'augmentation du module de Young. Le chitosane plastifié agirait donc comme une charge. Par contre, le mélange, avec 10 % en poids de chitosane plastifié, préparé avec l'extrudeuse bivis montre un module de Young plus faible que le mPE pur. Dans ce cas, cela peut indiquer que le chitosane plastifié agit plus comme une deuxième phase polymérique que comme une charge, considérant l'érosion des domaines cristallins. La plastification et certainement le mélange ont bien été améliorés par l'utilisation de l'extrudeuse à la place du mélangeur interne.

Finalement, on peut dire que le mélangeur interne permet d'obtenir une plastification modérée du chitosane tandis que l'extrusion bivis permet d'atteindre un chitosane fortement plastifié comme représenté dans la Figure 1-7.

7.4 Propriétés antibactériennes

L'objectif principal de la thèse était de développer des films antibactériens à base de chitosane par voie fondue. Dans le Chapitre 5, les propriétés antibactériennes des films préparés via un mélangeur interne ont été montrées. Par contre, dans le Chapitre 6, ces propriétés antibactériennes n'ont pas été présentées car inexistantes. En effet, l'inhibition des bactéries par les films produits par extrusion a été testée selon la même procédure que dans le Chapitre 5. Les différents films testés n'ont donc pas exhibé de propriétés antibactériennes comme présenté dans la Figure 7-2.

L'échantillon nommé « Masterbatch » est un film obtenu à partir des granulés produits lors du procédé de plastification du chitosane et de son mélange avec le mPE dans l'extrudeuse double vis, avant la dilution à 2, 5 ou 10 % en poids. Les granulés ont été pressés à chaud pour former un film fin (~ 400 μm d'épaisseur). Cet échantillon démontre les meilleures propriétés

antibactériennes mais la différence dans le nombre de colonies comptées avec le contrôle négatif ou le film de mPE n'est pas significative (< 2 log(CFU/mL)).

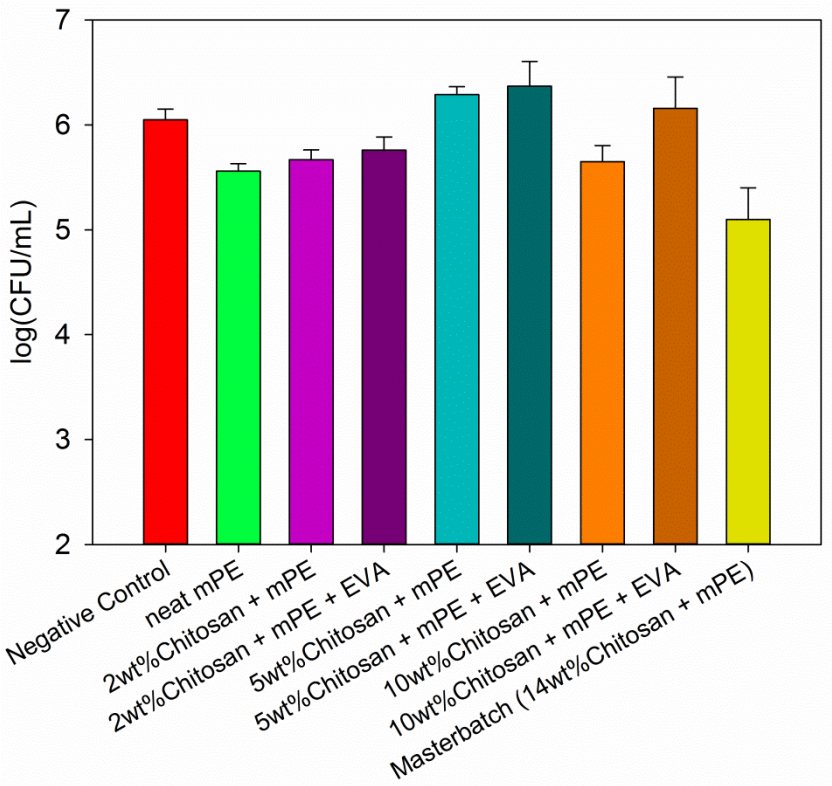


Figure 7-2: Effet inhibiteur des différents films à base de chitosane plastifié par extrusion bivis sur des bactéries *E. coli* inoculés pendant 4 h à 25 °C et à un pH = 5,8 (CFU : colony-forming unit)

Au vu de la perte des propriétés antibactériennes des films à base de chitosane entre les essais effectués pour le Chapitre 5 et ceux pour le Chapitre 6, différentes hypothèses sont considérées :

- la mesure de l'activité antibactérienne n'est pas optimisée : la mesure de cette activité a été faite sur un nombre de colonies important (10^6 CFU/mL), ce qui représente une population bien supérieure à ce que l'on peut trouver dans les aliments. On voit que l'échantillon « Masterbatch » a abouti à une réduction de 1 log (CFU/mL), soit une disparition de 900 000 bactéries. Si les tests avaient été fait *in situ* sur différents types d'aliments, les résultats auraient pu être différents et montrer une activité antibactérienne remarquable. En effet, dans les aliments on peut dénombrer une population de 10^3 CFU/mL. L'application du film « Masterbatch » sur un aliment aurait donc pu conduire à une élimination totale des bactéries. De même, les autres films auraient aussi pu démontrer une meilleure activité antibactérienne.

- la présence du EVA qui encapsule le chitosane et empêche tout contact avec le milieu bactérien : des films sans EVA ont été produits comme présenté dans le Chapitre 6. Comme montré dans la Figure 7-2, la présence d'EVA n'a pas d'influence sur la capacité d'inhibition des bactéries par les différents films. Cela avait aussi été vérifié dans le Chapitre 5, mais une meilleure compatibilisation par l'utilisation de l'extrudeuse est possible et cet aspect devait être vérifié.

- il n'y a pas de chitosane en surface des films extrudés : en effet, les films préparés avec la presse chaude (Chapitre 5) présentent de bonnes propriétés antibactériennes, par contre les films préparés par extrusion (Chapitre 6) avec une formulation du chitosane plastifié similaire ne présentent aucune propriété de ce type, comme montré dans la Figure 7-2. La surface des films a donc été analysée par FTIR en utilisant le mode ATR (Attenuated Total Reflectance) pour un nombre d'ondes compris entre 600 et 4000 cm^{-1}. Les résultats sont présentés dans la Figure 7-3, les spectres complets sont présentés dans la Figure 7-3a et un agrandissement des nombres d'ondes compris entre 600 et 1500 cm^{-1} est présenté dans la Figure 7-3b.

