

Mémoire de Master

Présenté par :

- BENSAID Nadjib
- HAROUN Souhila

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Chimie

Spécialité : chimie des matériaux

Thème :

Extraction de chitosane à partir des carapaces de
crevettes : mise en œuvre et caractérisation
Infrarouge

Soutenu le :

Devant le jury composé de :

Nom & Prénom	Département d'affiliation	Qualité
		Président
Mme AITBRAHAM Leila		Examineur
Mme IMLOUL Tayakout		Examineur
Mr BOUKERROUI Abdelhamid	Chimie	Encadrant

2020-2021

Remerciements

Au terme de ce modeste travail, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos vifs remerciements à **Mr BOUKERROUI ABDELHAMID** : notre promoteur, pour avoir acceptée de nous guider sur le bon chemin du travail.

Aux membres de jury : pour avoir accepté de juger notre travail.

Nous remercions également tous les enseignants qui ont contribué à assurer notre formation durant tout notre cycle universitaire.

Nous ne pouvons oublier toutes et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

A nos familles qui nous ont toujours encouragés et soutenus durant toutes nos études.

Nadjib et Souhila.

Dédicaces

Rien n'est aussi beau à offrir que le fruit d'un labeur qu'on dédie du fond du cœur à ceux qu'on aime et qu'on remercie en exprimant la gratitude et la reconnaissance durant toute notre existence.

Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance afin de me voir devenir ce que je suis,

Merci mes parents.

A mes très chers frères : Atik et Walid.

A toute la famille BENSAL (Cousins et cousines) sans exception.

A mes chères tantes et oncles, et à la mémoire.

De mon Khali 'Allouti Azzedine' et ma grand-mère paternelle.

A mon binôme Souhila et sa famille.

Mes camarades de promotion chimie des matériaux.

A tous mes amis sans exception, et à tous ceux qui me sont chère.

Nadjib.

Dédicaces

Au Nom de Dieu Clément est Miséricordieux

Je dédie ce modeste travail

*A mes très chers parents qui m'ont guidé durant les moments les plus
pénibles de ce long chemin,*

*Mon père Abdelkader qui a sacrifié toute sa vie afin de me voir
devenir ce que je suis, et ma mère Nedjima qui a été à mes côtés*

Et à la mémoire de ma chère mère

Merci mes parents.

Mes frères : Bahi ; Oussama

Mes Soeurs : Hafida ; Houda

À toute ma famille,

A toutes mes amies adorables

A mon fiancé Salim

*A mon binôme BENS Aid Nadjib, qui a partagé avec moi les bons
moments de ce travail.*

Mes camarades de promotion chimie des matériaux.

Enfin à tous ceux que j'aime et qui m'aiment.

Souhila.

SOMMAIRE

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale.....1

CHAPITRE I : synthèse bibliographique

Première partie

I.1.1	Les biomatériaux	3
I.1.2	Généralités sur les crustacés.....	3
I.1.3	Les différentes espèces de crevette.....	4
I.1.4	Généralités sur les coproduits.....	5
I.1.5	Les co-produits de la crevette.....	6
I.2	<u>Deuxième partie</u> : Le chitosane et la chitine.....	7
I.2.1	Introduction.....	7
I.2.2	Historique.....	7
I.2.3	LA CHITINE.....	8
I.2.4	Caractéristiques physico-chimiques.....	13
I.2.5	LE CHITOSANE.....	14
I.2.6	Extraction de la chitine.....	16
I.2.7	Production de chitosane.....	16
I.2.8	Propriétés physico-chimiques.....	17
I.2.9	Propriétés chimiques.....	18
I.2.10	Propriétés biologiques.....	19
I.3	Applications de la chitine et du chitosane.....	19
I.3.1	Domaine biomédical.....	20
I.3.2	Application pharmaceutique.....	20
I.3.3	Application dans les cosmétiques.....	20
I.3.4	Application dans l'agriculture.....	20

I.3.5	Application dans l'industrie agroalimentaire.....	21
I.3.6	Application dans le domaine de traitement des eaux.....	21

CHAPITRE II : Matériels et méthodes

II.1	Matériels.....	23
II.1.1	Produits utilisés.....	23
II.1.2	Appareillage.....	23
II.1.3	Verreries de laboratoire.....	23
II.2	Méthodes.....	24
II.2.1	Procédé d'extraction de la chitine à partir des carapaces de crevettes.....	24
II.2.2	Prétraitement des carapaces.....	24
II.3	Extraction de la chitine.....	25
II.3.1	Schéma général.....	25
II.3.1.1	Déminéralisation.....	26
II.3.1.2	Déprotéinisation.....	26
II.3.1.3	Blanchiment.....	27
II.4	Synthèse du chitosane par la désacétylation de la chitine.....	28
II.5	Caractérisation du chitosane synthétisé.....	30
II.5.1	Teste de solubilité.....	30
II.5.2	Le degré de désacétylation (DDA) du chitosane.....	30
II.6	Détermination du degré de désacétylation du chitosane par la spectrométrie infra rouge (IR).....	30
II.7	La spectroscopie infrarouge.....	30

CHAPITRE III : résultats et discussion

III.1	Caractérisation du chitosane.....	33
III.1.1	Rendements des récitons.....	33
III.2	Test de solubilité.....	35
III.3	Résultats et Discussion des Spectre IR.....	37
III.4	Détermination de degré d'acétylation (DA) et désacétylation (DD).....	47
	Conclusion.....	48

Listes des figures

Figure I-1 : Figure de quelques espèces de crustacés

Figure I-2 : Schéma représentatif de l'anatomie externe de la crevette

Figure I-3 : La chitine en poudre

Figure I-4 : Structure chimique de la chitine

Figure I-5 : Schéma simplifié des trois formes cristallines de la chitine

Figure I-6 : Structure physique de la chitine

Figure I-7 : Poudre de chitosane

Figure I-8 : Structure chimique du chitosane

Figure II-1 : Prétraitement des carapaces de crevettes.

Figure II-2 : Procédé de fabrication de la chitine

Figure II-3 : Etape de Déminéralisation des carapaces de crevette par HCl

Figure II-4 : Etape de déprotéinisation des carapaces de crevette par NaOH

Figure II-5 : Blanchiment des carapaces de crevette par H₂O₂ et obtention de la chitine

Figure II-6 : Désacétylation de la chitine et obtention du chitosane.

Figure II-7 : Réaction de désacétylation de la chitine

Figure II-8 : Spectrophotomètre infra rouge.

Figure III-1 : Spectre IR de la chitine extrait (échantillon 1 : déminéralisation HCl (1M), déprotéinisation 4% de NaOH, blanchiment 0.3)

Figure III-2 : Spectre IR de chitosane extrait (échantillon 1)

Figure III-3 : Spectre IR de la chitine extrait (échantillon 2 : 6% de NaOH)

Figure III-4 : Spectre IR de chitosane extrait (échantillon 2 : (6%).

Figure III-5 : Spectre IR de la chitine extrait (échantillon 3 : 8% de NaOH).

Figure III-6 : Spectre IR de chitosane extrait (échantillon 3 : (8%).

Figure III-7 : Spectre IR de la chitine extrait (échantillon 4 : 10% de NaOH).

Figure III-8 : Spectre IR de chitosane extrait (échantillon 4 : (10%).

Liste des tableaux

Tableau I-1 : Source de chitine

Tableau I-2 : Composition des carapaces de crevettes

Tableau III-1 : Rendements des différentes étapes d'extraction et de transformation de la chitine en chitosane (échantillon 1).

Tableau III-2 : Rendements des différentes étapes d'extraction et de transformation de la chitine en chitosane (échantillon 2).

Tableau III-3 : Rendements des différentes étapes d'extraction et de transformation de la chitine en chitosane e (échantillon 3).

Tableau III-4 : Rendements des différentes étapes d'extraction et de transformation de la chitine en chitosane (échantillon 4).

Tableau III-5 : Test de solubilité du chitosane

Tableau III-6 : Les pics caractéristiques en IR de la chitine extrait (échantillon 1).

Tableau III-7 : Principales bandes IR du chitosane extrait (échantillon 1).

Tableau III-8 : Les pics caractéristiques en IR de la chitine extrait (échantillon 2).

Tableau III-9 : Principales bandes IR du chitosane extrait (échantillon 2).

Tableau III-10 : Les pics caractéristiques en IR de la chitine extrait (échantillon 3).

Tableau III-11 : Principales bandes IR du chitosane extrait (échantillon 3).

Tableau III-12 : Les pics caractéristiques en IR de la chitine extrait (échantillon 4).

Tableau III-13 : Principales bandes IR du chitosane extrait (échantillon 4).

Tableau III-14 : Le degré d'acétylation (DA) et désacétylation (DD) de chitine et du chitosane extrait.

Liste des abréviations

CHS : Chitine synthétase

DA : Degré d'acétylation

DMF : Diméthylformamide

DMAc : Diméthylacétamide

DD : Degré désacétylation

IR : Spectroscopie infrarouge

DP : Degré de Déprotéinisation

Introduction

INTRODUCTION GENERALE

Les Crustacés représentent environ 50 000 espèces. Ils constituent la majorité des animaux planctoniques de tous les océans et les mers et les fond des mers depuis les rivages jusqu'aux profondeurs abyssales. De plus, ils ont une grande importance économique car de nombreuses espèces sont directement consommées par l'homme. Ils représentent une source d'alimentation considérable. Comme la plupart des fruits de mer, la crevette possède une excellente valeur nutritive. La production des crevettes augmente chaque année ainsi que les échanges internationaux sur ce produit de la mer.

Cependant, les coproduits de la crevettes (têtes, carapaces et queues) représentent 50% du poids frais des crustacés. L'utilisation de ces derniers est donc un enjeu important étant donné leur lente biodégradabilité naturelle.

Une grande partie de la production fait, alors, l'objet d'une transformation industrielle. Cette transformation génère des co-produits, dont le devenir pose des problèmes aux industriels. La majeure partie est rejetée, directement dans l'environnement, ce qui présente des risques pour la pollution et la santé publique. Par ailleurs, les coproduits de la crevette (crustacés) constituent une source abondante de chitine. L'extraction de cette dernière trouve son utilisation dans les produits cosmétiques et /ou pharmaceutique, dans l'agriculture et le traitement des eaux. Ce qui fait de ce polysaccharide, un produit d'une grande valeur commerciale.

C'est dans ce contexte que notre travail s'oriente. On se propose d'extraire la chitine de la carapace de la crevette, puis l'extraction de la chitosane à partir de la chitine dans le but d'une utilisation éventuellement après caractérisation.

Ce travail est subdivisé en trois chapitres

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

Chapitre2 : Matériels et méthodes

Chapitre3 : Résultats et discussion

CHAPITRE I

Synthèse bibliographique

Première partie

I.1.1 Les biomatériaux

L'utilisation croissante de biomatériaux élaborés à partir de polymères naturel ou biopolymères tels que l'amidon permettrait de réduire l'accumulation des déchets solides de synthèse chimique. Dans ses différentes acceptations, le vocable « biomatériaux » englobe trois familles.

- ❖ La première comprend les matériaux biologiques qui sont déjà en forme au moment de leur biosynthèse et que l'homme modifie peu (bois ; papier brut, etc.)
- ❖ Le deuxième type de biomatériaux rassemble les matériaux biologiques formés à partir de fraction (amidon, cellulose, pectines) provenant de grande cultures (coton, hévéa, etc.)
- ❖ La troisième catégorie correspond aux matériaux biocompatibles [1], utilisés notamment en médecine (pansements, prothèse, absorbants), et dont l'origine et la nature chimique sont très variée (métaux, polymères).

I.1.2 La généralité sur les crustacés

Les Crustacés forment un sous-embranchement des arthropodes, comprenant notamment les écrevisses, les langoustes, les crabes, les anatifes, les cloportes et toutes les autres formes à respiration branchiale, à téguments solides composant une carapace chitineuse. Ce sont tous des animaux au genre de vie extrêmement variable, organisés pour vivre dans l'eau. L'immense majorité de ces êtres habitent la mer ; un très petit nombre de formes seulement se sont adaptées à la vie.

Les Crustacés sont des animaux de formes et de tailles différentes, recouvertes d'une carapace et vivants dans des endroits fixes :

- * Dans la mer : Langouste, homard, crabes, araignée, crevettes pour les plus consommés.
- * En eau douce : Ecrevisses.

Dans leurs majorités ils appartiennent à l'ordre des décapodes ainsi nommés car ils possèdent 5 paires de pattes ambulatoires terminées soit par une griffe, soit par une pince. Les crustacés marcheurs vivent de nombreuses heures hors de l'eau et voyage très bien au frais dans des caisses avec de la freluches humide.

Parmi les crustacés on retrouve la crevette rouge [2], qui vit sur des fonds de vase très peu sableuse. Cette espèce par sa qualité et son abondance ainsi que par sa grande valeur économique se

trouve très recherchée sur les côtes algériennes. Elle fait partie des décapodes marcheurs, famille qui rassemble aussi le crabe, le homard, la langouste et la langoustine. Elle se trouve dans toutes les mers du monde, et il en existe environ 2 000 espèces. Le corps d'une crevette comprend deux parties

* le céphalothorax, communément nommé la « tête » : ou se trouvent les dents, les organes sensitifs (yeux et antennes) et quatre paires de pattes marcheuses qui lui permettent de se déplacer sur les fonds sableux ; la première paire de ces pattes se termine par des pinces plus ou moins développées selon les espèces

* l'abdomen, que l'on appelle habituellement la queue : est la partie comestible ; il est articulé et muni de deux pattes nageuses. Le tout est recouvert d'une carapace dont la couleur varie selon les espèces. La crevette fait l'objet d'une pêche intense et industrielle. Elle est tout aussi intensément élevée en aquaculture.



Figure I-1 : figure de quelques espèces de crustacés

I.1.3 Les différentes espèces de crevette

Les crevettes appartiennent à la super-classe des crustacés, ordre des décapodes. Elles contiennent toutes les espèces comestibles de crustacés (crevettes, homards, langoustes, langoustines, crabes...) [3]. Le terme de crevette/camaron rassemble différents groupes : Les crevettes Caridea qui incluent les crevettes grises (*Crangon crangon*) et les crevettes nordiques (*Pandalus borealis*).

Les Palaemonidae qui sont soit d'eau de mer comme les crevettes roses (*Palaemon serratus*), soit d'eau douce comme les camarons d'eau douce (*Macrobrachium rosenbergi*).

