**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE DE MEDEA**

**FACULTE DES SCIENCES**



**Mémoire**

Présenté pour obtenir le diplôme de Master

**En chimie**

Spécialité : **Chimie macromoléculaire**

Par :

**Haddache Meriem &Hamidi Hala**

Thème :

# Etude de l'influence des conditions d'extraction sur les propriétés physicochimiques du chitosane

| | | | |
|---|---|---|---|
| Dr.Boucherit N. | MCA | Univeristé de Médéa | Présidente |
| Dr.Ahmedi A. | MCB | Université de Médéa | Examinatrice |
| Dr. ARBIA W. | MCB | Université de Médéa | Présidente |

**Année universitaire : 2019/2020**

# Remerciements

Louange à Dieu Tout-Puissant pour avoir instillé en nous l'amour de la connaissance et pouravoir guidé nos pas et nous avoir donné la force, le courage et la volonté pour accomplir cettehumble œuvre.

Nos profonds remerciements s’adressent particulièrement à Mme ARBIA W., pour sa gentillesse, sa patience, sa générosité et sadisponibilité. On aeu vraiment un grand honneur de travailler sous sa direction.

On tient à remercier tous les membres du jury d'avoir accepté d’examiner et dejuger ce travail même sinous n'avons pas eu le privilège de les rencontrer.

Nous remercions enfin tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin dans la réalisation dece travail.

Nos vifs remerciements vont également à tous nos enseignants depuis la tendre enfance jusqu’à l’université, ceux qui ont contribué à notre formation scientifique, ceux qui nous apermis d’acquérir cette part de connaissance dans l’univers du savoir. On ne pourraitqu’exprimer un infini remerciement plein de gratitude, à nos respectives petites et grandesfamilles, qui n’ont jamais arrêtés de nous encourager et de nous aider à aller de l’avant. Sansoublier tous nos amis.

Grand Merci à Tous.

# Dédicaces

Je dédiece travail,

A ma raison d’être: ma trèschèremère qui

m’atoujoursencouragéc’estgrace à elle et mon père que jesuisaujourd’hui

au stade finale de mes études Dieu les garde pour moi.

A mes frères Nabil, Abdelmoumen etRabeh.

Et ma unique sœur Aya.

A mes grands-parents.

A mon oncle Noureddine et safamille

A ma tanteNadjwa et safamilles

A mon binôme et toutesafamille

A mescamarades de la promotion ainsi que tousceux qui me connaissent.

En fin à tousceux que j’aime et tousceux qui ontune place particulière

dans mon cœur.

***HALA***

# Dédicaces

A l'aide d'ALLAH le tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie,

J'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

A mes très chers parents, les prunelles de mes yeux.

- A ma mère **FATIHA** qui n'a jamais cessé de ménager ses efforts pour que j'atteigne ce niveau .Ni sacrifices, ni privatisations ne l'ont empêché d'accomplir son devoir de mère soucieuse de l'avenir de ces enfants.
- A mon cher papa **BOUFATEH** qui a su se montrer patient, compréhensif et encourageant, sa chaleur paternelle a été et sera toujours pour moi d'un grand réconfort.

Veuillez trouver ici, le témoignage de mon amour éternel.

Que dieu vous procure santé, prospérité et bonheur...

- C'est grâce à vous que je suis arrivée aujourd'hui à ce niveau d'étude. Je ne trouverai jamais les mots pour vous remercier autant pour toute la veille morale et physique sur moi.

Mon mari : **Madjid**

- Ma belle-famille : Surtout Asmaa et Abdesslam.

Mes chers frère :Taib,Aimen,Abdelmoumen et Iyed .

A Toute ma famille et mes cousins.

A mes adorables amies: Hayet,Khawla et Maroua,

A mon binôme et toute sa famille.

A tous mes ami(e)s que j'aime et que je respecte chacun à son nom.

*MERIEM*

**تلخيص :**
الهدف من هذه الدراسة هو استخراج مادة الكيتوزان من مادة الكيتين المنتج من قشور الجمبري.
استخرجنا الكيتين كيميائيًا في البداية ، وتم ذلك على خطوتين: الخطوة الأولى هي إزالة المعادن التي تتم بمحلول حمض الهيدروكلوريك HCL عند (1.5N).
الخطوة الثانية هي إزالة البروتينات بمحلول قاعدي من NaOH(2N)
أخيرًا ، قمنا بإعداد كيتوزانوهذه الخطوة تسمى نزع الأسيتيل بحيث أخذنا الكيتين المتحصل عليه إلى معالجة قلوية بمحلول مركّز من هيدروكسيد الصوديومباستخدام طريقة التصميم التجريبي.
**الكلمات المفتاحية:** استخلاص الكيتين ، نزع المعادن ، نزع البروتين ، نزع الأسيتيل.

**Résumé :**

Le but de cette étude est produit le chitosaneapartir del'éxtraction de chitine à partir de coquilles de crevettes.Nous avons d'abord extrait chimiquement la chitine, et cela s'est fait en deux étapes:
La première étape est la déminéralisation qui se fait avec une solution d'acide chlorhydrique HCl à (1,5 N).

La deuxième étape consiste à éliminer les protéines avec une solution alcaline de NaOH (2N).

Enfin, nous avons préparé du chitosane et cette étape s'appelle la désacétylation,un traitement alcalin avec une solution concentrée d'hydroxyde de sodium, en utilisant la méthode des plans d'expérience.
**Les mots clés :**chitine, déminéralisation, déprotéination, désacétylation, extraction.

**Abstract**

The aim of this study is to produce chitosan from chitin extracted from shrimp shells. First, we chemically extracted the chitin, and it was done in two steps:
The first step is the demineralization which is done with a solution of hydrochloric acid HCl at (1.5 N).

The second step is to remove the proteins with an alkaline solution of NaOH (2N).

Finally, we have prepared chitosan and this step is called deacetylation,an alkaline treatment with a concentrated solution of sodium hydroxide, using the method of experimental designs.
**Key words:**chitine , demineralization, deproteinization, deacetylation, extraction,

**Sommaire**


**Introduction** 1

**PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

**Chapitre I : La chitine et le chitosane**

I. 1. Historique 5
I. 2. Définition de chitine et chitosane 6
I. 3. Structure de la chitine et chitosane 6
I. 3. 1. Structure de la chitine 6
I. 3. 2. Structure du chitosane 8
I. 4. Les sources de la chitine et du chitosane 9
I. 5. La préparation de la chitine 10
I. 5. 1. Déminéralisation 10
I. 5. 2. Déprotéinisation 10
I. 5. 3. Décoloration ou blanchissement 10
I. 6. La préparation du chitosane : Désacetylation de la chitine 12
I. 6. 1.Désacetylation de la chitine 12
I.6. 1.1.Désacetylation chimique 12
I.6. 1. 2.Désacetylation enzymatique 12
I. 7. Propriétés de la chitine et du chitosane 12
I. 7. 1. Propriétés physico-chimiques de la chitine et du chitosane 12
I. 7. 1. 1. Degré de désacétylation (DD) 12
I. 7. 1. 2. Viscosité 14
I. 7. 1. 3. Solubilité 14
I. 7. 1. 4. Cristallinité et taux de gonflement 15
I. 7. 1. 5. Réactivité 15
I. 7. 1. 6. Le poids moléculaire 16
I. 7. 2. Propriétés biologiques du chitosane 16
I. 7. 2. 1. Biodégradabilité 16
I. 7. 2. 2. Toxicité systémique 17
I. 7. 2. 3. Hémocompatibilité 17
I. 7. 2. 4. Cytocompatibilité 17
I. 8. Fonctionnalités de la chitine et du chitosane 18

**Chapitre II : Applications de la chitine et du chitosane**

Introduction 20
II. 1. Domaine pharmaceutique et médical 20
II. 2. Domaine de la microbiologie 23
II. 3. Domaine de traitement des eaux 23
II. 4. Domaine des matériaux 24
II. 5. Domaine de la biotechnologie 25
II. 6. Domaine de la cosmétique 26
II. 7. Domaine de l'agriculture 26
II. 8. Domaine d'Agro-alimentaire 26
II. 9. Domaine de textile 26
II. 10. Autres applications 27

**PARTIE EXPERIMENTALE**

**Chapitre III : Matériel et Méthodes**

III. 1. 1. Matériel, produits et méthodes expérimentales 30
III.2.1.Matériel et produits 30

III.2.2.Méthodes expérimentales 30
III.2.2.1. Préparation de la poudre de carapace 30
III. 2. 2. 2. Extraction de la chitine 30
III. 2. 2. 3. Préparation du chitosane. 30
**Conclusion** 35
**Références bibliographiques**

## Liste des figures


**Fig.I .1.** Les liaisons hydrogènes en pointillés dans la structure de la chitine 06

**Fig.I .2.**Schémas simplifiés des trois formes cristallines de la chitine. 07

**Fig.I .3.**Structure chimique de chitosane. 08

**Fig.I .4.**Principales sources de chitine. 09

**Fig.I.5.**Procédé de fabrication de chitine d'après Onsoyen et Skaugrud 11

**Fig.I.6.** Les unités de répétitions structurales de la chitine et de chitosane 13

**Fig.II.1.**Application du chitosane dans le domaine biomédical comme peau artificielle 21

**Fig.II.2.** Utilisation du chitosane comme floculant 24

**Fig. II.3.** Différentes formes de chitosane produites 27

**Fig.III.1.**Les étapes de préparation de la poudre de carapace de crevette 31

## Liste des tableaux

Tableau I.1. Les principales sources de chitine **10**

Tableau II.1. Applications industrielles de la chitine et du chitosane dans le domaine biomédicalet pharmaceutique **22**

Tableau II.2. Différentes applications du chitosane **27**

Tableau III.1. la matrice expérimentale **31**

**Liste des abréviations**

| Termes | Désignation ou Définition | Unités |
|---|---|---|
| ŋ | Viscosité intrinsèque | |
| A | Absorbancedu rayonnement électromagnétique | A° |
| a | constant de Mark-Houwink | |
| ADN | Acide désoxyribonucléique | |
| $Ca(OH)_2$ | Hydroxyde de calcium | |
| $CaSO_3$ | Calcium sulfite | |
| DA | degré d'acétylation | |
| DD | Degré de désacétylation | |
| DL50 | la dose létale à 50% | g/kg |
| $H_2O_2$ | peroxyde d'hydrogène | |
| IR | infra rouge | |
| k | Constante de Mark-Houwink | |
| Ka | Constante d'acidité | |
| $K_2CO_3$ | Carbonate de potassium | |
| KOH | Hydroxyde de potassium | |
| L | litre Unité de volume | L |
| M | la masse moleculaireviscosimétrique | Mol/l |

# Introduction Générale

La crevette constitue le produit le plus valorisé sur le marché mondial destinée en sa totalitéàl'alimentation humaine, la partie comestible représente près de 60% du poids de la crevette entière. La production de cette dernière augmente chaque année et les échanges internationaux sur ce produit de la mer sont les plus importants en valeur.