En regardant particulièrement les pics à 1025 et 1094 cm^{-1}, attribués à l'étirement des liaisons CO présentes dans les groupes COH du cycle, COC et CH_2OH du chitosane (Duarte, Ferreira, Marvão, & Rocha, 2002), on remarque qu'ils sont présents pour les films pressés mélangés dans un mélangeur interne (Chapitre 5) et qu'ils ne sont plus présents pour les films extrudés (Chapitre 6). Ces pics ne peuvent pas être attribués aux liaisons CO de l'EVA, car le film PlaChi/mPE – qui ne contient pas d'EVA – présente clairement ces deux pics et le film 10wt%Chi/mPE/EVA – qui contient donc de l'EVA – ne présente pas ces pics. Le mélange de base extrudé puis pressé afin d'obtenir un film (« Masterbatch pressed_Chapitre6 »), présente aussi faiblement ces deux pics, cela pourrait expliquer les propriétés antibactériennes observées dans son cas.

L'absence des ces pics dans les spectres des films extrudés est une indication de l'absence du chitosane à la surface du film. Cela peut être dû à la différence de mise en forme des films entre l'extrusion de film et le procédé de pressage du mélange préparé par mélangeur interne.

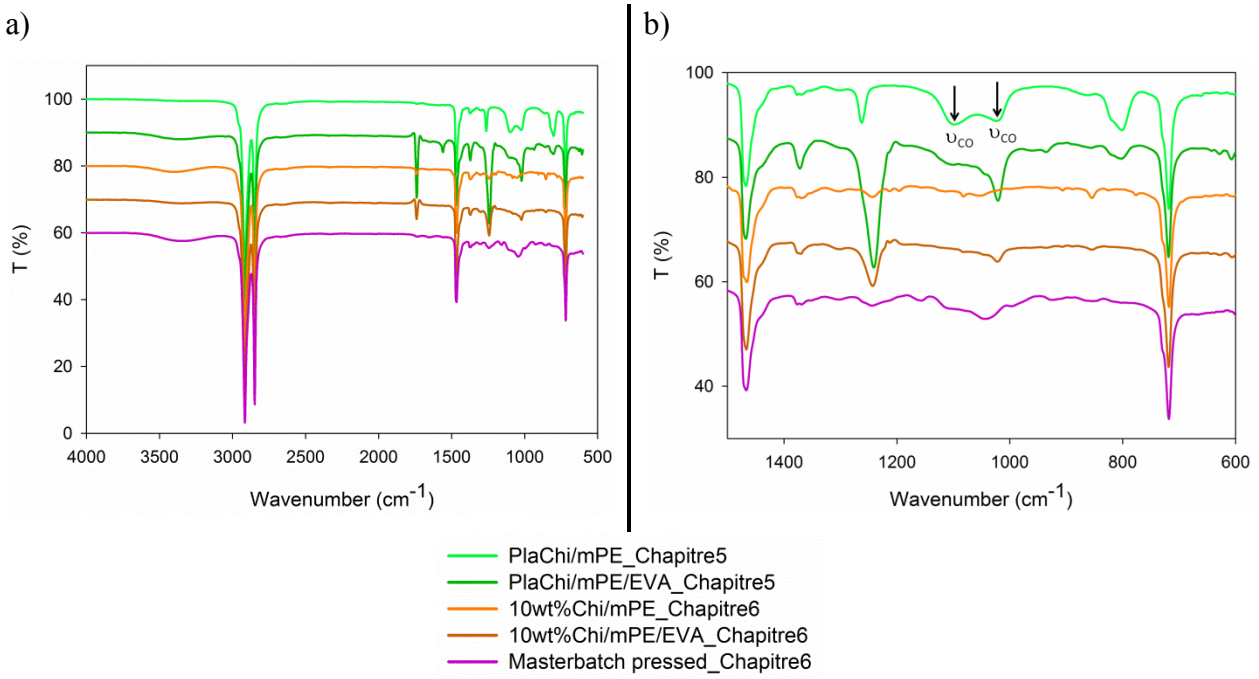


Figure 7-3 : Spectres FTIR des différents films préparés dans le mélageur interne (Chapitre 5) et par extrusion (Chapitre 6)

Les raisons pour lesquelles le chitosane n'est pas à la surface peuvent avoir deux origines : la thermodynamique et la cinétique de mélange.

En effet, dans le cas du mélange mPE, EVA et chitosane plastifié, nous sommes en présence d'un mélange ternaire, la morphologie de celui-ci va dépendre des valeurs des tensions interfaciales de chaque composant comme étudié il y a quelques années par Virgilio et al. (Virgilio, Marc-Aurèle, & Favis, 2009). Dans un mélange ternaire composé des phases A, B et C, il est possible de prévoir la morphologie du mélange par le calcul du coefficient d'étalage λ_{ABC} à partir des différentes tensions interfaciales. Les différentes morphologies possibles sont présentées dans la Figure 7-4. Dans notre cas, il est possible que la morphologie du film obtenu par extrusion soit un des cas c ou d présentés dans la Figure 7-4.

Comme expliqué dans la Section 1.3.2.2, l'efficacité du mélange est plus important dans l'extrudeuse bivis, l'équilibre thermodynamique est presque atteint contrairement au cas du mélangeur interne, par contre, la morphologie finale des mélanges préparés soit dans un mélangeur interne soit dans une extrudeuse bivis sont les mêmes mais il est possible d'obtenir une morphologie plus fine après l'extrudeuse. En effet, comme on l'a vu dans les chapitres 5 et 6,

les domaines de chitosane que l'on a mesurés sont de l'ordre de 100 à 500 μm^2 et de forme elliptique pour les mélanges préparés au mélangeur interne et de l'ordre de 5 μm de diamètre (ou 20 μm^2 en surface) et de forme circulaire pour les mélanges préparés en extrusion. Les films préparés par moulage à la presse chaude suite au mélange dans le mélangeur interne avaient une épaisseur de 100 μm, quelque soit la morphologie du mélange en sortie du mélangeur interne, il est fort probable que les domaines partiellement plastifiés soient présent à la surface. Par contre, les films préparés en extrusion avaient une épaisseur de l'ordre de 230 μm, si la morphologie obtenue est celle des cas c ou d présentés dans la Figure 7-4, il n'est effectivement pas possible de retrouver du chitosane à la surface.