Les crevettes pénéides se composent de trois supers familles dont celle des Penaeidea qui se caractérise par un rostre robuste, la présence de plusieurs branchies et cinq paires de péréiopodes bien développées munies de pinces pour les trois premières. Pour la super famille des Penaeoidea, plusieurs familles sont représentées par de genres, celui d'Aristeus appartenant à la famille des Aristaeidae [4].

La description précédente conduit à la taxonomie suivante :

- Embranchement : Arthropodes ;
- Sous Embranchement : Antennates ;
- Classe : Crustacés ;
- Sous Classe : Malacostracés
- Super Ordre : Eucaridés
- Ordre : Décapodes
- Sous Ordre : Natantia
- Super Famille : Penaeoidea
- Famille : Aristoeidaes
- Genre : Aristeus
- Espèce : Antennatus

I.1.4 Généralités sur les coproduits

Les co-produits sont définis comme les parties non utilisées et récupérables lors des opérations traditionnelles de production. Ils sont issus de la transformation des poissons pour la consommation humaine et sont constitués des têtes, des viscères, de la chute de parage (filetage), de la peau, de l'écaille, des arêtes et des queues de poissons. Pour les crevettes, ils engendrent les têtes, la carapace et la queue. Les co-produits marins constituent 30 à 60% des produits entiers et leur valorisation a attiré depuis plusieurs années l'attention des industriels pour un souci de rentabilité économique et de développement durable. En effet, ces matières renferment de nombreuses molécules valorisables notamment des protéines lipides, minéraux, vitamines, ainsi que d'autres composés bioactifs, bénéfiques à la santé humaine et animale.

La valorisation des déchets de crevettes sur des sols agricoles présente, cependant, des contraintes d'ordre technique et réglementaire. Le stockage constitue une préoccupation importante pour les industriels de la transformation et pour les agriculteurs. Les activités de transformation de la crevette s'étendent d'avril à octobre, alors que l'épandage se concentre dans de brèves périodes au printemps et à l'automne, ce qui implique de pouvoir stocker les résidus sur une longue durée, en

particulier pour la période hivernale. L'évolution du fertilisant (résidus de crevettes séchés) pendant son entreposage, doit faire en sorte que le produit soit utilisable au printemps suivant. Le taux d'humidité des résidus ainsi que la durée et la température d'entreposage vont déterminer la conservation [4].

I.1.5 Les co-produits de la crevette

Les coproduits des crevettes contiennent des actifs biologiques tels que : la chitine, des pigments, des acides aminés et des acides gras. Ces molécules ont un large spectre d'applications dans les domaines médicaux, cosmétiques, dans l'industrie du papier, du textile, des biotechnologies ou de l'industrie agro-alimentaire.

A l'heure actuelle, on retrouve différentes utilisations des coproduits de crevettes ainsi que des technologies alternatives aux traitements chimiques permettant d'envisager l'utilisation de la totalité des coproduits de découpe des crevettes pour l'extraction de composés bioactifs. La première technologie alternative est l'extraction enzymatique de la partie protéique couplée à des traitements chimiques " doux ". Elle permet d'obtenir des hydrolysats protéiques à usage nutritionnel ainsi que de la chitine partiellement purifiée.

La seconde technologie est une fermentation microbienne permettant d'envisager la récupération de pigments, de la fraction protéique et de la chitine. Après séparation, le jus de fermentation présente des propriétés antioxydantes ainsi que des caractéristiques nutritionnelles démontrant son intérêt pour l'incorporation de cette fraction pour la nutrition de poissons juvéniles et de crevettes. (Figure I-2)

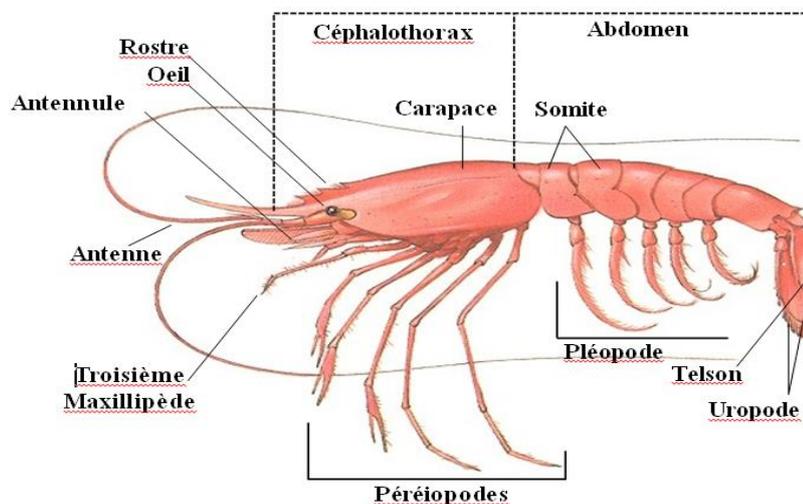


Figure I-2 : Schéma représentatif de l'anatomie externe de la crevette

I.2 Deuxième partie : Le chitosane et la chitine

I.2.1 Introduction

Les polysaccharides sont des biopolymères d'origine naturelle jouant un rôle structural chez les plantes et les animaux. Parmi ces polysaccharides, la chitine et son principal dérivé le chitosane sont ceux qui suscitent le plus d'intérêt chez l'homme. Après la cellulose, c'est le polysaccharide le plus abondant. La chitine et le chitosane sont, en effet, extraits commercialement des carapaces des crustacés telles que le crabe et la crevette. Cette valorisation des <<déchets>> contribue à la sauvegarde de l'environnement dans des régions où les crustacés constituent l'approvisionnement principal de diverses conservations. En effet, il faut noter que les déchets des industries de la pêche, s'ils ne sont pas utilisés, sont rejetés en mer et posent d'importantes problèmes de pollution car les carapaces des crustacés sont biodégradables très lentement. Il est donc important de valoriser ces <<co-produits>>.

I.2.2 Historique

En 1811, Henri Braconnot, directeur du jardin biologique à Nancy (France) a isolé une substance fibreuse d'un certain type de champignon, qu'il a appelée « fongine ». De plus, il a observé que cette substance n'est pas soluble dans les solutions aqueuses acides. Une décennie plus tard, en 1823, la même substance a été trouvée dans certains insectes (coléoptère) et a été ensuite nommée chitine (du mot grec 'kitos' qui signifie « enveloppe ») en 1859, le Pr.C. Rougert a soumis la chitine à un traitement alcalin et a observé les différentes solubilités de la chitine. La substance résultante du traitement alcalin, a pu être dissoute dans les acides. Cependant, c'est seulement en 1894 que cette substance a été nommée chitosane par Hoppe-Seyler. La production du chitosane a débuté en 1920, mais sa structure chimique n'a été identifiée que 50 ans plus tard grâce à la cristallographie et la spectroscopie infrarouge.

Entre 1930 et 1940, ces biopolymères ont suscité beaucoup d'intérêt dans le monde oriental principalement pour l'application dans le domaine médical et la purification de l'eau.

Cependant, les recherches se sont accélérées après la seconde guerre mondiale pour s'amplifier à partir des années 70. Le chitosane a commencé à susciter un réel intérêt en raison notamment des grandes quantités des déchets disponibles que produisaient les conserveries de crustacés.

Le gouvernement, notamment américain et japonais, a cherché à valoriser ces déchets et lancé les premiers programmes nationaux de recherche. Le premier congrès international a eu lieu en 1977 à Boston aux Etats Unis. La 10ème conférence internationale sur le chitosane qui s'est tenue en

septembre 2006 à Montpellier (France) a montré l'importance de la communauté scientifique travaillant sur le chitosane à travers le monde.

La dernière conférence a eu lieu à Venise en 2009.

Aujourd'hui ; nous savons que la chitine et le chitosane sont les biopolymères les plus abondants dans la nature après la cellulose et provenant d'une ressource naturelle renouvelable et bon marché. La production annuelle de chitine dans la nature est estimée à 1010 tonnes. Actuellement, elle n'est pas très exploitée et moins commercialisée que la cellulose.

La chitine et le chitosane sont biodégradables et non toxiques, en effet sous l'action de l'enzyme spécifique « la chitosanase », le chitosane se décompose en produits inoffensifs (sucres aminés) qui peuvent être absorbés par le corps humain [4].

I.2.3 LA CHITINE

I.2.3.1 Définition

La chitine est un polysaccharide linéaire formé d'unités de N-acétyl-D-glucosamine reliés entre eux par une liaison du type B-(1-4). D'une manière intéressante, la formule chimique de la cellulose est très proche de celle de la chitine où le groupement hydroxyle (C_2) a été remplacé par les groupements d'acétamide. En fait, on associe cette similarité entre la molécule de la chitine et celle de la cellulose à une fonction similaire. (Figure I-3)



Figure I-3 : la chitine en poudre

La chitine est l'un des principaux composants de l'exosquelette des insectes et autres arthropodes (crustacés, arachnides, etc.) Le terme chitine, d'origine grecque signifiant « tunique », par analogie avec la coquille des arthropodes et le vêtement. La chitine est un polysaccharide constitué d'unités de répétition D-glucosamine liées par des ponts β (1-4). C'est l'un des constituants de la cuticule protectrice des insectes, des araignées et des crustacés. Associée au carbonate de calcium, elle devient rigide et forme alors l'exosquelette des crustacés et de tous les animaux à coquille. Chez les champignons, la chitine est un constituant essentiel de la paroi latérale qui entoure et protège les cellules fongiques de l'environnement. Ainsi, les résidus de certains champignons issus de l'industrie permettent la production de la chitine.

Le polymère de chitine est biosynthétisé par une enzyme appelée chitine synthétase (CHS).

L'espèce *Saccharomyces cerevisiae* possède plusieurs activités CHS permettant la production de chitine intracellulaire lors du bourgeonnement de ce champignon unicellulaire. La chitine est après la cellulose, le second polysaccharide le plus abondant dans la nature. Selon, la production totale de chitine par les crustacés dans les écosystèmes marins à l'échelle de la planète serait de 2 milliards 300 millions de tonnes par an. Cette production serait imputable, pour près de 90%, aux organismes pélagiques, aux crustacés apparaît négligeable par rapport à celle des crustacés [5].

I.2.3.2 Les principales sources de la chitine

Tableau I-1 : source de chitine.

Végétaux inférieures	Champignon	Annélides	Mollusques	Arthropodes		
				Crustacés	Arachnides	Insectes
Algues	Levures	Lombric	Seiche	Homards	Scorpions	Fourmis
Lichen	Ascomycètes	Sangsue	Pieuvre	Crabes	Araignées	Blattes
	Penicillium			Crevettes		Coléoptères
	blastocladiacés			Langoustines		
	Chytridiacés			Krill		

Tableau I-2 : composition des carapaces de crevettes.

Matières sèches		
Composition (%)	Déchets de crevettes	
	Corps	Tête
Chitine	27	13.5-17.5
Protéines	40	29-37.5
CaCO ₃	33	25-27
Matières solubles et autres	0	32.5

Pendant très longtemps, ces déchets n'étaient pas récupérés et étaient simplement rejetés à la mer après décorticage. La production de la chitine permet de valoriser les déchets de l'industrie agroalimentaire en évitant qu'ils soient rejetés à la mer, ce qui engendre des problèmes de pollution [6-7].

I.2.3.3 Structure chimique de la chitine

La chitine ou poly N-acétyl-D-glucosamine est un polysaccharide dont les unités sont liées entre elles par des ponts B-1,4 glycosidiques. Elle est naturellement désacétylé au-dessus de 5% et plus [8]. (Figure I-4)

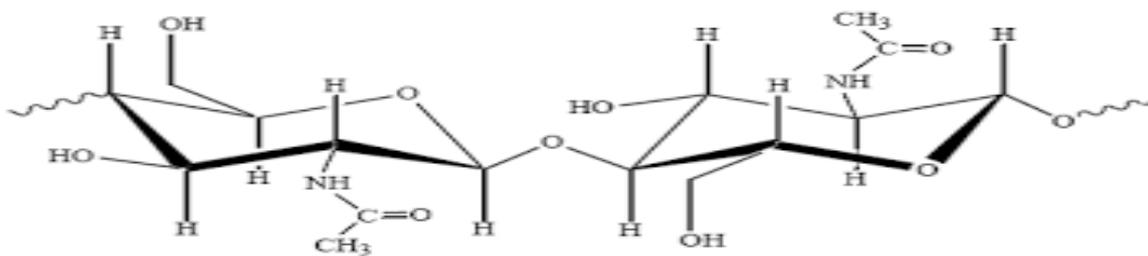


Figure I-4 : structure chimique de la chitine [8].

I.2.3.4 Structure cristalline de la chitine et l'indice de cristallinité

La chitine est un produit renouvelable, non toxique, hypoallergique et surtout biodégradable et par conséquent non polluante [9]. Cependant, la chitine possède une structure cristalline polymorphe. Il existe trois sortes de chitine [10] :

- * α -chitine : chaînes antiparallèles
- * β -chitine : chaînes parallèles
- * γ -chitine : deux chaînes parallèles et une chaîne antiparallèle

La présence des trois arrangements α , β et γ varie selon le type de tissu. Elle est associée à un rôle physiologique particulier. La chitine α est caractérisée par des chaînes antiparallèles. À l'inverse les chaînes de la chitine β sont disposées en parallèle. Le troisième allomorphe γ , est peu courant et alternerait les arrangements parallèles et antiparallèles [11].

Elles sont différenciées par l'organisation de leurs chaînes polymères. L' α -chitine est la plus abondante, mais il est possible d'obtenir la β -chitine à partir de l' α -chitine par un traitement convenable.

La chitine α est la plus courante, présente chez les arthropodes, dont les crustacés, chez les champignons et les levures. C'est la forme la plus stable grâce aux liaisons hydrogènes et covalentes entre les chaînes. Les liaisons glycosidiques sont orientées selon une géométrie di axiale, ce qui implique une position diagonale des motifs de N-acétylglucosamines. Ceci favorise l'association latérale de ponts hydrogènes entre chaînes et des groupes C=O aux groupes N-H, note également des liaisons intramoléculaires entre le C-6 et le carbonyle, puis entre l'oxygène du cycle et le C-3. Par conséquent, la cristallinité de la chitine α est élevée.