Les déchets des crevettes renferment plusieurs substances méritant d'être valorisées : on peut citer entre autres les protéines, les lipides, la chitine et des éléments minéraux…La valorisation des coproduits permettrait, en plus du respect de l'environnement, à les transformer de façon à ce qu'ils deviennent des matières premières ou des matières intermédiaires pour la production des autres produits. Les principaux produits à haute valeur ajoutée pouvant être engendrés par les coproduits de crevette, on retrouve deux produits la chitine et le chitosane.

La chitine est le principal produit déviré de ces coproduits. Elle est en effet un constituant majoritaire des carapaces du crustacé (17 à 33%). La chitine commerciale et le chitosane sont extraits des coquilles de crustacés comme les crevettes, par traitement chimique et/ou biologique (Boualem et al., 2018).

Le chitosane est en fait le dérivé le plus important de la chitine qui estle polysaccharide le plus abondant sur terre après la cellulose.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.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 (Chennit et al., 2015).

Sachant que le choix de l'application du chitosane, dans un domaine ou dans un autre, dépend de ses propriétés physicochimiques principalement le poids moléculaire et le degré de désacétylation.

L'objectif de ce travail est l'étude de l'influence des conditions de désacétylation (concentration et le volume de la solution de la soude, le temps et la température de la réaction et la quantité de la chitine) sur les propriétés physicochimiques du chitosane, en utilisant la méthode des plans d'expérience.

Ce mémoire est structuré en deux parties:

1. Une partie théorique organisée en deux chapitres

**a.Chapitre I**

- Etude de la chitine et du chitosane : définition, structures chimiques, Sources, propriétés physico-chimiques, biologiques et fonctionnalités ;
- Méthodes de préparation de la chitine (chimique et biologique) et du chitosane (désacétylation chimique).

**b. Chapitre II**

Les domaines d'application de la chitine et du chitosane.

2. Une partie expérimentale qui comporte les chapitres suivants

**c. Chapitre III**

Ce chapitre consiste enla description d'équipements (produits et matériel), la méthode d'extraction de la chitine, la méthode de préparation du chitosane à partir de la chitine préparée.

# chapitre I

# La chitine et le chitosane

## I. 1. Historique

En 1811, le professeur Henri Braconnot, à isoler une substance fibreuse d'un certain typede champignon (Kedou, 2008). Il appela cette substance <<fungine>>, en 1823 Odier aextrait un composé similaire, à partir de la cuticule de l'exosquelette d'un insecte. En traitant une cuticule de coléoptère par de la potasse à chaud, il a obtenu unproduit insoluble qu'il nomma chitine (mot grec qui signifie tunique ou enveloppe). Odier fut intrigué par le fait que les insectes et les champignons possédaient le même composantstructural. En 1859,Rouget remarqua que la chitine modifiée, préparée à partir de la chitine traitée par de lapotasse à chaud, était soluble dans des solutions aqueuses et les acides dilués.Cette propriétéa alors été

utilisée pour distinguer cette nouvelle substance de la chitine. Le nom chitosane aété introduit pour la première fois en 1894 par Hoppe –Seylermais la découverte duchitosane est néanmoins attribuée à Rouget (Amroun, 2011).

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 pours'amplifier à partir des années 70.Le chitosane a commencé à susciter un réel intérêt enraison notamment des grandes quantités de déchets disponibles que produisaient lesconserveries de crustacés(Djelad, 2011).

Les gouvernements, notamment Americain et Japonais, ont alors cherché à valoriser cesdéchets et ont lancé les premiers programmes nationaux de recherche(Bellouti, 2018). Le premier congrès international a eu lieu en 1977 à Boston aux Etats Unis. La $10^{ème}$ conférence internationalesur le chitosane qui s'est tenue en septembre 2006 à Montpellier (France) a montrél'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 avons que la chitine et le chitosane sont les biopolyméres les plusabondants dans la nature après la celluloseet provenant d'une ressource naturellerenouvelable et bon marché. La production annuelle de chitine dans la nature est estimée à $10^{9}$-$10^{10}$ tonnes et actuellement, elle n'est pas très exploitée et moins commerciale que la cellulose**.** La chitine et le chitosane sont biodégradables et non toxiques, en effet sous l'action del'enzyme spécifique «la chitosanase», le chitosane se décompose en produits inoffensifs(sucres amines) qui peuvent être absorbés par le corps humain(Mokrani, 2013).

## I. 2. Définitions

La chitine est, après la cellulose, le polysaccharide le plus répandu dans la nature. Dansle règne animal, elle existe sous forme de complexe avec les protéines et les minéraux. Elleest présente en particulier chez les invertébrés marins, constituant la carapace de crustacés etde mollusques. La chitine est présente également dans l'exosquelette des insectes. Dans lerègne végétal, la chitine se trouve dans la paroi de la plupart des champignons et decertaines algues chlorophycées. En plus de son rôle dans le maintien de la rigidité de lacellule, elle contribue au contrôle de la pression osmotique. La chitine est présente aussidans certaines levures et bactéries(Djelad, 2011).

Le chitosane est un enchainement de monomères β –D-glucosamine reliés par une liaison glycosidique β (1-4). Il obtenu par désacétylation partielle ou totale et peut être décrit comme étant un copolymère composé d'unités D-glucosamine et N-acétyleglucosamine(Taouint, 2016).Dans la nature, le chitosane est rare. Il est présent uniquement dans les parois

Cellulaire de certains micro-organismes fongiques (champignons, zygomycètes) et chez certains insectes comme dans la paroi abdominale des reines. Ce qui explique qu'il n'y a pas de sources primaires exploitables. Sa production sera systématiquement assurée à partir de transformation de la chitine (Crini, 2009).

## I. 3. Structure de la chitine et du chitosane

### I.3.1. Structure de la chitine

La présence des groupements acétamide confère à la chitine des fonctions biologiques telles que la biodégradabilité et la biocompatibilité, ce qui fait de la chitine un matériau fonctionnelde grande importance (Muzzarelli, 1977). La chitine est caractérisée par une composition similaire à celle dela cellulose. Elle possède également une grande stabilité structurale due à la présence de fortes liaisons hydrogène intra- et intermoléculaires (fig. I.1).

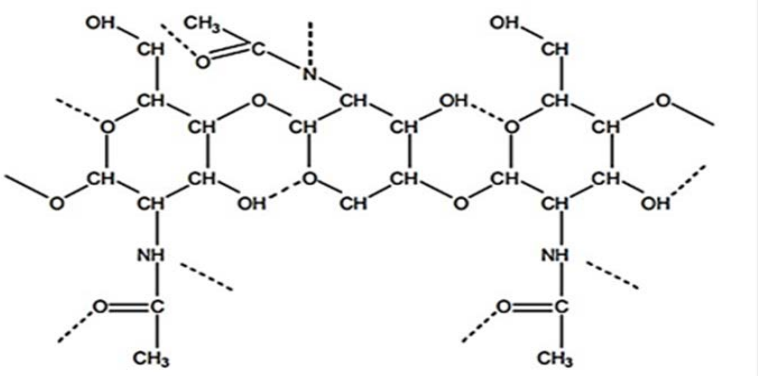



**Fig. I. 1. Les liaisons hydrogènes en pointillés dans la structure de la chitine**.

La chitine se présente sous trois formes cristallines : α, β et γ (fig. I.2), qui diffèrent par l'arrangementde la chaîne polysaccharidique et par la disposition des liaisons hydrogène

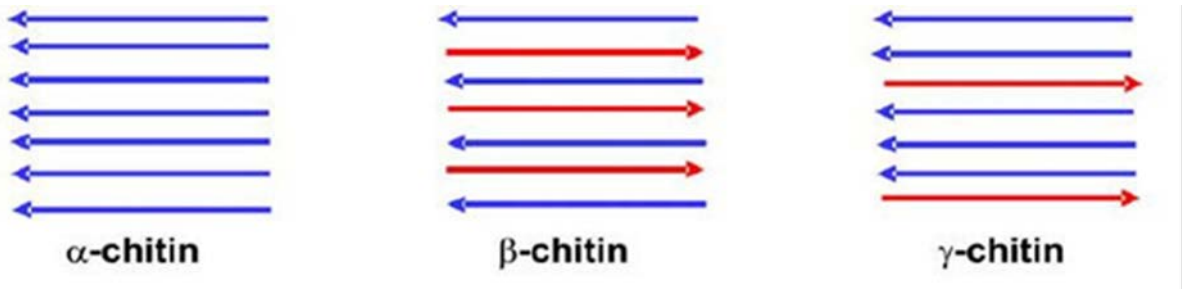



**Fig. I. 2. Schémas simplifiés des trois formes cristallines de la chitine(Abdelghani, 2008)**

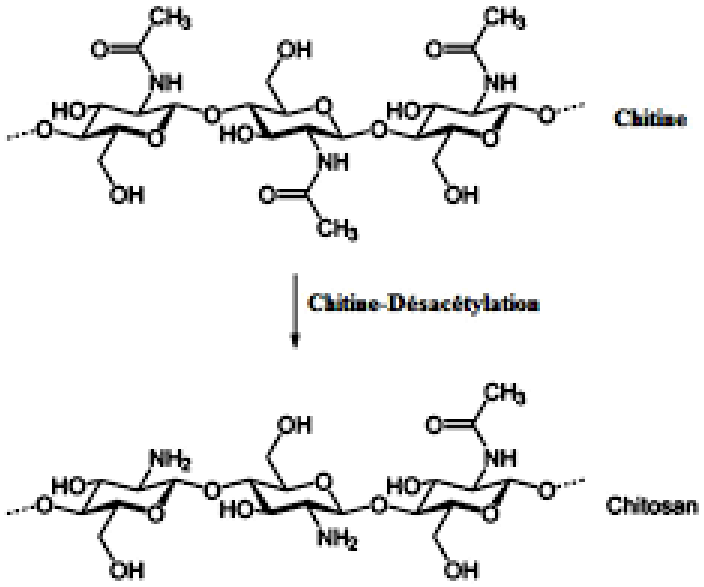



**Fig. I. 3. La structure chimique idéale de la chitine et du chitosane (Xia et al, 2011)**

L'alpha-chitine est la forme la plus stable et la plus abondante, présente chez les crustacés etles champignons. Elle est caractérisée par des chaînes antiparallèlesconstituant une structurecristalline régulière. Les liaisons hydrogène intermoléculaires confèrent au polymère une grande stabilité vis-à-vis des solvants et des solutions aqueuses. Cependant, l'utilisation de solvants spécifiques tels que le N,N-diméthylacétamide (DMAc) contenant de 5-10 % de LiCl et des solutions à base de fluorine hexafluoroacétone et hexafluoro-2propanol favorise la solubilisation de l'alpha-chitine. Cette solubilité dépend également de la source du polymère (Abdelghani 2008).