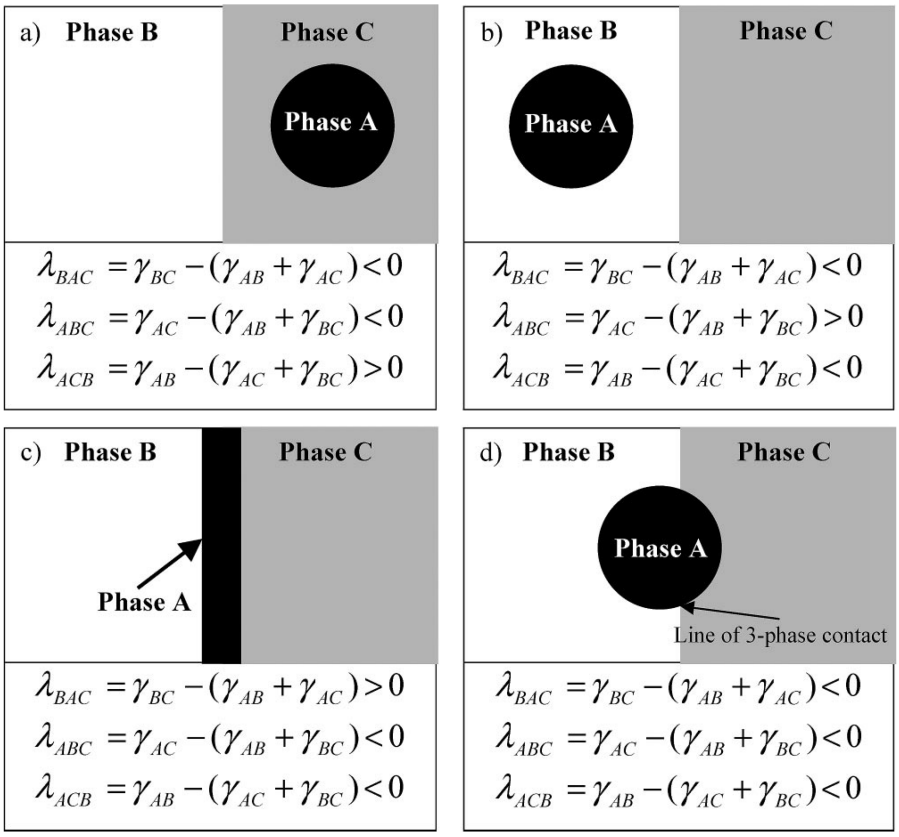


Figure 7-4 : Prédiction des morphologies possibles d'un mélange ternaire composé de deux phases majeures (B et C) et d'une phase mineure (A) par le calcul du coefficient d'étalage (Virgilio, et al., 2009)

De plus, un autre paramètre pouvant aussi être à l'origine de la différence de morphologie est la vitesse de migration d'un composé du mélange vers la surface. Il a été montré que dans le cas d'un mélange avec un taux de cisaillement important, les poids moléculaires des différents

composés en présence pouvaient aussi avoir une influence sur la migration à la surface du film du composé en plus faible quantité (Rezaei Kolahchi, Ajji, & Carreau, 2014). Lorsqu'un mélange binaire montre une répartition homogène de la phase mineure au cœur de la phase majoritaire, il est possible de rajouter un troisième polymère pour pousser la phase mineure vers la surface. Pour cela le troisième polymère doit avoir un poids moléculaire plus élevé et de plus longues chaînes que ceux de la phase mineure afin de prendre sa place au cœur de la matrice à cause de sa mobilité réduite.

Il serait alors possible en choisissant les composés du mélange de pousser le chitosane plastifié vers la surface du film afin d'obtenir de bonnes propriétés antibactériennes quelque soit la taille des domaines en présence. Si l'on se place dans le cas b de la Figure 7-4, en considérant la phase A comme étant le chitosane plastifié, la phase B l'EVA et la phase C le mPE, il serait alors possible d'avoir la phase chitosane plastifié/EVA à la surface du film et mPE au cœur du film. Ce changement de morphologie serait possible en choisissant des polymères tels que le mPE et l'EVA avec des tensions interfaciales adéquates. Finalement, il serait possible d'augmenter la migration du chitosane vers la surface du film en sélectionnant un polymère aidant à la compatibilisation tel que l'EVA avec un plus haut poids moléculaire que le chitosane plastifié pour pousser celui-ci vers la surface.

7.5 Perspectives

La plastification du chitosane apparaît comme une technique très intéressante et alternative à la méthode de coulage en solution pour produire des films à base de chitosane à grande échelle. Il est maintenant aussi possible de produire des films multicouches afin de cumuler les avantages à utiliser le chitosane mais aussi d'autres polymères fonctionnels dépendamment des applications et des propriétés souhaitées.

Dans le futur, on peut espérer que la plastification du chitosane à l'état fondu permettra de l'utiliser dans un nombre infini d'applications comme n'importe quel thermoplastique et de prendre la place de polymères d'origine pétrolière.

CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

Cette thèse livre une des premières études expérimentales traitant de la plastification du chitosane par voie fondue. Trois articles scientifiques à destination de revues scientifiques avec comité de lecture ont été rédigés et trois communications de conférence ont été données.

Dans cette étude, la plastification du chitosane a été réalisée en trois étapes majeures pour lesquelles les propriétés morphologiques, thermiques, mécaniques, rhéologiques, antibactériennes, optiques ou barrières ont pu être analysées.

Tout d'abord, le chitosane a été plastifié grâce à un traitement thermomécanique en présence d'une solution d'acide acétique et de trois polyols différents traditionnellement utilisés dans la plastification des polysaccharides : le glycérol, le xylitol et le sorbitol. Différentes formulations ont été testées pour réaliser cette plastification. Il a été confirmé par infrarouge que le chitosane réagit bien avec la solution acide et qu'il y a des interactions entre le chitosane et les polyols. La cristallinité du chitosane plastifié avec le glycérol a été trouvée plus faible que celle du chitosane plastifié avec le sorbitol ; de plus, plus la quantité de polyol augmente plus la cristallinité diminue. La structure stratifiée du chitosane a été observée au microscope électronique à balayage (MEB). Dans le cas du chitosane plastifié, la structure stratifiée se trouvait intégrée à une matrice amorphe, la densité de cette structure a diminué avec l'addition d'un polyol quel qu'il soit. Comme prévisible, les échantillons préparés avec le polyol avec le plus haut poids moléculaire (sorbitol) ont montré les meilleures propriétés mécaniques (résistance à la traction) et les plus hautes propriétés rhéologiques (viscosité dynamique, module élastique et module visqueux). Ces résultats étaient en accord avec la cristallinité observée. Il a été montré qu'un des points faibles du chitosane plastifié était sa dégradation thermique qui accélérait avec l'ajout d'un polyol et lorsque sa quantité augmentait. À partir de ces premières conclusions, le glycérol a été choisi pour continuer l'étude.