Au contraire, la chitine β est moins stable, moins cristalline et plus rare. Elle est présente dans les plumes de calmar, dans les tubes produits par des vers de la famille des pogonophores et vestimentifères⁸, chez certaines algues et protozoaires. En particulier, la forme très pure de la chitine β est synthétisée par la diatomée *Thalassiosira fluviatilis*. À cause de sa stabilité réduite, la chitine β est plus réactive que la chitine α , notamment avec les solvants [11]. (Figure I-5)

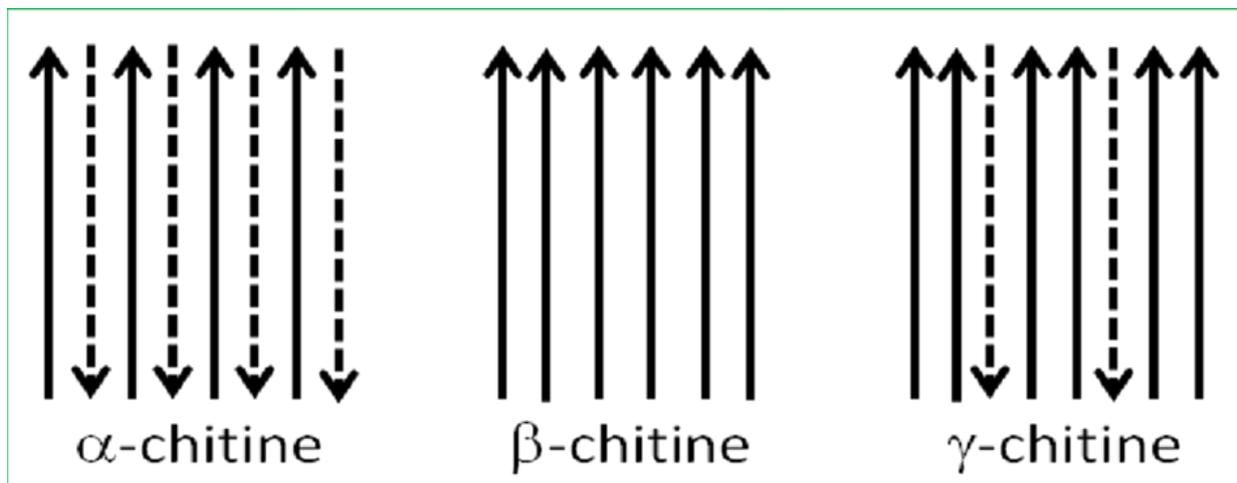


Figure I-5 : Schéma simplifié des trois formes cristallines de la chitine [12].

I.2.3.5 Structure physique de la chitine

La chitine se présente sous forme de microfibrilles, avec une organisation qui peut-être non parallèle pour l' α chitine, parallèle pour la β chitine et mixte pour la γ chitine.

La structure moléculaire de la chitine ou du chitosane consiste en un enchaînement linéaire d'unités de N-acétyl- β -D-glucosamine ou de β -D-glucosamine liées en (1 \rightarrow 4). (Figure I-6)

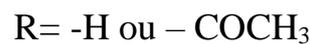
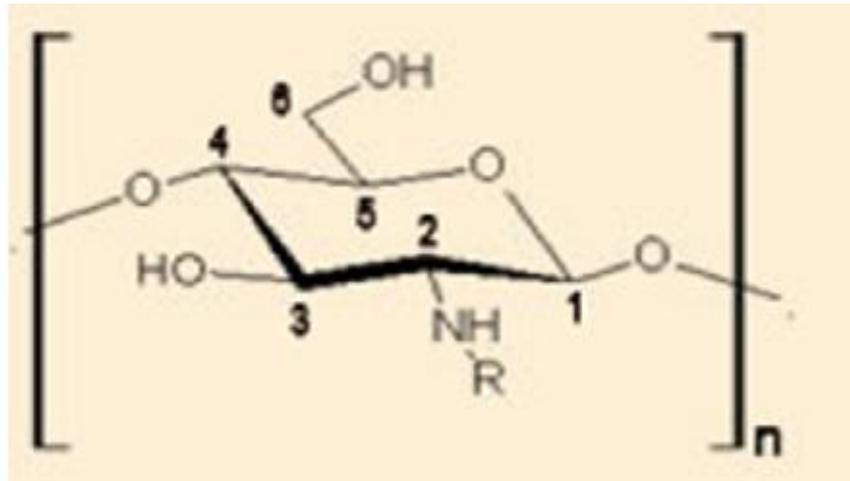


Figure I-6 : structure physique de la chitine

Cette structure correspond à des séries de copolymères liés par des liaisons (1→4) où

R peut être l'un ou l'autre des deux groupements suivants : -NH- ou -NH-COCH₃.

Cependant, la chitine a des propriétés très intéressantes qui la différencient des autres polymères.

I.2.4 Caractéristiques physico-chimiques

Les caractéristiques physico-chimiques de la chitine sont très fortement dues aux caractères polysaccharidiques des polymères. La chitine est caractérisée par son degré d'acétylation, par sa masse molaire, et sa solubilité et son poids moléculaire.

I.2.4.1 Degré de N-acétylation

Le degré d'acétylation (DA) est un paramètre fondamental qui influence les propriétés des biopolymères chitineux [12]. Pour étudier la structure chimique, les propriétés des copolymères, il est important de déterminer le DA. Il est défini comme étant le nombre d'unités de glucopyranose de la chaîne de biopolymère ayant un groupement N-acétyle. Lors du processus d'extraction de la chitine, 5 à 15% de désacétylation est provoqué par le traitement alcalin, on parlera de la chitine lorsque le DA est supérieur à 50% [13].

I.2.4.2 La solubilité

Du point de vue chimique, la chitine est insoluble aussi bien dans l'eau que dans des solvants usuellement utilisés pour la cellulose. Elle est insoluble dans les acides dilués, les solvants organiques les plus courants et les bases concentrées ou diluées.

Mais elle est soluble dans les mélanges diméthylformamide (DMF)/chlorure de lithium (LiCl) ou diméthylacétamide (DMAc)/LiCl. Elle est également soluble dans l'acide chlorhydrique, l'acide sulfurique, l'acide acétique et l'acide phosphorique à 78-97%. Cependant, la solubilité dépend de la source de chitine [14].

I.2.4.3 Le poids moléculaire

L'un des facteurs importants pour la caractérisation de la chitine, est son poids moléculaire. Mais la détermination de la masse molaire nécessite la mise en solution du polymère [15]. La masse molaire initiale de la chitine est de l'ordre de 10^6 à $800 \cdot 10^3$ g/mol et elle est en général acétylée. La connaissance de tel paramètre est nécessaire pour les usages industriels (voir les applications de la chitine). Il varie entre 1,03 et 2,5 MDa. Le pourcentage d'azote dans la chitine représente environ de 6,89% de sa masse moléculaire [12].

Sa masse molaire moyenne est de $(203,19)n$, où n représente le degré de polymérisation.

I.2.5 LE CHITOSANE

I.2.5.1 Définition

Le chitosane est un polymère naturel de la famille polysaccharides [16], de structure linéaire ; c'est un biopolymère cationique de glucosamine partiellement acétylé [17].

Le chitosane est un copolymère linéaire à arrangements aléatoires d'unité D-glucosamine et d'unité N-acétyle-D-glucosamine [18-19], reliées par des liaisons B-(1-4) qui lui confèrent de bonne caractéristique filmogène. Le terme chitosane est habituellement utilisé quand les polymères sont solubles dans une solution d'acide dilué [20]. (Figure I -7)

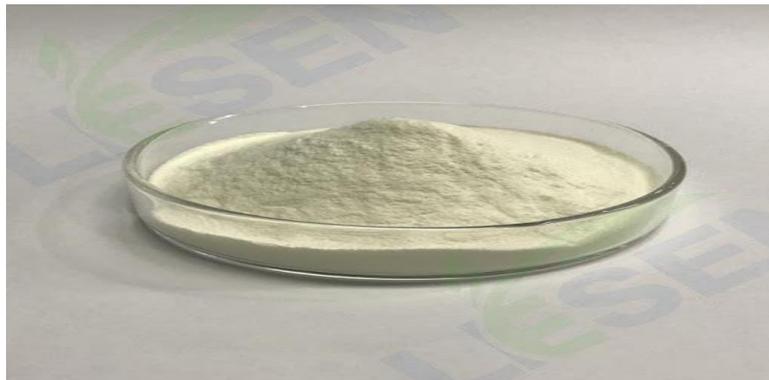


Figure I-7 : poudre de chitosane

I.2.5.2 Source de chitosane

Depuis quelques années, les biotechnologie marines ont suscité un intérêt croissant qui s'est notamment centré sur la chitine et ses dérivés, le chitosane étant le principal. Il s'agit donc d'une source renouvelable de matériau biodégradable. Les récents progrès réalisés dans l'étude de la fabrication du chitosane et de ses propriétés ainsi que la découverte d'un grand nombre d'applications potentielles ont favorisé cet engouement.

Le chitosane est une substance très peu répandue dans la nature [21]. Il est rare et n'est présent que dans les parois cellulaires d'une classe particulière de champignon, les zygomycètes de bactéries et de levures et chez certains insectes, il n'y a donc pas de source primaire de chitosane exploitable. La source majeure du chitosane vendu commercialement provient de la désacétylation de la chitine obtenue à partir de crustacés. La production de la chitine et du chitosane provient, en effet, des crevettes et des crabes qui représentent les deux sources naturelles les plus abondantes. Ce sont donc des produits d'origine animale.

I.2.5.3 La structure du chitosane

Le chitosane a trois types de groupes fonctionnels un groupement amine et deux groupement hydroxyles en position C₁, C₂ et C₃ respectivement. Grace à ses groupements amines libres ce composé possède des propriétés très intéressantes. Le chitosane, soluble dans les acides faibles, possède une charge positive alors que la plupart des polysaccharides sont chargé négativement.

Le degré de désacétylation (DD) représente la proportion d'unités amine-D-glucosamine par rapport au nombre total d'unité glycosidique. Dans le cas du chitosane, le DD est supérieur à 60% pour les produits commerciaux. Cette valeur détermine également la limite de solubilité de ce polymère dans les solutions acides diluées ($2 < \text{pH} < 6$). Le DD est un paramètre structural qui influence les propriétés physico-chimiques telles que la solubilité, la charge globale et la réactivité, les propriétés mécaniques comme l'élongation à la rupture, la résistance à la traction et les propriétés barrières. Il influence également les propriétés biologiques [22], comme la biocompatibilité, la biodégradabilité et l'activité biostimulante et anticholestémiant. (Figure I-8)

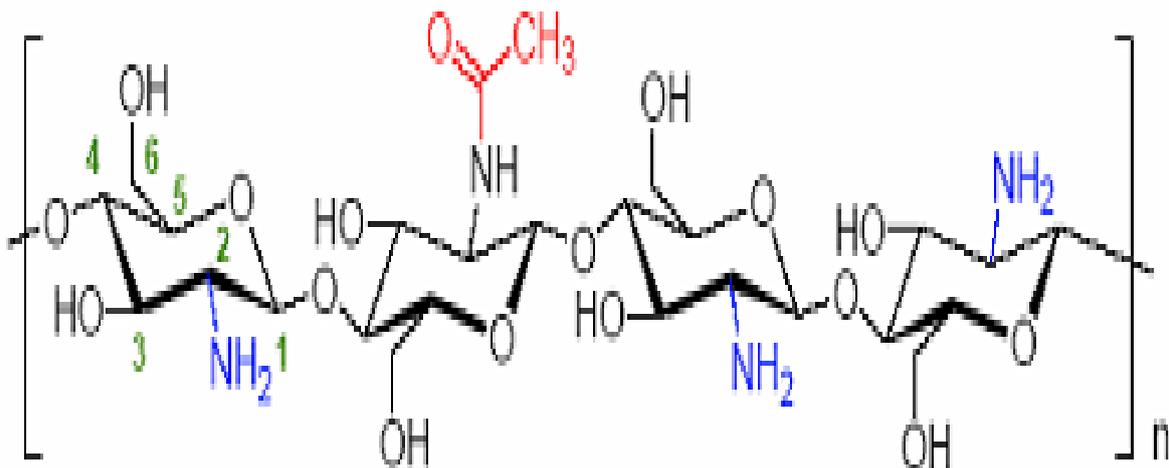


Figure I-8 : Structure chimique du chitosane

Il se trouve plus rarement dans la nature : il n'est présent que dans la paroi d'une classe particulière de champignons et chez quelques insectes. Par exemple la crevette, La chitine est ainsi la source la plus intéressante du chitosane.

I.2.6 Extraction de la chitine

Les déchets de l'industrie des crustacés sont une source très importante de chitine. De nombreuses méthodes ont été développées afin de préparer la chitine à partir des exosquelettes. De manière générale, ces méthodes consistent à éliminer les protéines (déprotéinisation), les éléments minéraux (démminéralisation), la couleur (blanchiment) [23].

I.2.6.1 Déminéralisation

La déminéralisation est généralement réalisée par un traitement acide sous agitation pour solubiliser le carbonate de calcium et le chlorure de calcium. Les acides les plus fréquemment utilisés sont l'acide chlorhydrique et l'acide formique. La durée du traitement acide est de l'ordre de 1 à 24 heures à la température ambiante [24].

I.2.6.2 Déprotéinisation

A l'état naturel, la chitine se présente en association avec les protéines (chitinoprotéine). Ces protéines sont éliminées par un traitement basique en utilisant, en général, des solutions à base de NaOH, Na₂CO₃, NaHCO₃, KOH, K₂CO₃, Ca(OH)₂, Na₂SO₃, CaSO₃, ou Na₃PO₄. La solution d'hydroxyde de sodium est la plus souvent utilisée pour dissoudre les protéines [25].

I.2.6.3 Blanchiment

Le blanchiment (décoloration) se fait par la présence d'un agent oxydant [26], (KMnO₄, NaOCl, SO₂, NaHSO₃, Na₂S₂O₄ ou H₂O₂). Ce traitement peut éliminer des traces de pigments résiduels, comme les caroténoïdes. Entre ces différentes étapes, des opérations de lavage sont nécessaires [26].