La β-chitine, les macromolécules sont organisées sous un arrangement antiparallèleconduisant à des liaisons intermoléculaires de faible énergie. Dans ce cas les

groupes N-cétyle jouent le rôle d'espaceurs, facilitant l'accès aux molécules d'eau, à des finsd'hydratation et de formation de gel.En opposition avec l'α-chitine, la β-chitine a unegrande affinité pour les solvants organiques et l'eau. Elle se trouve essentiellement dansles épines des diatomées et l'endosquelette de seiche.

La γ-chitine a été identifiée dans les cocons des insectes. Elle est principalementcomposée de 2 couches parallèles et 1 antiparallèle, sa force et sa résistance sont plus proches du type β, les groupes N-acétyle jouant le même rôle dans ces deux arrangements (Abdelghani, 2008).

**I. 3.2. Structure du chitosane**

Le chitosane est polysaccharide de structure linéaire. C'est un biopolymére cationique de glucosamine partiellement acétyle (Baldwin et al., 1995).

Le terme chitosane, loin de répondre à une seule et unique structure chimique bien définie, s'adresse à toute famille de copolyméres linéaires à arrangement aléatoire d'unités N-acétyle-D-glucosamine et de D-glucosamine en proportions variables (figure I. 3) (Roberts,1992), et liées entre elles par des liaisons β(1-4) qui confèrent au chitosane de bonnes caractéristiques filmogènes (Creuzet et al., 2006). Le terme chitosane est habituellement utilisé quand les polymères sont solubles dans une solution d'acide dilué (Zohuriaan-Mehr, 2005).

Ce biopolymère, naturel et non toxique, est actuellement largement produit commercialement à partir des déchets des carapaces de crabes et des crevettes .

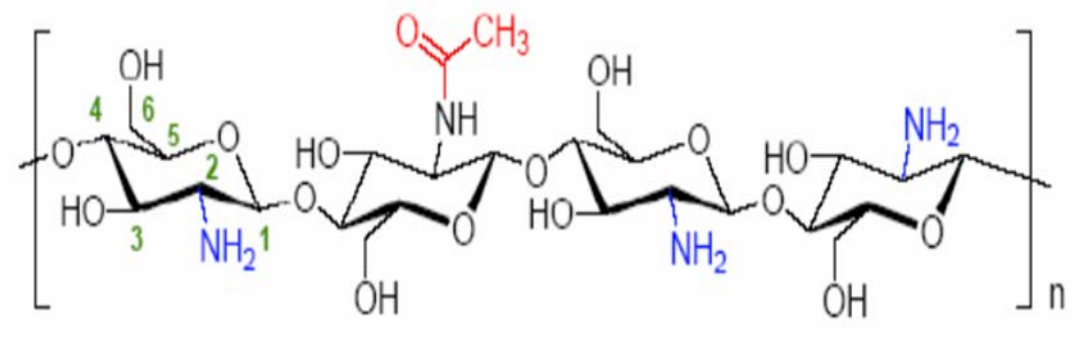



**Fig. I. 3. Structure chimique de chitosane (Nugraha, 2006).**

Généralement, le chitosane a trois types de groupes fonctionnels réactifs :

- Lesgroupes amines sur le carbone C(2) ;
- Les groupes hydroxyles primaires et secondaires sur lecarbone C(3) et le carbone C(6).

La nature chimique du chitosane fournit beaucoup depossibilités alternatives pour des modifications covalentes et ioniques qui permettentl'ajustement étendu des propriétés mécaniques et biologiques (Keddou, 2008).

**I. 4. Les sources de la chitine et du chitosane**

La chitine est produite par les insectes (blattes, coléoptère, fourmis), les arachnides(scorpions, araignées), les animaux marins (crabes, crevettes, homards, langoustines,calamars) (Fig. I. 4)et les champignons (Amroun, 2011).En plus aux crustacés et insectes, la chitine se trouve dans la paroi de la plupart des champignons et de certaines algues chlorophycées, levures et bactéries (Haidra, 2018). Elle maintient la rigidité de la cellule et contribue au contrôle de la pression osmotique.



**Fig. I. 4. Principales sources de chitine (Djelad, 2011)**

Dans le règne animal, la chitine est un élément de soutien des téguments de certainsinvertébrés (insectes, crustacés, mollusques, nématodes). On la retrouve en particulier dans lacomposition de leur cuticule, et à un degré moindre au niveau de la paroi intestinale, du tubedigestif, des trachées, des tendons musculaires et du squelette interne. Cette cuticule contientégalement des protéines, des lipides et du carbonate de calcium. En réalité, les structureschitineuses ne sont jamais constituées de chitine seule; elle est généralement complexée a desprotéines sous la forme de glycoprotéines, ce qui confère des propriétés de rigidité (ou desouplesse) aux cuticules. La chitine est également un constituant majeur des endosquelettes decéphalopode comme les sèches et les calamars. Au niveau des autres règnes biologiques, elleest signalée dans les parois cellulaires des champignons et de certaines algues chlorophycées.

La chitine est également présente dans certaines levures et bactéries. Le tableau. I.1 donne les principales sources de chitine (Amroun, 2011).

**I. 5. La préparation de la chitine**

Une fois que les carapaces sont lavées, imputées de leurs pattes puis séchées et broyées, la masse obtenue pourra être utilisée pour l'obtention de la chitine en respectant les étapes suivantes (fg. I. 5) :

**I. 5. 1. Déminéralisation:** les carapaces de crustacés sont soumises, après broyage, à un traitement acide pour extraire les sels inorganiques, principalement le carbonate de calcium. Les acides les plus fréquemment utilisés sont l'acide chlorhydrique et l'acide formique à des concentrations de 1 à 10 mol.l $^{-1}$.La durée du traitement acide est de l'ordre de 1 à 48 heures à la température ambiante (Shawky, 2006).

**Tableau 1. 1. Les principales sources de chitine d'après Mather et Narang (1990).**

| Sources | Sites de présence | Teneur enchitine(%) |
|---|---|---|
| **Arthropodes** | | 2-72 |
| **- Crustacés** | Exosquelette | |
| **- Insectes** | Cuticule | |
| **- Arachnides** | | |
| **Mollusques** | Coquille | 6-40 |
| **- Seiches** | dents | |
| **- Pieuvres/calmars** | plumes | |
| | tubes | |
| **Pogonophores** | capsule d'oeufs | 33 |
| | membranes | 3-30 |
| **Cnidaires** | | |
| | soies | 0,2-38 |
| **Annélides** | cuticules | |
| **- Sangsue** | coquilles | 4-29 |
| **- Lombric** | | |
| **Brachiopodes** | Paroi cellulaire | 2,9-20,1 |
| | Tige | |
| **Champignons** | Spore | |
| **Levures** | | |
| **-Ascomycètes** | | |
| **- Pénicillium** | | |
| **- Blastocladiacés** | | |
| **- Chytridiacés** | | |
| **Algues** | | |
| **Lichen** | paroi cellulaire | Faible |

**I. 5. 2. Déprotéinisation :**à 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, $Na_2CO_3$, $NaHCO_3$, KOH, $K_2CO_3$, $Ca(OH)_2$, $Na_2SO_3$, $CaSO_3$, ou $Na_3PO_4$, deconcentrations de 0,1 à 5 $mol.l^{-1}$.

La solution d'hydroxyde de sodium (~10 % massique) est la plus souvent utilisée pour dissoudre les protéines. La durée du traitement basique est de l'ordre de 0,5 à 72 heures à hautes températures (65-100°C) (Badaoui, 2012).

**I. 5. 3.Décoloration ou blanchissement :**pour les applications industrielles, la chitine obtenue à partir des ressources crustacées doit être décolorée après les traitements acides et alcalins. Le pigment dans lescarapaces de crustacées forme un complexe avec la chitine. Il peut être enlevé par des réactifs oxydants tels que : l'éthanol, l'éther,solution d'hypochlorite de sodium(NaoCl), peroxyde d'hydrogène $H_2O_2$. Durant le processus de blanchiment, le réactif utilisé ne doit pas avoir un effetsur les propriétés physico-chimique de la chitine(Touatia, 2016).