Par la suite, un mélange chitosane plastifié/polyéthylène métallocène (mPE) a été investigué. Le chitosane a d'abord été plastifié dans le mélangeur interne en présence du glycérol et de la solution d'acide acétique. Dans un deuxième temps, il a été mélange dans ce même mélangeur au mPE. Les effets de différentes formulations (variation du pourcentage d'acide en solution, variation du ratio chitosane/solution acide et variation du ratio chitosane/glycérol) sur les propriétés du mélange chitosane plastifié/mPE ont été testés. La morphologie des mélanges a été

observée au MEB et corrélée par leur étude rhéologique. Il a été confirmé que la plastification ne peut pas avoir lieu sans la présence de l'acide acétique qui déstructure le chitosane. Le gonflement de celui-ci a été observé, suggérant un éloignement entre les plans successifs du chitosane et une détérioration des liaisons hydrogènes entre ceux-ci. La partie aqueuse acide dans la formulation doit être suffisante car il a été constaté qu'elle permet le mouillage de la surface spécifique totale du chitosane. Enfin, le glycérol a eu pour effet de réduire la taille des domaines de chitosane dans la matrice polymérique et d'améliorer la dispersion de ceux-ci. Les propriétés antibactériennes des mélanges ont aussi été examinées, et il a été montré que dans la formulation seul le glycérol peut avoir un impact sur celles-ci car c'est un polyol considéré comme un sucre et il peut nourrir les bactéries de la culture. Une formulation optimale a alors été proposée pour continuer l'étude prenant en compte le mouillage complet du chitosane, la limitation de par les propriétés antibactériennes : le pourcentage d'acide acétique en solution a été fixé à 3 % en volume, le ratio chitosane/solution acide à 20/80 en poids et le ratio chitosane sec/glycérol à 83/17 en poids. Avec cette formulation optimale, une étude de compatibilisation du mélange chitosane plastifié/mPE a été faite en présence de l'éthylène-acétate de vinyle (EVA). Sur des images réalisées au MEB, il a été vérifié que l'EVA était disposé à l'interface entre le chitosane et le mPE. Des mesures rhéologiques ont permis de constater que la dispersion des domaines de chitosane dans le mélange était améliorée par l'addition de l'EVA, consécutivement, les propriétés mécaniques du mélange ont-elles aussi été améliorées par l'addition de l'EVA. Finalement, il a été contrôlé que les propriétés antibactériennes n'étaient pas affectées par cette encapsulation du chitosane par l'EVA qui doit être partielle en surface grâce à la presse utilisée pour la mise en forme des films.

Finalement, la dernière partie de cette thèse s'est focalisée sur l'amélioration de la plastification du chitosane et sur la production de films plastiques par extrusion. La plastification du chitosane et son mélange avec un polymère fondu s'est déroulée en une seule passe dans une extrudeuse bivis. Les granulés ainsi produits ont été utilisés pour l'extrusion de films, dans une extrudeuse monovis, contenant 2, 5 ou 10 % en poids de chitosane. Les images obtenues au MEB ont montré une réduction par 5 de la taille des domaines de chitosane par rapport aux mélanges produits avec le mélangeur interne. La qualité visuelle des films a grandement été améliorée grâce à cette technique de mise en forme malgré le fait que les films aient une couleur proche du doré après l'ajout du chitosane. Comme précédemment, la dégradation thermique des mélanges débutait plus

tôt en présence du chitosane plastifié. Les propriétés mécaniques ont été affectées négativement par l'ajout du chitosane plastifié mais moins drastiquement qu'attendu après l'ajout d'un polymère d'origine naturelle. Enfin, les propriétés barrières à l'oxygène n'ont pas été modifiées par l'addition du chitosane plastifié.

À partir de cette recherche, les recommandations suivantes sont proposées pour poursuivre et améliorer ce travail :

1. Un changement de polymère serait à envisager afin de forcer le chitosane à migrer vers la surface du film et a être en contact avec le milieu de culture des bactéries ; pour cela le choix des tensions interfaciales entre les 3 polymères en présence ou des poids moléculaires doit être privilégié.
2. La possibilité d'extruder le chitosane seul, ou au moins en phase majoritaire, peut être étudiée. Une comparaison entre le taux de cristallinité du chitosane plastifié dans l'extrudeuse et celui du chitosane plastifié dans le mélangeur interne pourra être faite. Une phase cocontinue entre le chitosane plastifié et un autre polymère en présence pourrait aussi être observée.
3. Il a été montré que le choix du plastifiant pouvait affecter les propriétés du chitosane plastifié comme ses propriétés antibactériennes. Il serait intéressant de reproduire la dernière partie de cette étude avec un autre panel de plastifiants habituellement utilisés pour ce genre d'application et approuvés pour le contact avec les aliments afin de garder de bonnes propriétés antibactériennes.
4. Des recherches sur le choix du chitosane pourraient aboutir sur une plastification plus complète : l'origine du chitosane (arthropode ou champignon), son degré de déacétylation ou son poids moléculaire seraient des paramètres à étudier.
5. Dans le but d'améliorer les propriétés antibactériennes des films à base de chitosane, un autre composant pourrait être rajouté comme un ion métallique ou une huile essentielle. Un panel plus important de bactéries pourrait être inhibé par la présence de différents éléments antimicrobiens.

6. Le chitosane est aussi un cicatrisant reconnu dans le milieu médical. Cette étude transposée aux matériaux habituellement utilisés dans ce domaine (pansements) pourrait être envisagée afin d'augmenter et de faciliter la fabrication de ces produits.
7. Cette étude était la première sur la formulation du chitosane plastifié et sa mise en forme par voie fondue. Les propriétés des films produits peuvent encore être optimisées en travaillant sur ces deux aspects.

LISTE DES REFERENCES

Akhlaghi, S., Sharif, A., Kalaee, M., Elahi, A., Pirzadeh, M., Mazinani, S., et al. (2012). Effect of stabilizer on the mechanical, morphological and thermal properties of compatibilized high density polyethylene/ethylene vinyl acetate copolymer/organoclay nanocomposites. *Materials & Design, 33*, 273-283.

Ali Dadfar, S. M., Alemzadeh, I., Reza Dadfar, S. M., & Vosoughi, M. (2011). Studies on the oxygen barrier and mechanical properties of low density polyethylene/organoclay nanocomposite films in the presence of ethylene vinyl acetate copolymer as a new type of compatibilizer. *Materials & Design, 32*(4), 1806-1813.

Allan, C. R., & Hadwiger, L. A. (1979). The fungicidal effect of chitosan on fungi of varying cell wall composition. *Experimental Mycology, 3*(3), 285-287.

Arvanitoyannis, I., Kolokuris, I., Nakayama, A., Yamamoto, N., & Aiba, S.-i. (1997). Physico-chemical studies of chitosan-poly(vinyl alcohol) blends plasticized with sorbitol and sucrose. *Carbohydrate Polymers, 34*(1-2), 9-19.

Aryaei, A., Jayatissa, A. H., & Jayasuriya, A. C. (2012). Nano and micro mechanical properties of uncross-linked and cross-linked chitosan films. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, 5*(1), 82-89.

Avérous, L. (2004). Biodegradable Multiphase Systems Based on Plasticized Starch: A Review. *Polymer Reviews, 44*(3), 231 - 274.

Avérous, L., & Halley, P. J. (2009). Biocomposites based on plasticized starch. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining, 3*(3), 329-343.

Balau, L., Lisa, G., Popa, M., Tura, V., & Melnig, V. (2004). Physico-chemical properties of Chitosan films. *Central European Journal of Chemistry, 2*(4), 638-647.

Barr, M., & Tice, L. F. (1957). A study of the inhibitory concentrations of glycerin-sorbitol and propylene glycol-sorbitol combinations on the growth of microorganisms. *Journal of the American Pharmaceutical Association, 46*(4), 217-218.