I.2.7 Production de chitosane

L'étape la plus délicate reste la désacétylation qui nécessite de substituer suffisamment les groupements acétylés pour aboutir au chitosane, ce qui peut entraîner une réduction excessive de la longueur de chaîne du polymère. En jouant sur la durée du traitement alcalin et sur l'élévation de la température, il est donc possible d'obtenir différents chitosane à partir d'une même chitine. Un degré d'acétylation (DA) inférieur à 10% est rarement atteint par un procédé simple [26]. Le rendement de désacétylation et la qualité du chitosane varient selon l'origine de la matière première utilisée (crevettes, crabes, calamars,) et de la procédure d'extraction (la température, la durée, la concentration d'alcalin, les traitements préalables pour l'obtention de la chitine, l'atmosphère (air ou azote), la

quantité de chitine par rapport à la solution alcaline, la densité de la chitine et la taille des particules). Des conditions trop drastiques conduisent à une dégradation physique du biopolymères (avec une chute importante de la masse moléculaire et/ou une oxydation des extrémités réductrices des chaînes macromoléculaires), alors que des conditions trop douces ne permettent pas une désacétylation suffisante. Ceci permet d'expliquer parfois la difficulté d'obtenir de manière reproductible des produits de composition prédéterminée.

I.2.8 Propriétés physico-chimiques

Le chitosane est caractérisé physico chimiquement par le degré de désacétylation, la masse moléculaire, la viscosité et la solubilité [12].

I.2.8.1 Le degré de désacétylation (DDA)

Le degré de désacétylation de la chitine influe sur toutes les caractéristiques physicochimiques du chitosane. Le DDA est la plus importante caractéristique du chitosane. Il existe quatre techniques d'analyse pour déterminer le DDA [24] :

- Balayage par spectrophotomètre UV
- Dosage FTIR
- Dosage conductimétrique
- Dosage pH-métrique

En général, une seule méthode, analytique ou spectrométrique, n'est pas suffisante pour caractériser les biopolymères, chitine et chitosane.

Le DDA de la chitine varie de 60% à 100% selon les conditions de désacétylation utilisées.

I.2.8.2 La viscosité

Seul ici le chitosane est concerné par la viscosité en solution, la chitine étant insoluble. La viscosité du chitosane dans une solution diluée d'acide acétique demeure très variable. Elle dépend notamment de quatre paramètres :

- ✓ Degré de désacétylation : plus il est désacétylé, plus le nombre de groupement amine libre augmente entraînant ainsi une augmentation de sa solubilité et une grande viscosité.
- ✓ Concentration : la viscosité croît en fonction de la concentration

- ✓ Température : la viscosité diminue lorsque la température augmente, comme pour tous les autres polysaccharides.
- ✓ PH : la viscosité est forte dans les domaines de pH acide.
- ✓ Masse molaire

Il existe différentes méthodes pour déterminer la viscosité. La plus employée est «la viscosimètre ».

I.2.8.3 Masse molaire

Les chitosanes obtenus industriellement ont une masse molaire de l'ordre de 200 000 g.mol⁻¹ et un DA allant de 2 à 25% [27]. Pour le chitosane, la masse molaire et la répartition des motifs N-acétylés le long de la chaîne sont dépendantes de la méthode de désacétylation utilisée.

I.2.8.4 Solubilité

Le chitosane sous forme d'amine libre reste insoluble dans l'eau, dans les acides concentrés, dans les bases et dans les solvants organiques. Mais il est soluble dans les acides dilués dans des mélanges d'eau-alcool. Sa solubilité varie en fonction du degré de désacétylation et de la méthode de désacétylation mise en œuvre.

I.2.9 Propriétés chimiques

I.2.9.1 Caractère acido-basique

Le chitosane est soluble dans les acides dilués grâce à la protonation de ses groupements fonctionnels amines. En fait, la solubilité du chitosane dans différentes solutions dépend de sa forme acido-basique. A titre indicatif, les solubilités caractéristiques du chitosane se présentent : sous forme d'amine libre (R-NH₂), soluble dans les solutions acides, insoluble à pH > 6,5, solubilité limitée dans H₃PO₄, insoluble dans H₂SO₄, insoluble dans les solvants organiques, sous forme d'amine cationique (R-NH₃⁺), soluble à pH < 6,5 avec une consistance visqueuse, les solutions forment des gels avec des polyanions, soluble dans des mélanges d'eau- alcool. La constante d'acidité pK_a de la forme amine cationique R-NH₃⁺ dépend du degré de désacétylation et du degré de neutralisation du groupe NH₃⁺ correspondant [28].

I.2.9.2 Formation de complexe (agent de chélation)

I.2.9.3 Echangeur d'ions

I.2.10 Propriétés biologiques

Le chitosane est biocompatible, biodégradable, renouvelable, filmogène, agent hydratant, non toxique, bonne tolérance biologique, hydrolysé par le lysozyme donc biorésorbable, cicatrisant, agent bactéricide et fongicide.

I.2.10.1 Biocompatibilité

Le chitosane est un copolymère normal, parfaitement compatible avec le tissu vivant.

I.2.10.2 Biodégradabilité

Les enzymes chitinase et chitosanase font dégrader la chitine et le chitosane en Oligopolymères facilement assimilables par l'organisme des êtres vivants.

I.3 Applications de la chitine et du chitosane

La faible cristallinité du chitosane par rapport à celle de la chitine explique pourquoi il existe des applications beaucoup plus vastes que celles de la chitine surtout qu'il est essentiellement extrait à partir de cette dernière. Ainsi la solubilité du chitosane dans des solutions acides et la présence d'une grande proportion des groupements amines le rendent plus réactif et plus susceptible à subir des modifications chimiques. La production et l'utilisation industrielle de la chitine et de chitosane augmentent continuellement depuis les années 1970. Actuellement, à cause de leurs caractéristiques telles que le poids moléculaire, la charge cationique, la formation des films et l'adsorption des métaux lourds, la chitine et le chitosane ont divers champs d'application qui s'étendent de l'agriculture, le traitement d'eau, la fabrication du papier et de produits de beauté, à l'industrie pharmaceutique et la biotechnologie.

I.3.1 Domaine biomédical

Le chitosane s'avère très efficace pour ses effets hypocholestérolémiques, ses actions anti-ulcère et anti-acide [29], anti-tumorale, et immuno-activatrices.

I.3.2 Application pharmaceutique

La principale utilisation du chitosane dans l'industrie pharmaceutique est en tant que matériau enrobant de micro-capsules ou de micro-sphères contenant les substances à délivrer à l'intérieur de l'organisme. L'utilisation d'un matériau tel que le chitosane permet de contrôler la libération des substances par ces systèmes, de mieux atteindre les organes cibles et l'amélioration du taux de solubilité et de la disponibilité des drogues non solubles dans des phases aqueuses [30].

I.3.3 Cosmétique

L'excellente tolérance du chitosane, sa parfaite innocuité, son action sur la régénération cellulaire jointe à ses multiples propriétés, en fait un actif idéal pour des produits hydratants [30].

I.3.4 Agriculture

Le chitosane est un biopolymère d'intérêt dans le domaine agroalimentaire. En tant que bio stimulateur, favorise la germination et la croissance des plantes, en plus d'augmenter leur rendement. Il possède aussi des propriétés antifongiques qui le rendent fort attrayant pour lutter contre les phytopathogènes. L'application de chitosane induit, chez la plante des mécanismes de défense (synthèse de phytoalexines, chitinases, pectinases, etc.), ce qui fait de ce biopolymère un outil attrayant pour réaliser la lutte antiparasitaire. D'un point vu environnemental, l'utilisation de ce biopolymère est fort acceptable puisqu'il contribuerait à réduire l'utilisation de pesticides et de fertilisants chimiques, deux types de substances responsables d'importantes répercussions sur les milieux naturels et sur la santé humaine [30].

I.3.5 Agroalimentaire

Selon [31], les principales applications du chitosane dans le domaine agroalimentaire sont : Applications antibactériennes ; applications antifongiques ; fabrication de pellicules pour les produits comestibles et clarification et désacidification des jus de fruits ; -récupération des matières en suspension dans les effluents des industries de transformation agroalimentaire afin de réduire la demande chimique en oxygène de l'eau usée rejetée.

I.3.6 Domaine de traitement des eaux

Les propriétés polyélectrolytes, chélatantes et complexantes du chitosane en font un bon candidat pour les applications [32-33-34], dans le domaine du traitement des eaux usées. Le chitosane peut être utilisé aussi bien à l'état solide qu'en solution.

Cette application étant basée sur le caractère polycationique de polymère en milieu acide, son efficacité varie selon la concentration en polymère et le pH du milieu. Néanmoins, la solubilité de chitosane en milieu acide ouvre la porte en traitement des eaux, à de nombreuses applications dans le domaine de coagulation-floculation, de la chélation, de l'adsorption ou de l'ultrafiltration assisté par complexation. Le chitosane peut être utilisé seul ou en combinaison avec d'autres coagulants, tels les sels métalliques d'aluminium ou de fer.

Le grand intérêt à utiliser ce composé d'origine biologique comme agent flocculant provient du fait qu'il est biodégradable et pratiquement non-toxique [35].

Actuellement, dans la majorité des cas, les particules colloïdales, comme les protéines ou les huiles, sont retirées à l'aide d'un procédé chimique de coagulation-précipitation à l'aide de sulfate d'aluminium ou de chlorure de polyaluminium, deux agents coagulants efficaces et peu dispendieux. Cependant, l'utilisation de ces sels d'aluminium peut causer une augmentation de la teneur en aluminium dans l'eau potable et ainsi avoir un impact considérable, à long terme, sur la santé humaine. L'aluminium peut aussi avoir des répercussions négatives sur les milieux naturels s'il s'y retrouve en trop grandes concentrations [36].

Le procédé de coagulation-floculation par ajout de chitosane est actuellement utilisé dans la moitié des cas de traitement d'eaux usées au Japon, et selon une proportion variable dans certains autres pays asiatiques [37]. Cependant, en Amérique du Nord, son utilisation est quasi inexistante.

CHAPITE II

Matériels et méthodes

Notre travail a été réalisé au niveau de laboratoire (université de Bejaia) faculté science exacte. Dans ce contexte nous avons consacré cette partie de travail à la présentation de la méthodologie et du matériels utilisés pour réaliser les différentes parties expérimentales. Notre travail est basé sur l'extraction de la chitine à partir des carapaces de crevettes récoltées au niveau d'un hôtel situé sur la côte Est de la wilaya de Bejaia et sa transformation chimique par désacétylation en chitosane.

II.1 Matériels

II.1.1 Produits utilisés

Les produits utilisés durant cette recherche sont

- Acide chlorhydrique : HCl (35-38%).
- Hydroxyde de sodium : NaOH.
- Hydrogéné peroxyde : H₂O₂ (30%).
- L'eau distillée.
- Carapaces de crevettes.
- Acétone
- Acide acétique

II.1.2 Appareillage

- Broyeur.
- Etuve.
- Thermomètre.
- Barreau magnétique d'agitateur.
- Bain –marie.
- Agitateur a plaque chauffante
- Spectrophotomètre infra rouge.
- Pompe de filtration.
- Papier filtre

II.1.3 Verreries de laboratoire

- Fioles jaugées, béchers, pipettes, boites de pétries, éprouvettes, burettes.
- Papier aluminium, Barreaux magnétiques, spatules et micropipettes.

II.2 Méthodes

Cette première partie expérimentale comporte deux sous-parties : l'extraction de la chitine à partir des carapaces de crevettes et sa conversion en chitosane par désacétylation. Le chitosane synthétisé sera caractérisé principalement par un dosage conductimétrique pour déterminer son degré de désacétylation et par la spectroscopie IR.

II.2.1 Procédé d'extraction de la chitine à partir des carapaces de crevettes

Les carapaces de crevettes utilisées dans cette étude pour synthétiser le chitosane sont ramenées d'un hôtel situé à Bejaia (les crevettes sont pêchées de la mer méditerranéenne).

II.2.2 Prétraitement des carapaces

Une quantité des crevettes rouges ont été soigneusement décortiquées, lavées plusieurs fois avec l'eau de robinet afin d'éliminer toutes les impuretés possibles, ensuite à l'eau distillée puis séchées sur des plateaux dans l'étuve 40°C pendant 48h, et enfin broyées en fine poudre. (Figure II-1)

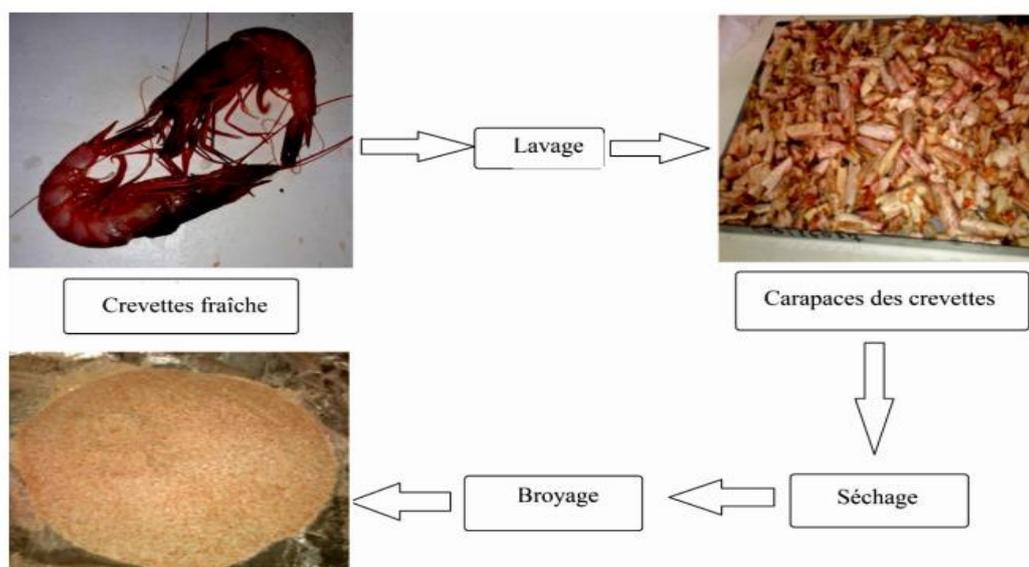


Figure II-1 : Prétraitement des carapaces de crevettes.

Après le prétraitement, les carapaces de crevettes doivent subir une autre série de traitements qui se déroule en trois étapes essentielles : une déminéralisation, une déprotéinisation et une étape de blanchiment [pour les 4 échantillons qu'on a pris] Le protocole expérimental adopté dans cette étude pour l'extraction de la chitine est inspiré dans la littérature [38-39].

II.3 Extraction de la chitine

II.3.1 Schéma général

La production de la chitine repose sur la purification de la matière première. L'attention est principalement portée sur l'élimination du carbonate du calcium et des protéines.

L'extraction chimique réalisé par un traitement acide pour la déminéralisation et un traitement alcalin pour la déprotéinisation. Les autres composés minoritaires sont supposés être entrainés au cours de ces deux réactions. La déminéralisation procède généralement la déprotéinisation car l'inverse aurait un impact sur le DP et le DA du polymère.