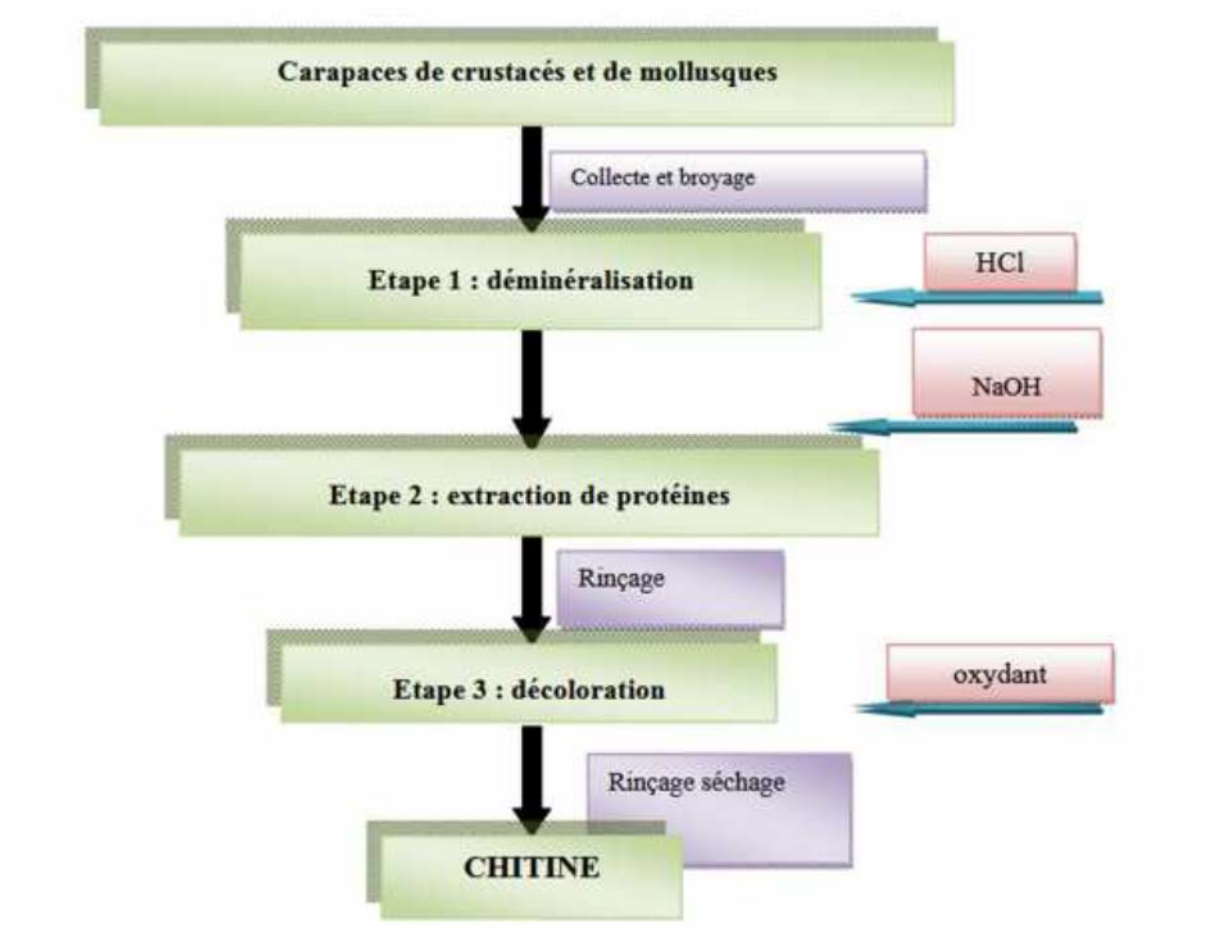



**Fig. I. 5. Procédé de fabrication de chitine d'après Onsoyen et Skaugrud (l'année).**

## I. 6. La préparation du chitosane :

### I. 6.1 Désacetylation de la chitine

Ces trois étapes de traitement des carapaces (fig. I. 5), débarrassent la chitine de ces impuretés et enfin la masse obtenue peut être utilisée comme matière première pour l'obtention de chitosane. Son obtention se fait par l'hydrolyse basique de la chitine ou par voie enzymatique. Cette étape est appelée aussi la désacétylation de la chitine. Une fois que la désacetylation des groupements amines a atteint plus de 70%, on peut dire qu'on a obtenu de chitosane qui pourra être soluble en milieu acide (à pH < 6,5) contrairement à la chitine qui est insoluble. En effet c'est le degré de désacétylation qui distinguele chitosane de la chitine. En conséquence, nous appellerons chitosane tout échantillon ayant un degréd'acétylation résiduel (DA) < 30% (Seng, 1988).

### I. 6. 1.1 Désacetylation chimique

La désacetylation chimique se fait par hydrolyse de la chitine en milieu fortement alcalin(l'hydroxyde de sodium ou de potassium concentré (40-50 %) à une température > 100°C, pendant au moins 30 minutes) pour enlever certains ou tous les groupements acétyle de la chitine (No et Meyers, 1995). La désacétylation ne peut pas être réalisée avec un réactif acide (Muzzarelli, 1977).

### I. 6. 2.1 Désacetylation enzymatique

La méthode classique employée pour produire duchitosane à partir de la chitine implique l'utilisation de l'hydroxyde de sodium à haute température qui est un traitement chimique agressive. Ce procédé n'est pas reproductible et peut mener à l'hydrolyse excessive des chaînes de polysaccharide de chitosane. L'intérêt croissant à ces polysaccharides et leurs avantages physiologiques et thérapeutiques, nécessite une méthode alternative.La production de chitosane par voie enzymatique (lesdéacétylases de chitine) peut fournir une alternative au traitement thermochimique (Tokuyasu et al., 2000 ; Caufrier et al., 2003 ; Zhao et al., 2010 ; Tang et al., 2011).

## I. 7. Propriétés de la chitine et duchitosane

### I. 7. 1. Propriétés physico-chimiques de la chitine et duchitosane

#### I. 7. 1. 1. Degré de désacétylation (DD)

La chitine et le chitosane sont principalement caractérisés par leur degré d'acétylation(DA) et par leur masse molaire. De nombreuses méthodes sont proposées afin de déterminerle DA :

**Sur des échantillons solides** : la spectroscopie IR permet d'obtenir les empreintesspectrales vibrationnelles des groupements caractéristiques de la molécule. L'analyse se faitsur des

échantillons de chitosane en poudres mais les résultats sont toutefois plus précis sousforme de films (Djelad, 2011). Il existe d'autres techniques plus avancées et plus onéreuses pourcaractériser le chitosane dont l'analyse élémentaire (Kasaai, et al.,1999) et la RMN du solide (Heux et al.,2000).

**Sur des échantillons en solution :** plusieurs méthodes de caractérisations sontemployées à savoir : dosage UV(Maghamiet al.,1988), titrage colloïdal (Chen et al .,1997) RMN liquide du proton (1H), de l'azote(15N), du carbon (13 C)(Heux et al., 2000,Yang et al.,2000,Vårum et al.,1991,Raymond et al.,1993,Saito et al.,1987).

Le degré d'acétylation présente le taux de groupe acétylé par rapport au groupe non acétylé (fig. I.6).

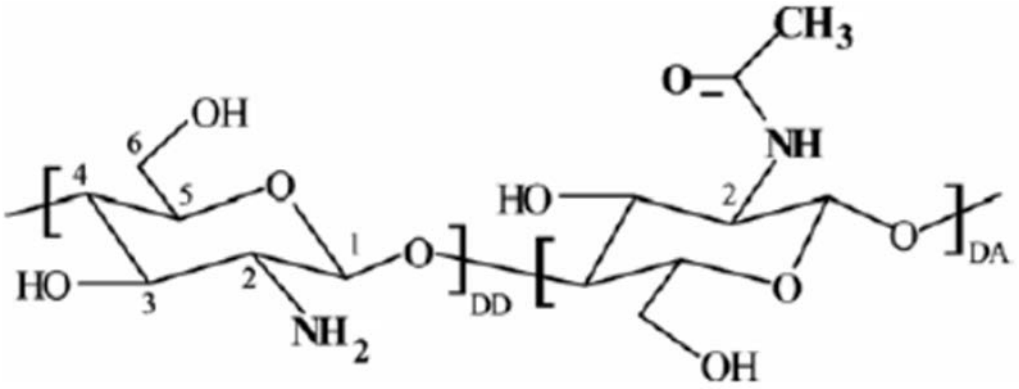



**Fig. I.6.Les unités de répétitions structurales de la chitine et de chitosane**

Le degré de désatylation (DD) est l'un des propriétés les plus importantes du chitosane. Il influe, non seulement sur les caractéristiques chimiques et physiques, mais aussi sur la biodégradation et l'activité immunologique du chitosane (Chatelet et al,.2001).

Le degré d'acétylation (DA) est déterminé en utilisant la formule (keddou, 2008):

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

Ou

$DD\% = \%NH2 = [1-(A_{1655}/A_{3450}) *1/1.33]*100$……(2)

- $A_{1650}$ $cm^{-1}$ est l'absorbance à la longueur d'onde 1655 $cm^{-1}$ (Amide I 1655 $cm^{-1}$)
- $A_{3450}$ $cm^{-1}$ est l'absorbance à la longueur d'onde 3450 $cm^{-1}$ (Hydroxyle 3450 $cm^{-1}$)
- Le facteur 1.33 représentele rapport ($A_{1655}/A_{3450}$) pour un chitosane entièrement N-acétylé.

### I. 7. 1. 2. Viscosité

La viscosimétrie est la méthode la plus employée pour connaître la viscosité de lasolution du chitosane. Celle-ci nécessite la connaissance des paramètres K et a de larelation de Mark-Houwink et sukurada(Valentin, 2005):

$[\eta] = K .M^a$……(3)

**η** est la viscosité spécifique

**M** la masse moléculaire viscosimétrique.

Selon les solvants, **K** et **a** ont différentes valeurs et on se réfère en général à la loi deRoberts pour laquelle les valeurs des constantes K et a sont les suivantes (Grant, 1989):$K = 1,81.10^{-3}$ $(ml.g^{-1})$ et a = 0,93.

Les méthodes permettant la mesure de la viscosité du chitosane présentent certainsproblèmes. En effet, la présence possible de microgels ou d'agrégats favorisés par lesliaisons hydrogène, le vieillissement des solutions et des effets électrostatiques (dus auxcharges des groupes amines-amine protonés) peuvent induire des erreurs.La viscosité du chitosane dépend de :

• Degré d'acétylation : plus il est désacétylé, plus il y a de groupements amineslibres, donc le chitosane est soluble et par conséquent sa viscosité est importante ;

• La concentration : la viscosité augmente en fonction de la concentration ;

• La température : comme pour les autres polysaccharides, la viscosité diminue lorsque la température augmente ;

• Le pH : plus il est important plus forte est la viscosité(Djelad ; 2011).