Bates, F. S. (1991). Polymer-Polymer Phase Behavior. *Science, 251*(4996), 898-905.

Bonilla, J., Fortunati, E., Vargas, M., Chiralt, A., & Kenny, J. M. (2013). Effects of chitosan on the physicochemical and antimicrobial properties of PLA films. *Journal of Food Engineering, 119*(2), 236-243.

Braconnot, H. (1811). Recherches analytiques sur la nature des champignons. *Annales de Chimie, 79*, 265-304.

Brandrup, J., Immergut, E. H., Grulke, E. A., Abe, A., & Bloch, D. R. (2003). Polymer Handbook (4th Edition) J. Brandrup, E.H. Immergut & E.A. Grulke (Eds.), Retrieved from http://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpPHE00026/polymer-handbook-4th

Brugnerotto, J., Lizardi, J., Goycoolea, F. M., Argüelles-Monal, W., Desbrières, J., & Rinaudo, M. (2001). An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. *Polymer, 42*(8), 3569-3580.

Calleja, F. J. B., & Flores, A. (2002). Hardness *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*: John Wiley & Sons, Inc.

Cartier, N., Domard, A., & Chanzy, H. (1990). Single crystals of chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules, 12*(5), 289-294.

Chen, S., Wu, G., & Zeng, H. (2005). Preparation of high antimicrobial activity thiourea chitosan–Ag+ complex. *Carbohydrate Polymers, 60*(1), 33-38.

Cho, Y.-W., Jang, J., Park, C. R., & Ko, S.-W. (2000). Preparation and Solubility in Acid and Water of Partially Deacetylated Chitins. *Biomacromolecules, 1*(4), 609-614.

Chung, Y.-C., Su, Y.-P., Chen, C.-C., Jia, G., Wang, H.-L., Wu, J. C. G., et al. (2004). Relationship between antibacterial activity of chitosan and surface characteristics of cell wall *Acta Pharmacologica Sinica, 25*, 932-936.

Correlo, V. M., Boesel, L. F., Bhattacharya, M., Mano, J. F., Neves, N. M., & Reis, R. L. (2005). Properties of melt processed chitosan and aliphatic polyester blends. [Article]. *Materials Science and Engineering a-Structural Materials Properties Microstructure and Processing, 403*(1-2), 57-68.

Crini, G., Guibal, É., Morcellet, M., Torri, G., & Badot, P.-M. (2009). Chitine et Chitosane : Préparation, propriétés et principales applications. In P.u.d. Franche-Comté (Ed.), *Chitine et Chitosane Du biopolymère à l'application* (pp. 19-54).

de Britto, D., & Campana-Filho, S. P. (2007). Kinetics of the thermal degradation of chitosan. *Thermochimica Acta, 465*(1-2), 73-82.

Della Valle, G., Buleon, A., Carreau, P. J., Lavoie, P.-A., & Vergnes, B. (1998). Relationship between structure and viscoelastic behavior of plasticized starch. *Journal of Rheology, 42*(3), 507-525.

Domard, A., & Rinaudo, M. (1983). Preparation and characterization of fully deacetylated chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules, 5*(1), 49-52.

Dong, Y., Ruan, Y., Wang, H., Zhao, Y., & Bi, D. (2004). Studies on glass transition temperature of chitosan with four techniques. *Journal of Applied Polymer Science, 93*(4), 1553-1558.

Duarte, M. L., Ferreira, M. C., Marvão, M. R., & Rocha, J. (2002). An optimised method to determine the degree of acetylation of chitin and chitosan by FTIR spectroscopy. *International Journal of Biological Macromolecules, 31*(1-3), 1-8.

Dutta, P. K., Tripathi, S., Mehrotra, G. K., & Dutta, J. (2009). Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry, 114*(4), 1173-1182.

Elmendorp, J. (1991). Dispersive mixing in liquid systems. In C. Rauwendaal (Ed.), *Mixing in polymer processing*. New York: Marcel-Dekker.

Epure, V., Griffon, M., Pollet, E., & Avérous, L. (2011). Structure and properties of glycerol-plasticized chitosan obtained by mechanical kneading. *Carbohydrate Polymers, 83*(2), 947-952.

Everaert, V., Aerts, L., & Groeninckx, G. (1999). Phase morphology development in immiscible PP/(PS/PPE) blends influence of the melt-viscosity ratio and blend composition. *Polymer, 40*(24), 6627-6644.

Favis, B. D., & Chalifoux, J. P. (1987). The effect of viscosity ratio on the morphology of polypropylene/polycarbonate blends during processing. *Polymer Engineering & Science, 27*(21), 1591-1600.

Favis, B. D., & Chalifoux, J. P. (1988). Influence of composition on the morphology of polypropylene/polycarbonate blends. *Polymer, 29*(10), 1761-1767.

Favis, B. D., Rodriguez, F., & Ramsay, B. A. (2003). US Patent No. 6,605,657 B1.

Favis, B. D., Rodriguez, F., & Ramsay, B. A. (2005). US Patent No. 6,844,380 B2.

Favis, B. D., & Therrien, D. (1991). Factors influencing structure formation and phase size in an immiscible polymer blend of polycarbonate and polypropylene prepared by twin-screw extrusion. *Polymer, 32*(8), 1474-1481.

Flaconneche, B., Martin, J., & Klopffer, M., H. (2001). Permeability, Diffusion and Solubility of Gases in Polyethylene, Polyamide 11 and Poly (Vinylidene Fluoride). *Oil & Gas Science and Technology - Rev. IFP, 56*(3), 261-278.

Forssell, P. M., Hulleman, S. H. D., Myllärinen A, P. J., Moates, G. K., & Parker, R. (1999). Ageing of rubbery thermoplastic barley and oat starches. *Carbohydrate Polymers, 39*(1), 43-51.

Garlotta, D. (2001). A Literature Review of Poly(Lactic Acid). *Journal of Polymers and the Environment, 9*(2), 63-84.

Giraud-Guille, M.-M. (1998). Plywood structures in nature. *Current Opinion in Solid State and Materials Science, 3*(3), 221-227.

Grace, H. P. (1982). Dispersion phenomena in high viscosity immiscible fluid systems and application of static mixers as dispersio devices in such systems. *Chemical Engineering Communications, 14*(3-6), 225-277.

Harrats, C. (2009). *Multiphase Polymer-Based Materials : An Atlas of Phase Morphology at the Nano and Micro Scale*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press.

Hernandez-Izquierdo, V. M., & Krochta, J. M. (2008). Thermoplastic Processing of Proteins for Film Formation—A Review. *Journal of Food Science, 73*(2), R30-R39.

Hirano, S., & Nagao, N. (1989). Effects of chitosan, pectic acid, lysozyme, andchitinase on the growth of several phytopathogens. *Agricultural and Biological Chemistry, 53*, 3065-3066.

Holmes, P. A. (1985). Applications of PHB - a microbially produced biodegradable thermoplastic. *Physics in Technology, 16*(1), 32.