Entre chaque étape, le produit est rincé abondamment à l'eau déminéralisée. La figure schématise un exemple de production de chitine et le chitosane. (Figure II-2)

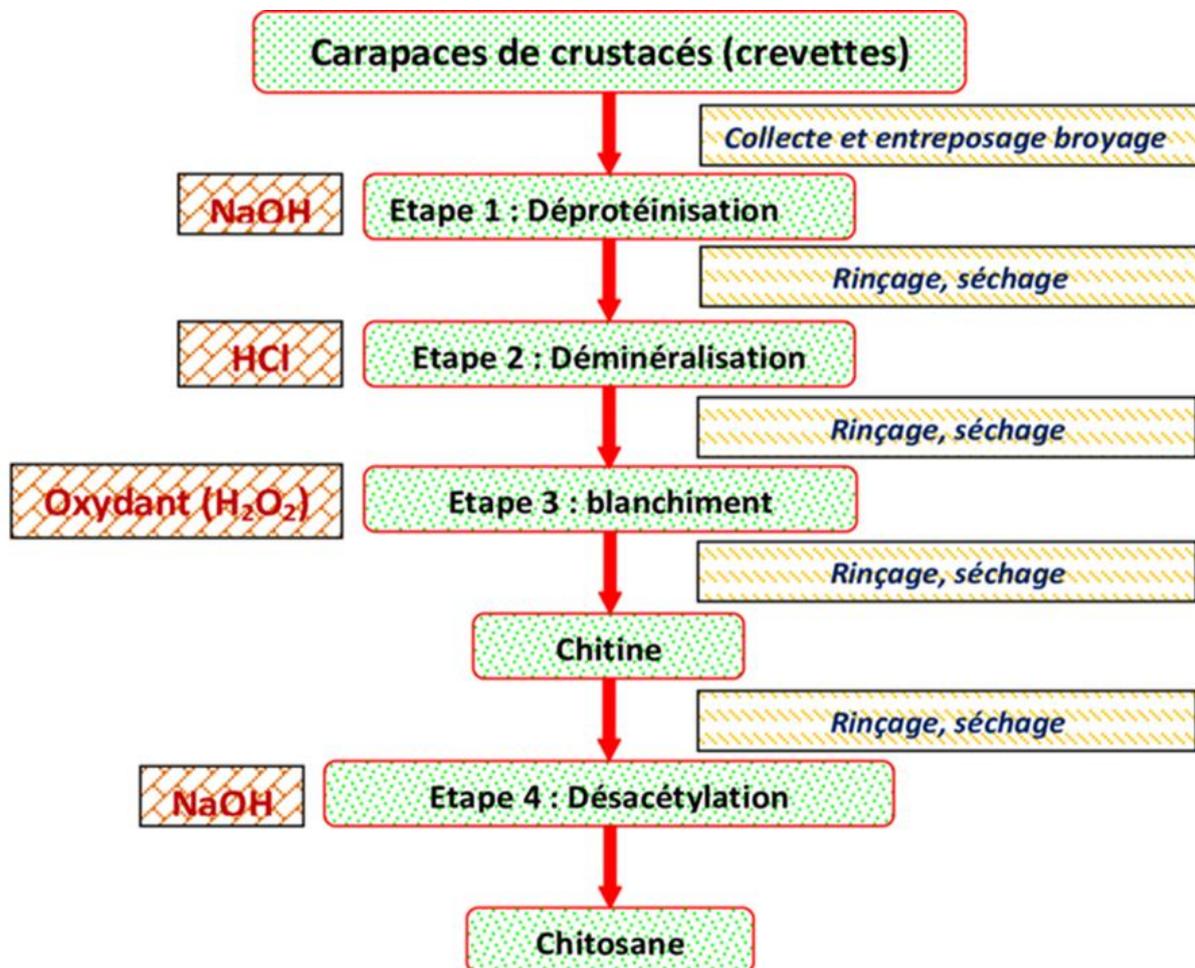
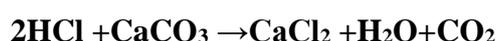


Figure II-2 : procédé de fabrication de la chitine

II.3.1.1 Déminéralisation

Les carapaces ,une fois prétraitées ,ont été soigneusement immergées dans une solution aqueuse d'acide chlorhydrique HCl 1N avec rapport de masse du solide /volume du liquide 1 :10 (w/v), l'ensemble a été soumis à une agitation modérée pendant 6H à température 50°C afin de dissoudre les minéraux qui accompagnent les carapaces, le carbonate de calcium (CaCO₃) , principal composé minéral de la carapace, réagit avec HCl pour former du chlorure de calcium, de l'eau et du gaz carbonique comme décrit dans la réaction suivante :



Après la déminéralisation, la solution a été filtrée et la matière obtenue a été lavée plusieurs fois à l'eau distillée jusqu'à la neutralité puis séchée à l'étuve pendant une nuit à une température 50°C . [pour les 04 échantillons]. (Figure II-3)



Figure II-3 : Etape de déminéralisation des carapaces de crevettes par HCl

II.3.1.2 Déprotéinisation

Dans cette étape, les carapaces de crevettes déminéralisées ont été soumises à traitement alcalin par la soude NaOH (premier échantillon 4% de NaOH - deuxième échantillon 6% - troisième échantillon 8% et le quatrième échantillon a 10%) à 100°C sur un agitateur a plaque chauffante pendant 6H avec des proportion solide/liquide 1 :20 (w/v).

Une filtration sous vide suivie d'un lavage à l'eau distillée pour séparer la chitine de la solution aqueuse (figure II-4). La matière récupérée a été étuvée pendant une nuit à 40°C .



Figure II-4 : Etape de déprotéinisation des carapaces de crevette par NaOH

II.3.1.3 Blanchiment

Le produit obtenu par déprotéinisation a été traité par le peroxyde de l'hydrogène H_2O_2 (0, 3%) avec un rapport solide /solvant 1 :10 (w /v), sous agitation magnétique maintenue durant 2H. (Figure II-5). La chitine obtenue a été rincée plusieurs fois à l'eau distillée puis séchée dans l'étuve.



Figure II-5 : Blanchiment des carapaces de crevette par H_2O_2 et obtention de la chitine

II.4 Synthèse du chitosane par la désacétylation de la chitine

Le chitosane résulte par la désacétylation de la chitine. Cette étape s'effectue par un traitement avec NaOH dont elle nécessite une réduction dans la longueur de chaîne de la chitine par la substitution de groupement acétyle pour obtenir le chitosane, et le rendement de la désacétylation peut être influencée par certains facteurs comme la température, la durée de traitement aussi par la quantité de la chitine par rapport à la solution d'alcaline.

- Dans la hotte et sous une agitation et chauffage à 100C°, nous avons traité la chitine avec la solution de NaOH (12.5 M) pendant deux heures.
- Après le traitement nous avons filtré notre mélange à l'aide d'un papier filtre.
- A la fin notre échantillon a été séché dans l'étuve à 60C°, ensuite nous avons récupère l'échantillon.



Figure II-6 : Désacétylation de la chitine et obtention du chitosane.

L'équation suivante montre la réaction de désacétylation de la chitine :

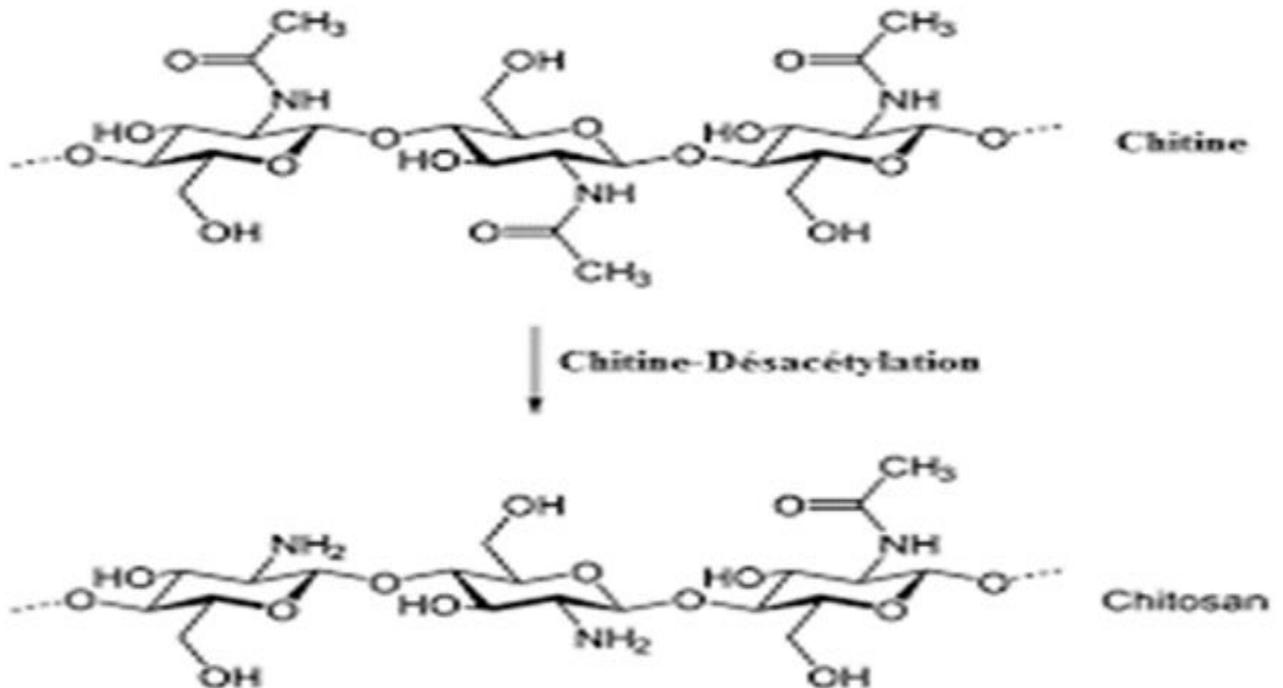


Figure II-7 : Réaction de désacétylation de la chitine.

Si l'étape de désacétylation est répétée plus d'une fois, le DDA peut atteindre les 95-96 %. Si une désacétylation complète est obtenue après plusieurs étapes du processus, la longueur des chaînes devient relativement petite à la fin du traitement.

La qualité du chitosane varie selon l'origine de la matière utilisée (crevettes, crabes, calamars...) et la procédure expérimentale d'extraction de la chitine ainsi que l'étape de désacétylation [40]. Pour cela, il est nécessaire de bien choisir le traitement pour désacétyler la chitine, pour minimiser au maximum la dégradation de la chaîne du polysaccharide tout en obtenant une désacétylation régulière le long des chaînes du polymère [41], afin de préparer un chitosane qui est non dégradé et parfaitement soluble dans l'acide dilué (acide acétique, acide lactique, acide critique,).

II.5 Caractérisation du chitosane synthétisé

II.5.1 Test de solubilité

Pour tester la solubilité du chitosane synthétisé dans quelques solvants tels que l'eau distillée, l'acide chlorhydrique, la soude et l'acétone et acide acétique ; 10mg d'échantillon ont été introduit séparément et sous agitation magnétique pendant 24H dans 10ml.

II.5.2. Le degré de désacétylation (DDA) du chitosane

La méthode choisie pour déterminer le degré de désacétylation est la spectrométrie infrarouge (IR).

II.6 Détermination du degré de désacétylation du chitosane par la spectrométrie infra rouge (IR)

La spectrométrie IR est la plus répandue la détermination du DD. Cette analyse permet d'obtenir les empreintes spectrales vibrationnelle des groupements constituant une molécule. Il est possible par cette méthode de déterminer le degré de désacétylation par la formule suivante :

$$DA (\%) = (A_{1655\text{cm}^{-1}} / A_{3450\text{cm}^{-1}}) * 100 / 1.33$$

OÙ

$$DD (\%) = (\%) \text{NH}_2 = [1 - (A_{1655\text{cm}^{-1}} / A_{3450\text{cm}^{-1}}) * 1 / 1.33] * 100$$

II.7 La spectroscopie infrarouge

La spectroscopie infrarouge (IR) permet d'identifier la présence de groupements chimiques spécifiques.

Cette méthode d'analyse permet rapidement d'obtenir des spectres IR d'échantillons solides et liquides sans nécessiter beaucoup de manipulations au préalable. Le principe repose sur les vibrations entre les atomes et entre différents groupements d'une molécule lorsqu'ils sont excités par une longueur d'onde du spectre infrarouge. L'appareil permet de mesurer ces vibrations et de fournir un spectre caractéristique de la molécule (lorsqu'elle est pure) permettant d'être identifiée et d'être reconnue notamment par l'utilisation de banques de données. (Figure II-8)



Figure II-8 : Spectrophotomètre infra rouge.

CHAPITRE III

Résultats et discussion

Dans ce chapitre les résultats obtenus au cours de cette étude ainsi que leurs discussions seront exposés. Nous présenterons la synthèse et la caractérisation du chitosane

III.1 Caractérisation du chitosane

III.1.1 Rendements des réactions

Pour extraire la chitine à partir des déchets des crevette, on a utilisé une masse de 5g de poudre sèche, qui a été traitée avec une solution d'acide chlorhydrique (1M) pendant 6h sous agitation continue, à température ambiante pour éliminer les composés minéraux qu'elle contient. Ensuite, on a continué l'extraction avec une solution basique d'hydroxyde sodium à (4% 6% 8% et 10%) pendant 6h et à une température de 100°C, pour dissocier le complexe chitine-protéines (déprotéinisation). Par la suite, on a poursuivi le traitement par blanchiment avec un agent oxydant qui est le peroxyde de l'hydrogène H_2O_2 (0.3%) avec un rapport du solide au solvant 1 :10(w/v), sous agitation magnétique maintenue durant 2h, cette étape sert à éliminer les substances colorantes, qui sont la β -carotène. On obtient à la fin du traitement une poudre de couleur blanche qui est la chitine. Cette dernière a été traitée par une solution basique concentrée d'hydroxyde de sodium à (12.5M) pendant 3h à l'aide d'un chauffage à reflux à 100°C au profil d'une réaction de désacétylation qui conduit à l'obtention du polymère recherché (le chitosane).