### I. 7.1.3. Solubilité

À l'état solide, le chitosane montre une structure irrégulière semi-cristalline ; lorsque celui-ci est de faible poids moléculaire et 100% déacétylé, sa structure est cristalline. Le chitosane sous forme -NH2 est insoluble dans l'eau, dans les acides concentrés, les bases et les solvants organiques. Ce sont ses propriétés acido-basiques qui permettent une dissolution facile. En effet, il est soluble dans les acides dilués grâce à la protonation de ses groupes amines suivant l'équilibre:(Le devedec, 2008)

$$-NH_3^+ + H_20 <==> -NH_2 + H_3O^+$$

$$Ka= [-NH_2] . [H_30^+] / [NH_3^+]$$

Comme pour tout polyélectrolyte, le pKa du chitosane dépend plus particulièrement du degré de neutralisation des groupes $NH_3^+$. Le pKa va également dépendre du DA. En effet, la densité de charges varie d'un DA à l'autre pour un même degré de neutralisation de groupements $NH_3^+$. Toutefois, quelle que soit la valeur du DA (comprise entre 0 et 25 %), pour des masses moléculaires suffisamment élevées, la valeur limite du pKa obtenue à un degré de neutralisation égal à l, est pKa = 6,5, pKo étant le pKa intrinsèque du chitosane. La solubilité du chitosane varie donc en fonction de la distribution et du pourcentage d'acétylation sur les chaînes(Aiba, 1991; Domard, 1987; Rinaudo et al.,1999).

**I. 7. 1. 4. Cristallinité et taux de gonflement**

Si le taux de désacétylation fixe la fraction de groupements aminés dans le nombre totald'unités sur la chaîne du polymère, il ne permet pas de connaître le nombre de groupesaminés réellement accessibles et disponibles. En effet, l'établissement des liaisons inter etintra-chaînes et la cristallinité intrinsèque du polymère limite respectivement la disponibilitéet l'accessibilité des groupes aminés pour l'eau, ainsi que les ions métalliques (Jaworska et al.,2003 ) .

L'accessibilité de l'eau est limitée par des matériaux cristallins, ce qui limite également lacapacité du polymère à gonfler (swelling). Cette cristallinité peut être évaluée par destechniques de diffraction aux rayons X (Ogawa et Yui, 1993).L'aire sous la courbe dans les zones cristallinesrapportées à l'aire totale sous la courbe du diffractogramme permet d'établir un indice decristallinité. Cette mesure difficile à normaliser reste un instrument qualitatif pour comparerdifférents matériaux. Cette cristallinité influence également les propriétés diffusionnelles(Piron et al., 1997).

Le chitosane est également une substance semi-cristalline. Il cristallise dans le systèmeorthorhombique et deux types de produits sont connus : le chitosane I (faible DD, est plusdésordonné que le chitosane II (fort DD).

Les méthodes les plus simples pour la modification de la cristallinité impliquent dans unpremier temps la solubilisation préalable du chitosane et dans un deuxième temps, lacoagulation/neutralisation de la solution. Cette méthode permet d'obtenir des gels de faiblecristallinité (Ruiz et al., 2002 ;Dzul et al., 2001 ;Dambies et al., 2001 ;Hsien et al., 1997).

**I. 7. 1. 5. Réactivité**

La présence de nombreux groupes hydroxyle confère au polymère un caractèrehydrophile intéressant qui sera très utile pour des propriétés d'adsorption dans des solutionsaqueuses et pour quelques réactions catalytiques (Guibal et al., 1994 ;Onsoyen et

al.,1990). Cependant, le groupe réactif leplus important pour la conception de catalyseurs supportés est le groupe amine porté par lechitosane. Ces groupes amine sont très réactifs pour la fixation des métaux et leur actionpeut passer par différents mécanismes.

Le pKa des groupes amine du chitosane dépend fortement du degré de désacétylation etdu degré de neutralisation de ces groupes fonctionnels(Sorlier et al.,2001), ont trouvé que lepKa varie entre 6,4 et 7,2. Il augmente en fonction du degré d'acétylation; pour un chitosanefaiblement acétylé le pKa est voisin de 6,4. En général, en milieu acide, la plus part desgroupes aminés sont protonés, ce caractère cationique est à l'origine de la fixation dedifférents anions tels que les colorants anioniques et les complexes d'anions métalliques(Djelad, 2008).

**I. 7. 1. 6. Le poids moléculaire**

La définition du poids moléculaire des polysaccharides et la compréhension de ses conséquences sur les propriétés physico-chimiques, ont présenté un vrai défi aux chimistespendant un certain nombre d'années. Dans le cas de la chitine, la connaissance de telparamètre est très importante pour les usages industriels. Il varie entre 1,03 et 2,5 MDa(Arbia, 2007).

**I. 7. 2. Propriétés biologiques du chitosane**

**I.7.2.1. Biodégradabilité**

La biodégradation et la biorésorption du chitosane sont assurées par des enzymes qui l'hydrolysent en oligomères. Chez l'Homme et les mammifères, ce rôle est assumé principalement par des lysozymes(Oszmianski et al., 2007) qui dégradent les liaisons β (1→4) glycosidiques des unités N-acétylglucosamine en des résidus N-acétylglucosamine et Dglucosamine, métabolisés ensuite dans l'organisme. Un chitosane de DD 50 % est ainsi facilement dégradé in vivo dans le sang et les tissus, sans accumulation dans le corps(Konovalova et al., 2004).

La dégradation dépend de l'origine et des propriétés du polysaccharide (DD, massemolaire…). Une étude plus approfondie a montré d'abord une augmentation de lasusceptibilité enzymatique pour les DD inférieure à 50 %, puis une augmentation avec le DD, et finalement une absence de dégradation pour un chitosane de DD 97 % Cette influencedu DD est également constatée, invitro (dégradation par des lysozymes) et in vivo(implantation sous cutanée). Un chitosane de DD 50 % semble donc permettre une dégradation optimale(chennit et al., 2015).

### I.7.2.2. Toxicité systémique

L'innocuité du chitosane a été démontrée chez la souris, le rat et l'Homme pour desapplications diététiques et cosmétiques. Dans le cas d'administration orale, la dose létale DL50 dépasse les 16 g/kg/jour chez la souris, soit une dose supérieure à celle du saccharose (12g/kg/jour). L'administration sous-cutanée de chitosane conduit à une valeur de DL50supérieure à 10 g/kg/jour chez la souris. La DL50 d'applications intrapéritonéales de chitosane est de 5,2 g/kg/jour pour la souris. Globalement, pour des doses administrées adéquates, la non-toxicité du chitosane est admise (Embree et al., 2002).

### I.7.2. 3. Hémocompatibilité

Si le chitosane montre une activité hémostatique particulièrement sous forme d'un solide de haute masse, les oligomères de chitosane et le chitosane hydrolysé de faible masse molaire soluble dans l'eau ne présentent aucune activité thrombogène (Malette et al., 1983). Notons que l'hémocompatibilité, correspond à la mesure du degré et de la durée des altérations de l'hémostase causée par un biomatériau.

Le chitosane a la capacité d'induire la formation d'un coagulât lorsqu'il est en contact avec des érythrocytes, même dans le cas du sang héparine (Klokkevold et al., 1999). Cet effet hémostatique du chitosane est attribué à un mécanisme indépendant de la cascade de coagulation classique. Il entraîne l'agglutination des érythrocytes de toutes les espèces, certainement en raison de ses propriétés poly-cationiques qui interfèrent avec la surface chargée négativement des cellules (Rao et Sharma, 1997).

L'activité du chitosane peut être modulée en modifiant chimiquement le polymère. Un effet anti-thrombogène est ainsi obtenu après N-acétylation avec de longues chaines carbonées (Lee et al., 1995).

### I.7. 2. 4. Cytocompatibilité

La cytocompatibilité du chitosane vis-à-vis des fibroblastes, des kératinocytes, deschondrocytes et des ostéoblastes a été démontrée *in vitro*. Des travaux montrent que, quel quesoit le DA (2-50%), la mise au contact prolongée de films de chitosane avec les deux premierstypes de cellules n'induit ni la destruction, ni la croissance anarchique de celles-ci, et qu'aucune substance cytotoxique n'est larguée dans le milieu (Chatelet et al., 2001).

Le même comportement est constaté dans le cas de cultures de chondrocytes et de kératinocytes sur un film de chitosane de DA 2,5% (Denuzière, 1998) ainsi que la culture de chondrocytes et d'ostéoblastes sur une surface similaire de DA 10% (Lahiji et al., 2000). Lors de cultures cellulaires sur un film de chitosane, la croissance des cellules dépend des caractéristiques et de la source du chitosane (Bengherbi, 2017).

## I. 8. Fonctionnalités de la chitine et du chitosane

On a récemment rapporté que la chitine et le chitosane présentaient plusieurspropriétés telles que la biocompatibilité, la biodégradation(Kumar2000), le pouvoir chélatant quipermet l'élimination des métaux lourds (Shepherd, 1997) et du cholestérol ou d'autres graisses (Hssainia, 2008)…etc.

La nature β (1→4) des liaisons glycosidiques confère à la chitine et au chitosanedespropriétés filmogènes. En outre, ces films présentent une perméabilité importante. Comptetenu de sa structure chimique, le chitosane présente l'avantage, contrairement à la majoritédes polysaccharides, de posséder un caractère polycationique dû aux groupements amine quien solution et en milieu acide sont chargés.

De ce fait, les molécules chargées négativement peuvent interagir avec la chaînemacromoléculaire du chitosane. C'est le cas des acides gras, des impuretés présentes dansl'eau, des protéines de la peau et du cheveu par exemple…

Nous devons reconnaître que même si ces biopolymères semblent très prometteurs,jusqu'à présent, les applications réelles restent plutôt limitées. Ceci peut s'expliquer pardifférents aspects: la difficulté d'extraction et de purification de la chitine et son insolubilité, latransformation nécessaire de la chitine en chitosane suivie de la dérivation de cette dernièrepour la plupart des applications (Mourya, 2008 ;Hssainia, 2008).

# chapitre II

# Applications de la chitine et du chitosane

## II.1. Introduction

La faible cristallinité du chitosane par rapport à celle de la chitine explique pourquoi ilexiste des applications beaucoup plus vastes que celles de la chitine surtout qu'ilestessentiellement extrait à partir de cette dernière. Ainsi la solubilité du chitosane dans dessolutions acides et la présence d'une grande proportion des groupements amines le rendentplus réactif et plus susceptible à subir des modifications chimiques. La production etl'utilisation industrielle de la chitine et de chitosane augmentent continuellement depuis lesannées 1970.