Huang, Z.-M., Zhang, Y. Z., Kotaki, M., & Ramakrishna, S. (2003). A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites Science and Technology, 63*(15), 2223-2253.

Ilium, L. (1998). Chitosan and Its Use as a Pharmaceutical Excipient. *Pharmaceutical Research, 15*(9), 1326-1331.

Immergut Edmund, H., & Mark Herman, F. (1965). Principles of Plasticization *Plasticization and Plasticizer Processes* (Vol. 48, pp. 1-26): American Chemical Society.

Imre, B., & Pukánszky, B. (2013). Compatibilization in bio-based and biodegradable polymer blends. *European Polymer Journal, 49*(6), 1215-1233.

Kittur, F. S., Kumar, K. R., & Tharanathan, R. N. (1998). Functional packaging properties of chitosan films. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A, 206*(1), 44-47.

Kittur, F. S., Vishu Kumar, A. B., & Tharanathan, R. N. (2003). Low molecular weight chitosans—preparation by depolymerization with Aspergillus niger pectinase, and characterization. *Carbohydrate Research, 338*(12), 1283-1290.

Kong, M., Chen, X.-g., Xue, Y.-p., Liu, C.-s., Yu, L.-j., Ji, Q.-x., et al. (2008). Preparation and antibacterial activity of chitosan microshperes in a solid dispersing system. *Frontiers of Materials Science in China, 2*(2), 214-220.

Kong, M., Chen, X. G., Liu, C. S., Liu, C. G., Meng, X. H., & Yu, L. J. (2008). Antibacterial mechanism of chitosan microspheres in a solid dispersing system against E. coli. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 65*(2), 197-202.

Kong, M., Chen, X. G., Xing, K., & Park, H. J. (2010). Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *International Journal of Food Microbiology, 144*(1), 51-63.

Kurek, M., Ščetar, M., Voilley, A., Galić, K., & Debeaufort, F. (2012). Barrier properties of chitosan coated polyethylene. *Journal of Membrane Science, 403–404*(0), 162-168.

Kurita, K. (1998). Chemistry and application of chitin and chitosan. *Polymer Degradation and Stability, 59*(1-3), 117-120.

Lavorgna, M., Piscitelli, F., Mangiacapra, P., & Buonocore, G. G. (2010). Study of the combined effect of both clay and glycerol plasticizer on the properties of chitosan films. *Carbohydrate Polymers, 82*(2), 291-298.

Leceta, I., Guerrero, P., & de la Caba, K. (2013). Functional properties of chitosan-based films. *Carbohydrate Polymers, 93*(1), 339-346.

Leceta, I., Guerrero, P., Ibarburu, I., Dueñas, M. T., & de la Caba, K. (2013). Characterization and antimicrobial analysis of chitosan-based films. *Journal of Food Engineering, 116*(4), 889-899.

Lee, J. K., & Han, C. D. (1999). Evolution of polymer blend morphology during compounding in an internal mixer. *Polymer, 40*(23), 6277-6296.

Lee, J. K., & Han, C. D. (2000). Evolution of polymer blend morphology during compounding in a twin-screw extruder. *Polymer, 41*(5), 1799-1815.

Li, H., & Huneault, M. A. (2011). Comparison of sorbitol and glycerol as plasticizers for thermoplastic starch in TPS/PLA blends. *Journal of Applied Polymer Science, 119*(4), 2439-2448.

Li, J., Zivanovic, S., Davidson, P. M., & Kit, K. (2010). Characterization and comparison of chitosan/PVP and chitosan/PEO blend films. [Article]. *Carbohydrate Polymers, 79*(3), 786-791.

Li, J., Zivanovic, S., Davidson, P. M., & Kit, K. (2011). Production and characterization of thick, thin and ultra-thin chitosan/PEO films. *Carbohydrate Polymers, 83*(2), 375-382.

Liu, H., Xie, F., Yu, L., Chen, L., & Li, L. (2009). Thermal processing of starch-based polymers. *Progress in Polymer Science, 34*(12), 1348-1368.

Luo, Z. P., & Koo, J. H. (2007). Quantifying the dispersion of mixture microstructures. *Journal of Microscopy, 225*(2), 118-125.

Manas-Zloczomer, I., & Tadmor, Z. (2009). *Mixing and compounding of polymers: theory and practice* (2nd ed.): Carl Hanser Verlag GmbH & Co. KG.

Marić, M., & Macosko, C. W. (2001). Improving polymer blend dispersion in mini-mixers. *Polymer Engineering & Science, 41*(1), 118-130.

Martínez-Camacho, A. P., Cortez-Rocha, M. O., Graciano-Verdugo, A. Z., Rodríguez-Félix, F., Castillo-Ortega, M. M., Burgos-Hernández, A., et al. (2013). Extruded films of blended chitosan, low density polyethylene and ethylene acrylic acid. *Carbohydrate Polymers, 91*(2), 666-674.

Martino, V., Pollet, E., & Avérous, L. (2011). Novative Biomaterials Based on Chitosan and Poly(ε-Caprolactone): Elaboration of Porous Structures. *Journal of Polymers and the Environment, 19*(4), 819-826.

Matet, M., Heuzey, M.-C., & Ajji, A. (2014). Morphology and antibacterial properties of plasticized chitosan/metallocene polyethylene blends. *Journal of Materials Science, 49*(15), 5427-5440.

Matet, M., Heuzey, M.-C., Pollet, E., Ajji, A., & Avérous, L. (2013). Innovative thermoplastic chitosan obtained by thermo-mechanical mixing with polyol plasticizers. *Carbohydrate Polymers, 95*(1), 241-251.

McKeen, L. W. (2012a). Introduction to Permeation of Plastics and Elastomers *Permeability Properties of Plastics and Elastomers (3rd edition)*: Elsevier.

McKeen, L. W. (2012b). Polyolefns, Polyvinyls, and Acrylics *Permeability Properties of Plastics and Elastomers (3rd Edition)*: Elsevier.

Mekonnen, T., Mussone, P., Khalil, H., & Bressler, D. (2013). Progress in bio-based plastics and plasticizing modifications. [10.1039/C3TA12555F]. *Journal of Materials Chemistry A, 1*(43), 13379-13398.

Meng, Q., Heuzey, M.-C., & Carreau, P. J. (2014). Hierarchical Structure and Physicochemical Properties of Plasticized Chitosan. *Biomacromolecules*.

Mille, Y., Beney, L., & Gervais, P. (2002). Viability of Escherichia coli after combined osmotic and thermal treatment: a plasma membrane implication. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes, 1567*, 41-48.

Mir, S., Yasin, T., Halley, P. J., Siddiqi, H. M., & Nicholson, T. (2011). Thermal, rheological, mechanical and morphological behavior of HDPE/chitosan blend. *Carbohydrate Polymers, 83*(2), 414-421.