Les résultats des rendements obtenus de chaque étape d'extraction et de transformation de la chitine en chitosane

$$\text{Rendement \%} = \frac{\text{masse de l'échantillon après réaction}}{\text{masse de l'échantillon avant réaction}}$$

Les résultats des rendements obtenus de chaque étape d'extraction ainsi que l'étape de désacétylation, sont regroupés dans les tableaux III-1, III-2, III-3 et III-4 :

Tableau III-1 : rendements des différentes étapes d'extraction et de transformation de la chitine en chitosane (échantillon 1)

Etape	Déminéralisation	Déprotéinisation	Blanchiment	Désacétylation
Rendements%	36.4	49.120	68.458	47.624

Tableau III-2 : rendements des différentes étapes d'extraction et de transformation de la chitine en chitosane (échantillon 2)

Etape	Déminéralisation	Déprotéinisation	Blanchiment	Désacétylation
Rendements%	35.2	47.159	70.588	43.333

Tableau III-3 : rendements des différentes étapes d'extraction et de transformation de la chitine en chitosane (échantillon 3)

Etape	Déminéralisation	Déprotéinisation	Blanchiment	Désacétylation
Rendements%	35.2	42.045	79.729	32.203

Tableau III-4 : rendements des différentes étapes d'extraction et de transformation de la chitine en chitosane (échantillon 4)

Etape	Déminéralisation	Déprotéinisation	Blanchiment	Désacétylation
Rendements%	46.4	52.586	89.344	36.69

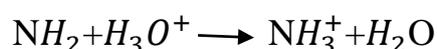
III.2 Teste de solubilité

La chitine est une substance inerte, insoluble dans l'eau, et également dans la plupart des solvants [42]. En revanche, sa désacétylation partielle en milieu basique permet d'obtenir le chitosane qui, lui, est en milieu aqueux acide.

Les résultats du test de solubilité de la chitine et du chitosane dans différentes solutions sont présentés dans le tableau suivant :

Solvant	Eau distillée	Acide Acétique 0.5M	Acide acétique 1M	Acide acétique 2M	NaOH 1M, 2M	HCl 1M	Acétone
Chitosane	Insoluble	Soluble	Soluble	Soluble	Insoluble	Soluble	Insoluble

Le chitosane est soluble dans la plupart des solutions acide telles que les solution diluées (0,1 à 1%) d'acide nitrique et chlorhydrique. Mais l'acide le plus couramment utilisé pour préparer une solution du chitosane est l'acide acétique dilué. En effet le chitosane est soluble dans ces solution, grâce à la protonation de ses groupes amino (NH_2) libres suivant cet équilibre acido-basique :



Et ces protons proviennent de la dissociation de l'acide acétique suivant cet équilibre :



Le chitosane est insoluble dans les solvants purs et les acides concentrés, en raison de l'impossibilité d'hydrater le matériau. Il est donc relativement stable en milieu acide concentré, même s'il se dégrade après une longue exposition.

En revanche, en présence d'une faible quantité d'acide, il est soluble dans le mélange aqueux contenant par exemple 60% de méthanol ou 40% d'acétone. Cependant il faut noter que, la solubilité du chitosane, comme indiqué précédemment le DDA varie considérablement selon le procédé de fabrication, et notamment en fonction des conditions d'extraction et de séchage. Lorsque le DDA est peu élevé c'est -à-dire lorsque les groupements amine sont en faible quantité, le chitosane est peu soluble. En général on utilise du chitosane avec un DDA supérieur à 70% pour augmenter sa solubilité. Celle-ci dépend également de la force ionique, du pH, de la nature de l'acide utilisé et de la distribution des groupes acétyles le long de la chaîne macromoléculaire.

III.3 Les Résultats et Discussion des Spectre IR obtenue

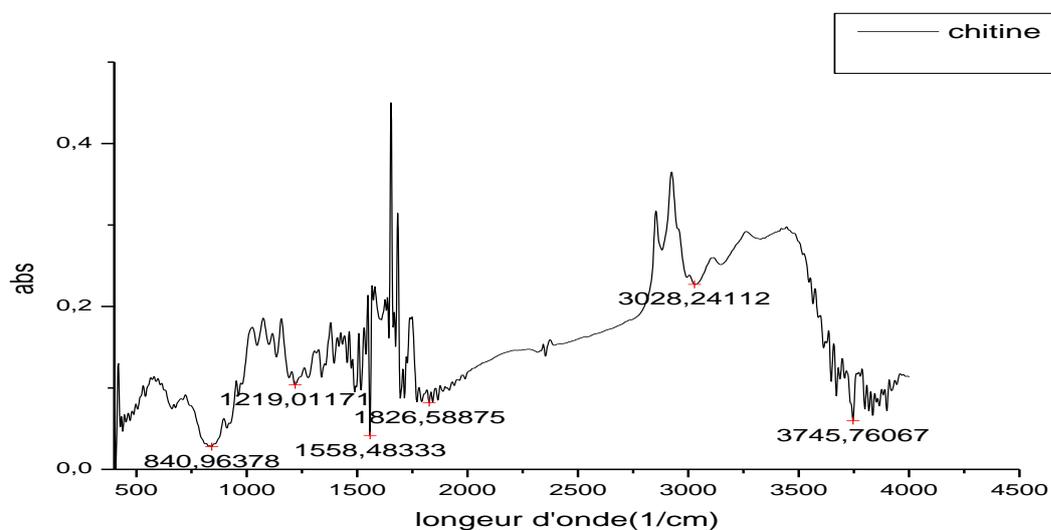


Figure III-1 : Spectre IR de la chitine extrait (échantillon 1)

Tableau III-6 : Les pics caractéristiques en IR de la chitine extrait (échantillon 1).

Bandes d'absorption IR cm^{-1}		Structure
Chitine Littérature	Chitine extraie	
3450	3745	OH, groupe hydroxyle
2920	3028	Groupe aliphatique de C-H
1660	1826	C=O du groupe amide I
1560	1558	N-H du groupe amide II
1380	1219	CH ₃ du groupe amide
1080-613	840	Vibration squelettique d'anneau de la chitine

Les résultats du tableau montrent des bandes d'absorption indexées comme ci-dessous :

- Une bande d'absorption à 3460 cm^{-1} qui correspond au groupement hydroxyle
- Une bande d'absorption à 2926 cm^{-1} qui correspond à l'étirage aliphatique de CH
- Une bande d'absorption à 1661 cm^{-1} correspond à l'amide I et l'étirage de $\text{C}=\text{O}$
- Une bande d'absorption à 1564 cm^{-1} correspond l'étirage de N-H et déformation de groupe d'amine II.
- Une bande d'absorption à 1382 cm^{-1} correspond au groupement CH_3

Les bandes d'absorption entre 1015 cm^{-1} sont assignées aux vibrations squelettiques d'anneau de la chitine.

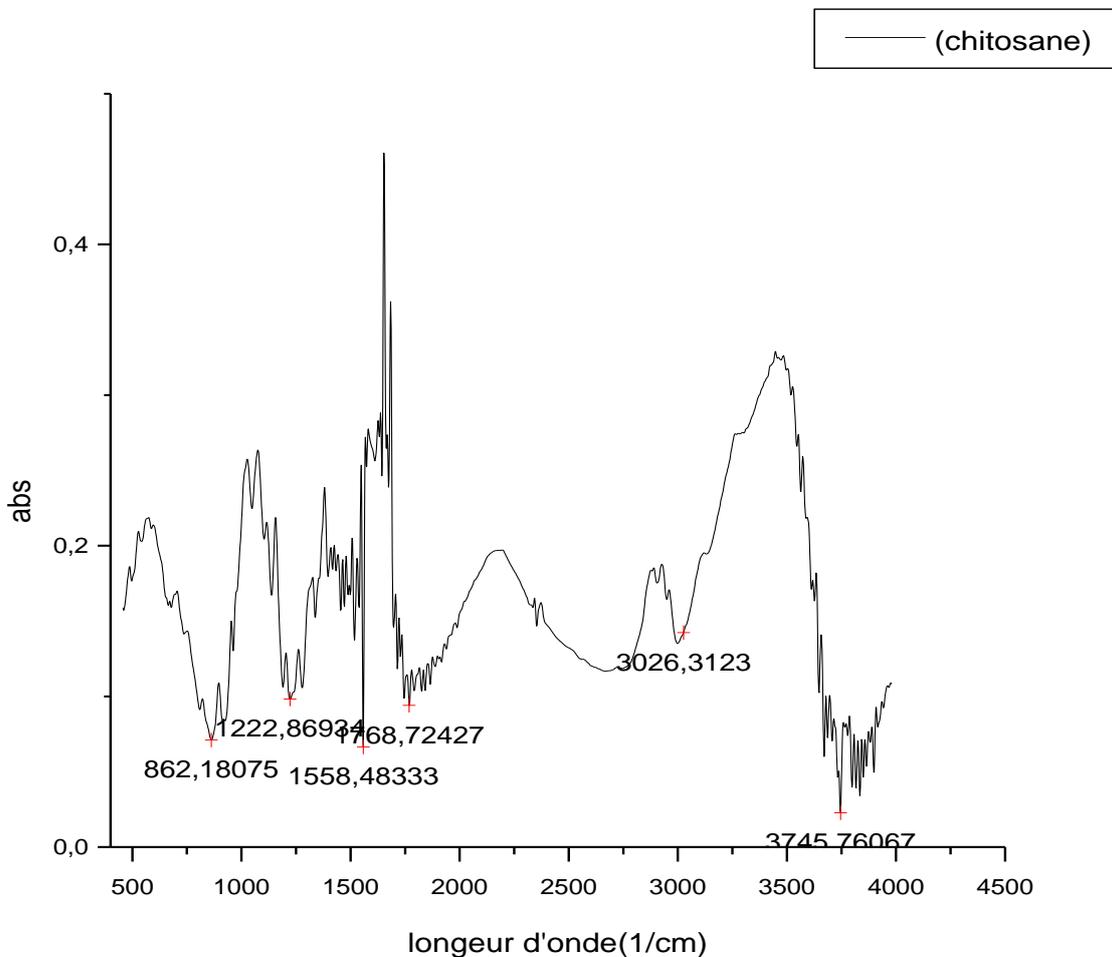


Figure III-2 : Spectre IR de chitosane extrait (échantillon 1)

Tableau III-7 : Principales bandes IR du chitosane extrait (échantillon 1). [85-86-87-88]

Bandes d'absorption IR cm^{-1}		Structure
Chitosane Littérature	Chitosane extraie	
3446	3746	Vibration d'élongation des groupements O-H et N-H
2918	3026	Vibration d'élongation de la liaison -CH
1666	1768	Vibration d'élongation de la liaison -CO (amide I)
1597	1558	Vibration de déformation de la liaison -NH (amide II)
1378	1222	Vibration de déformation de la liaison -CH ₃
500-900	862	Région sensible à la structure

Les principales bandes qui apparaissent sont résumées sur le tableau

- Une bande d'absorption à 3445 cm^{-1} correspond à vibration d'élongation des liaisons -OH et -NH
- Une bande d'absorption à 2926 cm^{-1} qui correspond à l'étirage aliphatique CH.
- Une bande d'absorption à 1656 cm^{-1} qui correspond à l'étirage de CO.
- Une bande d'absorption de 1546 cm^{-1} qui correspond à la vibration de déformation de liaison N-H.
- Une bande d'absorption à 1382 cm^{-1} caractéristique des groupements C-O-H.
- Une bande d'absorption à 500 cm^{-1} et 900 cm^{-1} appelée région sensible à la structure.

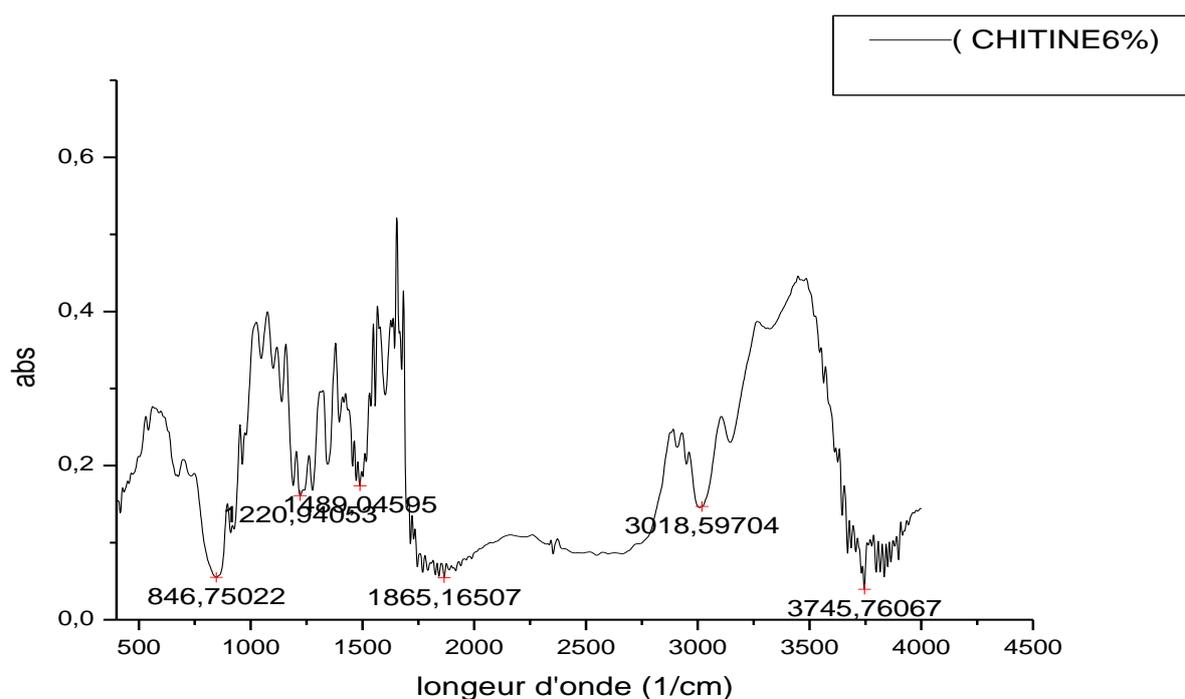


Figure III-3 : Spectre IR de la chitine extrait (échantillon 2)

Tableau III-8 : Les pics caractéristiques en IR de la chitine extrait (échantillon 2)

Bandes d'absorption IR cm^{-1}		Structure
Chitine Littérature	Chitine extraie	
3450	3745	OH, groupe hydroxyle
2920	3018	Groupe aliphatique de C-H
1660	1865	C=O du groupe amide I
1560	1489	N-H du groupe amide II
1380	1220	CH ₃ du groupe amide
1080-613	846	Vibration squelettique d'anneau de la chitine