Actuellement, à cause de leurs caractéristiques telles que le poids moléculaire, lacharge cationique, la formation des films et l'adsorption des métaux lourds, la chitine et lechitosane 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 labiotechnologie (Amroun, 2011).

## II.1. Domaine pharmaceutique et médical

La biocompatibilité du chitosane se traduit par son antigénicité, sa non toxicité et sonhémocompatibilité. Son non toxicité est illustré par une dose limite administrable par voieorale de 17 g/kg.jour. L'hémocompatibilité se manifeste par un caractère antithrombogènetout en étant un hémostatique local. Il trouve de ce fait des applications en revêtementd'objets devant être mis en contact avec le sang comme les prothèses vasculaires ou les valvescardiaques. Sa bioactivité est due principalement à son activité biostimulante qui lui donneaussi la propriété d'accélérer la cicatrisation (Ribeiroet al.,2009). La chitine et lechitosane entraînent uneréduction de la synthèse de collagène indésirable, une augmentationdu nombre d'histiocytes,une stimulation des fibroplastes qui produisent alors une quantitéabondante de collagène-3,indispensable dans les phénomènes de cicatrisation (fig. II.1) (Abdelghani 2018).

Ces propriétés cicatrisantes sont utilisées pour fabriquer des fils de suture ou une peauartificielle. Cette peau aux propriétés analgésiques permet une cicatrisation des brûlures et unereconstitution de l'épiderme beaucoup plus rapide et de façon moins douloureuse qu'avec lesproduits utilisés habituellement. Cette peau ne présente aucun risque de rejet.

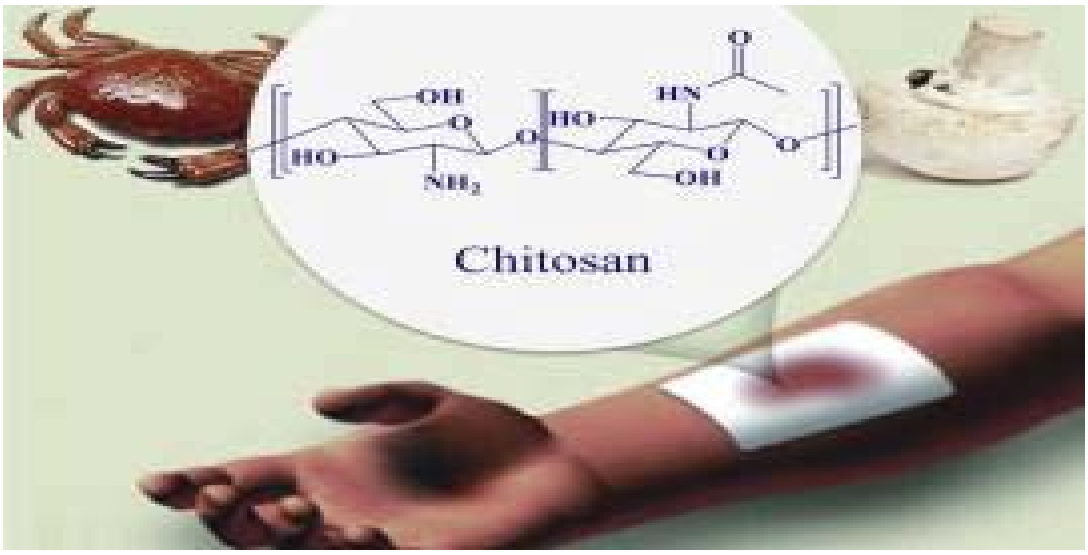



**Fig.II.1. Application du chitosane dans le domaine biomédical comme peau artificiel.**

En outre, des lentilles de contact à base de chitine, sont utilisées pour la cicatrisationde cornées endommagées. Le chitosane est aussi antifongique et bactériostatique. C'est unspermicide efficace et il offre de bonnes conditions d'asepsie.

D'autres applications biomédicales du chitosane ont également été étudiées, comme lessubstituts osseux (Ribeiroet al.,2009 ; Muzzarelli, 2010), les interactionssanguines (Ribeiro,et al., 2009 ; Kim, et Jung, 2010), les implants (Khor et Lim, 2003) ou lesantiinflammatoires(Berthold et al., 1996 ; Je et Ahn, 2010) et médicaments anticancéreux (Nam et al.,2007).

Sa biodégradabilité est obtenuegrâce à des chitosanases et chitinases présentes dans de nombreuses cellules.

De nombreux travaux ont permis d'étudier et de développer l'utilisation du chitosanecomme matériau d'encapsulation de drogues ou de médicaments par exemple (Ribeiroet al., 2009). Cela permettrait le relargage contrôlé du médicament ou de toute autre substance (engrais…).

Le chitosane, à travers son pouvoir immunologique, peut stimuler les cellulesimpliquées dans la défense immunitaire vis-à-vis des cellules tumorales et des agentspathogènes. Il peut aussi exercer une action hypocholestérolémiante chez les rats, qui sembledue à la capacité de ce polymère à piéger les lipides. Cette propriété est largement utiliséepour la promotion des produits amaigrissants à base de chitosane(Abdelghani, 2018).

Enfin, le chitosane s'est également montré actif contre la cryptosporidiose chez leschèvres et augmentent le gain de poids des jeunes animaux (Adjou et al.,2015).

D'autres applications médicales de la chitine et du chitosane sont présentés dans le tableau II. 1.

**Tableau II. 1. Applications industrielles de la chitine et du chitosane dans les domaines biomédical et pharmaceutique (Arvanitoyannis et al.,1997).**

| Domaine d'application | Utilisations |
|---|---|
| - Médecine<br>- Chirurgie reconstructrice<br>- Chirurgie plastique<br>-Cancérologie<br>ingénierie tissulaire<br><br><br>- Biologie cellulaire | o Accélération de la cicatrisation et de la guérison des blessures<br>o Traitement des lésions épidermiques<br>o Stimulation de la régénération des tissus (prolifération des cellules)<br>o Matrice pour la régénération osseuse (substitut osseux, substitut de cartilage) ou pour la reconstruction de la peau (peau synthétique)<br><br>o Stimulation du système immunitaire<br>o Vaisseaux sanguins artificiels<br>o Pansements, fils de sutures chirurgicaux biorésorbables<br>o Agent anticoagulant, hémostatique, bactériostatique, spermicide, anti-infectieux, antibactérien, antifongique, anti-tumeur<br>o Encapsulation de cellules, de facteur de croissance<br>o Adsorption des plaquettes (protéines)<br>o Thérapie angiogénique<br>o Transfection (introduction d'ADN exogène dans des cellules)<br>o Rétention d'eau ou d'ions, membrane de dialyse (ingénierie biomédicale) |
| - Pharmacie<br><br><br><br>- Dermatologie | o Matériel absorbable avec possibilité de contrôle de libération de<br>principes actifs (relargage de médicaments)<br><br>o Systèmes d'administration de médicaments par voie orale, systémique ou locale (via les muqueuses, voie nasale, oculaire, vétérinaire transdermique ou intra-tumorale) |

| | |
|---|---|
| -Ophtalmologie | o Adjuvant de vaccination, Excipients<br>o Formation de gels et microcapsules avec des polymères anioniques<br>o Encapsulation/immobilisation d'enzymes<br>o Crèmes de soins, produits dermatologiques (traitement de l'acné)<br>o Lentilles de contacts |
| -Alicaments<br>-Neutraceutique | o Complément alimentaire (produits amaigrissants)<br>o Faculté d'augmenter la satiété diminution du taux de cholestérol<br>fixateur de graisses lutte contre l'excédent pondéral (obésité) |
| -Dentisterie et chirurgie dentaire | o Gel dentaire, Implants dentaires |

**II.2.Domaine de la microbiologie**

La chitine peut être utilisée comme source de carbone dans les milieux de culture de bactérieschitinolytiques telles que *Bacillus cereus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Par conséquent,elle induit la production des chitinases(Wang et al., 1995 ; Chang et al., 2006) qui peuventêtre extraites du milieu pour être utilisées comme des biopesticides (Kramer et Muthukrishnan, 1997), des antibactériens et des fongicides (Huang et al., 2005).

En outre, les hydrolysats de chitine sont également utilisés comme source de carbone etd'azote pour la production de Protéines d'Organismes Unicellulaires (POU) (Ferrer et al.,1996; Shin et al., 2000).

**II.3.Domaine de traitement des eaux**

Le pouvoir chélatant du chitosane lui permet d'éliminer les métaux lourds, même ende très faibles quantités. Ses excellentes propriétés floculantes (Fig. II. 2) à la fois desmatières minérales et organiques, mais aussi des microorganismes, en font un matériau dechoix pour le traitement des eaux usées. Il peut être utilisé aussi bien à l'état solide qu'ensolution afin de complexer les ions métalliques. Cette application étant basée sur le caractèrecationique du polymère, son efficacité varie selon la concentration en polymère et le pH dumilieu.

Différentes techniques sont généralement appliquées aux traitements des eaux, tellesque l'adsorption, la floculation ou les traitements biologiques. Le chitosane peut être utilisé àdes fins d'adsorption (Crini, 2005 ;Crini, 2006)et de floculation (Renaultet al.,2009),

le faitqu'il s'agisse d'un composéécologique, très abondant et plutôt bon marché enfait une solution de choix dans certains cas.

Ainsi, le chitosane s'est avéré particulièrement efficace pour la floculation des effluentsbiologiques secondaires des cartonnages(Renault et al.,2009. Malheureusement, lesapplications réelles dansl'industrie restent plutôt rares, car les agents floculantconcurrents sont moins chers.En effet, même si le chitosane présente de meilleures propriétés, les produitstraditionnels moins chers sont suffisants pour respecter les cadres réglementaires actuels.




**Fig. II. 2. Utilisation du chitosane comme floculant**

## II.4.Domaine des matériaux

Pendant longtemps, le chitosane en tant que matériau a été utilisé comme matièreplastique pour la production de films antimicrobiens destinés à l'industrie alimentaire, c'est-à-direl'emballage protégeant des légumes frais, des fruits ou de la viande(Nadarajah etal.,2006).

Plusieurs tentatives de production de nouveaux matériaux biofonctionnels ontégalement été réalisées, tel que le greffage de dérivés esters de polyéthylène glycol (PEG) (Lebouc et al.,2005)ou de phosphométhylation(Montserrat et al.,2000; Leboucet al., 2009).