Mucha, M. (1998). Rheological properties of chitosan blends with poly(ethylene oxide) and poly(vinyl alcohol) in solution. *Reactive and Functional Polymers, 38*(1), 19-25.

Mucha, M., & Pawlak, A. (2005). Thermal analysis of chitosan and its blends. *Thermochimica Acta, 427*(1-2), 69-76.

Murray, C. A., & Dutcher, J. R. (2006). Effect of Changes in Relative Humidity and Temperature on Ultrathin Chitosan Films. *Biomacromolecules, 7*(12), 3460-3465.

Nair, R., Reddy, B. H., Kumar, C. K. A., & Kumar, K. J. (2009). Application of Chitosan microspheres as drug carriers : A Review. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 1*(2), 1-12.

Namiki, M. (1988). Chemistry of Maillard Reactions: Recent Studies on the Browning Reaction Mechanism and the Development of Antioxidants and Mutagens. In C.O. Chichester & B.S. Schweigert (Eds.), *Advances in Food Research* (Vol. Volume 32, pp. 115-184): Academic Press.

Neto, C. G. T., Giacometti, J. A., Job, A. E., Ferreira, F. C., Fonseca, J. L. C., & Pereira, M. R. (2005). Thermal Analysis of Chitosan Based Networks. *Carbohydrate Polymers, 62*(2), 97-103.

No, H. K., Kim, S. H., Lee, S. H., Park, N. Y., & Prinyawiwatkul, W. (2006). Stability and antibacterial activity of chitosan solutions affected by storage temperature and time. *Carbohydrate Polymers, 65*(2), 174-178.

No, H. K., Young Park, N., Ho Lee, S., & Meyers, S. P. (2002). Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *International Journal of Food Microbiology, 74*(1-2), 65-72.

Odier, A. (1821). Mémoire sur la composition chimique des parties cornées des insectes. *Mémoires de la Société d'Histoire Naturelle de Paris, 1*, 29-42.

Okuyama, K., Noguchi, K., Kanenari, M., Egawa, T., Osawa, K., & Ogawa, K. (2000). Structural diversity of chitosan and its complexes. *Carbohydrate Polymers, 41*(3), 237-247.

Okuyama, K., Noguchi, K., Miyazawa, T., Yui, T., & Ogawa, K. (1997). Molecular and Crystal Structure of Hydrated Chitosan. *Macromolecules, 30*(19), 5849-5855.

Olabisi, O., Robeson, L. M., & Shaw, M. T. (1979). *Polymer-Polymer Miscibility* (Academic Press ed.). New York.

Osman, Z., & Arof, A. K. (2003). FTIR studies of chitosan acetate based polymer electrolytes. *Electrochimica Acta, 48*(8), 993-999.

Palierne, J. F. (1990). Linear rheology of viscoelastic emulsions with interfacial tension. *Rheologica Acta, 29*(3), 204-214.

Pillai, C. K. S., Paul, W., & Sharma, C. P. (2009). Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in Polymer Science, 34*(7), 641-678.

Potente, H., Bastian, M., Gehring, A., Stephan, M., & Pötschke, P. (2000). Experimental investigation of the morphology development of polyblends in corotating twin-screw extruders. *Journal of Applied Polymer Science, 76*(5), 708-721.

Qi, L., Xu, Z., Jiang, X., Hu, C., & Zou, X. (2004). Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles. *Carbohydrate Research, 339*(16), 2693-2700.

Qiao, X., Tang, Z., & Sun, K. (2011). Plasticization of corn starch by polyol mixtures. *Carbohydrate Polymers, 83*(2), 659-664.

Quijada-Garrido, I., Laterza, B., Mazón-Arechederra, J. M., & Barrales-Rienda, J. M. (2006). Characteristic Features of Chitosan/Glycerol Blends Dynamics. *Macromolecular Chemistry and Physics, 207*(19), 1742-1751.

Quintana, R., Persenaire, O., Bonnaud, L., & Dubois, P. (2012). Recent advances in (reactive) melt processing of cellulose acetate and related biodegradable bio-compositions. [10.1039/C1PY00421B]. *Polymer Chemistry, 3*(3), 591-595.

Raabe, D., Sachs, C., & Romano, P. (2005). The crustacean exoskeleton as an example of a structurally and mechanically graded biological nanocomposite material. *Acta Materialia, 53*(15), 4281-4292.

Rabea, E. I., Badawy, M. E. T., Stevens, C. V., Smagghe, G., & Steurbaut, W. (2003). Chitosan as Antimicrobial Agent: Applications and Mode of Action. *Biomacromolecules, 4*(6), 1457-1465.

Ravi Kumar, M. N. V. (2000). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers, 46*(1), 1-27.

Ravindra, R., Krovvidi, K. R., & Khan, A. A. (1998). Solubility parameter of chitin and chitosan. *Carbohydrate Polymers, 36*(2-3), 121-127.

Rezaei Kolahchi, A., Ajji, A., & Carreau, P. J. (2014). Enhancing hydrophilicity of polyethylene terephthalate surface through melt blending. *Polymer Engineering & Science*, n/a-n/a.

Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science, 31*(7), 603-632.

Rinaudo, M., Pavlov, G., & Desbrières, J. (1999a). Influence of acetic acid concentration on the solubilization of chitosan. *Polymer, 40*(25), 7029-7032.

Rinaudo, M., Pavlov, G., & Desbrières, J. (1999b). Solubilization of Chitosan in Strong Acid Medium. *International Journal of Polymer Analysis and Characterization, 5*(3), 267 - 276.

Rivero, S., García, M. A., & Pinotti, A. (2010). Crosslinking capacity of tannic acid in plasticized chitosan films. *Carbohydrate Polymers, 82*(2), 270-276.

Roberts, G. A. F. (1992). *Preparation of Chitin and Chitosan*.

Robeson, L. M. (2007). Fundamentals of Polymer Blends *Polymer Blends* (pp. 11-64): Carl Hanser Verlag GmbH & Co. KG.

Robinson, R. K. (2000). Encyclopedia of Food Microbiology, Volumes 1-3 C.A. Batt & P.D. Patel (Eds.), Retrieved from http://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpEFMV0004/encyclopedia-food-microbiology/encyclopedia-food-microbiology

Rotta, J., Ozório, R. Á., Kehrwald, A. M., de Oliveira Barra, G. M., de Melo Castanho Amboni, R. D., & Barreto, P. L. M. (2009). Parameters of color, transparency, water solubility, wettability and surface free energy of chitosan/hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) films plasticized with sorbitol. *Materials Science and Engineering: C, 29*(2), 619-623.

Sadeghi, A. M. M., Dorkoosh, F. A., Avadi, M. R., Saadat, P., Rafiee-Tehrani, M., & Junginger, H. E. (2008). Preparation, characterization and antibacterial activities of chitosan, N-trimethyl chitosan (TMC) and N-diethylmethyl chitosan (DEMC) nanoparticles loaded with insulin using both the ionotropic gelation and polyelectrolyte complexation methods. *International Journal of Pharmaceutics, 355*(1-2), 299-306.