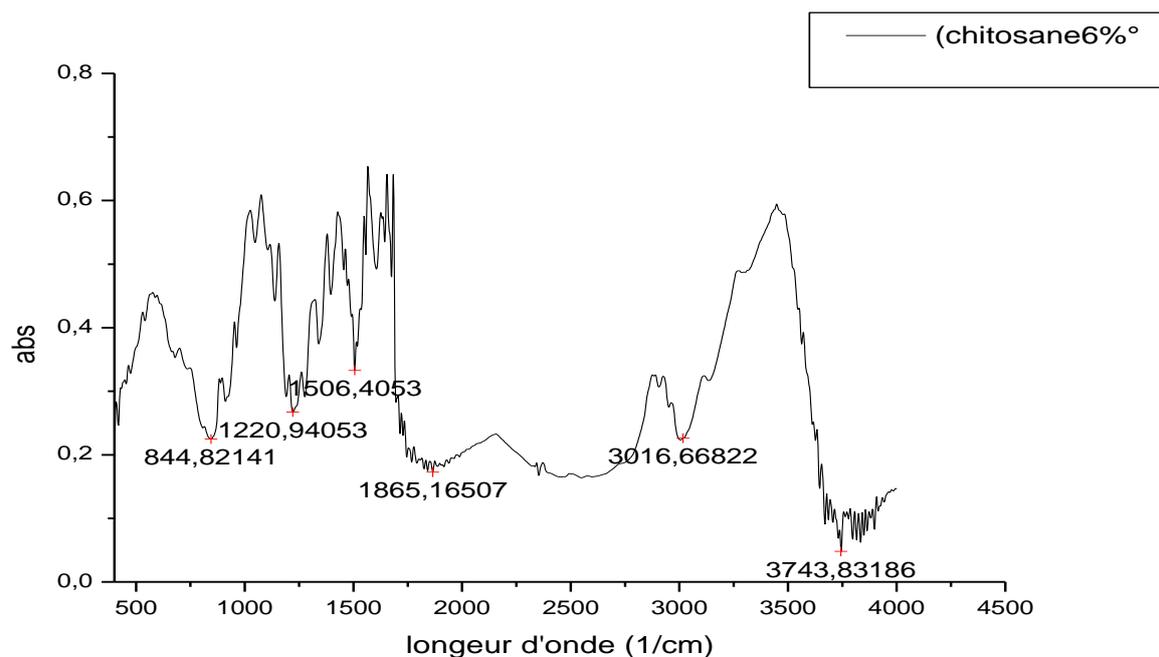


Figure III-4 : Spectre IR de chitosane extrait (échantillon 2)

Tableau III-9 : Principales bandes IR du chitosane extrait (échantillon 2)

Bandes d'absorption IR cm^{-1}		Structure
Chitosane Littérature	Chitosane extraie	
3446	3743	Vibration d'élongation des groupements O-H et N-H
2918	3016	Vibration d'élongation de la liaison -CH
1666	1865	Vibration d'élongation de la liaison -CO (amide I)
1597	1506	Vibration de déformation de la liaison -NH (amide II)
1378	1220	Vibration de déformation de la liaison -CH ₃
500-900	844	Région sensible à la structure

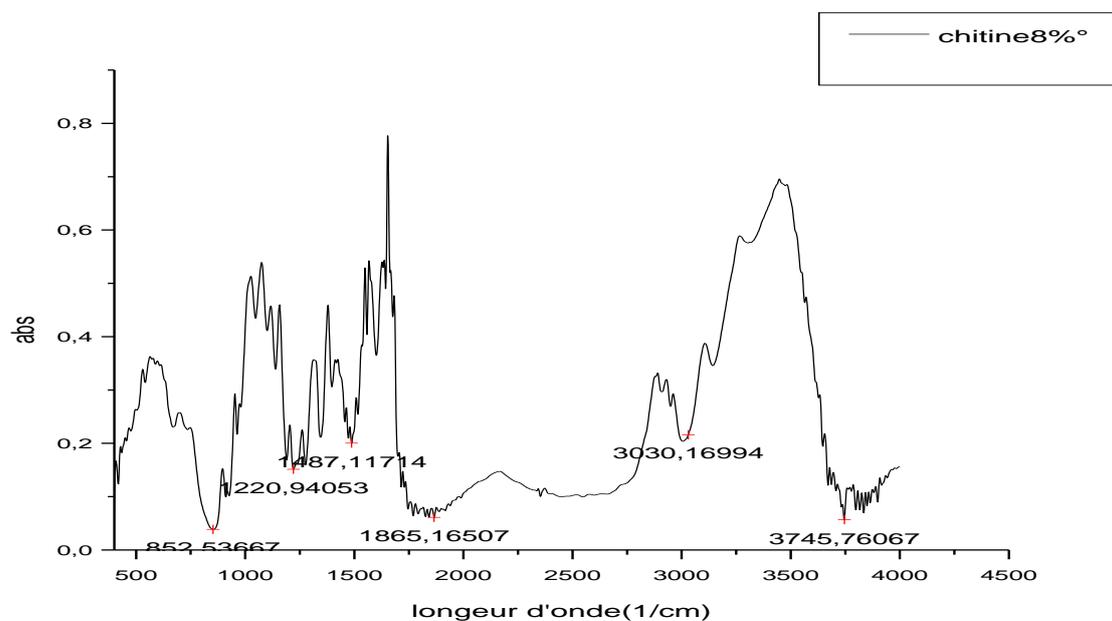


Figure III-5 : Spectre IR de la chitine extrait (échantillon 3).

Tableau III-10 : Les pics caractéristiques en IR de la chitine extrait (échantillon 3).

Bandes d'absorption IR cm^{-1}		Structure
Chitine Littérature	Chitine extraie	
3450	3745	OH, groupe hydroxyle
2920	3030	Groupe aliphatique de C-H
1660	1865	C=O du groupe amide I
1560	1487	N-H du groupe amide II
1380	1220	CH ₃ du groupe amide
1080-613	852	Vibration squelettique d'anneau de la chitine

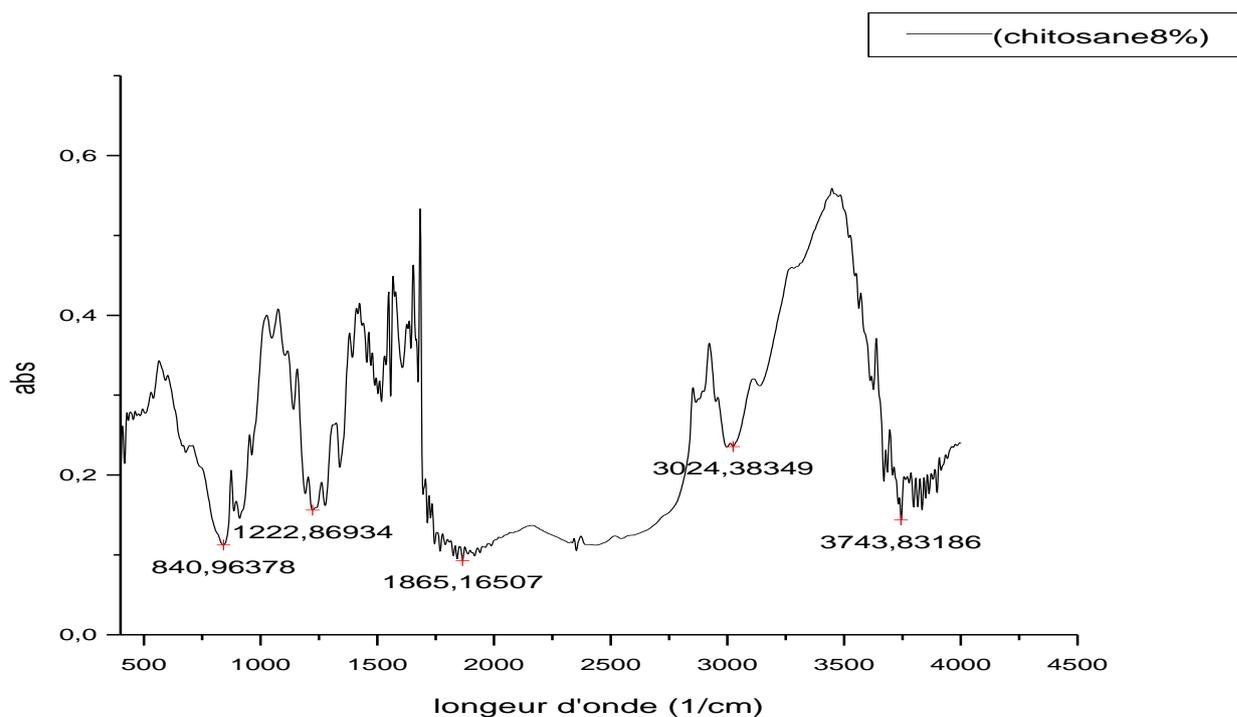


Figure III-6 : Spectre IR de chitosane extrait (échantillon 3)

Tableau III-11 : Principales bandes IR du chitosane extrait (échantillon 3)

Bandes d'absorption IR cm^{-1}		Structure
Chitosane Littérature	Chitosane extraie	
3446	3743	Vibration d'élongation des groupements O-H et N-H
2918	3024	Vibration d'élongation de la liaison -CH
1666	1865	Vibration d'élongation de la liaison -CO (amide I)
1597	1506	Vibration de déformation de la liaison -NH (amide II)
1378	1222	Vibration de déformation de la liaison -CH ₃
500-900	840	Région sensible à la structure

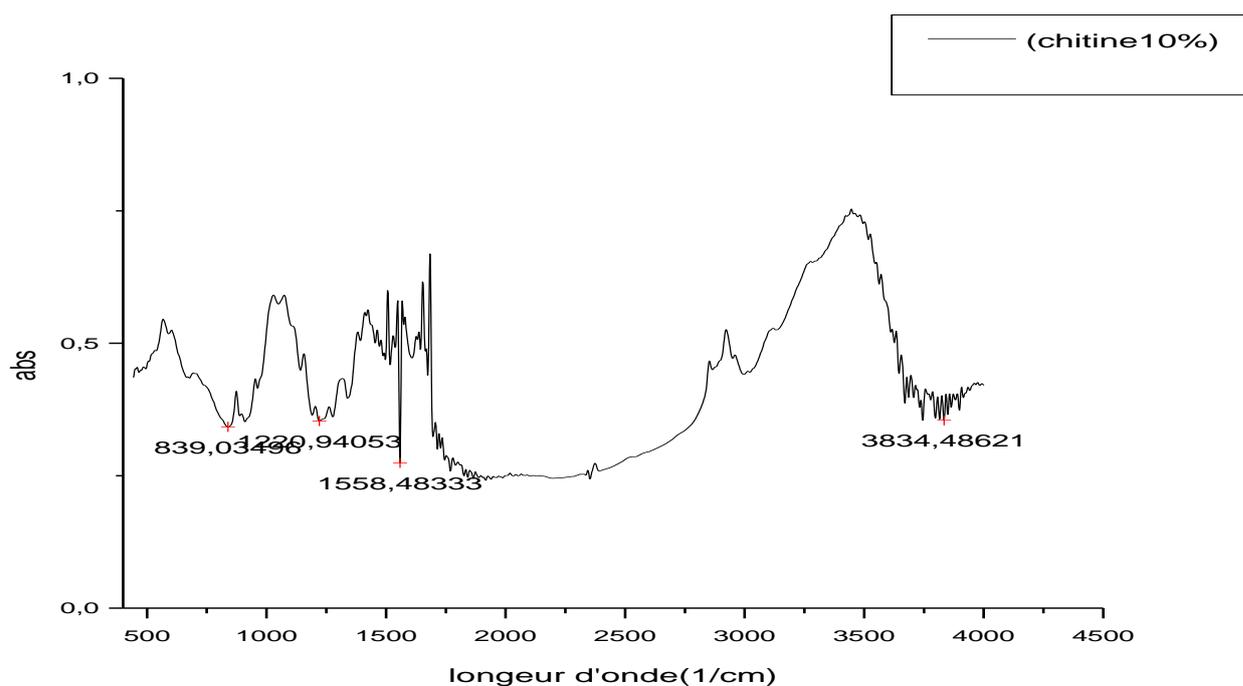


Figure III-7 : Spectre IR de la chitine extrait (échantillon 4)

Tableau III-12 : Les pics caractéristiques en IR de la chitine extrait (échantillon 4).

Bandes d'absorption IR cm^{-1}		Structure
Chitine Littérature	Chitine extraie	
3450	3834	OH, groupe hydroxyle
2920	3030	Groupe aliphatique de C-H
1660	1865	C=O du groupe amide I
1560	1558	N-H du groupe amide II
1380	1220	CH ₃ du groupe amide
1080-613	839	Vibration squelettique d'anneau de la chitine

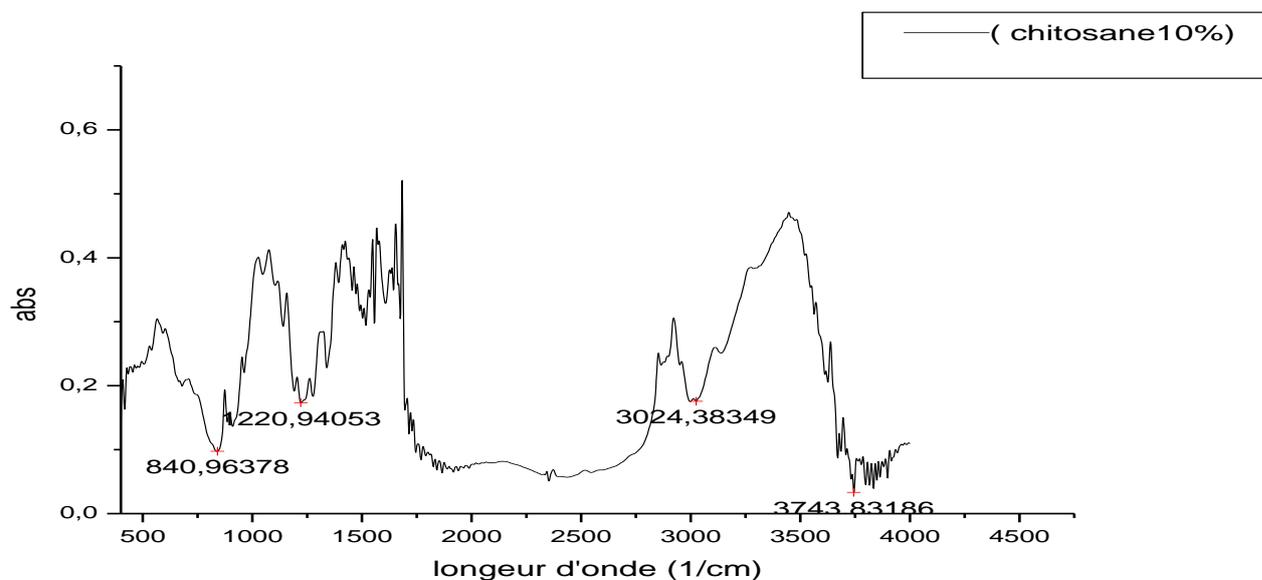


Figure III-8 : Spectre IR de chitosane extrait (échantillon 4)

Tableau III-13 : Principales bandes IR du chitosane extrait (échantillons 4).