Plus récemment, certaines applications nouvelles ont suscité un plus grand intérêt,parmi lesquelles l'utilisation du chitosane comme support de catalyseur présente un

intérêtparticulier. En effet, cette application combine plusieurs techniques de pointe, telles que lalyophilisationou l'utilisation de $CO_2$ supercritique ($scCO_2$) (Abdelghani, 2008) pour augmenter lescapacités d'échange de surface et/ou l'utilisation de liquides ioniques. Il contribueainsi à la mise en œuvre des principes de chimie verte en minimisant la quantité de produitnécessaire-proportionscatalytiques et non stoechiométriques, et utilisation de matièrespremières renouvelables (Kato et al., 1993 ; Lienart et al., 1993).

**II.5.Domaine de la biotechnologie**

Faisant partie des polymères cationiques, le chitosane permettrait la complexation del'ADN et a le potentiel d'être utilisé en tant que vecteur non viral pour délivrer des gènes. Il a été utilisé également pour l'immobilisationdes enzymeset l'encapsulation des cellules des mammifères (Arbia, 2007) .

**II.6.Domaine de la cosmétique**

Le chitosane est utilisé dans les crèmes et les lotions et quelques-uns de sesdérivés sontaussiutilisés dans la préparation des vernis à ongles. Le chitosanedépolymérisé et lacarboxyméthyle chitine ont été utilisés comme éléments actifs dans desproduits tels que le shampoing et le revitalisant vu la viscosité de leurs solutions aqueuses,leur caractère filmogène, leur capacité de rétention d'humidité et leur adoucissement de la peau et des cheveux (Ben Dhieb, 2014).

**II.7.Domaine de l'agriculture**

La chitine, le chitosane et leurs oligomères ont des propriétés fortes intéressantes.Ils peuvent, en effet, agir comme éliciteurs des mécanismes de défense des plantes (Leclerc, 1997) et leur confère une résistance systémique face à certains agents phytopathogènesCertains agents pathogènes des plantes) (Bouarab,2000).

Il a été démontré que le chitosane et ses dérivés, appliqués sur les tissus des plantesprovoquent :

1) l'induction de plusieurs mécanismes biologiques, similaires à ceux observés lors del'infection par des pathogènes (Côté, 1999) ;

2) la synthèse de plusieurs protéinases telles les chitinases et de certaines protéasesinhibitrices.

3) l'accumulation de phytoalexines(Muzzarelli and Riccardo, 1983; Bouarab, 2000 ; Lateur, 2000) ;

4) l'augmentation de la lignification dans les tissus.

Plusieurs plantespossèdent des enzymes chitinolytiques, qui les aident à se défendrecontre les agresseurs depathogènes, tels que les champignons. L'introduction du

chitosane dansle milieu de croissance stimule la production d'enzymes chitinolytiques dans les plantes, les rendant ainsi plus résistantes à leurs agresseurs naturels (Kato, 1993 ; Lienart, 1993).

L'enrobage des semences, agent fertilisant, pellicule protectrice pour les fruits etlégumes, pellicule antigel et stimulateur de la floraison et de la fructification sont aussi des applications où le chitosane a été employé.

D'un point vu environnemental, l'utilisation du chitosane bien purifié des acides estbénéfique puisqu'il contribuerait à réduire l'utilisation de pesticides et de fertilisants chimiques (MarinardBiotech, 2001).

**II.8.Domaine d'Agro-alimentaire**

Dans le domaine agroalimentaire, la chitine partiellement désacétylée est utilisée d'une part pour désacidifier les extraits de café, les jus de fruits ou de légumes, et d'autre part pourconserver la nourriture du fait de sa capacité à immobiliser les cellules microbiennes, fongiques, les cellules animales, végétales ou d'enzymes…(Adjou, 2015).

Grâce à sa propriété coagulante, le chitosane permet aussi au niveau des déchets alimentaires industriels de séparer des particules colloïdales et dispersées.

Le chitosane et l'alginate de sodium sont parmi les nombreux biopolymères utilisés en tant que matériaud'encapsulation (Takeuchi et al., 1996). En milieu acide les groupes amine du chitosane sont protonés et leurs charges positives peuvent interagiravec des polyanions tels que l'alginate oucarraghénane pour former des complexes polyélectrolytes très utilisés en encapsulation de diverscomposants bioactifs (Peter, 1995).

Ce polyoside est considéré comme fibre alimentaire, car il n'est pas complètementdégradé au niveau du tube digestif humain. C'est un composant diététique crucial, il inhibe lamétabolisation des graisses grâce aux interactions entre ses fonctions amines et lesgroupementscarboxyliques des lipides il réduit de 20 à 30% le taux de cholesterol absorbé parle corps humain. Il est récemment utilisé pour la perte de poids chez les gens obèses (Mhurchu et al., 2005).

**II.9.Domaine de textile**

Dans le domaine du textile, des principes actifs peuvent être encapsulés dans du chitosane etimprégnés dans les tissus pour fabriquer des vêtements dits « intelligents ». Les principesactifs se diffusent progressivement sur la peau à mesure que le vêtement est porté (No etMeyers., 2000). Le chitosane est également capable d'améliorer la force et la rigidité d'un tissu (Kim et al., 2007). La figure II. 3, montre différentes formes de chitosane.

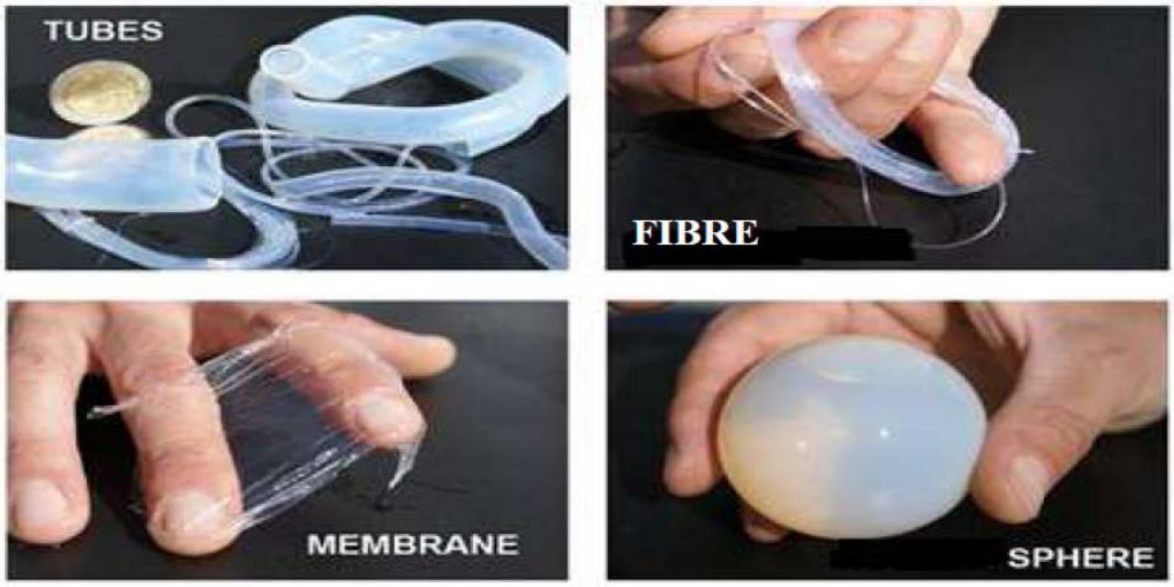



**Fig. II. 3. Différentes formes de chitosane produites (Ararem, 2010)**

## II.10.Autresapplications

D'autres applications de la chitine et du chitosane sont présentés dans le tableau II. 2.

**Tableau II. 2. Différentes applications du chitosane (Haidra, 2017)**

| Domaines | Applications |
|---|---|
| **Décontamination** | Le chitosane possède également des propriétés lui permettant de se lier à certains métaux avec une affinité plus ou moins grande et variable selon le pH, la force ionique et la présence d'autres métaux qui entrent en compétition. Plusieurs technologies exploitent ainsi ces propriétés afin de décontaminer les eaux usées, notamment les membranes en gel, l'ultrafiltration avec complexe métal-chitosane, l'osmose inverse et la nanofiltration |
| **Peintures** | qui constitue la méthode la plus efficace pour lutter contre le développement et l'agglutination des bactéries et des algues sur les parois des navires par exemple. Cette peinture permet d'augmenter leur durabilité et leur hydrodynamicité et diminue ainsi leur consommation du carburant. Ces peintures sont aussi utilisées au niveau des hôpitaux comme peintures antibactériennes |
| **Bio texiles** | La chitine est utilisée dans la fabrication des textiles |

| | |
|---|---|
| | bactériostatiques. |
| **Chimie** | il est utilisé en tant que super absorbant, phase stationnaire pour lachromatographie, capteur ou encore support pour la catalyse. |
| **Emballage** | La chitine est utilisée dans la production de papier de carton sanitaire. les papiers ontune surface plus lisse et résistent mieux à l'humidité |
| **l'industrie papetière** | Le chitosane peut être appliqué dans l'industrie papetière. Les chimistes ont remarquéque la molécule de chitosane ressemble étonnamment à la cellulose. Il suffit de remplacer lesgroupements amines ($NH_2$) du chitosane par des groupements hydroxyles (OH) pour obtenirla cellulose. Des industriels américains comptent bien utiliser les dérivés du chitosane pour lafabrication de pâte à papier.Le chitosane confère une résistance à l'état humide au papier. |

# chapitre III
# Matériel et méthodes

## III.1. Introduction

L'objectif de ce travail est l'étude de l'influence des conditions d'extraction de la chitine et du chitosane sur les propriétés physicochimiques du chitosane, en utilisant la méthode des plans d'expérience (matrice d'Hadamard) qui nous permet de faire varier plusieurs facteurs à la fois. Cette partie décrit le protocole expérimental ainsi que le matériel utilisé.

## III.2. Matériel et méthodes

### III.2. 1. Matériel

#### III.2. 1. 1. Matière biologique

- Carapaces de crevette.

#### III.2. 1. 2. Solutions et produits chimiques utilisés

- Hydroxyde de sodium (NaOH)
- Acide chlorhydrique (HCl)
- L'eau distillée.

#### III.2. 1. 3. Matériel de laboratoire

- Balance.
- Etuve.
- pH-mètre
- passoire
- verrerie

### III.2. 2. Méthodes

#### III.2. 2. 1. Préparation de la poudre de carapace

Les coproduit de crevette utilisés lors de cette étude sont constitués principalement parles carapaces obtenues par décortication des crevettes.