Saegeman, V. S. M., Ectors, N. L., Lismont, D., Verduyckt, B., & Verhaegen, J. (2008). Short- and long-term bacterial inhibiting effect of high concentrations of glycerol used in the preservation of skin allografts. *Burns, 34*(2), 205-211.

Sakurai, K., Maegawa, T., & Takahashi, T. (2000). Glass transition temperature of chitosan and miscibility of chitosan/poly(N-vinyl pyrrolidone) blends. *Polymer, 41*(19), 7051-7056.

Sears, J. K., & Darby, J. R. (1982). Mechanism of Plasticizers Action. In J.K.S.a.J.R. Darby (Ed.), *The Technology of Plasticizers* (pp. 35-77): John Wiley and Sons.

Shahidi, F., Arachchi, J. K. V., & Jeon, Y.-J. (1999). Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science & Technology, 10*(2), 37-51.

Srinivasa, P. C., Ramesh, M. N., & Tharanathan, R. N. (2007). Effect of plasticizers and fatty acids on mechanical and permeability characteristics of chitosan films. *Food Hydrocolloids, 21*(7), 1113-1122.

Suyatma, N. E., Tighzert, L., Copinet, A., & Coma, V. (2005). Effects of Hydrophilic Plasticizers on Mechanical, Thermal, and Surface Properties of Chitosan Films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53*(10), 3950-3957.

Taghizadeh, A., & Favis, B. D. (2013). Effect of high molecular weight plasticizers on the gelatinization of starch under static and shear conditions. *Carbohydrate Polymers, 92*(2), 1799-1808.

Takahashi, T., Imai, M., Suzuki, I., & Sawai, J. (2008). Growth inhibitory effect on bacteria of chitosan membranes regulated with deacetylation degree. *Biochemical Engineering Journal, 40*(3), 485-491.

Takidis, G., Bikiaris, D. N., Papageorgiou, G. Z., Achilias, D. S., & Sideridou, I. (2003). Compatibility of low-density polyethylene/poly(ethylene-co-vinyl acetate) binary blends prepared by melt mixing. *Journal of Applied Polymer Science, 90*(3), 841-852.

Talja, R. A., Helén, H., Roos, Y. H., & Jouppila, K. (2007). Effect of various polyols and polyol contents on physical and mechanical properties of potato starch-based films. *Carbohydrate Polymers, 67*(3), 288-295.

Tanaka, M., Huang, J. R., Chiu, W. K., Ishizaki, S., & Taguchi, T. (1993). Effect of the Maillard Reaction on Functional Properties of Chitosan. *Nippon Suisan Gakkaishi, 59*(11), 1915-1921.

Taylor, G. I. (1932). The Viscosity of a Fluid Containing Small Drops of Another Fluid. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A, 138*(834), 41-48.

Taylor, G. I. (1934). The Formation of Emulsions in Definable Fields of Flow. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A, 146*(858), 501-523.

Thirathumthavorn, D., & Charoenrein, S. (2007). Aging Effects on Sorbitol- and Non-Crystallizing Sorbitol-Plasticized Tapioca Starch Films. *Starch - Stärke, 59*(10), 493-497.

Tikhonov, V. E., Stepnova, E. A., Babak, V. G., Yamskov, I. A., Palma-Guerrero, J., Jansson, H.-B., et al. (2006). Bactericidal and antifungal activities of a low molecular weight chitosan and its N-/2(3)-(dodec-2-enyl)succinoyl/-derivatives. *Carbohydrate Polymers, 64*(1), 66-72.

Tokura, S., Ueno, K., Miyazaki, S., & Nishi, N. (1997). Molecular weight dependent antimicrobial activity by Chitosan. *Macromolecular Symposia, 120*(1), 1-9.

Tsai, G.-J., & Su, W.-H. (1999). Antibacterial Activity of Shrimp Chitosan against Escherichia coli. *Journal of Food Protection, 62*, 239-243.

Van Soest, J. J. G., Hulleman, S. H. D., De Wit, D., & Vliegenthart, J. F. G. (1996). Changes in the mechanical properties of thermoplastic potato starch in relation with changes in B-type crystallinity. *Carbohydrate Polymers, 29*(3), 225-232.

Van Soest, J. J. G., & Knooren, N. (1997). Influence of glycerol and water content on the structure and properties of extruded starch plastic sheets during aging. *Journal of Applied Polymer Science, 64*(7), 1411-1422.

Virgilio, N., Marc-Aurèle, C., & Favis, B. D. (2009). Novel Self-Assembling Close-Packed Droplet Array at the Interface in Ternary Polymer Blends. *Macromolecules, 42*(9), 3405-3416.

Wang, X., Du, Y., Fan, L., Liu, H., & Hu, Y. (2005). Chitosan- metal complexes as antimicrobial agent: Synthesis, characterization and Structure-activity study. *Polymer Bulletin, 55*(1-2), 105-113.

Wang, X., Du, Y., & Liu, H. (2004). Preparation, characterization and antimicrobial activity of chitosan-Zn complex. *Carbohydrate Polymers, 56*(1), 21-26.

Wu, S. (1987). Formation of dispersed phase in incompatible polymer blends: Interfacial and rheological effects. *Polymer Engineering & Science, 27*(5), 335-343.

Xie, Y., Liu, X., & Chen, Q. (2007). Synthesis and characterization of water-soluble chitosan derivate and its antibacterial activity. *Carbohydrate Polymers, 69*(1), 142-147.

Yi, H., Wu, L.-Q., Bentley, W. E., Ghodssi, R., Rubloff, G. W., Culver, J. N., et al. (2005). Biofabrication with Chitosan. *Biomacromolecules, 6*(6), 2881-2894.

Zhang, H. Z., He, Z. C., Liu, G. H., & Qia, Y. Z. (2009). Properties of Different Chitosan/Low-Density Polyethylene Antibacterial Plastics. *Journal of Applied Polymer Science, 113*(3), 2018-2021.

Zhong, Z., Xing, R., Liu, S., Wang, L., Cai, S., & Li, P. (2008). Synthesis of acyl thiourea derivatives of chitosan and their antimicrobial activities in vitro. *Carbohydrate Research, 343*(3), 566-570.

Zivanovic, S., Chi, S., & Draughon, A. F. (2005). Antimicrobial Activity of Chitosan Films Enriched with Essential Oils. *Journal of Food Science, 70*(1), M45-M51.

Zivanovic, S., Li, J., Davidson, P. M., & Kit, K. (2007). Physical, Mechanical, and Antibacterial Properties of Chitosan/PEO Blend Films. *Biomacromolecules, 8*(5), 1505-1510.

Zivanovic, S., Li, J. J., Davidson, P. M., & Kit, K. (2008). Physical, mechanical, and antibacterial properties of chitosan/PEO blend films. [Correction]. *Biomacromolecules, 9*(4), 1355-1355.