Bandes d'absorption IR cm^{-1}		Structure
Chitosane Littérature	Chitosane extraie	
3446	3743	Vibration d'élongation des groupements O-H et N-H
2918	3024	Vibration d'élongation de la liaison -CH
1666	1865	Vibration d'élongation de la liaison -CO (amide I)
1597	1506	Vibration de déformation de la liaison -NH (amide II)
1378	1220	Vibration de déformation de la liaison -CH ₃
500-900	841	Région sensible à la structure

- Les deux spectres de chaque échantillon montrent une large bande à 3100_3500 correspondants aux vibrations d'élongation de –NH et –OH incluant les liaisons d'hydrogène. L'absorbance de cette bande dans spectre chitosane diminue en intensité et déplace vers une fréquence plus élevée. Ceci est signe de diminution des liaisons d'hydrogène en raison de l'état amorphe du chitosane.
- Les absorbances des pics dues aux vibrations d'élongation de –CH et 6 CH₂ à 2887 cm⁻¹ 2926cm⁻¹ deviennent plus faibles dans le cas du chitosane.
- L'apparition d'un seul pic 1656 cm⁻¹ montre que la chitine utilisée est une α-chitine arrangement antiparallèle des macromolécules, qui reflète des liaisons intermoléculaires de faible énergie).et l'absence de pics à 1550 cm⁻¹ dans le spectre du chitosane montre que le dernier et très désacétylé.
- Le spectre de la chitine montre des bandes dans région 500-900cm⁻¹ appelée région sensible à la structure. L'absence de ces bandes dans spectre du chitosane reflète le changement de la structure du polysaccharide.
- L'absence de pic à 1540 cm⁻¹, est attribué à la faible ou absence des impuretés protéiques) dans les deux sépare dénotant la grande pureté de la chitine utilisée.

III.4 Détermination de degré d'acétylation (DA) et désacétylation (DD)

Le degré d'acétylation et déterminer en utilisant l'équation les résultats obtenus sont présentés dans le tableau

$$DA (\%) = (A_{1655} \text{cm}^{-1} / A_{3450} \text{cm}^{-1}) * 100 / 1.33$$

OÙ

$$DD (\%) = (\%) \text{NH}_2 = [1 - (A_{1655} \text{cm}^{-1} / A_{3450} \text{cm}^{-1}) * 1 / 1.33] * 100$$

A_{1655} : absorbance de la bande « amide I » de l'amide secondaire

A_{3450} : absorbance de l'hydroxyle du groupement CH₂OH

Tableau III-14 : Le degré d'acétylation (DA)et désacétylation (DD) de chitine et du chitosane extrait.

Échantillon	$A_{1655\text{cm}^{-1}}$	$A_{3450\text{cm}^{-1}}$	DD%	DA%
Chitine4%	0.1	0.25	69.9	30
Chitine6%	0.11	0.1	17.29	82.7
Chitine8%	0.1	0.2	62.4	37.5
Chitine10%	0.25	0.3	37.3	62.65
Chitosane4%	0.097	0.35	79.16	20.8
Chitosane6%	0.1	0.25	69.92	30.07
Chitosane8%	0.12	0.23	60.77	39.22
Chitosane10%	0.15	0.21	46.29	53.7

Conclusion

Au terme de ce présent travail, nous avons voulu avoir quelques informations sur les qualités des composés des coproduits de la crevette. Ces coproduits sont essentiellement composés par les carapaces et les têtes de la crevette.

L'objectif de ce travail est l'extraction de la chitine à partir des carapaces de crevettes puis sa transformation par voie chimique en chitosane. Cette étude rentre aussi dans le cadre de la protection de l'environnement.

Pour extraire la chitine, on a trois étapes à suivre : la déminéralisation pour solubiliser le carbonate de calcium et le chlorure de calcium, ensuite la déprotéinisation pour éliminer les protéines, puis la blanchiment (décoloration) pour éliminer des traces de pigments résiduels. Et entre chaque étape des opérations de lavage sont obligatoires.

Le chitosane est obtenu après désacétylation de la chitine et ne diffère de celle-ci que par les groupements amines sur la chaîne moléculaire. Cette différence a un effet important sur les propriétés de ce matériau ; le chitosane est soluble dans les acides dilués alors que la chitine se dissout difficilement dans les solvants. La « richesse » du chitosane, notamment son degré de désacétylation à l'origine de son potentiel, additionnée aux propriétés biologiques auparavant mentionnées, en font un polymère particulièrement intéressant pour une multitude d'applications.

Références bibliographiques

References bibliographies

- [1] Hiromatsu K., Yakab Y., katagiri K., Nishihara T. Prediction for biodegradability of chemicals by an empirical flowchart, *Chemosphere* 41 (11), 1749-1754 (2000).
- [2] MESSAOUD Touatia., Contribution à la purification de la chitine à partir des coproduits de la crevette rouge, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem. (2016)
- [3] Rafalimanana, T. Les crevettes pénéides exploitées sur la côte Ouest de Madagascar : Variabilités spatio- temporelles des paramètres biologiques et dynamiques des populations. Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes, Rennes France pp261 (2003).
- [4] Wood-Mason, J. *Natura l History Note s from H.M. Indian Marine Survey Steamer «Investigator »*, Commande r R. F. Hoskyn, R.N. commanding (21): 186-202 (1991).
- [5] ADIM Hassina et BELKHIER Zineb., formulation d'une crème 100% bio a base du chitosane., université de Blida. (2016).
- [6] DJELAD Amel., preparation des matériaux composites chitosane-zeolithes., memoire université de d'oran. (2011).
- [7] Shahidi F., Abuzaytoun R., Chitin, chitosan, and co-products: chemistry, productions, applications, and health effects. *Adv. Food Nutr. Res.*, 49: 93-135(2005).
- [8] Mourad F., Co-adsorption des métaux lourds sur la bentonite modifiée en présence de flocculants minéral et biologique, mémoire de Magister, Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, pp34-42 (2012).
- [9] Crini G. et al., Chitine et chitosane du biopolymère à l'application, Presses Universitaires de Franche- Comté, p2-9(2009).
- [10] Durand V. Et Vergini T. Le chitosane-un biopolymère d'avenir pour les papiers antimicrobiens ? Cas des emballages alimentaires INP de Grenoble France 2010
- [11] Rinaudo M., Chitine et Chitosane., Centre de recherches sur les macromolécules végétales. CERMAV-CNRS France (2006).
- [12] Arbia L., Contribution à l'étude de la déminéralisation et la déprotéinisation de la carapace de crabe de la crevette par voie fermentaire, mémoire de magister, ENP d'Alger, p 3-12. (2010)

- [13] Mignotte O. et al., 'Dépolluer une eau avec des carapaces de crevettes ? Pas si complexe, Union des Professeurs de Physique et de Chimie 106, p 43-55 (2012).
- [14] Crini G. et al., Chitine et chitosane du biopolymère à l'application, Presses Universitaires de Franche- Comté, p2-9 (2009).
- [15] Randrianasolo O. V., Contribution aux études sur la préparation du chitosane à partir des carapaces de crevettes, mémoire d'ingénieur, ESPA, p6-34 (2003)
- [16] L. Payet, F. Ponton, P. Agenly, J. Colinart. L.rhéologie caractérisation rhéologique de la gélification de l'alginate et de chitosane :effet de la température vol.2,.46-51 (2002).
- [17] E.A. Baldwin, M.O. Nisperos-Carriedo, and R.A. Baker, use of edible coating to preserve quality of lightly (and slightly) Processed Products. Food Science and Nutrition,35 (6).509-523 (1995).
- [18] G.A.F. Roberts, structure of chitin and chitosan. In: chitin chemistry, edited by G.A.F. Roberts, Mac Millan Press Houdmills. 1992. 1-53.
- [19] F rauch, M.dornish chitosanin ; an introduction to biomaterials. Guelcher SA, JO. Hollinger ; eds. CRC press 14.249. (2006).
- [20] Jalal.M Zohuriaan-Methr, Advances In Chitin And Chitosane Modification Throught Graft Copolymerization, Iranian Polymer Journal 14 « (3), 235-265.
- [21] Desbrières. J, Chitin and Chitosan. Chitine.: P 39-44. (2002)
- [22] Pa J H and yu T L. Light scattering study of chitosan in acid aqueous solution. Macromolecular Chemistry and Physics. (202) 985-991, (2001).
- [23] Abdulhadi Aljawish. « Fonctionnalisation enzymatique du chitosane par des composés phénoliques : évaluation des propriétés biologiques et physicochimiques de ces nouveaux bio polymères ». Thèse de doctorat. Université de Lorraine. (2013).
- [24] Mokrani Nadir. « Préparation et étude de comportement de membranes bio polymères Alginate de sodium/chitosane ». Mémoire de Magister. Université de Boumerdes. (2013).
- [25] NugrahaEdhiSuyatma, Developpement de films biodégradable à base de chitosane Etude de mélange chitosane /PLA,de la plastification et de la comptabilisation. Thèse de doctorat, Université de Reims, (2006).

- [26] Shahidi F; Abuzaytoun R. « Chitin, chitosane and co-products: chemistry, production, applications and health effects ». *Adv. Food Nutr.Res*,49: 93-135. (2005).
- [27] Marie-Beatrice G., 'Etude de la performance du chitosane comme coagulant pour enlèvement du cuivre et de la turbidité des eaux usées' Université de MONTREAL, p12-26. (1998).
- [28] Lafleur C., Evaluation d'un procédé de coagulation-floculation au chitosane pour l'enlèvement du phosphore dans les effluents piscicoles, Ecole de technologie supérieure, Université du Québec, SODIM, p2-8,11-16. (2008).
- [29] Hejazi R., Amiji M., Chitosan-based gastrointestinal delivery systems. *J. of Controlled release* 89: 151-165. (2003).
- [30] Ko J. A., Park H. J., Hwang S. J., Park J. B., Lee J. S. Preparation and characterization of chitosan microparticles intended for controlled drug delivery. *International J. of Pharmaceutics*, 249: 165-174. (2002).
- [31] Muzzarelli et Muzzarelli, Chitin related food science today (and two centuries ago), September 2003 *Agro Food Industry Hi Tech* 14(5) :39-42. (2003).
- [32] Sandford. P.A, Chitosane: commercial uses and potentiels in: *Chitin and Chitosan. Sources, Chimistry, biochemistry, physical properties and applications*. Skjak- Braek G, Anthonsen T, Sandford PA, eds. London and New York: Elsevier 51. (1989).
- [33] Goosen MFA. *Applications of chitin and chitosan*. Lancaster: Technomic Publishing. (1997).
- [34] A Review of Chitin and Chitosan Applications *Reactive and Functional Polymers* 46(1): 1-27 (2000).
- [35] Knorr.D, Dye binding proprieties of chitin and chitosan. *J. Food Sci.* 48. (1983).
- [36] Wang, D., W. Sun, Y. Xu, H. Tang and J. Gregor, Speciation stability of inorganic polymer flocculant–PACl. *Colloids and Surfaces A : Physicochem. Eng. Asp...* 243 (1-3) : 1 10. (2004).
- [37] Jourdin, Philippe, *Les crustacés contre les eaux usées*. La Science au Québec. (2001).
- [38] Kadouche S, Farhat M, Lounici H, Fiallo M, Sharrock P, Mecherri M, &Hadioui M, Low-Cost Chitosan Biopolymer for Environmental Use Made from Abundant Shrimp Wastes. *Waste and Biomass Valorization*. 8, 2, 401–406. (2016).

[39] Michael Oduor-Odote P, Marcin H S and Martin G P, Characterization of Chitosan from Blowfly Larvae and Some Crustacean Species from Kenyan Marine Waters Prepared Under Different Conditions. *Western Indian Ocean J. Mar. Sci.* 4, 1 :99–107. (2005).

[40] Rauch F, Dornish M. Chitosan in: *An introduction to biomaterials*. Guelcher SA, Hollinger JO, eds. CRC press 14603. (2006).

[41] Babak V, Lukina I, Vikhoreva. G, Desbrières J., Rinaudo M. Interfacial properties of dynamic association between chitin derivatives and surfactants. *Colloids and Surfaces A : Physicochem. Eng. Aspects*, 147 : 139-148. (1999).

[42] Muzzarelli RAA, Chitin in: *The polysaccharides.*” Aspinall GO, ed. London: Academic Press 3 417. (1985).

Résumé

Le travail réalisé dans ce mémoire est relatif à la préparation du chitosane à partir des carapaces de crevettes récoltées dans la région de Bejaia. Des traitements préliminaires différents (Lavage, Séchage, Broyage) sont appliqués aux produits de départ suivis par des application d'extraction par voie chimique.

Les produits obtenus ont été caractérisés par des tests de solubilité. Le chitosane obtenue est parfaitement soluble dans l'acide acétique (0.5M, 1M, 2M) et dans l'acide chlorhydrique HCl 1M. Toutefois, le produit extrait n'est pas soluble dans l'eau distillée, dans NaOH (1M, 2M) et l'acétone. La détermination du degré de désacétylation (DDA) et le degré d'acétylation (DA) a été réalisée par la technique d'analyse infrarouge.

Abstract

The work carried out in this thesis relates to the preparation of chitosan from shrimp shells harvested in the region of Bejaia. Different preliminary treatments (Washing, Drying, Grinding) are applied to the starting products followed by chemical extraction applications.

The products obtained were characterized by solubility tests. The resulting chitosan is perfectly soluble in acetic acid (0.5M, 1M, 2M) and in 1M hydrochloric acid HCl. However, the extracted product is not soluble in distilled water, NaOH (1M, 2M) and acetone. The determination of the degree of deacetylation (DDA) and the degree of acetylation (DA) was carried out by infrared analysis technique.