- Avant leur utilisation, les carapaces des crevettes sont débrasées de la chair des antennes et des pattes les carapaces.
- Lavées à l'eau du robinet plusieurs fois pour éliminer les résidus organiques (tissus).
- bouillies dans de l'eau pendant une heure et ce pour enlever le maximum de tissus.
- Ensuite, séchage dans l'étuve pendant 24heures.
- Après séchage les carapaces sont débarrassées d'éventuels tissus encore présents par frottement en dernier les carapaces sont broyés à l'aide d'un broyeur pour obtenir une poudre.



**La crevette** **Déchets de crevette (têtes et thorax)**



**Les déchets filtrés et séchés** **La poudre obtenue après broyage**

**Fig. III.1. Les étapes de présentation de la poudre de carapace de crevette.**

**Extraction de la chitine,** Se fait en deux étapes

**Déminéralisation**

L'objectif de cette expérience est d'éliminer les sels minéraux en utilisant une solution d'acide chlorhydrique. Pour ce faire nous avons procédé comme suit :

- 160 g de poudre sèche des carapaces a été dispersée dans 300 ml d'une solution de HCl (1.5M).
- Le mélange obtenu est porté sous agitation à température ambiante pendant 1h.
- Ce mélange a été filtré puis lavé plusieurs fois jusqu'à pH 7.

Le produitrécupéré est ensuite séché à l'étuve à 25°C pendant 48h.

**Déprotéination**

Le produit déminéralisé est mis sous agitation dans une solution alcaline de NaOH (2N)pendant 2h à température ambiante. Le produit traité est filtré de la solution basique puislaver à l'eau distillée plusieurs fois jusqu'à obtention d'un pH neutre de 7 et enfin mis à l'étuve pour sécher à 45 °C pendant au moins 48 h jusqu'àobtention d'un poids stable. Ce produit constitue la chitine brute qui a servi à la préparationultérieure du chitosane par réaction de désacétylation.

**Désacétylation**

Dans cette partie il y a un traitement alcalin avec une concentration d'hydroxyde de sodium50% ont été synthétisés dans une unité de cristallisation dans laquelle X ml de NaOH et Y g de chitine ont été ajoutés comme indiqué dans le tableau ci-dessous.

Le mélange a été séché pendant X heures à Y ° C, puis le produit résultant a été filtré avec del'eau distillée puis séché pendant au moins 24 heures dans une étuve à Y ° C, puis broyé pour obtenir du chitosane sous forme de poudre.

**Tableau III.1.La matrice expérimentale.**

| N° | $X_1$ | $X_2$ | $X_3$ | $X_4$ | $X_5$ |
|---|---|---|---|---|---|
| **1** | + | + | + | - | + |
| **2** | - | + | + | + | - |
| **3** | - | - | + | + | + |
| **4** | + | - | - | + | + |
| **5** | - | + | - | - | + |
| **6** | + | - | + | - | - |
| **7** | + | + | - | + | - |
| **8** | - | - | - | - | - |
| **9** | **0** | **0** | **0** | **0** | **0** |
| **10** | **0** | **0** | **0** | **0** | **0** |
| **11** | **0** | **0** | **0** | **0** | **0** |
| **12** | **0** | **0** | **0** | **0** | **0** |

$X_1$ :Concentration du NaOH[3040 50%]

X2 : Quantité de la chitine [1 3 5g]

X 3 :Volume du NaOH [50 100 150ml]

X4 : Temps de la réaction [20 Jours 25jours 30jours]

X5 :Température de la réaction[20 30 40°C]

L’objectif de notre travail est d’étudier l’influence des conditions d’extraction sur les propriétés physico-chimies du chitosane.

Pour ce faire, on  a eu recours à la méthode des plan d’expérience en utilisant la matrice d’Hadamard qui permet de faire varierplusieurs facteurs à la fois en plus d’étudier les différentes interactions pouvant exister entre les différents facteurs.

Donc on a procédé par la récupération de la chitine à partir des carapaces de crevette par un traitement acide suivi par un traitement alcalin pour la déminéralisation et déprotéinisation, respectivement.

Ensuite, on a commencé la réaction de désacétylation permettant d’obtenir le chitosane à partir de la chitine produite…

Malheureusement notre travail a été interrompu avant de terminer les réactions de désacétylation à cause de la pandémie du COVID-19.

# Références bibliographique

**Référencesbibliographique**


- **AbdulhadiAljawish** (2013). « Fonctionnalisationenzymatique du chitosane par des composes phénolique :évaluation des propriétésbiologiques et physicochimiques de ces nouveaux bio polymères».Thèse de doctorat. Université de Lorraine.
- **AmroundyhiaTaharountkahina** (2011).Production etutilisation des chitosanesdans les procédés de coagulation-floculation. Mémoire de Master, UniversitéMouloudMammeri de TiziOuzou.
- **AraremFaïza**(2010). Synthèse et caractérisation de biopolymères Application au piégeage de colorants,Université d'OranEs-Sénia.
- **ArbiaWassila**(2007). Production de la chitine par voiefermentaire à partird'unebiomasse marine. Thèse de Magister, EcoleNationalePolytechnique.
- **BadaouiFaiza**(2012). Comportementrhéologique de solutions de biopolymères. Application du chitosane, du poly(vinylealcool) et de leurs mélanges. UniversitéM'hamedBougara-Boumerdes.
- **Bellouti Fatima et HadjdjilaniSoumeya** (2018). Préparation de chitosane à partir des carapaces de crevettes : étude et caractérisations,UniversitéDjilaliBounaâma de KhemisMiliana.
- **Ben DhiebFatima**(2014). «développement et caractérisation de films biodégradables à base d'acide poly lactique et de chitosane ».Université de Laval, Canada.
- **Bengherbiseif el-islametBaghlilatifa** (2017). Contribution à l'étude de l'effetantimicrobien, adsorbant de colorants et chélateur des métauxlourdssurbilles de chitosane élaborées à partir de déchets de crustacés. Université de Tlemcen .
- **Berthold A., cremerK., and kreuterJ. S. T. P.**(1996).Preparation and characterization of chitosan microspheres as model for anti-inflammatory drugs. journal of controlled release39, 1: 17-25.
- **Boualem Zohra et HocineAhlem** (2018). Valorisationbiotechnologique des coproduits de crevette rouge *Aristeusantennatus* (risso, 1816): étude du pouvoirantioxydant et antimicrobien du chitosane. UniversitéAbdehamidibnBadis-Mostaganem .
- **Chatelet C., O.Damour and A. Domard**(2001). Influence of the degree of acetylation on some Biological properties of chitosan Films. Biomater., 22, 261-268.
- **ChennitMelha et Naityahia Lamia**( 2015). Elaboration d'un composite à base de chitosane, le poly acidelactique et cloisite 30b par voie fondue.Université Abderahmane Mira – Béjaia .

**Référencesbibliographique**


- **Crini G, Guibal E, Morcellet M, Torri G, Badot P**, (2009). Chitine et chitosane;Préparation, propriétés et principales applications ; In Chitine et chitosane du biopolymère à l'application ; Besançon: Presses universitaires de Franche-Comté ; (pp. 19-54).
- **Djelad Amal**(2011).Préparation des matériaux composites chitosane- zeolithes. Application dansl'adsorption du cuivre. Oran
- **Frantz le devedec** (2008). Séparation des oligomères du chitosane sur chromatographied'affinitésur ions métalliquesimmobilisés. Québec,Montréal.
- **Hafirassou AnissaZohra**(2017). Evaluation in vitro, du potentiel du chitosane pour la luttecontre les champignons responsables des Onychomycoses à Constantine. Université des Frères Mentouri – Constantine.
- **Haidrafatima** (2018).Préparation de chitosaneà partir de crustacéslocaux et son emploidans la coagulation-floculation de suspensions de bentonite .Abdelhamidibnbadis – mostaganem .
- **HassainiaAbdelghani**(2008). Obtention du bio polymère «chitine» à partir du champignon «*Agaricusbisporus*»:extraction et caractérisation.Mémoire de master, Université8 mai 1945 Guelma.
- **Kadouche Slimane** (2013). Utilisation des biomateriauxdans le traitement des eaux. Université Mouloud MammeriTiziOuzou.
- **KeddouMeriem** (2008).Elaboration, caractérisation et application de membranes polymèresà base de chitosane. Université M'hamedBougueraBoumerdes.
- **Klokkevold PR., Fukayama H., Sung EC**., (1999). The effect of chitosan (poly-N-acetyl glucosamine) on lingual hemostasis in heparinized rabbits. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery Volume 57, Issue 1, January, 49-52.
- **MaletteW.G., Quigley HJ., Gaines RD**., (1983). Chitosan: A New Hemostatic.The Annals of Thoracic Surgery. Volume 36, Issue 1, 55-58.
- **Messaoudtouatia** (2016 ).Contribution à la purification de la chitine à partir des coproduits de la crevette rouge *Aristeusantennatus* (risso, 1816).Université Abdelhamid IbnBadis-Mostaganem .
- **Mokrani Nadir** (2013). Préparation et étude de comportement de membranes bio polymères Alginate de sodium/chitosane ».Thèse de Magister. Université de Boumerdes.
- **Muzzarelli, r. A. A.** "chitin.". Oxford: pergamon press (1977).

**Référencesbibliographique**


- **Ribeiro, m. P., et al**. (2009). Development of a new chitosan hydrogel for wound dressing."wound repair and regeneration 17, 6, 817-824.
- **Shawky h. A., el-hag a.,ali, r. A. El sheikh**. Wiley interscience.2006
- **TaouintAissaNadjia**(2016). «Préparation de chitosaneà partir de la biomassemarine.Application au conditionnement des bouesurbaines ».Thèse de Magister. Université de Tizi-Ouzou.
- **Valentin R.**(2005). Thèse de doctorat. Université de montpellier II,france.
- **Haidra Fatima,** Préparation de chitosane à partir de crustacés locaux et son emploi dans la coagulation-floculation de suspensions de bentonite, université Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem, 2017.
- **W. Xia, P. Lui, J. Zhang, J. Chen** (2011). Biological activities of chitosane and chitoologosaccharides, Food Hydrocolloids, 25(2), 170-179.